SEMINAR NASIONAL SAINS MIPA DAN APLIKASINYA

Bandar Lampung, 8 - 9 Desember 2010

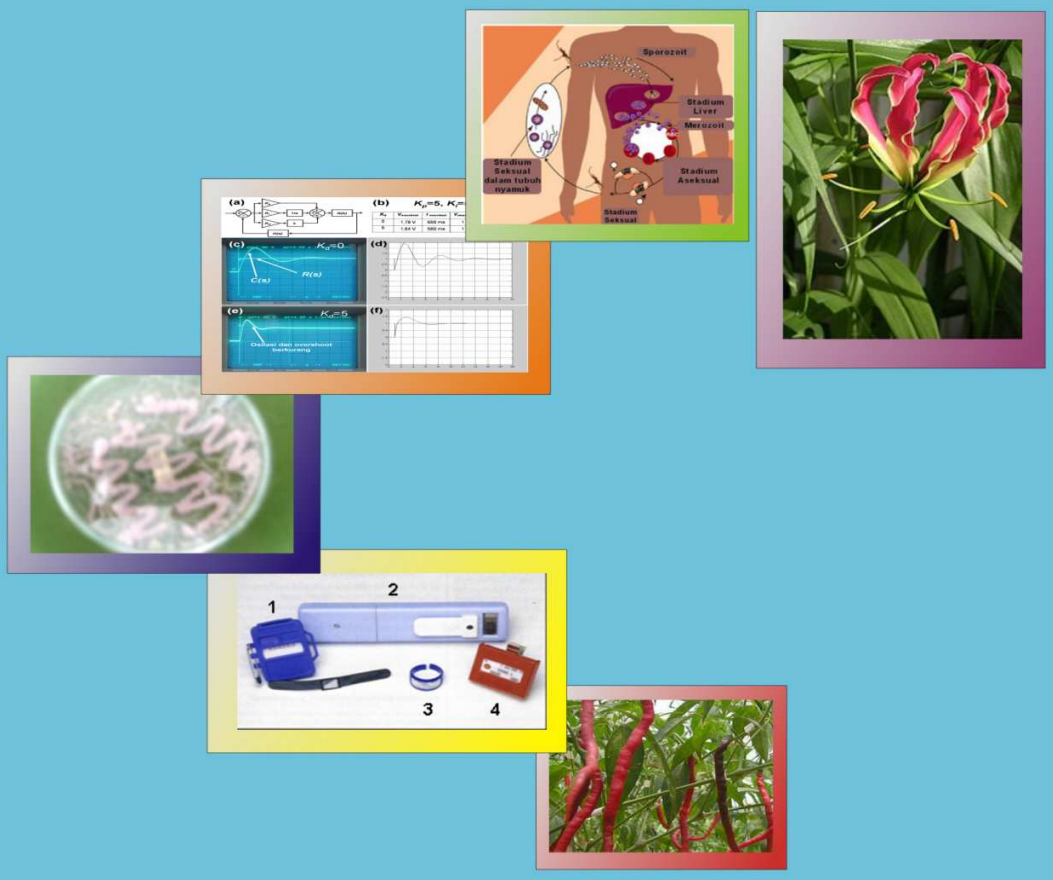
SN·SMAP FMIPA UNIVERSITAS LAMPUNG

Tema :

"Membangun Jejaring Pengembang Dan Pengguna SAINS dan Matematika"

PROSIDING

ISSN:2086-2342



Vol.2 Tahun 2010
Buku 1

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG
Http://www.unila.ac.id/~mipa/, E-mail : seminar-smap@unila.ac.id;
seminar.smap@gmail.com

PROSIDING
SEMINAR NASIONAL SAINS MIPA DAN APLIKASINYA 2010
(SN SMAP 10)

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
DESEMBER 2010

Prosiding Seminar Nasional Sains MIPA dan Aplikasinya Tahun 2010 FMIPA Universitas Lampung

TEAM PENYUNTING :
Rochmah Agustrina, Ph.D.
Wasinton, Ph.D.
Simon Sembiring, Ph.D.
Mulyono, Ph.D.
Warsono, Ph.D.
Dian Septiani Pratama, M.Si.
Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.

PENERBIT
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

ALAMAT REDAKSI
Gedung Dekanat Lantai 4
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
Jl. S. Brodjonegoro No. 1, Bandar Lampung 35145
Telp./Fax: +62-721-704625;
http://fmipa.unila.ac.id/
E-mail: seminar-smap@unila.ac.id

Prosiding Seminar Nasional
Sains MIPA dan Aplikasinya FMIPA UNILA:
penyunting, Rochmah Agustrina[et al.]
Desember 2010 / — Bandar Lampung
xi + 388 hlm.; 21 x 29,7 cm

ISSN 2086-2342
(Terbit satu kali setahun)

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wa Rohmatullahi wa Barokatuhu.

Alhamduluillah dengan perkenan-Nya lah, maka Prosiding Seminar Nasional Sains MIPA dan Aplikasinya tahun 2010 (SN SMAP 10) 8 – 9 Desember 2010 dengan tema: " Membangun Jejaring Pengembang dan Pengguna Sains dan Matematika", telah dapat kami selesaikan. Kegiatan seminar ini merupakan salah satu rangkaian kegiatan dalam rangka Dies Natalis FMIPA UNILA, yang diagendakan dilakukan secara rutin tahunan.

Segenap panitia mengucapkan terima kasih kepada Rektor UNILA Bapak Prof. Dr. Ir. Sugeng P Harianto, M.S. dan Dekan Fakultas MIPA Bapak Dr. Sutyarso, M.Biomed. yang telah memfasilitasi berlangsungnya kegiatan ini. Demikian pula kepada para Keynote Speakers: Ir. Edi Yanto, M.Si., Kepala Bappeda Provinsi Lampung; Prof. Dr. Ir. Suprapto DEA., Ketua Tim Ahli Pengembangan HKI, DP2M- Ditjen Dikti, Kemendiknas dan Dosen Jurusan Teknik Kimia FTI - ITS; dan Bapak Dr. Sutyarso, M.Biomed., Dekan FMIPA Universitas Lampung, yang telah berkenan memberikan materi pada kegiatan ini.

Kami juga menyampaikan penghargaan dan terima kasih atas apresiasi rekan-rekan akademisi dan peneliti untuk berkenan mempresentasikan hasil penelitiannya dalam kegiatan Seminar Nasional ini. Seminar ini diikuti oleh berbagai kelompok Sains MIPA dan aplikasinya dalam kategori kelompok ilmu Matematika, Fisika, Biologi, dan Kimia. Jumlah makalah yang dipresentasikan dalam kegiatan ini sebanyak 84 makalah dan yang masuk dalam prosiding ini adalah sebanyak 83 makalah. Akhir kata, kami sampaikan terima kasih kepada semua fihak yang telah mendukung penyusunan prosiding kegiatan seminar ini. Dalam kesempatan ini, kami juga memohon maaf apabila ada hal hal yang kurang berkenan selama pelaksanaan kegiatan seminar ataupun dalam penyusunan prosiding seminar ini. Akhir kata mari kita bersama mendukung upaya peningkatan daya saing bangsa melalui karya nyata dalam bidang Sains MIPA dan Aplikasinya.

Wassalamu'alaikum wa Rohmatullahi wa Barokatuhu.

Tim Penyunting

DAFTAR ISI

halaman

KELOMPOK BIOLOGI

RESPON SERAPAN N, P, K DAN HASIL PADI SAWAH (*Oryza sativa* L.) TERHADAP APLIKASI EKSTRAK HUMIK DAN SISTIM IRIGASI BERBEDA. 1-7
Muhammad Kamal dan M.S. Hadi

NILAI R_f DAN RENDEMEN MASSA FRAKSI-FRAKSI KOMPONEN ANTIBAKTERI PRODUK ETANOLISIS KASAR DARI *PALM KERNEL OIL* (PKO). 8-19
Murhadi dan A. Sapta Zuidar

PENGARUH FREKUENSI APLIKASI HARA MIKRO TERHADAP PRODUKSI UBIKAYU DI BLAMBANGAN, WAY KANAN. 20-25
M. Syamsoel Hadi

PEMANFAATAN AGEN HAYATI (*Tricoderma* spp, *Gliocladium*) DAN BAHAN NABATI (Mimba) PADA TANAMAN STROBERI. 26-32
Zainuri Hanif, Emi Budiyati* dan Agung Lasmono

STUDI AWAL APLIKASI RADIASI GAMMA UNTUK PEMBUATAN KANDIDAT BAHAN VAKSIN MALARIA. 33-42
Darlina

PENGARUH PEMBERIAN *GIBBERELIC ACID* (GA_3) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.) VARIETAS RATNA DENGAN SISTEM HIDROPONIK. 43-47
Agung Lasmono

PENGARUH PUPUK ORGANIK, PUPUK MIKRO, DAN VARIETAS PADA VIGOR DAYA SIMPAN BENIH PADI (*Oryza sativa* L.). 48-57
Eko Pramono

PEMBEKALAN PEMBELAJARAN IPA BIOLOGI MELALUI MEDIA "MIVI" UNTUK MENINGKATKAN KOMPETENSI GURU. 58-63
Mia Nurkanti, Nuryani Y Rustaman, Zaenal A, Suroso A Y

STUDI EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) SEBAGAI FITOHORMON PADA TANAMAN CABAI. 64-71
Agus Karyanto

KORELASI ANTARA KEHIAJUAN DAUN DAN JUMLAH TANGKAI BUNGA DENGAN JUMLAH POLONG, RATA-RATA PANJANG POLONG DAN BOBOT BENIH PER TANAMAN PADA TANAMAN KACANG PANJANG. 72-76
Nyimas Sa'diyah

EFEK SITOGENETIK PADA PEKERJA RADIASI. 77-88
Yanti Lusiyanti, Zubaidah Alatas, Sofiati Purnami, Dwi Ramadhani, Masnelly Lubis dan Viria Agesti S.

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ARTEMISININ GALUR IRADIASI GAMMA TERHADAP *Plasmodium berghei* SECARA *IN VIVO.* Mukh Syaifudin[a], Indra Sumantri[b], Devita Tetriana[a], Darlina.	89-96
STUDI EKOLOGI PADA MEDIA UJI SEMI LAPANG TEMPAT PERINDUKAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* DI SUKARAME BANDAR LAMPUNG. Sri Murwani, Endah S, Decy KS, Nanda HS.	97-104
ANALISIS SUSTAINABILITAS LAHAN UNTUK PRODUKSI KASSAVA *(MANIHOT ESCULENTA CRANTZ)* DENGAN SISTEM PEMUPUKAN BERIMBANG DAN DAMPAKNYA TERHADAP PENDAPATAN USAHA TANI PETANI DI KECAMATAN SEPUTIH AGUNG KABUPATEN LAMPUNG TENGAH. Sabirin	105-112
PERILAKU PASIEN TUBERKULOSIS DALAM MENCARI PENGOBATAN UNTUK MENDUKUNG KEBERHASILAN PROGRAM TUBERKULOSIS DI KECAMATAN TANJUNG BINTANG. Nurul Islamy	113-119
KAJIAN KARAKTERISTIK PATI RESISTEN DARI BERBAGAI VARIETAS PISANG. Nanti Musita.	120-130
POPULASI NYAMUK *AEDES AEGYPTI* DAN *Mesocyclops apericornis* PADA MEDIA TEMPAT PERINDUKAN AIR SUMUR DAN AIR KANGKUNG DI BANDAR LAMPUNG. Endah Setyaningrum, Siti Nurjanah, Sri Murwani dan F.X. Susilo	131-137
PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L) TREHADAP INDEKS MITOSIS SEL AKAR KECAMBAH CABAI MERAH (*Capsicum annum* L). Eti Ernawiati, Sri Wahyuningsih, Yulianty	138-142
EFEK BIOMUTAGEN EKSTRAK UMBI KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L.) TERHADAP VIABILITAS POLEN DAN PRODUKSI CABAI MERAH (*Capsicum annum* L.). Sri Wahyuningsih, Eti Ernawiati, dan Yulianti	143-148
PEMANFAATAN UMBI KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L.) DALAM MENEKAN PERKEMBANGAN JAMUR *Colletotricum capsici* PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA TANAMAN CABAI KERITING (*Capsicum annuum* L.). Yulianty, Eti Ernawiati, Sri Wahyuningsih.	149-156
PENGARUH VARIASI KUAT MEDAN LISTRIK TERHADAP PERTUMBUHAN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinata* Pers.). Rochmah Agustrina dan Roniyus.	157-164
PERKEMBANGAN GONAD PADA PENELURAN KEPITING BAKAU (*Scylla serrata* Forskal) DENGAN BERAT INDUK BERBEDA PADA ALIRAN PASANG SURUT TAMBAK. G. Nugroho Susanto	165-174

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH TOMAT (*Solanum lycopersicum*) TERHADAP KELAINAN STRUKTUR MIKRO ATOMI HEPAR EMBRIO AKIBAT PEMBERIAN ETANOL PADA INDUK TIKUS (*Rattus norvegicus*). Rodiani, Suryadi, Harijadi 175-182

KADAR RIFAMPISIN DALAM SERUM PENDERITA TUBERKULOSIS PARU PADA PEMBERIAN TIGA DAN EMPAT TABLET OBAT ANTI TUBERKULOSIS KOMBINASI DOSIS TETAP.
Dwi Indria Anggraini dan Ratih P. 183-188

KERACUNAN PESTISIDA DAN FAKTOR YANG MEMPENGARUHINYA PADA PETANI PADI DI DESA RJ BANDAR LAMPUNG.
Fitria Saltarini 189-194

EFEKTIVITAS BIOLARVASIDA EKSTRAK BIJI LABU MERAH *(Cucurbita moschata)* TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*.
Betta Kurniawan 195-202

INDUKSI EMBRIO SOMATIK EKSPLAN *LEAFLET* DARI KECAMBAH BENIH UMUR 9 HARI PADA DUA VARIETAS KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.) SECARA *IN VITRO.*
Akari Edy 203-208

CONDITION FACTOR DAN GONAD SOMATIC INDEX IKAN NILA (Oreochromis niloticus Linn) PADA OLAHAN AIR LIMBAH RSUD ABDUL MOELOEK .
Nuning Nurcahyani, Tugiyono, dan G. Nugroho S. 209-214

RESPON PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI BUNGA GLADIOL (*Gladiolus hybridus* L) TERHADAP PEMBELAHAN CORM.
Tri Dewi Andalasari 215-219

EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK AIR BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP VAKUOLISASI SEL HATI PADA MODEL TIKUS HEPATITIS.
Asep Sukohar 220-230

EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK METANOL DAN KLOROFORM UMBI RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP SEL VERO.
Susianti, Rina Susilowati, Mae Sri Hartati Wahyuningsih 231-237

SELECTION FOR ANTHESIS-SILKING INTERVAL ON SEVERAL MAIZE INBRED-LINE POPULATIONS TO MAINTAIN THEIR EXISTENCE.
Saiful Hikam 238-242

KELOMPOK KIMIA

POTENSI GALAKTOMANAN DARI *Aspergillus niger* ISOLAT TANAH HUMUS
Husniati, Dian Hapsari, dan Eva Oktarina 243-248

STUDI PENDAHULUAN PERENGKAHAN MINYAK KELAPA DENGAN METODE ELEKTROKIMIA (*ELECTROLYTIC CRACKING*)
Wasinton Simanjuntak, Kamisah D. Pandiangan, dan Irwan Ginting Suka 249-256

ISOLASI DAN PEMURNIAN PARSIAL ENZIM PROTEASE DARI *Actinomycetes* ISOLAT LUMPUR HUTAN BAKAU 257-265
Dian Herasari dan Riki Eriyanti Andini

DESKRIPSI AKTIVITAS ENZIM XYLANASE SPESIFIK DARI ACTINOMYCETES ISOLAT LOKAL 266-273
Heri Satria

BATCH AND CONTINUOUS DIRECT LACTIC ACID FERMENTATION FROM CASSAVA by *Streptococcus bovis* 274-278
Suripto Dwi Yuwono and Sony Widiarto

PENINGKATAN STABILITAS TERMAL ENZIM PROTEASE DARI *Rhizopus oligosporus* DENGAN PENAMBAHAN SORBITOL 279-288
Yandri A. S. dan Eka Yuliana

POLIMER ANTIBAKTERI (*Antibacterial Polymer*) : V. STUDI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PLASTIK POLIPROPILEN TERGRAFTING 4-VINILPIRIDIN TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* DALAM MEDIA SUSU KEMASAN 289-297
Idra Herlina, Wasinton Simanjuntak, Irwan Ginting Suka, Judi Hadisarjono, Ambyah Suliwarno, dan Martina Restuati

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN DATUAN (*Ficus vasculosa*, Wall ex Miq) 298-308
Syaiful Bahri, dan Yuli Ambarwati

THE INFLUENCES CYANIDE ON THE PHOTOREDUCTION OF Hg(II) CATALYZED BY TiO_2 309-315
Diky Hidayat

ARTOKARPIN, SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*) 316-323
Tati Suhartati, Dedi Nuryanto, Yandri A.S

METODE KALIBRASI ALAT UKUR AKTIVITAS *DOSE CALIBRATOR* MENGGUNAKAN SUMBER STANDAR FLOUR-18 324-331
Gatot Wurdiyanto dan Holnisar

BEBERAPA BAKTERI MESOFILIK AMILOLITIK ISOLAT LOKAL PENGHASIL ENZIM Cyclodextrin Glukanotransferase (CGT-ase) 332-340
Mulyono dan Hade Sastra Wiyana

UJI AKTIVITAS KATALIS Fe-SILIKA SEKAM PADI UNTUK DEGRADASI ZAT WARNA 341-348
Kamisah D. Pandiangan dan Wasinton Simanjuntak

BAKTERI PADA INFEKSI LUKA POST-OPERASI DAN POLA KEPEKAANNYA TERHADAP ANTIBIOTIK 349-356
Ety Apriliana

PEMBUATAN ASAP CAIR DARI TEMPURUNG KELAPA DAN UJI APLIKASI SEBAGAI PENGENDAP SILIKA SEKAM PADI 357-362
Gia Y. K. Asmoro, Imam Akbar, Wasinton Simanjuntak

Effect of Ageing on the Properties of Starch-PVA Biodegradable Plastic
Sonny Widiarto and Suripto Dwi Yuwono 363-368

PENGARUH MEDIA HIDROLISIS DAN KONDENSASI PADA SINTESIS HIBRIDA *Nannochloropsis*-SILIKA *IMPRINTED* IONIK CD(II)
Buhani 369-376

ANALISIS VOLTAMMOGRAM SIKLIK SENYAWA KLORAMBUSIL PADA VARIASI DIAMETER ELEKTRODA KERJA MENGGUNAKAN PERANGKAT LUNAK POLAR 4.2
Hardoko Insan Qudus, Nurma Hayati, Ni Luh Gede Ratna J. 377-387

RESPON SERAPAN N, P, K DAN HASIL PADI SAWAH (*Oryza sativa* L.) TERHADAP APLIKASI EKSTRAK HUMIK DAN SISTIM IRIGASI BERBEDA

Muhammad Kamal dan M.S. Hadi
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. S. Brojonegoro 1 Bandar Lampung 35145

ABSTRAK

Rice *(Oryza sativa* L.) requires a lot of water during its growth and development. However, the availability of water in field frequently fluctuates and limited, so irrigation method should be done efficiently. Nutrients of N, P and K play significant role in yield-developing process of rice. The objective of this experiment was to study the uptake of N, P, K and rice seed yield as affected by the application of humic extract and different irrigation method. The treatments were arranged in factorial with Split-Plot Design in Randomized Block Design with three replications. Main plot was irrigation method consisting of three levels (continuous flooding, no-flooding and flooding during vegetative stage). Sub-plot was extract humic consisting of five levels (0.1; 0.2; 0.3; 0.4 and 0.5%). The result of the experiment indicated that the uptake of N and K under irrigation method without flooding was higher than that in other irrigation methods. The highest uptake of P occurred in irrigation method with continuous flooding. The application of humic extract did not influenced N, P and K uptake significantly although there was an interaction between extract humic and irrigation method for K uptake. Rice seed yield in the irrigation method with continuous flooding did not significantly differ from rice seed yield in irrigation method without flooding. It seems irrigation method without flooding resulted in higher water use efficiency.

Key Words: humic extract,irrigation, rice yield, N, P, K uptake.

PENDAHULUAN

Padi sawah *(Oryza sativa* L.) memiliki peranan yang sangat penting dalam proses penyediaan pangan di Indonesia. Sebagian besar penduduk Indonesia sangat tergantung pada besar karena sebagai makanan pokoknya. Seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, permintaan beras nasional terus meningkat. Produksi beras nasional, sebagian besar (>90%), dipenuhi oleh padi sawah (Suwarno dkk., 2004).

Pertumbuhan dan produksi padi sawah sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Air merupakan salah satu factor lingkungan utama yang sangat menentukan produktivitas padi sawah. Dalam proses pertumbuhan dan perkembangannya padi sawah membutuhkan banyak air (Yoshida, 1981), sehingga penerapan sistim irigasi yang tepat dapat meningkatkan produktivitas padi dan efisiensi penggunaan air. Keterbatasan jumlah air dan cara distribusi yang tidak tepat sering menjadi kendala perluasan areal tanam padi secara produktif.

Respon tanaman padi terhadap air sangat dipengaruhi oleh jumlah air yang tersedia (Yang et al., 1995; Ohe dan Mimoto, 1995). Setiobudi (1998a) melaporkan bahwa pengaruh cekaman air terhadap hasil padi tergantung pada fase pertumbuhan tanaman saat terjadinya cekaman air. Pada studi yang lain Setiobudi (1998b) melaporkan bahwa

besarnya konsumsi air dan efisiensi penggunaan air sangat ditentukan oleh cara pemberian air. Dalam hal ini, penenanaman padi dengan system tabela dapat menurunkan konsumsi air pertanman padi. Penggunaan ZPT secara tepat jua dapat meningkatkan efisiensi penggunaan air (Kamal, 1998).

Keberadaan unsur hara N, P dan K sangat dibutuhkan dalam proses pertumbuhan dan pembentukan hasil tanaman (Yoshida, 1981; Epstein dan Bloom, 2005). Selanjutnya Setiawan dan Kamal (2008) melaporkan bahwa kandungan N, P, K, dan Mg pada fase vegetatif berkorelasi positif dengan pertumbuhan dan hasil padi. Akumulasi bahan kering pada fase vegetatif memiliki kontribusi besar pada peningkatan hasil padi (Kamal, 2005). Bahan humik merupakan bahan organik yang kaya akan unsur hara dan senyawa-senyawa mirip hormon tanaman, sehingga aplikasinya dapat mendorong pertumbuhan tanaman (Mengel and Kirby, 1987).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui serapan N, P, K dan hasil padi sawah akibat aplikasi ekstrak humik dan sistim irigasi berbeda. Informasi ini sangat bermanfaat dalam upaya peningkatan efisiensi penggunaan air pertanaman padi sawah melalui penerapan sistim irigasi yang tepat.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Wana-Melinting, Lampung Timur pada bulan Mei sampai Agustus 2009. Bahan yang digunakan adalah benih padi varietas Ciherang, pupuk Urea, SP-36, KCl, ekstrak humik, pestisida, dan bahan kimia untuk analisis N, P dan K. Alat-alat yang digunakan meliputi cangkul, sabit, bajak, garu, kantong plastik, sprayer, oven, timbangan, meteran, tali rafia, kamera, komputer dan peralatan laboratorium.

Perlakuan disusun secara faktorial dengan rancangan Petak Terbagi dalam rancangan acak kelompok dengan tiga ulangan. Petak utama adalah sistim irigasi dengan tiga taraf, yaitu digenangi terus menerus (DTM), macak-macak (DMM) dan digenangi selama fase vegetatif (DFV). Anak petak adalah ekstrak humik dengan lima taraf (0.1; 0.2; 0.3; 0.4 dan 0.5 %).

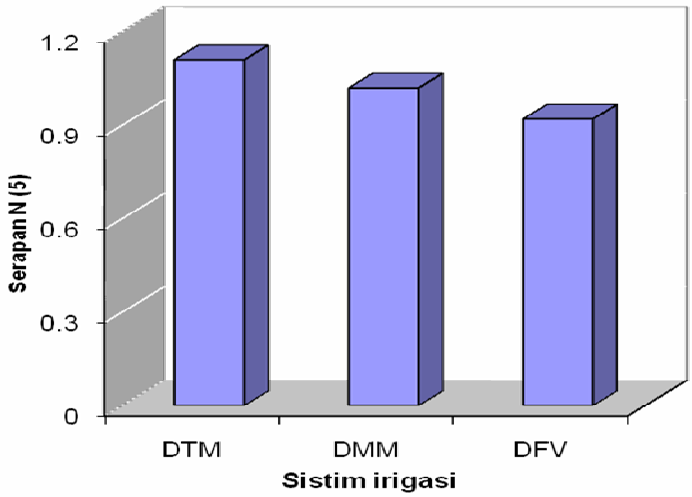
Lahan penelitian dibajak 2 kali, kemudian digaru. Selanjutnya lahan dipetak-petak dengan ukuran petak 4x5 m. Penanaman dilakukan setelah bibit padi berumur 23 hari dengan cara tapin (*transplanting*) dan jarak tanam 20x20 cm. Pupuk Urea, SP-36 dan KCl masing-masing diberikan dengan dosis 150, 100 dan 80kg/ha dan dilakukan pada saat 3, 5 dan 7 MST untuk Urea dan KCl, sedangkan SP-36 diberikan sekaligus pada saat tanaman padi berumur 3 MST. Ekstrak humik diberikan dengan cara penyemprotan ke daun tanaman padi dengan konsentrasi sesuai perlakuan (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 %) pada saat tanaman berumur 7 MST. Pengairan dilakukan sesuai dengan perlakuan yang dimulai sejak awal tanam. Pengendalian gulma dilakukan secara manual, sedangkan hama dan penyakit tanaman dikendalikan dengan menggunakan pestisida.

Serapan unsur N, P, dan K ditentukan dengan mengukur kandungan N, P dan K dalam daun tanaman padi. Sampel daun diambil saat tanaman berumur 8 MST, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 80^{o}C selama 48 jam. Kemudian, sampel daun digiling sampai halus. N dianalisis dengan metode Kjeldahl, sedangkan P dan K dianalaisis dengan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). Hasil biji padi ditentukan pada saat panen. Semua data diolah dengan sidik ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji nilai tengah dengan uji jarak berganda Duncac pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serapan nitrogen (N).
Hasil penelitian menunjukkan bahwa serapan N tanaman padi sawah secara nyata dipengaruhi oleh sistim irigasi. Sedangkan aplikasi ekstrak humik tidak berpengaruh nyata pada serapan N. Pada sistim irigasi macak-macak serapan N lebih tinggi dibandingkan dengan serapan N pada sistim irigasi lainnya (Gambar 1).

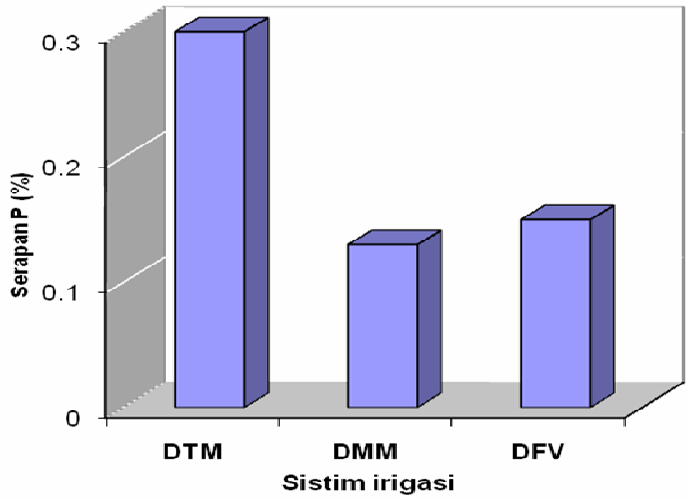
Tingginya serapan N padi sawah berhubungan dengan pertumbuhan tanaman padi sawah (Yoshida, 1981). Pada sistim irigasi dengan penggenangan terus menerus dan macak-macak pertumbuhan vegetatif tanaman relatif legih baik dibandingkan dengan sistim irigasi dengan penggenangan pada fase vegetatif. Hal inilah mungkin yang menyebabkan rendahnya serapan N pada sistim irigasi dengan penggenangan pada fase vegetatif.



Gambar 1. Serapan N padi sawah pada sistem irigasi berbeda

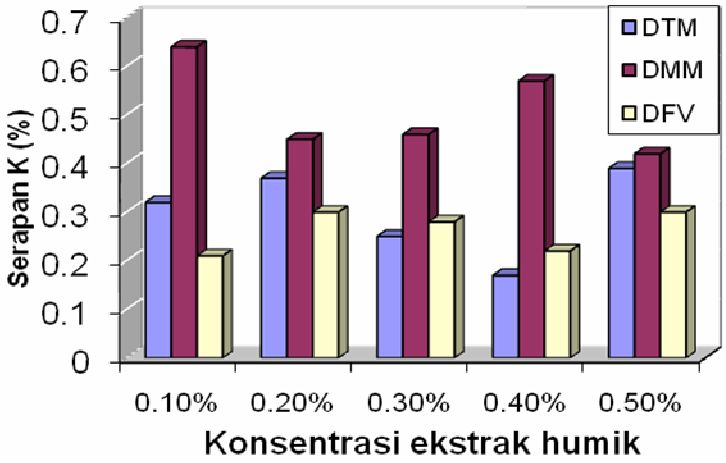
Serapan fosfor (P).
Perbedaan sistim irigasi berpengaruh nyata terhadap serapan P, sementara aplikasi ekstrak humik juga tidak berpengaruh nyata terhadap serapan P. Dibandingkan dengan sisitim irigasi macak-macak dan penggenangan selama fase vegetatif, penggenangan terus menerus menghasilkan serapan P lebih tinggi (Gambar 2).

Serapan P pada sistim irigasi macak-macak (DMM) relatif lebih rendah dibandingkan dengan sistim irigasi lainnya (DTM dan DFV). Hal ini mungkin terkait dengan tingkat kelarutan P dalam tanah. Mengel dan Kirby (1987) melaporkan bahwa penggenangan dapat meningkatkan kelarutan P dalam tanah. Pada Gambar 2 tampak jelas bahwa penggenangan terus menerus menghasilkan serapan P paling tinggi.



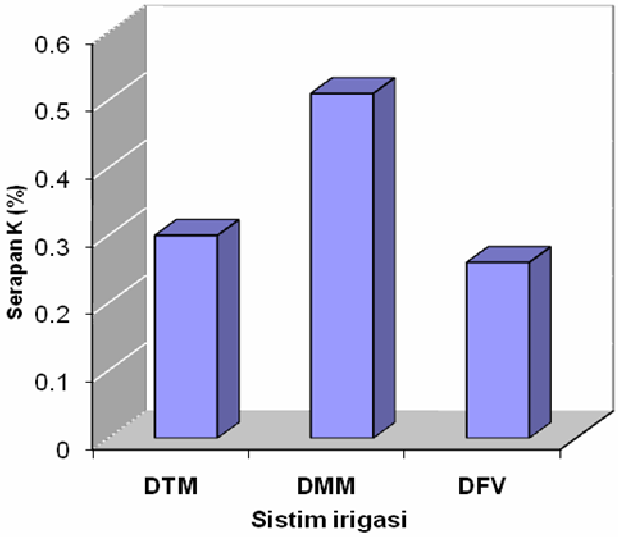
Gambar 2. Serapan P padi sawah pada sistem irigasi berbeda

Serapan kalium (K).
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh aplikasi ekstrak humus trhadap serapan K tergantung pada penerapan sistim irigasi. Secar umum, serapan K pada sistim irigasi macak-macak lebih tinggi dibandingkan dengan sistim irigasi lainnya (Gambar 3).



Gambar 3. Serapan K padi sawah akibat aplikasi ekstrak humik pada sistem irigasi berbeda.

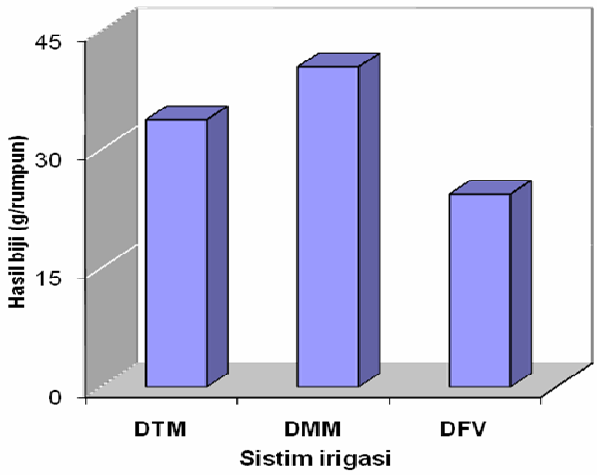
Respon serapan K yang disajikan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa pengaruh aplikasi ekstrak humik terhadap serapan K tergantung pada factor sistim irigasi. Disamping itu, peningkatan konsentrasi ekstrak humik tidak selalu meningkatkan serapan K, tetapi menunjukkan respon yang polynomial. Secara umum faktor irigasi sendiri menunjukkan perbedaan serapan K (Gambar 4). Dalam hal ini sistim irigasi dengan penggenangan macak-macak menghasilkan serapan K paling tinggi.



Gambar 4. Serapan K padi sawah pada sistem irigasi berbeda

Hasil biji padi.

Aplikasi ekstrak humik tidak berpengaruh nyata terhadap hasi padi sawah, sedangkan sistim irigasi berpengaruh nyata terhadap hasil padi sawah. Penerapan sistim irigasi dengan penggenagan secara terus menerus menunjukkan hasil padi yang tidak berbeda nyata dengan sistim irigasi macak-macak (Gambar 5), sementara hasil padi pada sistim irigasi dengan penggenangan pada fase vegetatif menunjukkan hasil yang paling rendah. Data ini sebagian besar konsisten dengan hasil yang dijelaskansebelumnya (Gambar 1, 2, 3 dan 4) yang menunjukkan rendahnya serapan N, P dan K pada sistim irigasi DFV, dan ternyata diikuti pula dengan rendahnya hasil padi pada sistim irigasi tersebut (Gambar 5). Hal ini juga sejalan dengan studi yang dilaporkan oleh Setiawan dan Kamal (2008), yang menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif antara serapan N, P dan K dengan pertumbuhan dan hasil tanaman padi.



Gambar 5. Hasil padi sawah pada sistem irigasi berbeda

KESIMPULAN

Serapan N, P dan K padi sawah dipengaruhi oleh sistim irigasi, sedangkan aplikasi ekstrak humik tidak berpengaruh nyata pada serapan N dan P walaupun berpengaruh nyata pada serapan K. Sistim irigasi macak-macak menghasilkan serapan N dan K lebih tinggi dibandingkan dengan sistim irigasi dengan penggenangan terus menerus dan penggenangan selam fase vegetatif. Sedangkan serapan P tertinggi terjadi pada sistim irigasi dengan penggenangan terus menerus.

Sistim irigasi juga berpengaruh nyata pada hasil padi sawah. Perbedaan hasil padi pada sistim irigasi macak-macak dan sistim irigasi dengan penggenangan terus menerus tidak nyata, tetapi berbeda nyata dengan hasil padi pada sistim irigasi dengan penggenangan selama fase vegetatif. Tampaknya sistim irigasi macak-macak memiliki efisiensi penggunaan air tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Budi, D.S. 1998a. Pengaruh cekaman air pada fase tumbuh berbed terhadap pertumbuhan dan hasil padi (*Oryza sativa* L.) tabela kultivar membramo. Pros. SemNas. Peningkatan Produksi Padi Nasional. HIGI, Bandar Lampung 9-10 Desember 1998.

Budi, D.S. 1998b. Alternatif teknik penghematan air irihasi untuk tanaman padi dengan tabela. Pros. SemNas. Peningkatan Produksi Padi Nasional. HIGI, Bandar Lampung 9-10 Desember 1998.

Epstein, E.. and A.J. Bloom. 2005. Mineral Nutrition of Plants: Principles and erspective. Second Edition. Sinauer Associates Inc. Publ., Sunderland, Masschusetts.

Mengel, K. and E.A. Kirby. 1987. Principles of Plant Nutrition. Int. Potash Institute., Bern, Switzerland.

Kamal, M. 1998. Aplikasi zat pengatur tumbuh (ZPT) sebagai alternatif untuk meningkatkan efisiensi penggunaan air dan hasil padi. Pros. SemNas. Peningkatan Produksi Padi Nasional. HIGI, Bandar Lampung 9-10 Desember 1998.

Kamal, M. 2005. Vegetative growth, stomatal conductance and nitrate conyent of upland rice grown under different shading conditions. J. Agrista 9(1):57-65.

Ohe, M. and H. Mimoto. 1995. Effect of the time of deep water treatment on the inner structure of culms of rice plants. Proc. The 2 nd Asian Crop Sci. Conf., ACSA, Fukui, Japan.

Setiawan, K. and M. Kamal. 2008. The content of N, P, K and Mg at vegetative stage and its relation to growth and seed yield of upland rice. J.Ilmiah Pert. Gakuryoku XIV(2):55-59.

Suwarno, Husin MT., dan Ismail BP. 2004. Ketersediaan teknologi dan peluang pengembangan padi gogo. Dalam: Seminar IPTEK Padi pada Pekan Padi Nasional II. Balitpa, Sukamandi.

Yang, J., Z. Wang and Q. Zhu. 1995. Response of rice to water deficit stress and their relations with drought resistance. Proc. The 2 nd Asian Crop Sci. Conf., ACSA, Fukui, Japan.

Yoshida, S. 1981. Fundamentals of Rice Science. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

NILAI R_f DAN RENDEMEN MASSA FRAKSI-FRAKSI KOMPONEN ANTIBAKTERI PRODUK ETANOLISIS KASAR DARI *PALM KERNEL OIL* (PKO)

Murhadi dan A. Sapta Zuidar
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung,
Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No. 1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145

ABSTRACT

Based on our previous research, the crude ethanolysis product can be produced from Palm Kernel Oil (PKO) through an ethanolysis reaction in ethanol 95%-NaOH 1% solution (8:10; w/v) on hotplate-magnetic stirrer (1000 rpm) for 8 min at 40°C. The goal of this research is to know the effect of kind of organic solvents (non polar, semi polar, polar) and centrifuge's velocities (rpm) on antibacterial activity of fractions, R_f (retardaction factor)-value and mass yield of fraction compounds of PKO crude ethanolysis product. This research was conducted and crude ethanolysis product can be obtained at average yield of 52.89% (± 3.68%; w/w) at the same procedure (previous research). Centrifuge fractionation method using hexane, ethyl acetate, and destilated water on the crude ethanolysis product were resulted 1, 2, and 3 fractions, respectively. Centrifuge's velocity treatments (1000, 2000, 3000, 4000 rpm) in this research resulted the same of amount of fractions, and the d-values of each fractions against to each tested bacteria are not different, relatively. All of fractions have antibacterial activities toward B. cereus ATCC 11778 (d-values average of 18.47 ± 3.30 mm) and E. coli ATCC 25922 (14.26 ± 3.92 mm). Next fractionation of selected fractions using hexane: diethyl ether : formic acid (80:20:2; v/v/v) on TLC (tin layer chromatography), resulted each of 5 compounds that consist of monoglyceride (MG), diglyceride 1 (DG 1), diglyceride 2 (DG 2)), free fatty acid/methyl ester (FFA/ME), and triglyceride (TG) residue with average of R_f-values i.e. 0.04, 0.16, 0.23, 0.73, and 0.89, respectively. Mass yield of MG and DG i.e. 24.42% (± 1,96%) and 25.79% (± 2,31%), so totaly both of 50.21% (w/w).

Key words: PKO, ethanolysis, fraction, R_f -value, mass yield

PENDAHULUAN

Secara nasional, selama periode Tahun 2004 hingga 2008 yang lalu, produksi komoditas perkebunan mengalami peningkatan beragam berkisar antara -4,46 hingga 91,94 persen. Produksi perkebunan utama seperti kelapa sawit mengalami peningkatan mencapai 14,60 (Anonim, 2008). Data Ditjen Perkebunan mencatat perkebunan sawit yang diusahakan di Indonesia pada tahun 2008 seluas 7.007.876 Ha dengan produksi mencapai 18.089.503 Ton (Anonim, 2009a). Propinsi Lampung merupakan salah satu daerah paling potensial untuk menghasilkan produk-produk dari buah sawit. Pada tahun 2008 total luas areal perkebunan kelapa sawit di Provinsi Lampung mencapai 75.150 Ha (Perkebunan Besar Negara 11.379 Ha dan Perkebunan Besar Swasta 63.771 Ha) belum termasuk yang diusahakan rakyat (Perkebunan Rakyat/PR), terutama di lima Kabupaten, yaitu: Tulang Bawang, Way Kanan, Lampung Tengah, Lampung Utara, dan Lampung Barat (Anonim, 2009b).

Kebutuhan minyak kelapa sawit mentah (*crude palm oil*/CPO) diprediksi akan terus meningkat dari tahun ke tahun, baik itu untuk kepentingan bahan baku industri pangan maupun non pangan termasuk industri biodisel yang akhir-akhir ini sedang hangat

diperbincangkan. Dengan semakin berkembangnya areal perkebunan kelapa sawit (perkebunan rakyat, BUMN, PMDN, atau PMA) yang diikuti berkembangnya agroindustri pengolahan berbasis buah sawit untuk menghasilkan CPO untuk bahan baku produk pangan dan non pangan (biodiesel), maka diprediksi jumlah bungkil (inti sawit) yang dihasilkan juga akan melimpah jumlahnya. Minyak inti sawit (*palm kernel oil*/PKO) sebagai hasil samping dari agroindustri pengolahan CPO dapat mencapai rendemen 50% dari total inti sawit (Gurr, 1992).

Minyak inti sawit dapat diolah lebih lanjut dalam rangka penganekaragaman bahan tambahan pangan (BTP) menjadi produk yang lebih fungsional seperti produk mono-digliserida baik untuk kebutuhan industri pangan atau non pangan (kosmetik dan obat). Umumnya produk mono-digliserida (MG-DG) digunakan sebagai *emulsifier* pangan seperti dalam pembuatan produk margarin, es krim, keju, dan mentega kacang (Shunches *et al.*,1995; Igoe dan Hui, 1996). Produk MG-DG khususnya dari PKO sangat berpotensi sebagai BTP yang dapat berfungsi ganda (*two in* one) yaitu sebagai pengemulsi (emulsifier) sekaligus sebagai pengawet (antibacterial agent) pada bahan/produk pangan karena adanya aktivitas antimikroba khususnya dari fraksi monogliserida (MG) dengan kandungan asam lauratnya (12:0) yang tinggi.
Produksi MG-DG dalam bentuk produk etanolisis kasar dapat dihasilkan dari PKO melalui reaksi etanolisis menggunakan pelarut organik etanol 95% yang telah mengandung NaOH 1% (b/b PKO) sebagai katalis reaksi. Reaksi etanolisis pada minyak nabati khususnya pada trigliserida (TG) alami dapat melalui tiga tahapan reaksi, yaitu: (1) trigliserida bereaksi dengan etanol dalam suasana basa menghasilkan DG dan etil ester pertama dari posisis asam lemak ke 1/sn-1, (2) digliserida selanjutnya bereaksi dengan sisa etanol berlebih dalam suasana basa menghasilkan MG dan etil ester ke dua dari posisi asam lemak ketiga/sn-3, dan (3) jika reaksi berlanjut, MG akan bereaksi dengan sisa etanol berlebih dalam suasna basa menghasilkan gliserol dan etil ester ketiga dari posisi asam lemak kedua/sn-2 (Fillieres *et al.*, 1995; Hasanuddin *et al.*, 2003). Reaksi etanolisis terhadap TG dari CPO jauh lebih mudah dan cepat untuk menghasilkan DG dan etil ester pertama, dibandingkan dengan reaksi etanolisis terhadap DG untuk menghasilkan MG dan etil ester kedua, khusunya pada waktu reaksi antara 1 sampai 5 menit dengan rasio etanol/CPO 0.25 (v/b). Sebalinya pada waktu reaksi 5 sampai 8 menit etanolisis DG untuk menghasilkan MG dan etil ester ketiga, jauh lebih tinggi dari pada etanolisis TG dari CPO (Hasanuddin *et al.,* 2003).

Hasil penelitian kami sebelumnya, etanolisis PKO dengan etanol 95%-NaOH 1% (b/b PKO) pada komposisi 8:16 (b/v) yang diproduksi di atas hotplate-magnetic stirrer (1000 rpm) selama 8 menit (40^{o}C), menghasilkan rendemen rata-rata produk etanolisis kasar 24,90%. Produk etanolisis kasar tersebut memiliki aktivitas anti bakteri dengan nilai diameter (d; mm) zona hambat terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 11778, dan *E. coli* ATCC 25922, masing-masing adalah: 21,63 (± 3,66); 23,15 (± 1,62); dan 25,56 (± 2,82) mm (Murhadi *et al.*, 2010). Uji selanjutnya menunjukkan stabilitas emulsi santan kelapa dapat meningkat dari 16,67% (tanpa penambahan produk etanolisis; 0%) menjadi 32,73 % dengan penambahan produk etanolisis sebanyak 6% (v/v) ke dalam santan kelapar. Namun daya stabilitas emulsi santan kelapa pada penambahan produk etanolisis PKO sebanyak 2 dan 4% (v/v) relatif belum meningkatkan daya stabilitas emulsi santan kelapa (Murhadi, 2010a).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut organik (nonpolar, semipolar, polar) dan kecepatan putar (rpm) saat disentrifusi pada tahapan fraksinasi terhadap rendemen fraksi, antibakteri fraksi, dan pola sebaran komponen-komponen fraksi dari produk etanolisis kasar PKO.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan utama adalah minyak inti sawit (*palm kernel oil;* PKO) segar yang diperoleh dari industri pengolahan minyak inti sawit di Lampung Tengah. Bahan kimia terdiri dari heksana p.a., dietil eter p.a., etanol p.a., asam formiat p.a., etanol teknis, natriun sulfat anhidrat p.a., iodium kristal, dan sejumlah bahan kimia penunjang untuk analisis. Kultur bakteri terdiri dari *Bacillus cereus* ATCC 11778 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Media uji antibakteri terdiri dari NB (*Nutrient Broth*) dan NA (*Nutrient Agar*). Alat-alat terdiri dari: *hotplate-magnetic stirrer,* labu pemisah (*separating funnel*), corong Buchner, pompa vakum, kertas saring, kromatografi lapis tipis (KLT; silika gel 60 F_{254}, 20cm x 20 cm, tebal silika gel 0,25 mm), *chamber,* rotavapor, oven, lemari pendingin, dan alat-alat untuk uji antibakteri.

Perlakuan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan metode deskriptif (3 kali ulangan), perlakuan dengan 2 faktor percobaan, yaitu: (1) jenis pelarut organik terdiri dari 3 taraf; air, etil asetat dan heksan; dan (2) kecepatan putar centrifuge terdiri dari 4 taraf; 1000, 2000, 3000 dan 4000 rpm. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yang ditampilkan sebagai grafik dan tabel (termasuk StDev.).

Persiapan Bahan

Minyak inti sawit (PKO) segar yang diperoleh dari industri pengolahan kelapa sawit (PTPN VII Bekri, Lampung Tengah) dikeringkan di dalam oven 60^{o}C selama 6 jam untuk mengurangi kandungan air yang masih ada dalam PKO, disaring (kertas saring Whatman No. 42) sehingga dihasilkan PKO bebas kotoran, lalu dikemas di dalam botol berwarna dan bertutup, disimpan pada suhu ruang sebagai stok PKO untuk pelaksanaan penelitian ini. Sebagian PKO dianalisis kadar air, berat jenis, bilangan asam, bilangan Iod, dan komposisi asam-asam lemaknya menggunakan *Gas Chromatography* (GC).

Prosedur Percobaan

Reaksi etanolisis dilakukan mengikuti metode terbaik hasil penelitian tahun ke 1 (Murhadi dan Zuidar, 2009) dengan modifikasi. Sejumlah 80 mL etanol yang mengandung NaOH 1% (b/b PKO) dicampur dengan 50 g PKO (nisbah: 1,6; v/b), lalu diaduk (*strirrer*) pada kecepatan 1.000 rpm pada suhu 40^{o}C selama 8 menit. Setelah etanolisis PKO selesai, ke dalam media etanolisi tersebut ditambahkan 14 tetes HCl 35%, diaduk 1 menit, lalu dipisahkan di dalam labu pemisah, diamkan selama 15 menit. Lapisan atas diambil sebagai produk etanolisis kasar dari PKO. Lapisan atas (produk mono-digliserida kasar) dihilangkan pelarutnya dalam oven (60^{o}C) sampai berat konstan. Sebanyak 1,0 g produk etanolisis PKO dipusingkan (sentrifuge) dalam 5,0 ml (1:5, b/v) pelarut organik sesuai perlakuan.

Pemusingan berlangsung selama 15 menit pada kecepatan putar sesuai perlakuan (1000, 2000, 3000, dan 4.000 rpm). Fraksi-fraksi terpisah diuji aktivitas antibakterinya (metode difusi agar/sumur; Gariga *et al.*, 1983; Murhadi, 2010b) menggunakan 2 bakteri penguji (*E. coli* dan *B. cereus*). Fraksi-fraksi aktif (nilai d > 14,00 mm) dianalisis pola sebaran komponen MG, DG, asam lemak bebas/etil ester (ALB/EE), dan TG sisa (nilai R_f), dihitung masing-masing rendemen massanya, menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel 60 F_{254}, 20cm x 20 cm, tebal silika gel 0,25 mm.

Prosedur Pengamatan Pola Sebaran Komponen dalam Fraksi

Pola sebaran fraksi MG, DG, ALB/EE dan TG sisa dari sampel produk etanolisis PKO dianalisis menggunakan metode KLT (Mappiratu, 1999). Plat KLT diaktifkan di dalam oven 100^{o}C selama 60 menit. Produk etanolisis PKO ditotolkan pada plat KLT lalu dimasukkan ke dalam *chamber* berisisi 30 ml campuran heksana/dietileter/asam formiat = 80:20:2 (v/v/v) yang telah dijenuhkan 1 jam. Proses elusi dijalankan sekitar 90 menit, lalu plat KLT dikeluarkan dan dibiarkan hingga kering, diamati di bawah sinar lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm dan/atau dimasukkan ke dalam *chamber* lain yang telah dijenuhkan dengan uap iodium untuk menampakkan spot/noda terpisah dalam rangka penentuan fraksi-fraksi MG, DG, ALB dan TG sisa yang terpisah. Selanjutnya ditentukan nilai R_f (*retardation factor*) masing-masing fraksi yang terpisah jelas.

Noda-noda pada plat KLT yang memiliki nilai R_f tertinggi sampai terendah berturut-turut adalah TG, ALB, DG, dan MG (Mappiratu, 1999). Nilai R_f. adalah perbandingan jarak pusat suatu noda ke titik awal spot (mm) dengan jarak terjauh yang dicapai pengembang dari titik awal spot (mm) pada KLT. Koleksi MG dan DG dilakukan menggunakan KLT silika gel preparatif, dikerok lalu dilarutkan ke dalam pelarut yang sesuai (dietil eter), disaring, diuapkan pelarutnya (oven 60^{o}C) sampai berat tetap, lalu ditimbang. Rendemen fraksi massa MG dan DG, masing-masing dihitung dengan cara membagi berat (g) MG atau DG dengan berat (g) awal produk etanolisis dari PKO yang sudah bebas pelarut dan kering, lalu dikali 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Produk Etanolisis Kasar dari PKO Komersial

Rendemen rata-rata produk etanolisis kasar dari PKO Komersial mencapai 52,89% (± 3,68%; b/b; Tabel 1), jauh lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen produk etanolisis PKO hasil penelitian sebelumnya (24,90%, b/b; Murhadi *et al.,* 2010). Hasil analisis terhadap PKO yang diperoleh dari pabrik pengolahan buah sawit, di antaranya memiliki kadar air 0,40%, berat jenis 0,9450, kandungan asam laurat 32,94%, miristat 11,22%, stearat 12,56%, dan oleat 1,38%. Kandungan asam laurat, miristat, oleat yang lebih rendah dan stearat yang lebih tinggi pada PKO komersial bila dibandingkan dengan PKO hasil ekstrasi sendiri pada penelitian sebelumnya (Murhadi *et al.,* 2010), mengindikasikan adanya campuran CPO ke dalam PKO komersial. Komposisi asam-asam lemak dalam PKO komersial dan PKO hasil *solvent extractian* dengan heksana (soxhlet), disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Rendemen produk etanolisis kasar (lapisan atas) dari reaksi etanolisis PKO (3 ulangan)

Ulangan	Berat PKO awal (g)	Lapisan Bawah (g)	Lapisan Atas (g)	Rendemen Produk Etanolisis (%)	Rendemen Rata-rata (± St.Dev; %)
1	50,00	23,38	26,62	53,24	52,89 (± 3,68)
2	50,00	21,81	28,19	56,38	
3	50,00	25,48	24,52	49,04	

Fraksinasi Produk Etanolisis Kasar dari PKO

Hasil fraksinasi terhadap produk etanolisis kasar dari PKO untuk masing-masing perlakuan pelarut organik, diperoleh:

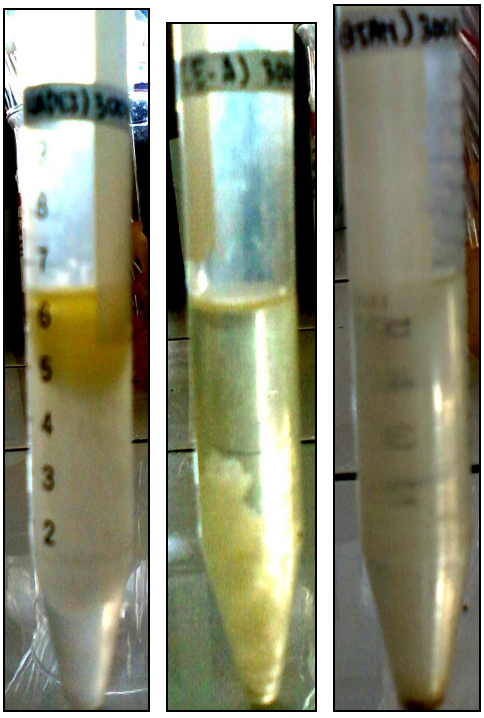
1. Tiga fraksi terpisah, yaitu Fraksi 1 (atas, kuning), Fraksi 2 (tengah, puth keruh) dan Fraksi 3 (bawah, putih jernih) untuk perlakuan dengan pelarut akuades;
2. Dua fraksi, yaitu Fraksi 1 (atas, kuning pucat jernih) dan Fraksi 2 (bawah, berupa gel putih); dan
3. Relatif tidak terjadi pemisahan untuk perlakuan dengan pelarut heksana, selengkapnya disajikan pada Gambar 1.

Selanjutnya masing-masing fraksi terpisah dari masing-masing perlakuan, diuji aktivitas antibakterinya menggunakan dua bakteri penguji yaitu bakteri Gram negatif *Escherichia coli* (Gambar 2) dan bakteri Gram positif berspora *Bacillus cereus* (Gambar 3).

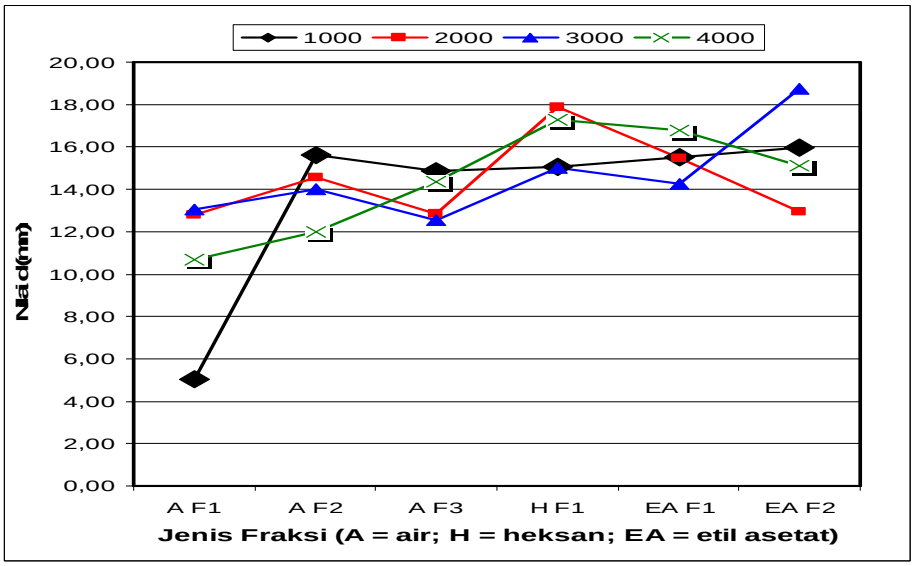
Tabel 2. Jenis dan konsentrasi asam-asam lemak dalam PKO

No	Jenis Asam Lemak	Konsentrasi Asam Lemak (%)	
		Hasil Penelitian	Pustaka Sebelumnya*
1. Asam Lemak Jenuh (ALJ)			
1	Asam Kaprilat (C8:0)	2,63	3,87
2	Asam Kaprat (C10:0)	2,32	3,50
3	Asam Laurat (C12:0)	32,94	49,39
4	Asam Miristat (C14:0)	11,22	15,35
5	Asam Palmitat (C16:0)	5,08	8,16
6	Asam Stearat (C18:0)	12,56	0,55
7	Asam Arakhidat (C20:0)	0	0,08
	Total ALJ	66,75	80,89
2. Asam Lemak Tidak Jenuh (ALTJ)			
1	Asam Oleat (C18:1, n-9)	1,38	15,35
2	Asam Linoleat (C18:2, n-6)	0	3,10
3	Asam 11-Eicosanoat (C20:1, n-9)	0,13	0
	Total ALTJ	1,50	18,45
3. Asam Lemak Unknown (ALU)		0,08	0,07
	TOTAL ASAM LEMAK	68,33	99,42

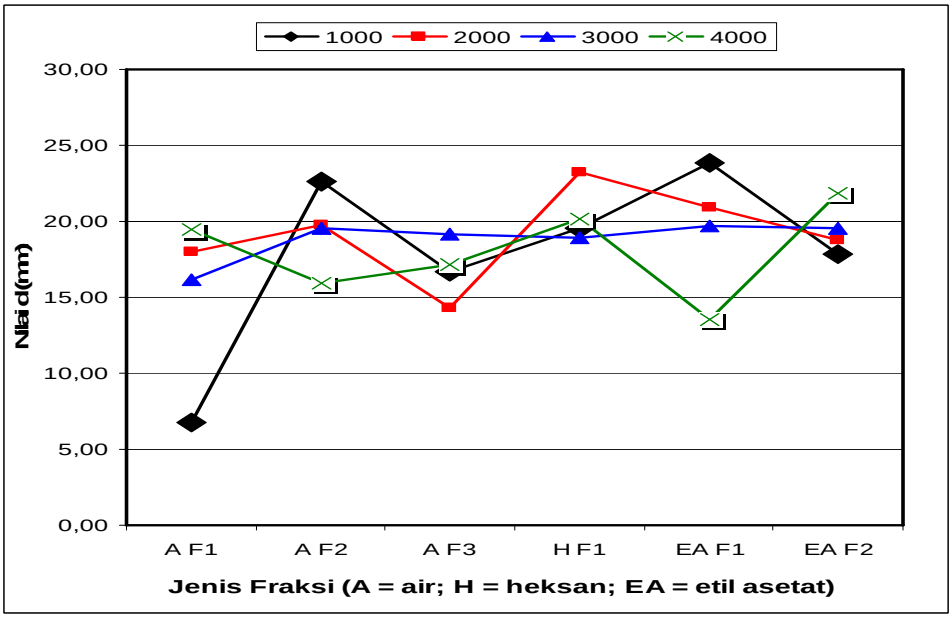
** Murhadi* et al. *(2010)*



Gambar 1. Hasil fraksinasi produk etanolisis kasar dari PKO menggunakan pelarut akuades (polar; A), etil asetat (semi polar; B), dan heksana (non polar; C) pada kecepatan putar 3000 rpm



Gambar 2. Grafik aktivitas anti-*E. coli* masing-masing fraksi hasil pemisahan dari produk etanolisis kasar dari PKO

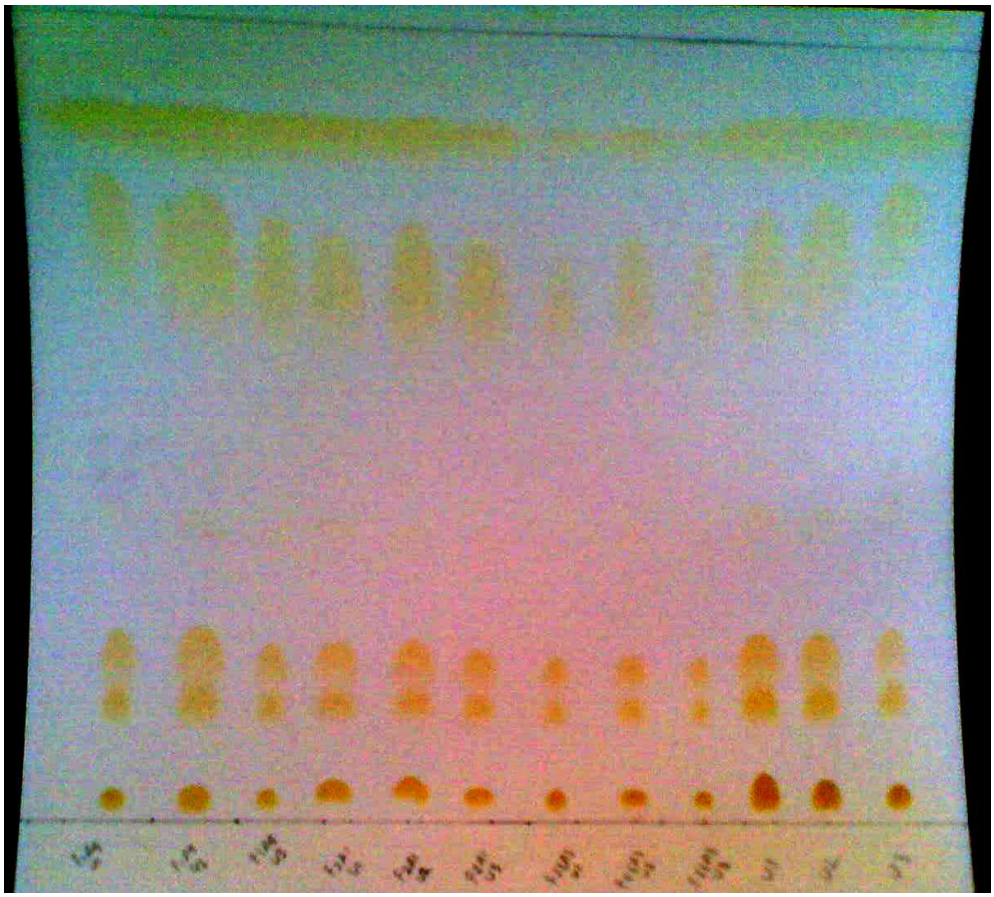


Gambar 3. Grafik aktivitas anti-*B. cereus* masing-masing fraksi hasil pemisahan dari produk etanolisis kasar dari PKO

Tabel 3. Rata-rata nilai diameter (d, mm, A) dan standar deviasinya (mm, B) zona hambat masing-masing fraksi untuk kedua bakteri penguji

No	Kecepatan Putar (rpm)	PELARUT/FRAKSI						Rata-rata
		AIR			HEKSANA	ETIL ASETAT		
		AF1	AF2	AF3	HF1	EAF1	EAF2	
A	1000	5,89	19,11	15,78	17,30	19,66	16,89	15,77
	2000	15,41	17,16	13,58	20,55	18,20	15,85	16,79
	3000	14,61	16,77	15,86	16,98	16,95	19,11	16,71
	4000	15,07	13,96	15,75	18,72	15,15	18,48	16,19
	Rata-rata	12,75	16,75	15,24	18,39	17,49	17,58	16,37
B	1000	10,20	4,74	1,67	3,33	7,50	2,54	5,00
	2000	2,56	3,21	3,67	4,50	6,13	2,51	3,76
	3000	2,55	2,26	2,32	1,86	2,13	3,31	2,41
	4000	3,14	2,28	1,54	2,83	6,73	3,11	3,27

Rata-rata	4,61	3,12	2,30	3,13	5,62	2,87	3,61



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Gambar 4. Hasil pemisahan fraksi-fraksi dan produk etanolisis kasar dari PKO menggunakan TLC

Keterangan:

1 = Fraksi F1A4 ulangan 1, 2 = Fraksi F1A4 ulangan 2,
3 = Fraksi F1A4 ulangan 3, 4 = Fraksi F2A1 ulangan 1,
5 = Fraksi F2A1 ulangan 2, 6 = Fraksi F2A1 ulangan 3,
7 = Fraksi F2EA3 ulangan 1, 8 = Fraksi F2EA3 ulangan 2,
9 = Fraksi F2EA3 ulangan 3, 10 = Produk Etanolisis ulangan 1
11= Produk Etanolisis ulangan 2 12 = Produk Etanolisis ulangan 3

Rata-rata nilai diameter (d, mm) zona hambat masing-masing fraksi untuk kedua bakteri penguji tersebut, disajikan pada Tabel 3. Aktivitas antibakteri Fraksi 2 (gel putih) dari produk etanolisis PKO dengan pemisahan menggunakan pelarut etil asetat relatif lebih tinggi dibandingkan dengan Fraksi 1 (cairan kuning pucat), sedangkan dengan menggunakan air, Fraksi 2 (tengah, putih keruh) dan Fraksi 3 (bawah, putih jernih)

relatif lebih tinggi aktivitas antibakterinya dibandingkan Fraksi 1 (lapisan atas, kuning). Secara umum pemisahan menggunakan ketiga pelarut tersebut pada kecepatan putar 1000 sampai 4000 rpm belum dapat memisahkan secara sempurna fraksi-fraksi aktif antibakteri dalam produk etanolisis kasar dari PKO. Oleh karena itu dilakukan pemisahan lanjut terhadap 2 fraksi yang paling aktif (EAF2 3000 rpm dan AF2 1000 rpm) dan 1 fraksi moderat (AF1 4000 rpm) menggunakan TLC atau kromatografi lapis tipis (KLT).

Fraksinasi Lanjut dengan TLC

Fraksinasi lanjut dengan TLC dilakukan terhadap fraksi AF1 4000 rpm (disingkat F1A4), AF2 1000 rpm (disingkat F2A1), EAF2 3000 rpm (disingkat F2EA3), dan produk etanolisis kasar PKO. Hasil fraksinasi dapat memisahkan masing-masing fraksi dan produk etanolisis PKO menjadi masing-masing 5 komponen, berturut-turut adalah komponen monogliserida (MG), digliserida 1 (DG1), digliserida 2 (DG 2), asam lemak bebas atau etil ester (ALB/EE), dan trigliserida (TG), seperti diperlihatkan pada Gambar 4. Berdasarkan hasil pemisahan komponen tersebut dapat diketahui pola sebaran MG, DG, ALB/EE, dan TG sisa pada masing-masing fraksi dan produk etanolisis PKO dengan menghitung nilai R_f (*retardation factor*) untuk masing-masing komponen yang terpisah seperti disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai R_f (*retardation factor*) masing-masing komponen yang terpisah dari masing-masing fraksi dari produk etanolisis kasar PKO

NO	KODE	ULANGAN	NILAI R_f				
			MG	DG1	DG2	ALB/EE	TG sisa
1	F1A4	1	0,0321	0,1603	0,2197	0,7396	0,8702
		2	0,0324	0,1616	0,2215	0,7098	0,8757
		3	0,0301	0,1599	0,2132	0,6852	0,8729
		Rata-rata	0,03	0,16	0,22	0,71	0,87
2	F2A1	1	0,0372	0,1606	0,2118	0,6837	0,8699
		2	0,0398	0,1614	0,2128	0,6869	0,8740
		3	0,0377	0,1598	0,2067	0,6854	0,8780
		Rata-rata	0,04	0,16	0,21	0,69	0,87
3	F2EA3	1	0,0306	0,1528	0,2021	0,6808	0,8804
		2	0,0283	0,1510	0,2030	0,6910	0,8822
		3	0,0377	0,1598	0,2067	0,6854	0,8780
		Rata-rata	0,03	0,15	0,20	0,69	0,88

Pola sebaran fraksi MG, DG, ALB dan TG sisa dari sampel produk etanolisis PKO dengan noda-noda pada plat TLC berturut-turut memiliki nilai R_f terendah sampai tertinggi (Mappiratu, 1999). Diketahui bahwa nilai R_f. adalah perbandingan jarak pusat suatu noda ke titik awal spot (mm) dengan jarak terjauh yang dicapai pengembang dari titik awal spot (mm) pada TLC.

Rendemen Massa Komponen Fraksi

Rendemen massa masing-masing kompoken untuk setiap fraksi dan produk etanolisis PKO, disajikan pada Tabel 5. Rendemen fraksi massa komponen, masing-masing dihitung dengan cara membagi berat masing-masing komponen dengan berat total

gabungan komponen yang sudah bebas pelarut dan kering, lalu dikali 100%. Dalam perhitungan rendemen massa komponen, massa komponen digliserida 1 dan 2 (DG1 dan DG 2) digabung, karena nilai R_f-nya berdekatan, dan ditimbang sebagai total digliserida.

Hasil pemisahan lanjut menggunakan TLC terhadap fraksi-fraksi dan produk etnolisis kasar dari PKO menghasilkan 5 komponen terpisah dengan rendemen yang hampir seimbang antara komponen MG, DG dan ALB/EE, kecuali TG sisa lebih kecil jumlahnya. Total rendemen gabungan MG dan DG (DG1 dan DG2) rata-rata antara 48,44% sampai dengan 52,33%. Diduga dengan kandungan gabungan MG dan DG antar fraksi relatif seimbang dan sama sekitar 50%, menyebabkan daya antibakterinya juga relatif sama, yaitu dengan nilai dimeter zona hambat, d rata-rata adalah 16,37 mm. Kedua komponen MG dan DG inilah yang berkontribusi sebagai substansi antimikroba terutama yang telah terbukti dari minyak kelapa (coconut oil; Mappiratu, 1999) sekaligus sebagai senyawa penstabil emulsi atau emulsifier.

Tabel 5. Rendemen massa masing-masing komponen yang terpisah dari masing-masing fraksi dan produk etanolisis kasar PKO

NO	KODE	ULANGAN	RENDEMEN (%)				
			MG	DG 1+ DG2	ALB/EE	TG	MG+ DG1 +DG2
1	F1A4	1	22,85	24,95	27,46	24,75	47,80
		2	22,87	25,22	27,88	24,03	48,09
		3	26,76	26,97	21,34	24,93	53,73
		Rata-rata Rendemen	24,16	25,71	25,56	24,57	49,87
		StDev	2,25	1,10	3,66	0,47	3,35
2	F2A1	1	21,09	29,61	24,90	24,40	50,70
		2	22,06	21,36	30,96	25,63	43,41
		3	25,44	25,77	25,67	23,11	51,22
		Rata-rata Rendemen	22,86	25,58	27,18	24,38	48,44
		StDev	2,29	4,13	3,30	1,26	4,36
3	F2EA3	1	25,79	25,61	24,98	23,62	51,40
		2	27,76	27,98	28,14	16,13	55,73
		3	25,17	24,68	25,05	25,10	49,84
		Rata-rata Rendemen	26,24	26,09	26,06	21,62	52,33
		StDev	1,35	1,70	1,80	4,81	3,05

KESIMPULAN

Hasil fraksinasi terhadap produk etanolisis kasar dari PKO, diperoleh: (1) tiga fraksi terpisah, yaitu Fraksi 1 (atas, kuning), Fraksi 2 (tengah, puth keruh) dan Fraksi 3 (bawah, putih jernih) untuk perlakuan dengan pelarut akuades; (2) dua fraksi, yaitu

Fraksi 1 (atas, kuning pucat jernih) dan Fraksi 2 (bawah, berupa gel putih); dan (3) relatif tidak terjadi pemisahan untuk perlakuan dengan pelarut heksana. Aktivitas antibakteri Fraksi 2 dari pemisahan menggunakan pelarut etil asetat relatif lebih tinggi dibandingkan dengan Fraksi 1 (cairan kuning pucat), sedangkan dengan menggunakan air, Fraksi 2 (tengah, putih keruh) dan Fraksi 3 (bawah, putih jernih) relatif lebih tinggi aktivitas antibakterinya dibandingkan Fraksi 1 (lapisan atas, kuning). Secara umum pemisahan menggunakan ketiga pelarut tersebut pada kecepatan putar 1000 sampai 4000 rpm belum dapat memisahkan secara sempurna fraksi-fraksi aktif antibakteri dalam produk etanolisis kasar dari PKO.

Hasil fraksinasi lanjut dapat memisahkan masing-masing fraksi dan produk etanolisis PKO menjadi masing-masing 5 komponen, berturut-turut adalah komponen monogliserida (MG), digliserida 1 (DG1), digliserida 2 (DG 2), asam lemak bebas atau etil ester (ALB/EE), dan trigliserida (TG) dengan nilai rata-rata R_f (*retardation factor*) masing-masing adalah 0,04; 0,16; 0,23; 0,73; dan 0,89. Rendemen massa masing-masing komponen terpisah tersebut hampir seimbang sekitar 25% kecuali TG sisa lebih kecil jumlahnya. Total rendemen gabungan monogliserida (MG) dan digliserida (DG) rata-rata antara 48,44% sampai dengan 52,33%. Diduga dengan kandungan gabungan MG dan DG antar fraksi relatif seimbang dan sama sekitar 50%, menyebabkan daya antibakterinya juga relatif sama, yaitu dengan nilai dimeter zona hambat, d rata-rata adalah 16,37 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Lampung, melalui Lembaga Penelitian Unila, yang telah menyetujui pembiayaan penelitian Hibah Bersaing Tahun ke-2 melalui dana DIPA APBN Unila T.A. 2010 berdasarkan Surat Perjanjian Kontrak Pelaksanaan Penelitian Nomor : 2644.B/H26/KU/2010, Tanggal 14 Juni 2010.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2008. Program dan Kegiatan Departemen Pertanian Tahun 2009. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Jakarta.

Anonim. 2009a. Luas Areal dan Produksi Perkebunan Seluruh Indonesia Menurut Pengusahaan (7 komoditi: kopi, sawit, kakao, lada, tebu, kelapa dan karet). http://ditjenbun.deptan.go.id/cigraph/index.php/viewstat/ komoditiutama/. Diakses Tangal 15 Juli 2009.

_____. 2009b. Lampung Dalam Angka 2009. BPS Provinsi Lampung. CV. Mulya Abadi. Bandar Lampung.

Fillieres, R., B.B. Mlayah, and M.Delmas. 1995. Ethanolysis of repeseed oil: Quantitation of ethyl esters, mono, di, and triglycerides and glycerol by high-performance size-exclusion chromatography. J. Am. Oil Chem. Soc. 72(4): 427-432.

Gariga, M., M. Hugas, T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. App. Bacteriol. 75:142-148.

Gurr, M.I. 1992. Role of Fats in Food and Nutrition. Elsevier Appl. Sci. New York.

Hasanuddin, A., Mappiratu, dan G.S. Hutomo. 2003. Pola Perubahan Mono dan Diasilgliserol dalam Reaksi Etanolisis Minyak Sawit Mentah. J. Teknol. dan Industri Pangan. XIV(3): 241-246.

Igoe, R.S and Y.H. Hui. 1996. Dictionary of Food Ingredients. Champman & Hall. New York.

Mappiratu. 1999. Penggunaan Biokatalis Dedak Padi dalam Biosintesis Antimikroba Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa. Disertasi S3. PPs IPB. Bogor.

Murhadi dan A.S. Zuidar. 2009. Penganekaragaman Bahan Tambahan Pangan (BTP) berbasis Minyak Inti Sawit. Laporah Akhir HB Tahun Pertama. Lembaga Penelitian Unila. Bandar Lampung.

*Murhadi. 2010. The Emulsion Stability of Coconut (*Cocos nucifera *L.) Milk Added with Ethanolysis Product from Palm Kernel Oil (*Elaeis queneensis *Jack). Proceeding International Seminar on Horticulture to Support Food Security 2010, June 22-23, 2010. Bandar Lampung. Hal. B-223 – B-229.*

_____. 2010b. Antimikroba dari Tanaman: Golongan Senyawa, Sumber, dan Aktivitasnya (Buku Referensi; ISBN 978-979-8510-16-8). Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Murhadi, A.S. Zuidar, and A.Rahman. 2010. Yield and antibacterial activities of crude ethanolysis products of PKO produced on different temperatures reaction. Oral Presentation on International Seminar: Emerging Issues and Technology Developments in Food and Ingredients, Jakarta – Indonesia, September 29th – 30th, 2010.

Sanches, C., C.F. Klopfenstein, and C.E. Walker. 1995. Use of carbohydrate-based fat shotbread cookies. Cereal Chem. 72(1):25-29.

PENGARUH FREKUENSI APLIKASI HARA MIKRO TERHADAP PRODUKSI UBIKAYU DI BLAMBANGAN, WAY KANAN

M. Syamsoel Hadi
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Email: msyamshadi@yahoo.co.id

ABTRACT

An experiment to investigate the effects of frequency of micronutrients application on cassava production was conducted in Rebang Village, Blambangan Umpu – Way Kanan from January 2009 to February 2010. The experiment was set in Split Plot Design with variety (BW1 and Kasetsart) as main factor and frequency of micronutrients application (0, 1, 2, and 3 times) as sub factor with 3 replications. Experiment plots were arranged in 5 m x 5 m for every experimental unit. The experiment showed that micronutrients applied together with basic fertilizers (1 application) resulted in the highest number of tubers per plant, occurred for variety BW1. Frequency of micronutrient application significantly increase tuber weight per plant at 7-month-old cassava. However, there was no significant difference among 1, 2, and 3 times applications. The result indicated that the number of tubers per plant can be a predictor for tuber weight per plant at 7-months-old cassava (early harvest).
Keywords: micronutrient, cassava.

PENDAHULUAN

Ubikayu adalah merupakan komoditas yang dibutuhkan selain sebagai bahan pangan juga untuk keperluan bahan baku banyak industri, seperti tapioka dan turunannya, kertas, etanol, dan lainnya.

Sebagian besar (hampir 60%) produksi ubikayu dunia dihasilkan oleh 5 negara, yaitu Brazil, Indonesia, Kongo, Nigeria, dan Thailand. Lampung adalah merupakan penghasil ubikayu terbesar dibanding provinsi lainnya di Indonesia. Luas pertanaman ubikayu di Lampung khususnya, walaupun berfluktuasi namun telah berkembang cukup pesat sejak tahun 1960an hingga saat ini. Sebagai gambaran, produktivitas ubikayu di Lampung pada tahun 2006 rata-rata telah mencapai hampir 19,4 ton/ha dengan luas panen 283.430 ha (BPS Lampung, tanpa tahun). Tanaman ubikayu merupakan salah satu komoditi pertanian penting di Provinsi Lampung yang secara signifikan turut menentukan kesejahteraan petani di beberapa daerah di Lampung. Walaupun Kabupaten Way Kanan tidak termasuk sentra ubikayu di Lampung, tetapi akhir akhir terlihat adanya peningkatan luas areal pertanaman ubikayu (17.690 ha pada tahun 2006) yang mungkin diakibatkan oleh semakin membaiknya harga ubikayu dan bertambahnya jumlah pabrik tapioka baik besar maupun kecil di daerah ini.
Walaupun ubikayu dapat tumbuh pada tanah-tanah miskin hara, tanaman ini sangat responsif terhadap aplikasi pemupukan (FAO, 1980). Hara mikro esensial (seperti B, Fe, Zn, Cu, dan Mn) dibutuhkan tanaman dalam jumlah sangat sedikit (< 30 mmol/kg bahan kering), namun demikian hara ini berperan sama pentingnya dengan hara makro. Hara mikro umumnya berperan sebagai katalis atau aktivator enzim (Hopkins, 1995). Praktek penggunaan unsur hara mikro dalam budidaya ubikayu masih tergolong jarang dilakukan. Kalaupun dilakukan, aplikasi hara mikro hanya terbatas pada petani tertentu, hal ini

mungkin berkaitan dengan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan ekonomi petani. Masalah lain khususnya yang muncul di tanah tanah yang banyak mengandung pasir, seperti di Way Kanan, adalah kemungkinan adanya proses pencucian hara yang cukup tinggi yang sering tanpa disadari mengakibatkan terjadinya defisiensi hara mikro pada tanaman ubikayu. Namun demikian, informasi tentang hasil ubikayu sebagai akibat dari aplikasi hara mikro khususnya untuk daerah Way Kanan masih sangat terbatas. Dengan demikian perlu dipikirkan upaya meminimumkan kehilangan unsur hara, misal frekuensi aplikasi.

Frekuensi aplikasi unsur hara satu kali seringkali dilakukan dengan pertimbangan penghematan biaya dan tenaga kerja. Masih terdapat beda pendapat mengenai berapa kali sebaiknya unsur hara (baik makro maupun mikro) diaplikasikan terhadap ubikayu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi aplikasi hara mikro terhadap produksi ubikayu di Blambangan, Way Kanan.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan mulai Januari 2009 sampai dengan Februari 2010 di Desa Rebang, Blambangan Umpu–Way Kanan.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan bahan-bahan sebagai berikut: dua varietas ubikayu (BW-1 dan Kasetsart), urea, TSP, KCl, dan hara mikro (Dekamikro), mistar, dan, timbangan.

Penelitian dilakukan dalam Rancangan Petak Terpisah (*Split Plot Design*) dengan varietas (BW-1 dan Kasetsart) sebagai petak utama dan frekuensi aplikasi hara mikro (0 kali, 1 kali, 2 kali, dan 3 kali) sebagai anak petak dan diulang 3 kali. Petak percobaan berukuran 5 m x 5 m untuk setiap satu satuan percobaan. Data dianalisis ragam dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan menggunakan program SAS (Ver. 6.12.0.1).

Tanah diolah (dibajak) 2 kali dengan menggunakan traktor dan dilanjutkan dengan pembuatan guludan (*ridger*) setinggi kira-kira 30 cm. Dua varietas ubikayu ditanam pada guludan dengan jarak tanam 1 m x 1 m. Setek ubikayu yang ditanam berukuran panjang 25 cm dengan diameter 2,0–2,5 cm. Dosis pupuk yang diaplikasikan adalah 150 kg urea/ha, 100 kg TSP/ha, dan 200 kg KCl/ha, serta 5 kg Dekamikro (mengandung hara-hara mikro)/ha. Pemupukan urea dan KCl dilakukan 2 kali, yaitu masing-masing setengah dosis pada umur 2 bulan dan 4 bulan setelah tanam, sedangkan pupuk TSP diberikan seluruhnya pada pemupukan pertama bersamaan dengan pemupukan urea dan KCl. Pemupukan hara mikro dilakukan dengan dosis total yang sama untuk semua perlakuan. Pemupukan frekuensi 1X diberikan seluruhnya bersamaan dengan pelaksanaan pupuk dasar (urea, TSP, dan KCl) yaitu ketika tanaman berumur 2 bulan, sedangkan frekuensi 2 X dilakukan pada umur 2 bulan dan 3 bulan, dan untuk frekuensi 3 X dilakukan pada saat tanaman berumur 2, 3, dan 4 bulan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua varietas ubikayu (Kasetsart dan BW1) tidak menunjukkan adanya perbedaan potensi produksi secara signifikan yang terlihat dari

semua variabel yang diamati yaitu jumlah umbi, bobot umbi per tanaman baik pada umur 7 bulan maupun 13 bulan, serta pertambahan bobot umbi per tanaman dan per umbi.

Tabel 1. Pengaruh frekuensi aplikasi hara mikro terhadap jumlah umbi per tanaman dua varietas ubikayu

Varietas	Frekuensi aplikasi			
	Tanpa	1 X	2X	3X
BW1	7,0 a	19,7 b	12,0 a	12,3 a
Kasetsart	7,3 a	7,3 a	8,0 a	10,7 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,01$) baik pada arah vertikal maupun horizontal.

Pada dasarnya kedua varietas mempunyai potensi produksi besar mengingat jumlah umbinya yang > 7, sesuai dengan yang dinyatakan Ispandi dan Lawu (2004) dalam Ispandi dan Munip (2005). Pemberian hara mikro sekaligus bersamaan dengan pemupukan dasar (frekuensi 1 X) menghasilkan jumlah umbi terbanyak pada varietas BW1 (Tabel 1). Hasil ini memberikan indikasi bahwa potensi produksi ubikayu BW1 masih dapat ditingkatkan dengan aplikasi hara mikro. Hasil ini mirip dengan yang diperoleh Jegathambal dan Shanmugam (2005) dimana penambahan unsur mikro dapat meningkatkan jumlah umbi per tanaman.

Hasil ini menunjukkan bahwa penyertaan hara mikro khususnya pada varietas BW1 bersamaan dengan pemupukan pertama akan memberikan potensi hasil lebih baik. Di lain pihak, para petani tidak harus mengeluarkan biaya tambahan, yang biasanya menjadi salah satu alasan keengganan petani menambahkan pupuk mikro karena harus mengeluarkan biaya tambahan untuk tenaga kerja.

Frekuensi aplikasi hara mikro secara signifikan meningkatkan bobot umbi per tanaman umur 7 bulan, namun demikian tidak terdapat perbedaan antara 1 X, 2 X, dan 3 X. Pemanenan dini (umur 7 bulan) biasa dilakukan petani dengan hasil yang umumnya rendah (< 20 ton/ha). Hasil penelitian ini menunjukkan pemanenan dini yang diaplikasi hara mikro dapat memberikan hasil yang lebih tinggi (Tabel 2) dengan potensi hasil dapat mencapai > 30 ton/ha, dengan asumsi populasi 10.000 tanaman/ha. Namun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian hara mikro (dengan berbagai frekuensi) tidak mempengaruhi hasil ketika ubikayu dipanen pada usia dewasa (13 bulan). Nampaknya, unsur hara mikro hanya dibutuhkan tanaman ubikayu ketika tanaman masih tergolong muda, yaitu ketika tanaman sedang mengalami fase pertumbuhan cepat dan aktif mentranslokasikan fotosintat ke bagian akar, seperti telah dinyatakan oleh Oyetunji dkk (tanpa tahun). Kemungkinan lain, hara mikro yang diaplikasikan telah mengalami pencucian ketika tanaman semakin dewasa mengingat tekstur tanah di lokasi penelitian mempunyai kadar pasir yang cukup tinggi. Sudah menjadi pengetahuan umum bahwa defisiensi hara mikro sering terjadi di tanah-tanah dengan kandungan pasir tinggi atau diusahakan secara intensif dengan pemupukan berat (Street dan Kidder, 1997).

Pertambahan bobot umbi per tanaman tidak secara signifikan dipengaruhi oleh frekuensi aplikasi hara mikro. Bahkan, pertambahan bobot per umbi dalam rentang waktu 6 bulan cenderung menurun dengan adanya aplikasi hara mikro. Hal ini sesuai dengan Howeler (2002) yang menunjukkan bahwa kandungan beberapa hara mikro (B, Cu, Mn, dan Zn) pada umbi ubikayu yang dipanen pada umur 12 bulan berada pada kadar < 40% dari total kandungan hara mikro yang bersangkutan. Sebagian besar unsur hara mikro lebih banyak dibutuhkan untuk pembentukan batang dan daun, yang terjadi sampai pada fase pertumbuhan aktif.

Tabel 2. Pengaruh frekuensi aplikasi hara mikro terhadap bobot umbi dan pertambahan bobot umbi sampai umur 13 bulan pada tanaman ubikayu

Frekuensi	Bobot Umbi (kg/tanaman)		Pertambahan Bobot	
	Umur 7 bulan	Umur 13 bulan	Per Tanaman	Per Umbi
Tanpa	1,9000 a	7,1000 a	5,2000 a	0,7667 b
1X	3,9167 b	7,5317 a	3,6150 a	0,3867 a
2X	3,3667 b	7,8400 a	4,4733 a	0,4700 ab
3X	4,1000 b	8,0817 a	3,9817 a	0,4117 a
BNT (0,05%)	1,4422	1,1604	2,1260	0,3257

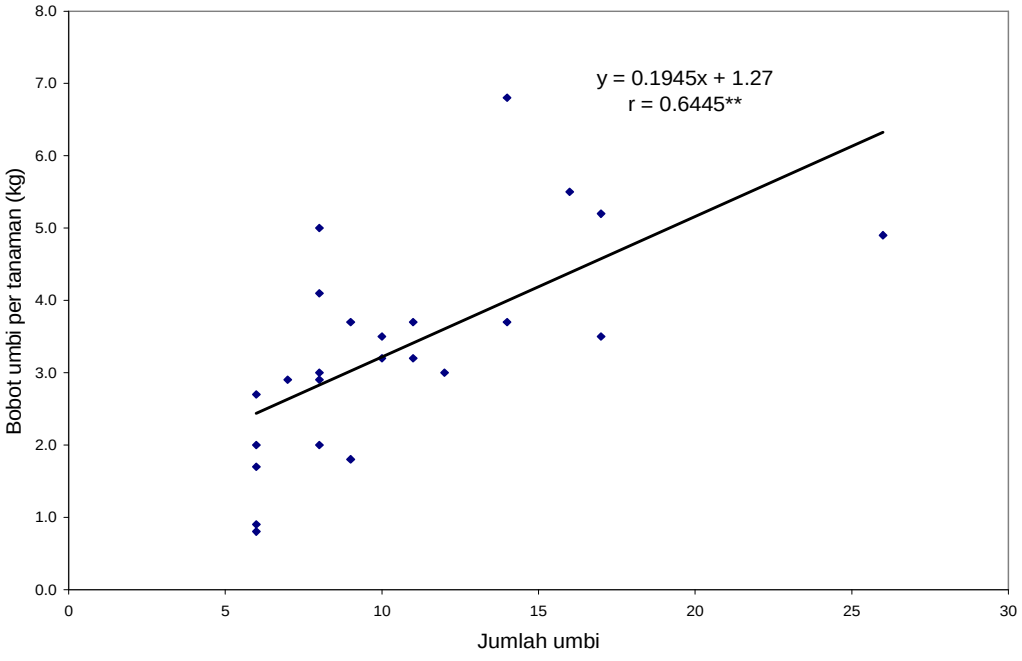
Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,01$) pada arah vertikal.

Adanya korelasi positif antara jumlah umbi per tanaman dengan bobot umbi per tanaman umur 7 bulan (Tabel 3), mengindikasikan bahwa jumlah umbi per tanaman dapat digunakan sebagai penduga hasil produksi ketika dilakukan pemanenan dini. Pemanenan dini biasa dilakukan petani dalam keadaan terpaksa dan mendesak. Hasil analisis (Gambar 1) menunjukkan adanya penambahan sebesar 0,19 kg umbi per tanaman (panen umur 7 bulan) untuk setiap penambahan jumlah umbi.

Tabel 3. Koefisien korelasi antar variabel pengamatan pada tanaman ubikayu

	JMLUMBI	BUMB7	BUMB13	DELTAN	DELUMB
JMLUMBI	-	0,64446**	0,06558	-0,52979	-0,78432
BUMB7	0,64446**	-	0,00481	-0,86989	-0,91616
BUMB13	0,06558	0,00481	-	0,48904	0,09009
DELTAN	-0,52979	-0,86989	0,48904	-	0,84357**
DELUMB	-0,78432	-0,91616	0,09009	0,84357**	-

Keterangan: JMLUMBI: Jumlah umbi; BUMB7: Bobot umbi per tanaman umur 7 bulan; BUMB13: Bobot umbi per tanaman umur 13 bulan; DELTAN: ertambahan bobot umbi per tanaman selama 6 bulan; DELUMB: pertambahan bobot per umbi selama 6 bulan.



Gambar 1. Hubungan jumlah umbi dengan bobot umbi per tanaman ubikayu (umur 7 bulan) di Way Kanan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian hara mikro sekaligus bersamaan dengan pemupukan dasar (frekuensi 1 X) menghasilkan jumlah umbi terbanyak pada varietas BW1. Frekuensi aplikasi hara mikro secara signifikan meningkatkan bobot umbi per tanaman umur 7 bulan, namun demikian tidak terdapat perbedaan antara 1 X, 2 X, dan 3 X. Hasil penelitian juga memberikan indikasi bahwa jumlah umbi per tanaman dapat menjadi penduga bobot umbi per tanaman umur 7 bulan (panen dini).

Saran

Untuk penelitian selanjutnya, pengukuran kadar pati perlu dilakukan terhadap umbi baik dari hasil panen dini maupun hasil panen tanaman dewasa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada PT Budi Acid Jaya, Tbk. yang telah memberikan fasilitas, serta semua karyawan kebun yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

BPS Lampung. ___ . Luas Panen, Hasil per Hektar dan Produksi Tanaman Ubi Kayu menurut Kabupaten/Kota, 2006. http://lampung.bps.go.id/tabel/pertanian13.pdf.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1980. Review of data on responses of tropical crops to fertilizers. 1961-1977. 101 p.

Hopkins, W. G. 1995. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc. New York. 464p.

Howeler, R. H. 2002. Cassava Mineral Nutrition and Fertilization. In: Cassava: Biology, Production, and Utilization (Eds: R. J. Hillocks, J. M. Thresh, and A. C. Belloti). CAB International 2002.

Ispandi, A dan A. Munip. 2005. Efektifitas pengapuran terhadap serapan hara dan produksi beberapa klon ubikayu di lahan kering masam. Ilmu Pertanian 12(2): 125 – 139.

Jegathambal, R. and K. Shanmugam. 2005. Sett selection and treatment for higher productivity of rainfed Cassava. Madras Agric. J. 92 (4-6) : 328-330.

Oyetunji, O.J., I. J. Ekanayake, O. Osonubi, dan O. Lyasse. _____. Cassava macro- and micronutrient uptake and partitioning in alley cropping as influenced by Glomus spp. in sub-humid tropics and its impact on productivity. Department of Botany and Microbiology, University of Ibadan, Nigeria. 5p.

Street, J.J. dan G. Kidder. 1997. Soils and Plant Nutrition. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences (UF/IFAS).

PEMANFAATAN AGEN HAYATI (*Tricoderma* spp, *Gliocladium*) DAN BAHAN NABATI (Mimba) PADA TANAMAN STROBERI

Zainuri Hanif, Emi Budiyati* dan Agung Lasmono**
Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika*
Balai PengkajianTeknologi Pertanian Lampung**
Jl. Raya Tlekung No 1 Junrejo, Batu, Jawa Timur 65301
Telp. (0341) 592683 . Fax (0341) 593047
email : zainurihanif@gmail.com

ABSTRACT

Adaptation experiments have been carried out on four strawberry cultivars namely Sweetcarlie, Rosalinda, Dorit and California (high dry land) and Berastagi at an altitude of 1340 m asl (high-we land), which began in March until December 2009. The aim of the research was to obtain strawberry cultivars which are adaptive, has a quality and high productivity, and has information utilization of biological agents (Gliocladium, Traicoderma) and natural material (neem). For generative growth observation, the best results was generally dominated by varieties of Rosalinda (flower number, fruit number, fruit weight per plant, fruit weigh per fruitt, fruit diameter and fruit length) and the lowestresult was Sweetcarlie varieties.

Keywords: Strawberries, Variety, Gliocladium, and neem Tricoderma

PENDAHULUAN

Stroberi merupakan salah satu jenis buah subtropika yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Meskipun stroberi merupakan buah subtropika, namun komoditas ini telah banyak diusahakan secara komersial oleh petani di Indonesia, khususnya petani di dataran tinggi. Pada awal perkembangannya, usaha budi daya stroberi di Indonesia masih terbatas di daerah sentra produksi seperti Jawa Barat (Sukabumi, Cianjur, Cipanas dan Lembang), Jawa Timur (Batu) dan Bali (Bedugul), namun seiring dengan semakin meningkatnya permintaan pasar, usaha stroberi secara komersial telah diusahakan di beberapa daerah lain, seperti Banyuwangi, Magelang, dan Purbalingga yang memiliki ketinggian tempat berbeda.
Tanaman stroberi menghendaki tanah liat berpasir, subur, gembur, mengandung banyak bahan organik, (pH tanah) untuk di kebun 5.4-7.0, untuk budidaya di pot adalah 6.5-7,0. curah hujan 600-700 mm/tahun, penyinaran cahaya 8-10 jam setiap harinya, temperatur 22–28 ºC, dengan kelembaban udara antara 80-90% serta ketinggian tempat yang memenuhi syarat iklim tersebut adalah 1.000-1.500 meter dpl.

Varietas-varietas yang banyak dikembangkan petani di Indonesia adalah varitas lokal Benggala dan Nenas (Lembang), varitas lokal baik di Batu maupun di Berastagi. Akhir-akhir ini mulai ditanam varietas introduksi, antara lain varitas Hokowaze (Jepang) Sweet Carlie, Osogrande, Pajero, Selva, Ostara, Tenira, Robunda, Bogota, Elvira, Grella, Rosalinda, California dan Red Gantlet.
Serangan hama dan penyakit pada tanaman budidaya merupakan salah satu faktor penting yang dapat mengurangi hasil pertanian. Selama ini, petani sangat tergantung kepada pestisida kimia untuk mengendalikan hama dan penyakit tersebut, padahal penggunaan pestisida yang berlebihan, tidak saja akan meningkatkan biaya produksi, tetapi juga berdampak buruk bagi kesehatan petani, konsumen maupun keseimbangan

hayati sekitarnya. Beberapa pengaruh negatif yang akan timbul akibat penggunaan pestisida kimia sintetis adalah: Hama menjadi resisten (kebal), peledakan hama akibat tidak efektifnya pemakaian pestisida, penumpukan residu yang dapat membahayakan petani/pengguna dan konsumen, ikut terbunuhnya musuh alami, terjadinya polusi lingkungan, perubahan status hama dari hama minor menjadi hama utama. Untuk itu pencegahan harus dilakukan melalui penggunaan pestisida nabati yang tidak meninggalkan residu berbahaya dan ramah lingkungan (*friendly environment*), serta penggunaan musuh alami hama (predator dan parasitoid), bio-pestisida, rotasi tanaman, pada lahan sempit, petani dapat melakukan pengendalian secara manual (memetik daun atau memungut ulat yang menyerang). Pengamatan dilakukan sesering mungkin, dan petani harus rajin melakukan sanitasi terhadap lingkungan sekitar tanaman, serta daun-daun yang terkena penyakit sebaiknya dibakar (*eradikasi*).

Kelebihan pestisida berbahan baku nabati antara lain: Mengalami degradasi/penguraian yang cepat oleh sinar matahari, memiliki efek/pengaruh yang cepat, yaitu menghentikan nafsu makan serangga walaupun jarang menyebabkan kematian, toksisitasnya umumnya rendah terhadap hewan dan relatif aman pada manusia, memiliki spektrum pengendalian yang luas dan bersifat selektif, dapat diandalkan untuk mengatasi OPT yang telah kebal pada pestisida sintetis, mempunyai fototoksisitas yang rendah, yaitu tidak meracuni dan tidak merusak tanaman.

Pemanfaatan bahan nabati MIMBA (*Azzadirachta indica*) banyak mengandung senyawa aktif yaitu: *azadirachtin, meliantriol* dan *salanin* seperti bawang dan rasanya sangat pahit, berbentuk tepung dari daun, atau cairan minyak dari biji/buah efektif untuk mencegah makan bagi serangga dan mencegah serangga mendekati tanaman *(repellent)* dan bersifat sistemik. Mimba juga dapat membuat serangga mandul, karena dapat menggangu hormon produksi dan pertumbuhan serangga. Mimba mempunyai spektrum yang luas, efektif untuk mengendalikan serangga bertubuh lunak (200 spesies) antara lain : belalang, thrips, ulat, wereng, kupu-kupu putih, dll. Disamping itu mampu mengendalikan jamur (fungisida) pada tahap preventif, menyebabkan spora jamur gagal berkecambah. Jamur yang dikendalikan antara lain penyebab; embun tepung, penyakit busuk, cacar daun/kudis, karat daun dan bercak daun. Dan mencegah bakteri pada embun tepung *(powdery mildew)*. Ekstrak mimba sebaiknya disemprotkan pada tahap awal dari perkembangan serangga, yaitu disemprotkan pada daun dan juga dapat disiramkan pada akar tanaman untuk diserap akar atau mengendalikan hama dalam tanah.

Pemanfaatan *Trichoderma* spp. sebagai agen hayati, digunakan untuk mengendalikan penyakit-penyakit pada beberapa tanaman pertanian dan kehutanan seperti jamur akar putih pada karet (Basuki, 1985), *Fusarium* spp. pada sayuran (Harman *et al.,* 1989), *Phytium* spp. dan jamur akar merah (*Ganoderma* spp.) pada sengon, juga perlu dikembangkan untuk mengendalikan penyakit terbawa tanah (*soil borne pathogen*) pada apel sehingga mengurangi penggunaan fungisida. *Trichoderma* spp. juga berfungsi sebagai dekomposer sehingga dapat membantu terjadinya proses dekomposisi bahan organik, rumput-rumputan, dan *cover crop* yang berada di areal pertanaman. Sehingga perubahan sisa tanaman menjadi bahan organik menjadi lebih cepat dan membantu memperbaiki struktur serta kesuburan tanah. Hal ini mendasari perlunya penelitian perbaikan kualitas dan produktivitas tanaman buah subtropika berbasis ramah lingkungan.

Realita saat ini kebutuhan stroberi cukup tinggi, selain untuk buah segar juga untuk produki olahan (selai, sirup, es krim, dan yoghurt.). Karena produksi dalam negeri belum mencukupi kebutuhan sedang untuk impor buah tidak memungkinkan karena buah stroberi mudah rusak dan tidak tahan lama, masalah utama dalam pengembangan

agribisnis stroberi di Indonesia yang mensyaratkan produk bermutu tinggi dan aman dikonsumsi serta berdaya saing tinggi adalah dengan merasionalisasikan penggunaan agroinput (pupuk dan pestisida), mengintroduksikan penggunaan biopestisida terdiri dari bahan organik, nabati dan agensia hayati agar dapat memenuhi regulasi pasar global yang *eco-labeling attributes*, *nutritional attributes* dan aman dikonsumsi (*food safety attributes*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kultivar – kultivar stroberi yang adaptip, mempunyai kualitas dan produktivitas tinggi, dan pemanfaatan agen hayati *(Tricoderma spp, Gliocladium)* serta bahan nabati *(Mimba).* Minimal 2 varietas Stroberi unggul yang adaptif dan informasi penggunaan bahan nabati Mimba dan agen hayati *Tricoderma* dan *Gliocladium*.

METODOLOGI

Percobaan dilaksanakan di KP Berastagi pada ketinggian 1340 m dpl (tinggi basah) yang dimulai Februari sampai dengan Desember 2009.

Perlakuan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) 2 faktor. Faktor ke-1 adalah Kultivar, terdiri dari 4 kultivar yaitu : D=Dorit, R = Rosalinda, S = Sweet Carlie, dan C = California). Faktor ke-2 adalah Pemanfaatan Agen hayati (*Tricoderma* dan *Gliocladium* (10^8) dan Bahan Nabati (Mimba) 20 gr/l (M), agen hayati *Tricoderma* (T) dan Gliocladium (G). Ke-4 kultivar ditanam di KP Berastagi, satu unit perlakuan sebanyak 10 tanaman dan diulang 3x. Sehingga didapat kombinasi perlakuan sebagai berikut :

Tabel 1. Perlakuan pemanfaatan agen hayati (tricoderma, spp, gliokladium) dan bahan nabati (mimba) pada 4 kultivar stroberi

Bahan Nabati Kultivar	Kontrol (pestisi-da kimia)	Tricoder-ma=T	Gliocla-dium=G	Mimba =M	TM	TG	TGM
Dorit =D	D	DT	DG	DM	DTM	DTG	DTGM
Rosalinda= R	R	RT	RG	RM	RTM	RTG	RTGM
Sweet Carlie=S	S	ST	SG	SM	STM	STG	STGM
California=C	C	CT	CG	CM	CTM	CTG	CTGM

Media yang digunakan adalah tanah, pukan ayam, sekam bakar dengan perbadingan 2:1/2:1/3. Sebanyak 4 kultivar stroberi tersebut ditanam pada polibag ukuran 30x35cm sesuai kombinasi perlakuan diatas = 4 x 7 x 3x 10 tanaman sehingga total tanaman dari perlakuan tersebut diatas 400 polybag.

Kontrol adalah perlakuan 4 kultivar stroberi (Dorit, Rosalinda, Sweet carlie dan California) yang ditanam dalam polibag, dan pengendalian OPT nya dengan menggunakan pestisida kimia yang biasa dilakukan oleh petani. Pengendalian dengan bahan nabati ekstrak biji mimba (20 gr/liter) yaitu dengan merendan serbuk biji mimba 20gram + 1liter air selama 24 jam, setelah itu diencerkan lagi +1liter air dan disiramkan keperlakuan 250 ml

pertanaman seminggu sekali atau jika ada serangan hama terutama uret dan rayap. Pemupukan dilakukan pada tanaman stroberi berumur 2 minggu setelah tanam dengan dosis sesuai anjuran, yaitu dengan melarutkan pupuk NPK dalam air, kemudian disiramkan ke tanaman, pemupukan selanjutnya sesuai kebutuhan dari tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada tanaman stroberi dari tabel 1 dan tabel 2, menunjukkan bahwa pertumbuhan rata-rata jumlah daun dan jumlah anakan tertinggi ditunjukkan oleh kultivar/varietas Sweet carlie dengan perlakuan pemanfaatan agen nabati (mimba) 55,67 dan Sweet carlie Gliocladium 2,92 yang diikuti varietas Sweet Carlie pada perlakuan Trico-Glio dan Mimba 52,17, dan Sweet Carlie Mimba 2,83 sedang jumlah daun terendah ditunjukkan oleh varietas Dorit pada perlakuan Trico-Mimba dan Glio yaitu 27,92.

Dari pengamatan jumlah daun ini varietas Dorit menunjukkan pertumbuhan jumlah daun terendah dibanding dengan varietas lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa secara genetic varietas Sweet Carlie mempunyai daya adaptasi yang tinggi pada pertumbuhan vegetatif tanaman, sehingga pada kegiatan ini menunjukkan hasil jumlah daun dan anakan yang tertinggi yang didukung dengan perlakuan pemanfaatan Mimba dan Trico-Glio-Mimba, dan ini diduga pemanfatan mimba, terutama dalam biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder yang diduga sangat bermanfaat, baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obat-obatan). Beberapa diantaranya adalah *azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin* dan *nimbidin*. *Azadirachtin* sendiri terdiri dari sekitar 17 komponen dan komponen yang mana yang paling bertanggung jawab sebagai pestisida atau obat, belum jelas diketahui. Mimba tidak membunuh hama secara cepat, namun mengganggu hama pada proses makan, pertumbuhan, reproduksi dan lainnya (Senrayan, 1997).

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma dan Gliocladium) dan Bahan Nabati (Mimba) terhadap Jumlah Daun pada Tanaman Stroberi

Perlakuan	D	R	S	C
Kontrol	37.67	41.83	45.92	42.75
Tricoderma	33.17	43.58	50.58	41.50
Gliocladium	33.33	47.42	51.83	46.33
Mimba	38.08	40.50	55.67	48.92
Trico-Mimba	28.58	37.42	45.75	41.25
Trico-Glio	28.08	33.83	52.17	43.17
Trico-Mimba-Glio	27.92	39.08	46.92	37.17

Selain sebagai bahan nutrisi tanaman, baik unsur makro, maupun mikro, bungkil biji mimba ini juga masih mengandung bahan aktif pestisida nabati, seperti azadirachtin yang akan bermanfaat mengendalikan organisme pengganggu tumbuhan yang berada di dalam tanah, seperti hama rayap, uret/kuul/lundi, nematoda dan hama lainnya, sehingga penggunaannya sebagai pupuk organik akan bermanfaat ganda, yaitu secara tidak langsung akan bermanfaat sebagai pestisida juga. Keuntungan lain yang diperoleh adalah bahwa azadirachtin bersifat sistemik, yaitu dapat meresap kedalam jaringan tumbuhan,

sehingga apabila diaplikasikan sebagai pupuk di tanah, maka apabila terisap oleh tanaman akan ditranslokasikan ke bagian tanaman lainnya, seperti daun dan akan berfungsi melindungi tanaman dari gangguan OPT.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan 4 varietas stroberi (Dorit, Rosalinda, Sweetcarlie dan California) pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma dan Gliocladium) dan Bahan Nabati (Mimba) terhadap Jumlah Anakan pada Tanaman Stroberi

Perlakuan	D	R	S	C
Kontrol	2.25	1.75	2.17	2.33
Tricoderma	1.75	1.33	2.08	2.00
Gliocladium	2.33	1.58	2.92	1.33
Mimba	2.00	1.50	2.83	2.00
Trico-Mimba	1.25	1.17	2.00	1.92
Trico-Glio	1.33	1.00	2.50	1.42
Trico-Mimba-Glio	1.33	1.08	1.58	1.25

Hasil pengamatan pada tanaman stroberi secara kombinasi perlakuan antara varietas (Dorit, Sweet Carlie, Rosalinda dan California) dan pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma dan Gliocladium) dan Bahan Nabati (Mimba) di KP Brastagi, tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan, namun secara terpisah perlakuan pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma dan Gliocladium) dan bahan Nabati (Mimba) menunjukkan perbedaan yang nyata yang ditunjukkan pada tabel.

Tabel 4. Kombinasi perlakuan 4 varietas (Dorit, Seetcarlie, Rosalinda dan California) dan Pemanfaatan Agen Hayati (Trico, Glio) dan Bahan Nabati (Mimba) pada Jumlah Daun, Jumlah Anakan, Jumlah Bunga, Jumlah Buah, Panjang Buah (cm), Diameter Buah (cm) dan Bobot Buah (gr).

PERLAKU-AN	∑ DAUN	∑ ANAKAN	∑ BUNGA	∑ BUAH	PANJANG	DIAME-TER	BOBOT
					BUAH (cm)	BUAH (cm)	BUAH (gr)
Kontrol	49,60 a	3,35 a	18,02 b	4,68 ab	3,26 a	2,74 a	10,71 a
Tricoderma	50,52 a	2,98 a	22,20 a	4,79 a	2,61 b	2,44 ab	8,56 ab
Gliocladium	51,98 a	3,23 a	18,45 b	3,85 abc	2,95 ab	2,79 a	10,80 a
Mimba	53,37 a	3,39 a	16,31 b	3,70 bc	2,49 b	2,54 ab	8,05 ab
Trico - Mimba	38,25 b	1,58 b	15,22 b	2,87 c	2,99 ab	2,55 ab	8,62 ab
Trico Glio	39,31 b	1,56 b	16,12 b	3,41 c	2,40 b	2,20 b	6,29 b
Trico Glio Mimba	38,10 b	1,31 b	18,27 b	3,91 abc	2,53 b	2,44 ab	8,19 ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak Berbeda nyata pada uji Duncan't 0,05.

Hasil secara keseluruhan untuk generatif baik jumlah bunga, jumlah buah, panjang buah, diameter buah, bobot buah didominasi oleh varietas Rosalinda dan Dorit sedang perlakuan pemanfaatan agen hayati (Tricoderma, Gliokladium) dan bahan Nabati) hasil tertinggi oleh perlakuan kontrol yang diikuti Tricoderma dan Gliocladium, hal ini sesuai dengan pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma dan Gliocladium), hasil penelitian

Hanudin, dkk (2004) melaporkan bahwa *P. fluorescens* efektif mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman cabai dan tomat. Serta layu Fusarium pada gladiol. Sedang *Trichoderma* dan *Gliocladium* dapat menekan serangan daping off yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*.

Tabel 5. Analisa kimia buah 4 varietas Stroberi dengan perlakuan Pemanfaatan Agen Hayati (Tricoderma, Gliocladium) dan Bahan Nabati (Mimba)

Perlakuan	Brix (% sukrosa)	ml juice/100 gram buah segar	% Total asam/mg buah segar	Vit C/g buah segar
D	6.9	38,00	1.8	1.6
R	5.4	49,20	1.5	2.0
S	8.06	50,64	1.86	2.39
C	7.8	46,00	1.61	2.04
DT	6.8	38,80	1.6	1.5
RT	5.2	38,40	1.7	1.5
ST	8.46	46,64	1.62	2.36
CT	5.5	46,00	1.7	1.7
DG	6.3	46,80	1.6	1.5
CG	6.0	40,00	1.9	1.6
DM	6.7	38,80	1.6	1.5
RM	5.4	48,00	2.5	1.9
SM	7.66	49,32	1.93	2.29
CM	5.0	46,80		

Pada Tabel 5 menunjukkan kadar gula tertinggi pada varietas Sweet Carlie (S) (8.46). Perlakuan yang tertinggi pada aplikasi Tricoderma (8.46), sedangkan untuk kombinasi perlakuan dan varietas yang tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi Sweet Carlie Tricoderma (ST) (8.46), sedangkan untuk Volume Jus per 100 gr buah segar tertinggi pada varietas Sweet Carlie (S) (50,64) dan yang terendah pada varietas Dorit (D) (38,00) Perlakuan yang tertinggi pada aplikasi Kontrol (50,64) sedangkan untuk kombinasi perlakuan dan varietas yang tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi Sweet Carlie Kontrol (S) (50,64).

Selanjutnya % total asam per mgram buah segar tertinggi pada varietas Rosalinda (R) (1,5). Perlakuan yang tertinggi pada aplikasi Mimba (M) (2,5), sedangkan untuk kombinasi perlakuan dan varietas yang tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi Rosalinda dan Mimba (RM) (2,5).

Untuk % vitamin C tertinggi pada varietas sweer Carlie (S) (2,39) dan perlakuan yang tertinggi pada aplikasi sweetcarlie kontrol (2,39), sedangkan untuk kombinasi perlakuan dan varietas yang tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi sweetcarlie dan control.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengamatan pada tanaman stroberi secara kombinasi perlakuan antara varietas (Dorit, Sweet Carlie, Rosalinda dan California) dan pemanfaatan Agen Hayati (*Tricoderma* dan *Gliocladium*) dan Bahan Nabati (Mimba) di KP Brastagi, tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan, namun secara terpisah perlakuan pemanfaatan

Agen Hayati (*Tricoderma* dan *Gliocladium*) dan bahan Nabati (Mimba) menunjukkan perbedaan yang nyata.

Pengamatan di KP Brastagi, Jumlah daun dan jumlah anakan tertinggi ditunjukkan oleh varietas Sweetcarlie dengan pemanfaatan (*Tricoderma*, Mimba dan *Gliocladium*) yaitu 55,67 dan Sweetcarlie dengan pemanfaatan Gliocladium yaitu 2,92. Untuk pengamatan pertumbuhan generatif hasil terbaik/tertinggi secara umum didominasi oleh varietas Rosalinda baik (jumlah bunga, jumlah buah, bobot buah per tanaman, bobot buah perbuah, diameter buah dan panjang buah) dan yaang terendah rata-rata varietas Sweetcarlie. Hasil analisa kimia buah menunjukkan kadar gula tertinggi pada kombinasi perlakuan Sweet Carlie *Tricoderma* (ST) (8.46).

Dampak dari hasil penelitian ini, apabila adaptasi 4 kultivar dan pemanfaatan agen hayati (*Tricoderma* dan *Gliocladium*) dan bahan nabati (mimba) maka kita bisa mengembangkan kultivar-kultivar yang dianggap unggul dan mempunyai nilai komersial yang mampu bersaing dengan kualitas buah stroberi impor.

DAFTAR PUSTAKA

Anggreini, I dan Suharti, M. 1996. *Pengaruh bahan organik terhadap aktivitas Trichoderma sp. dalam pengendalian Fusarium sp. secara in vitro.* Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konversi. Bogor

Basuki. 1985. *Peranan Belerang sebagai Pemacu Pengendalian Biologi Penyakit AkarPutih pada Karet.* Disertasi Doktor UGM Grainge, M. dan S. Ahmed. 1988. Handbook of Plant with

Budiman, S. Dan D. Saraswati. 2002. *Berkebun Stroberi Secara Komersial*. Penerbit Swadaya, Jakarta.

Hancock, JF. 1999. Strawberryes. *Crop Production Science In Hortikultura Departement of Horticulture Michingan State University East Lansing Michigan USA.* Lokakarya Hortikultura.Puslitbangtan. Bogor. Hal: 64-68

Hanudin, dkk. 2004. *Pemanfaatan Pseudomonas fluorescens, Gliocladium dan Trichoderma untuk Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium pada Krisan.* Prosiding Seminar Nasional Florikultura. Bogor, 4-5 Agustus : 271 – 278.

Harman, et all 1989. *Combining effective strains of Trichoderma harzianum and solid matrix priming to provide improved biological seed treatment system.* Plant Diseases 73: 631-637.

Onny Untung. 1999. Stroberi Pagi di Bali Sore di Jakarta. Trubus no. 350 hal. 52- 53. Senrayan, R. 1997. Prospect s and challanges in production and use of neem pesticides. Presented at National Conference on Pesticides with Emphasis on Neem, Surabaya, Indonesia, 11 – 13 August 1997. 6 pp.

STUDI AWAL APLIKASI RADIASI GAMMA UNTUK PEMBUATAN KANDIDAT BAHAN VAKSIN MALARIA

Darlina
Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radasi (PTKMR)
Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN)
mdarlina@batan.go.id

ABSTRACT

Gamma rays radiation is an alternative way for handling infectious diseases especially for making vaccine. By ionizing radiation parasite can be non actived while still maintain its characteristics such as hemaglutination and antigenicity. Results of Hoffman's experiment for ten years (1989-1999) showed that 150 Gy was an optimal dose for attenuation of Plasmodium falciparum sporozoites which induced complete protection in volunteers. Accordingly the results from experiment conducted in BATAN to P. berghei in the erythrocytic stage, the dose of 150 Gy and 175 Gy reduced the virulency of parasite. These were supported by longer of prepaten phase, lower peak of parasitemia and increased of life span (5-7%). Therefore gamma rays radiation could be applicable for making malaria vaccines

Key words: vaccine, malaria, irradiation, attenuation

PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit infeksi yang penyebarannya di dunia sangat luas yakni antara garis bujur 60^0 Utara dan 40^0 Selatan yang meliputi 100 negara yang beriklim tropis dan sub tropis. Diperkirakan sekitar 3,2 milyar penduduk tinggal di daerah endemis malaria dan penduduk yang paling berisiko adalah bayi, anak balita dan ibu hamil. Di seluruh dunia setiap tahunnya ditemukan 300–500 juta kasus malaria yang mengakibatkan 1-3 juta orang meninggal dunia (WHO, 2005a). Di negara-negara tropis dan sub tropis, termasuk Indonesia, malaria masíh merupakan penyakit endemis. Diperkirakan 50 persen penduduk Indonesia masih tinggal di daerah endemik malaria. Menurut perkiraan WHO, tidak kurang dari 30 juta kasus malaria terjadi setiap tahunnya di Indonesia, dengan 30.000 kematian. Seiring dengan munculnya galur parasit yang kebal terhadap obat antimalaria dan adanya nyamuk vektor yang tahan terhadap insektisida mengakibatkan peningkatan jumlah kasus malaria di beberapa negara. Di Indonesia resistensi parasit terhadap obat antimalaria yang tersedia, maupun nyamuk yang resisten terhadap insektisida telah terjadi di seluruh provinsi.

Sesuai dengan kesepakatan negara-negara WHO untuk meningkatkan upaya pengendalian malaria, pada tahun 1998 telah disepakati suatu gerakan di pengendalian malaria yang intensif secara global yaitu *Roll Back Malaria* (RBM) dan Indonesia dikenal dengan Gerakan Berantas Malaria (Gebrak Malaria) yang dicanangkan Menteri Kesehatan pada tahun 2000. Dalam program ini dicanangkan tiga strategi untuk usaha mengontrol malaria yaitu: mengontrol vektor malaria, mengembangkan pemakaian obat antimalaria untuk pencegahan dan pengobatan, dan pengembangan vaksin. Perbaikan selalu dilakukan di ketiga bidang ini, tetapi dengan adanya kemampuan parasit untuk tahan terhadap obat baru dan kemampuan vektor nyamuk untuk tahan terhadap insektisida, sehingga vaksin terhadap malaria sangat dibutuhkan (Anonim, 2006).

Pengembangan vaksin malaria dimungkinkan berdasarkan adanya, imunitas alamiah yang diperoleh individu yang tinggal di daerah hiperendemis. Individu tersebut tetap mengandung parasit dalam darah dengan jumlah yang rendah tanpa menyebabkan gejala klinis. Imunitas alamiah hanya menekan serangan penyakit, tidak mampu membasmi parasit secara tuntas sehingga parasit tetap mampu berkembang biak. Imunitas ini tidak berlangsung lama sehingga perlu pemaparan secara kontinyu. Sistem imun pada anak anak belum sempurna sehingga tidak mampu mengembangkan imunitas yang protektif dan efisien melawan parasit malaria. Karena anak-anak dan ibu hamil yang tinggal di daerah endemik merupakan kelompok yang berisiko, maka harus diutamakan dalam pengembangan vaksin.

Penelitian vaksin malaria dengan iradiasi dimulai sejak 1967 oleh Nussenzweig dkk dengan menggunakan hewan percobaan mencit. Setelah dilakukan imunisasi kemudian diuji tantang, hasilnya 60% mencit memberikan efek proteksi terhadap sporozoit yang infeksius. Pada awal tahun 1970-an, Clyde dkk serta Rickmann dkk. mendemonstrasikan pada relawan. hasilnya imunisasi dengan mengigitkan nyamuk anopheles yang mengandung sporozoit *P. Falciparum* yang telah diradiasi, dapat melindungi sukarelawan terhadap sporozoit hidup. Percobaan ini merupakan penelitian awal yang memungkinkan pengembangan vaksin malaria dengan teknik iradiasi (Nussenzweig dan Nussenzweig, 1989) Pada makalah ini akan dibahas pengembangan vaksin malaria dengan menggunakan teknik iradiasi serta prospeknya.

Biologi Parasit Malaria dan Pendekatan Pengembangan Vaksin

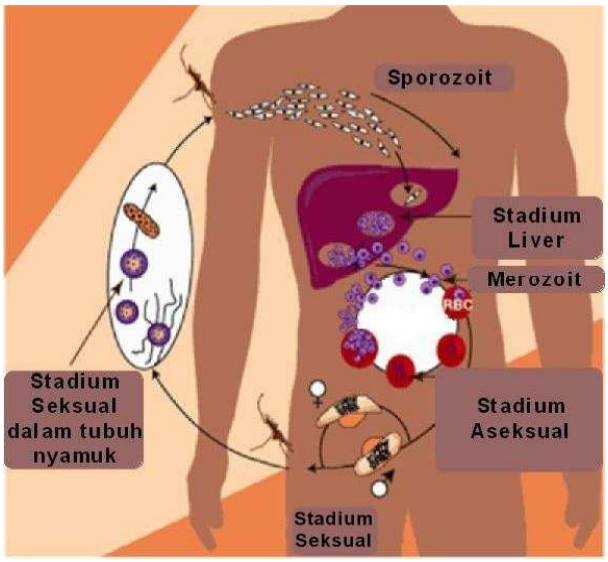
Penyakit malaria disebabkan oleh parasit protozoa dari genus Plasmodium. Ciri utama parasit ini adalah adanya dua siklus hidup yaitu siklus aseksual pada manusia (Giles, 1993).

Inang pertama parasit dan sekaligus vektor transmisi adalah nyamuk Anopheles betina. Nyamuk terinfeksi malaria ketika menghisap darah penderita malaria. Ketika menelan, gametosit parasit terbawa dalam darah yang kemudian akan mengalami proses pematangan menjadi gamet jantan dan betina dalam usus nyamuk. Kemudian kedua macam gamet bersatu menghasilkan ookinet, ookinet menembus dinding usus dan mengalami pematangan menjadi oosist. Selanjutnya oosist akan ruptur melepaskan sporozoit yang berpindah kekelenjar ludah nyamuk (Garnham, 1998).

Dalam tubuh manusia parasit berkembang dalam 2 fase yaitu fase eksoeritrosit atau pra-eritrosit (hepatik) dan fase eritrosit (darah). Ketika nyamuk Anopheles betina menggigit manusia akan memasukkan sporozoit ke dalam darah manusia. Dalam 30 menit sporozoit masuk dan menginfeksi hepatosit, dan mereka mulai bermultiplikasi secara skizogoni (stadium liver) tanpa gejala (asimptom) selama 5 – 14 hari disebut waktu dorman. Dalam sel hati mereka berkembang menghasilkan ± 10.000 – 30.000 parasit anak (merozoit). Ketika sel inang ruptur merozoit masuk ke dalam darah dan menginfeksi sel darah merah, kemudian dimulailah fase eritrosit (Hoffman dan Miller. 1996).

Siklus di darah dimulai ketika merozoit masuk ke dalam sirkulasi darah. Setelah masuk ke dalam eritrosit, merozoit berkembang menjadi tropozoit. Kemudian tropozoit menjadi matang dan mengalami pembelahan nukleus beberapa kali. Selanjutnya terjadi proses skizogoni bila matang akan membentuk sekitar 32 merozoit. Eritrosit akan ruptur dan melepaskan merozoit ke dalam plasma kemudian menyerang eritrosit lain. Beberapa merozoit berkembang menjadi bentuk seksual parasit yaitu gametosit. Gametosit akan tertelan bersama darah yang dihisap nyamuk yang menggigit penderita, selanjutnya dimulai siklus sporogoni pada nyamuk (lihat Gambar 1) (WHO, 2005b).

Siklus hidup parasit malaria sangat komplek dengan keragaman antigen menyebabkan interaksi dengan inang menjadi komplek pula. Berdasarkan sasaran antigen yang sesuai dengan stadium perkembangan parasit dan fungsinya, vaksin malaria dapat dibedakan menjadi 3 jenis yaitu: 1) Vaksin pra eritrositik (vaksin anti infeksi), yang dirancang untuk mendapatkan respon imun yang akan membunuh sporozoit, mencegah sporozoit menginfeksi sel hepatosit atau menghancurkan sel hepatosit yang terinfeksi atau membunuh parasit dalam hepatosit. 2) Vaksin eritrositik stadium aseksual (vaksin anti penyakit), dengan target merozoit bebas atau yang berinvasi ke sel darah merah. Vaksin ini dirancang untuk mencegah atau menekan respon patologi inang terhadap parasit. 3) Vaksin eritrositik stadium seksual (vaksin penghambat transmisi), bertujuan untuk menghambat pertumbuhan atau fertilisasi stadium seksual parasit (Levine dkk., 2002).



Gambar 1. Siklus hidup *Plamodium sp.* Di tubuh nyamuk dan manusia (WHO, 2005b)

Pengembangan Vaksin Malaria Dengan Radiasi Gamma

Radiasi dapat memberikan efek yang bersifat spesifik yaitu, dapat melemahkan dan mematikan sel. Target utama penyinaran adalah materi genetik atau DNA. Radiasi pengion memiliki ciri khusus karena kemampuannya untuk penetrasi sel dan jaringan sehingga memberikan energi pada sel dalam bentuk ionisasi. Efek yang ditimbulkan oleh sinar gamma dapat digunakan untuk mengiradiasi agen penyakit yang berasal dari virus, bakteri, protozoa dan cacing. Dalam pembuatan bahan vaksin, jenis radiasi yang biasanya digunakan adalah sinar gamma yang memiliki sifat daya tembus tinggi dan panjang gelombang pendek (Ward, 1995). Dosis iradiasi yang optimum akan menghancurkan DNA, sehingga membuat mikroorganisme tidak mampu melakukan replikasi dan tidak menimbulkan infeksi. Parasit yang diiradiasi dengan radiasi pengion dapat dinonaktifkan dengan tetap mempertahankan sifat-sifat parasit seperti hemaglutinasi, antigenisitas, ketidakefektifan dan lain sebagainya. Hilangnya kemampuan infektif dari parasit memungkinkan untuk memproduksi bahan yang layak untuk pembuatan vaksin. Berdasarkan hasil-hasil penelitian dan percobaan, keberhasilan memperoleh bahan tidak aktif ini tergantung pada faktor eksternal (dosis radiasi, laju dosis, jenis radiasi, suhu dan sifat inang) dan faktor internal (DNA atau struktur molekul parasit).

Vaksin dapat merangsang sistem imun pada inang untuk melawan infeksi organisme patogen. Pembuatan vaksin dapat dilakukan dari seluruh bagian agen atau suatu bagian yang diisolasi dari agen penginfeksi yang diatenuasi/dilemahkan atau dinon-aktifkan. Salah satu alternatif untuk pembuatan vaksin adalah menggunakan teknik nuklir (Biello, 2006). Young melaporkan bahwa iradiasi dapat mengubah agen patogen menjadi non patogen yang mampu menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh (Young, 1981). Smith NC melaporkan bahwa radiasi gamma dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan mampu meningkatkan daya kekebalan pada hewan coba (Smith, 1992). Radiasi secara teknik merupakan proses sederhana yang mempertahankan sifat struktural mikroorganisme patogen tanpa menghancurkan antigen alamiah atau adjuvant intrinsik. Oleh karena itu suatu respon imun yang kuat akan terbentuk pada inang yang divaksin (Hall, 1994).

Vaksin radiasi dibagi menjadi dua macam, yaitu vaksin aktif dan vaksin inaktif. Vaksin aktif adalah vaksin yang berasal dari organisme hidup yang dilemahkan, sedangkan vaksin inaktif berasal dari organisme mati. Vaksin inaktif sendiri dibagi menjadi dua, yaitu vaksin inaktif rekombinan dan non rekombinan. Vaksin inaktif rekombinan diperoleh dengan cara melemahkan organisme terlebih dahulu melalui teknik rekombinan setelah itu diinaktivasi dengan iradiasi. Vaksin inaktif non rekombinan diperoleh dengan cara inaktivasi organisme secara langsung dengan iradiasi (Benneth dkk., 2002). Vaksin aktif yang telah dilemahkan pada umumnya digunakan untuk penyakit parasit yang bersifat intraselular misal, protozoa. Keuntungan vaksin aktif ini adalah dapat mengaktifkan seluruh fase sistem imun, meningkatkan respon imun terhadap seluruh antigen memberikan imunitas yang lama, bekerja cepat, dan murah.

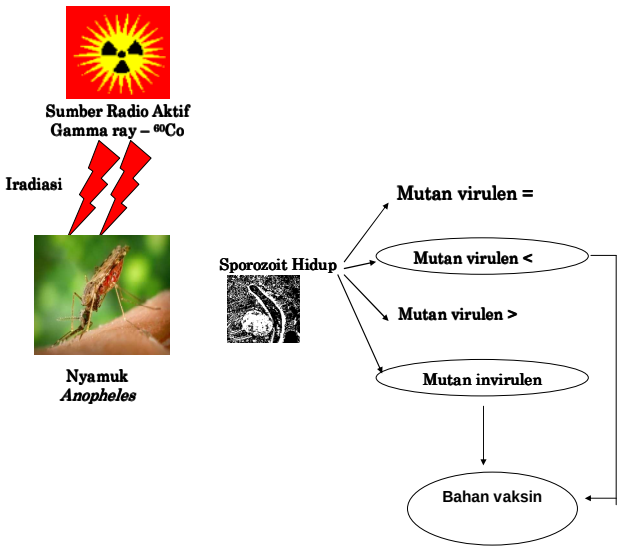
1. Vaksin sporozoit yang di lemahkan (atenuasi) dengan radiasi gamma

Vaksin yang dilemahkan atau disebut dengan *live vaccine* dibuat dari tubuh utuh parasit. Parasit dalam semua stadium dapat digunakan sebagai bahan vaksin dengan diatenuasi dengan iradiasi. Tetapi stadium sporozoit merupakan bentuk yang paling banyak dikembangan sebagai bahan vaksin.

Sporozoit yang dilemahkan dengan radiasi merupakan standar baku (*gold standar*) untuk pengembangan vaksin malaria karena memberikan proteksi steril dalam jangka waktu lama terhadap transmisi secara alamiah di alam. Dalam model rodensia dan relawan, imunisasi menggunakan sporozoit radiasi menghasilkan respon imun protektif yang kuat terhadap uji tantang dengan sporozoit yang infeksius. Pelemahan sporozoit dengan iradiasi diduga menyebabkan mutasi acak, yang dapat menghambat perkembangan stadium hati. Jika di bawah dosis optimal sporozoit masih dapat berkembang menjadi stadium hati dan stadium selanjutnya, jika dosis di atas dosis optimal sporozoit tidak dapat menginduksi proteksi (Hofman dkk., 2002).

Penelitian vaksin malaria dengan iradiasi dimulai sejak 1967 oleh Nussenzweig dkk dengan menggunakan hewan percobaan mencit. Setelah dilakukan imunisasi kemudian diuji tantang, hasilnya 60% mencit memberikan efek proteksi terhadap sporozoit yang infeksius. Pada awal tahun 1970-an, Clyde dkk serta Rickmann dkk. mendemonstrasikan pada relawan. Hasilnya imunisasi dengan mengigitkan nyamuk anopheles yang mengandung sporozoit *P. Falciparum* yang telah diradiasi, dapat melindungi relawan terhadap sporozoit hidup. Percobaan ini merupakan penelitian awal yang memungkinkan vaksin malaria dapat memberikan imunitas protektif steril dengan mengiradiasi nyamuk hidup terinfeksi (Nussenzweig dan Nussenzweig, 1989). Pada penelitian di atas, pembuatan kandidat vaksin dilakukan dengan mengatenuasi sporozoit yang berada di kelenjar ludah nyamuk dengan cara mengiradiasi nyamuk hidup yang mengandung sporozoit (Gambar 2). Dalam hal ini sporozoit tetap hidup dalam lingkungan alamiahnya. Kemudian inang percobaan digigitkan nyamuk yang telah diiradiasi. Setelah beberapa

waktu dilakukan uji tantang untuk menguji khasiat vaksin dengan cara menyuntikkan sporozoit hidup ke dalam tubuh inang. Selain cara tersebut sporozoit juga dapat diluar tubuh nyamuk dengan cara mengisolasinya dari kelenjar ludah kemudian di iradiasi. tetapi cara ini masih dalam taraf penelitian.



Gambar 2. Atenuasi sporozoit dengan iradiasi sinar gamma

Imunisasi dengan sporozoit teriradiasi (γ-spz) merupakan model terbaik untuk sistem memori dan efektor imun yang menghasilkan imun proteksi steril. Pemberian dosis multiple γ-spz pada manusia dan mencit di laboratorium memicu proteksi steril yang panjang terhadap uji tantang sporozoit infeksius. γ spz dalam liver tidak berkembang, dan tidak memproduksi CS melainkan menjadi Ag stadium hati. Dengan demikian γ spz tidak dapat berkembang menjadi stadium eritrositik, dengan kata lain radiasi memperlambat pematangan parasit atau perkembangan skizon hati tetapi mampu menghasilkan Ag.

Peneliti lain (Hoffman) melakukan penelitian menggunakan iradiasi sinar gamma dari sumber ^{60}Co atau ^{137}Cs pada nyamuk *Anopheles*. Imunisasi dengan menggigitkan lebih dari 1000 nyamuk yang diradiasi dengan dosis 150 Gy pada 12 relawan. 11 relawan menunjukkan proteksi terhadap uji tantang berulang hingga 35 kali selama 6 bulan. Mereka terproteksi secara komplit, yaitu tidak ditemukan parasit yang keluar dari hati masuk ke dalam aliran darah. Terhadap satu relawan dilakukan uji tantang 257 minggu (± 5 tahun) setelah imunisasi kedua dan ternyata tidak memberi efek proteksi. Relawan kembali memberikan proteksi 2 minggu setelah diimunisasi kembali. Sehingga diyakini bahwa imunisasi tersebut memberikan proteksi selama 18 hingga 24 bulan (Thomas Dan Stephen, 2003). Pemberian imunisasi kurang dari 1000 gigitan nyamuk yang diradiasi dengan dosis 150 Gy, hanya 50% menunjukkan proteksi komplit. Nyamuk yang mendapat dosis iradiasi lebih dari 200 Gy gagal memberikan proteksi karena terjadi overatenuasi pada sporozoit. Hal ini menunjukkan adanya hubungan timbal balik antara dosis radiasi dengan jumlah sporozoit yang mempunyai kemampuan penetrasi dan berkembang. Dengan demikian dosis 150 – 200 Gy dianggap sebagai dosis optimal (Tabel 1) (Hofman dkk., 2002).

Tabel 1. Rekapitulasi data penelitian imunisasi dan uji tantang di beberapa laboratorium selama kurun waktu 25 tahun (Hofman dkk., 2002).

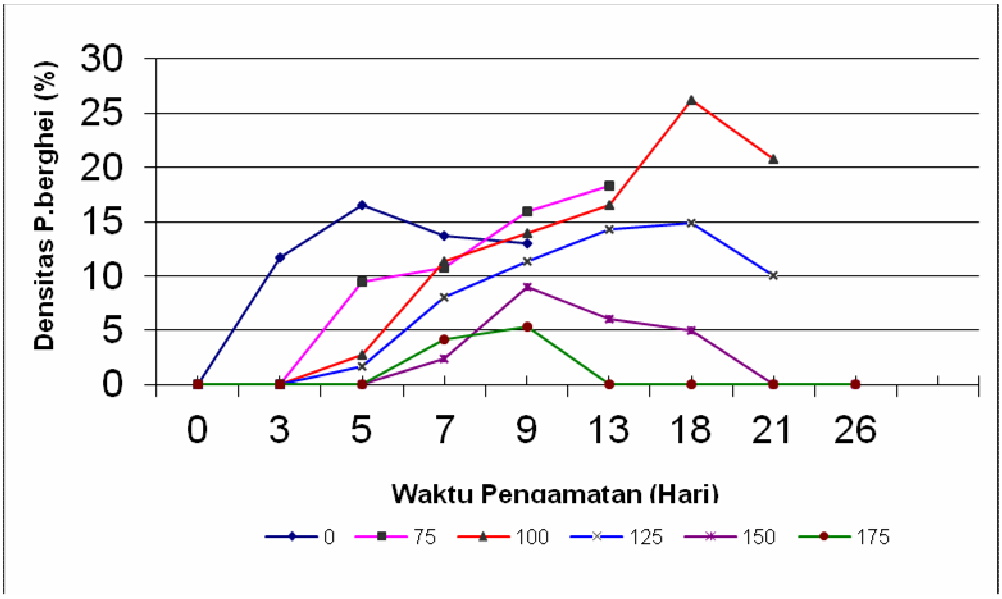
Σ Relawan	dosis radiasi (Gy)	Sebelum uji tantang		Waktu antara imunisasi terakhir dan uji tantang (minggu)	Relawan yang terproteksi per Σ Relawan	Sumber data
		Imuni-sasi	Banyaknya Gigitan yang mengimunisasi			
5	120-150	6 – 8	379 - 987	2 – 14	2/5 (40%)	Hoff-man, 2002, Luke 2003
4	150– 175	6 – 8	379 - 833	2 - 76	2/4 (50%)	
12	150	8 – 21	1007 – 2927	2 - 257	11/12 (91%)	NMRC/WRAIR
2	200 – 270	7 – 11	622 - 715	5 - 44	0	Universitas Mary-land

Relawan yang diimunisasi dengan sporozoit yang diiradiasi tidak memperlihatkan gejala klinis akan tetapi menunjukkan respon imun terhadap antigen yang diekspresikan oleh sporozoit yang diiradiasi dan sebagian sporozoit yang teratenuasi yang berkembang dalam hepatosit. Vaksin sporozoit iradiasi juga memberikan informasi yang penting untuk mendefinisikan mekanisme protektif dan target antigenik pada imunitas protektif.

2. Vaksin stadium eritrositik yang di lemahkan (atenuasi) dengan iradiasi yang dilakukan di BATAN

Penelitian malaria di BATAN merupakan penelitian vaksin malaria eritrositik tahap awal. Pada penelitian digunakan model *P.berghei* fase eritrositik dan mencit sebagai inangnya. Telah dilakukan penentuan dosis dan laju dosis iradiasi sinar gamma yang optimal untuk mengetahui pengaruh radiasi gamma pada *P. berghei* terhadap daya tahan mencit.
P.berghei adalah parasit yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia. *P.berghei* dan mencit sebagai inangnya merupakan model yang banyak digunakan dalam penelitian penyakit malaria karena menggunakan mencit kemungkinan dilakukan manipulasi pada keduanya sehingga dapat dipelajari perubahan imunologi yang terjadi selama infeksi (Landau Dan Gautret, 1998). Vaksin fase eritrositik ditujukan untuk menekan keganasan parasit yang merupakan jenis vaksin yang paling mudah dikembangkan.

P.berghei fase eritrositik yang dilemahkan dengan radiasi, daya infeksinya akan menurun namun tetap dapat mengaktifkan (merangsang) respon imun mencit. Pengaruh dosis iradiasi terhadap daya infeksi parasit dievaluasi mulai dari periode prepaten dan pertumbuhan parasit dengan menghitung angka parasitemia yaitu prosentase sel darah merah yang terinfeksi parasit per seribu sel darah merah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis iradiasi 75-125 Gy tidak mampu melemahkan plasmodium, hal ini diketahui dengan angka parasitemia yang terus meningkat. Pada dosis iradiasi 150 dan 175 Gy daya infeksi parasit dapat diturunkan, hal ini ditunjukkan dengan periode prepaten yang panjang dan angka parasitemia yang rendah (Darlina Dan Tetriana, 2007) (Gambar 3). Perlakuan vaksinasi kedua pada dua minggu setelah vaksinasi pertama dengan *P.berghei* yang diiradiasi dengan dosis 150 dan 175 Gy mampu meningkatkan respon imun mencit, yang dinyatakan dengan penurunan densitas parasit dalam darah.



Gambar 3. Pengaruh iradiasi terhadap perkembangan *P.berghei* pada mencit yang di vaksinasi.

Pada penelitian penentuan laju dosis dilakukan pelemahan parasit dengan kisaran dosis iradiasi yang lebih tinggi yaitu 150 Gy – 225 Gy dengan interval dosis 25 Gy, dengan dua variasi laju dosis 126,6 Gy/jam dan 380,48 Gy/jam. Pengaruh laju dosis iradiasi terhadap daya infeksi parasit dievaluasi berdasarkan periode prepaten, puncak parasitemia. Hasil penelitian menunjukan bahwa parasit malaria yang dilemahkan dengan laju dosis 126,6 Gy/jam mempunyai periode prepaten yang lebih panjang serta puncak parasitemia yang lebih rendah dibandingkan laju dosis 380,5 Gy/jam (Tabel 2) (Darlina dkk.,. 2008).

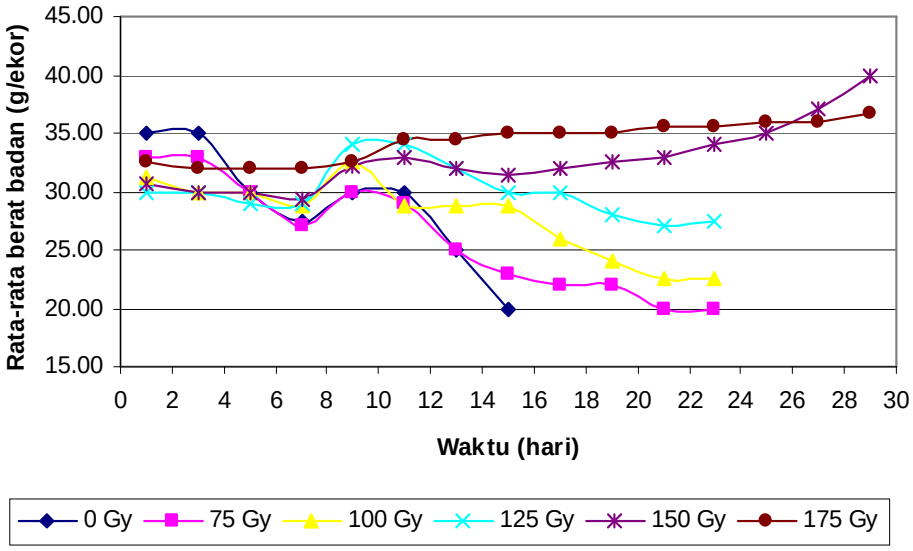
Pengaruh iradiasi gamma pada *P. berghei* terhadap daya tahan mencit dievaluasi berdasarkan gejala klinis, berat badan mencit dan daya tahan hidup mencit (Darlina Dan Devita, 2007). Gejala klinis yang diamati adalah anemia (kepucatan pada selaput lendir mata, moncong, jari kaki dan ekor). Anemia terjadi karena sel darah merah yang mengandung parasit mengalami hemolisis akibat fragilitas osmotik yang meningkat Hasil penelitian menunjukkan pada mencit yang divaksinasi dengan *P.berghei* yang telah diiradiasi dengan dosis 0, 75, 100, 125 Gy tetap menampakkan gejala anemia yang terlihat pada selaput lendir mata, moncong, jari kaki dan ekor.yang menjadi pucat.

Tabel 2. Pengaruh laju dosis terhadap periode prepaten dan puncak parasitemia

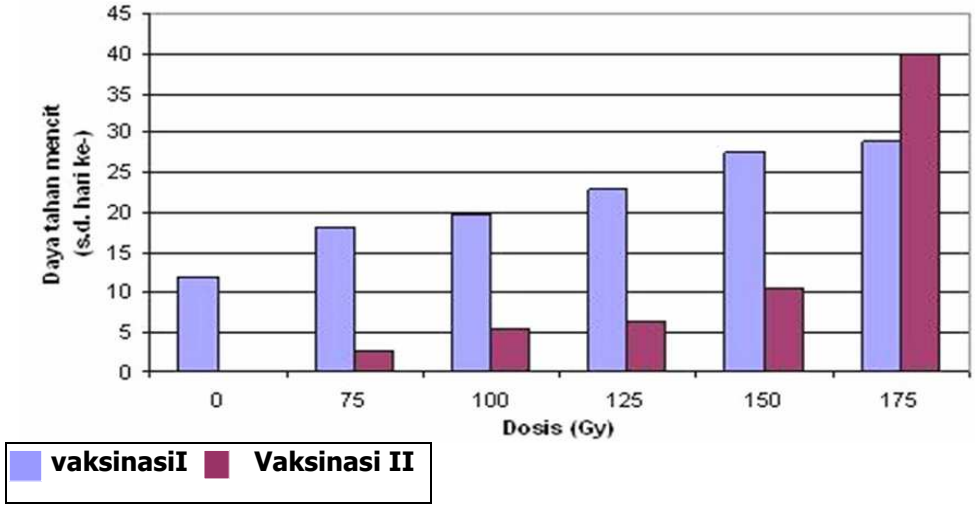
DOSIS (Gy)	LAJU DOSIS (Gy/Jam)			
	126,6		380,5	
	Prepaten (hari)	Puncak parasitemia (%)	Prepaten (hari)	Puncak parasitemia (%)
Kontrol (0)	5	26	2	58,8
150	8	29	8	35,5
175	8	17,2	8	19,6
200	12	11,8	8	19,2
225	18	3,6	12	9,4

Seminggu setelah vaksinasi dengan *P.berghei* yang diiradiasi dengan dosis 0, 75, 100, 125 Gy mencit akan menjadi lesu, lemah, dan bulu berdiri serta kehilangan nafsu makan dan minum sehingga terjadi penurunan berat badan dan semua mencit mati pada hari ke

16-22 setelah vaksinasi pertama. Berat badan rerata mencit mengalami fluktuatif, tetapi setelah hari ke 11 hingga menjelang kematian, berat badan mengalami penurunan. Berbeda pada mencit yang divaksinasi dengan *P.berghei* yang diiradiasi dengan dosis 150 dan 175 Gy, terlihat berat badan rerata mengalami kenaikan sampai hari ke-29 dan tidak memperlihatkan gejala klinis, hal ini diduga dosis radiasi 150 dan 175 Gy dapat melemahkan *P. Berghei* (Gambar 4). Perlakuan vaksinasi kedua dengan *P.berghei* yang diiradiasi dengan dosis 150 dan 175 Gy mampu meningkatkan respon imun mencit, terlihat dari daya tahan hidup mencit yang lebih lama (Gambar 5).



Gambar 4. Hasil pengukuran berat badan mencit yang terinfeksi *P.berghei* pasca iradiasi



Gambar 5. Pengaruh Iradiasi *P.berghei* terhadap daya tahan hidup mencit yang diinfeksi.

KESIMPULAN

Dosis iradiasi 150 Gy merupakan dosis yang optimal untuk pelemahan *P.falciparum* sporozoit dan memberikan efek perlindungan yang komplit terhadap uji tantang dengan sporozoit infeksius. Dari hasil percobaan yang telah dilakukan di PTKMR BATAN diperoleh hasil yang berupa dosis optimal untuk melemahkan *P.berghei* stadium eritrositik yaitu 150-175 Gy dengan laju dosis 126,6 Gy/jam. Adanya pengaruh dosis iradiasi pada *P.berghei* terhadap daya tahan mencit yang divaksinasi ditunjukkan oleh periode prepaten yang panjang, puncak parasitemia yang rendah, umur yang lebih panjang dengan kondisi yang lebih sehat

DAFTAR PUSTAKA

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2005a. Initiative for Vaccine Research, State the art of vaccine research and development, (2005), http:/www.who.int/vaccines-doc.

WHO. 2005b. State of The Art of Vaccine Research and Development, WHO Depart of Immunization, Vaccines and Biologicals Switzerland.

ANONIM. 2006. Rencana Kerja (Renja) Program Pengendalian Malaria 2005-2009, Subdit Malaria, Direktorat PPBB, Direktorat Jenderal PP&PL, Departemen Kesehatan RI.

NUSSENZWEIG V, NUSSENZWEIG RS. 1989. Rationale for the development of an engineered sporozoites malaria vaccine, Adv Immunol 45. pp. 283 – 334.

GILES HM. 1993. The malaria parasites, In GILES HM, WARREL DA (ed), BRUCE CHWAT, Essential Malariology, 3th ed, Edward Arnold, London. pp. 12 – 27.

GARNHAM PCC. 1998. Malaria parasites of man: Life cycles and morphology, In WERNSDORFER WH,McGREGOR (ed), Malaria Principles and practice of malariology, Churchill Livingstone, Edinburg. pp. 61-96.

HOFFMAN SL dan MILLER LH. 1996. Perspectives on malaria vaccine development in; HOFFMAN SL (ed.), Malaria Vaccine Development: a Multi-Imune Response Approach, Washington DC, American Sosiety for Microbiology Press. pp. 35-76.

LEVINE M.M., CAMPBEL JD., dan KOTLOFF KL. 2002. Overview of Vaccine and Immunisations, British Medical Bulletin, 62. pp.1 -13.

WARD, J.F. 1995. Radiation Mutagenesis: The Initial DNA Lesions Responsible, *Radiation Research*, 142. pp. 362-368.

BIELLO, D. 2006. Irradiated pathogens used to create potent vaccine, *Science News*.

YOUNG, B.A. 1981, Nuclear techniques in animal agruculture, *IAEA Bul.* 23. p. 4.

SMITH, N.C. 1992. Concepts and strategies for anti-parasite immunoprophylaxis and therapy, *Int. J. For Parasite* 22. p. 1047.

HALL, E.J. 1994. Radiobiology for the radiobiologist, Lippincott Williams and Walkin, Philadelphia.

BENNETH, C. dan THATCHER, S., TOLMAN-HULSBERG, J., POWERS, M., MILWARDM H., NIELSEN, D., AND TENG, D.H.F. 2002. Comparison of gamma-irradiated and triazol-treated RNA viruses using the joint biological agent identification and diagnostic, Idaho Technology Inc., Salt Lake City, UT.

HOFMAN S, GOH L, LUKE T, SCHNEIDER I, Le T, DOOLAN D, SACCI J, DE LA VEGA P, DOWLER M, PAUL C, STOUTE J, CHURCH L, , SEDEGAH M, HEPPNER D, BALLOU W, RICHIE T. 2002. Protection of human against malaria by immunization with radiation-attenuated Plamodium falciparum sporozoites, J infect Dist 185 (8). pp. 1155-1164.

THOMAS C.LUKE dan STEPHEN L.HOFFMAN. 2003. Rationale and plans for developing non-replicating, metabolically active, radiation attenuated Plasmodium falciparum sporozoites vaccine, The Journal of Experimental Biology, 206. pp. 3803 – 3808.

LANDAU, I, dan GAUTRET P. 1998. Animal models rodents In: Malaria, Parasites biology, pathogenesis, and protection, Ed: Sherman, I.W. ASM Press, Washington, DC. pp. 401-417.

DARLINA dan TETRIANA, D. 2007. Daya infeksi *Plasmodium berghei* stadium eritrositik yang diiradiasi sinar gamma, Prosiding Pertemuan Ilmiah PTKMR Jakarta.

DARLINA, DEVITA T, dan ARMANU. 2008. Pengaruh laju dosis iradiasi terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* stadium eritrositik, Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Fungsional Pengembangan Teknologi Nuklir II, Jakarta.

DARLINA dan DEVITA T. 2007. Studi awal pengembangan vaksin malaria dengan teknik nuklir: pengaruh iradiasi gamma pada *Plasmodium berghei* terhadap daya tahan mencit, . Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir. Bandung.

PENGARUH PEMBERIAN *GIBBERELIC ACID* (GA_3) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.) VARIETAS RATNA DENGAN SISTEM HIDROPONIK

Agung Lasmono
Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Lampung
Jl. ZA Pagar Alam 1A Raja Basa, Bandar Lampung 35145
Telp. (0721) 781776, fax (0721) 705273
E-mail: bptp_lasmono@yahoo.com

ABSTRACT

Research to investigate the effect of Gibberelic Acid (GA_3) on growth and yield of tomato (Lycopersicum escelentum Mill.) variety Ratna was conducted at greenhouse in Agriculture Faculty of University of Lampung with hydroponic system. Research was applied in Completely Randomized Design consisted of 5 treatments and applied with GA_3 at concentration of 0, 50, 100, 150, and 200 ppm, with 6 replicates. Equality of manner between treatment was tested with Bartlett's test. Data was analysis with variance then continued with trend analysis to apply polynomial orthogonal at significance level 1 and 5%. The results indicated that GA_3 applied at generative phase at tomato reduced number of leaves, and number of locul, increased kernel thickness, and crop dry weight, but had no effect on the plant height, number of fruits, fruit fresh weight, fruit volume, fruit diameter, and fruit dry weight. Growth response and yield of tomato applied with GA_3 was not maximum.

Keywords: Tomato variety of Ratna, Hydroponic, Gibberelic Acid

PENDAHULUAN

Tomat termasuk salah satu komoditas sayuran yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia dan merupakan salah satu sayuran yang buahnya diekspor(Turkim dkk., 1998). Permintaan buah tomat berdasarkan Biro Pusat Statistik (Biro Pusat Statistik. 2000), mengalami peningkatan setiap tahunnya. Di Pulau Jawa dan luar Pulau Jawa pada tahun 2000 mencapai 343.961 dan 249.429 ton. Kendala yang sering dihadapi dalam memenuhi peluang ekspor terutama adalah pada ketidaksesuaian jumlah produksi yang dihasilkan dan ketidaksesuaian antara kualitas yang dibutuhkan dengan kualitas produk yang dihasilkan. Hal ini terlihat dari penurunan jumlah, ukuran, dan daya tahan buah tomat yang diakibatkan oleh teknik budidaya yang masih bersifat konvensional maupun dari segi pemasarannya. Mutu buah yang terlihat dari penampilan fisik (bentuk, ukuran) dan sifat-sifat kimiawi tomat menjadi bahan pertimbangan konsumen dalam mengkonsumsi buah tomat (Lisa, 2001).

Adanya kendala terjadinya penurunan produksi dan kualitas buah tomat, menjadikan teknik budidaya hidroponik dengan pemberian zat pengatur pertumbuhan berupa *gibberelic acid* (GA_3) atau yang biasa disebut giberelin dapat diaplikasikan untuk menjaga produksi dan kualitas pada buah. Dalam pelaksanaannya, penanaman secara hidroponik memiliki beberapa kelebihan, yaitu tanaman dapat dikontrol sehingga bebas dari serangan hama dan penyakit, lebih memudahkan pekerjaan bercocok tanam, tanaman

dapat ditanam sepanjang musim, tanaman dapat memberikan hasil yang kontinyu, tanaman tumbuh lebih cepat, dan pemakaian pupuk lebih hemat. Zat pengatur pertumbuhan giberelin dapat mendorong pertumbuhan vegetatif dan generatif tumbuhan (Rismunandar. 1988), dan menurut Heddy (1986), penyemprotan giberelin pada fase vegetatif dapat memperpanjang ruas tanaman, sedangkan penyemprotan giberelin pada fase generatif dapat merangsang pembungaan, pembentukan buah, dan pembesaran buah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh giberelin terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman tomat varietas Ratna dengan sistem hidroponik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Benih tomat varietas Ratna dan auxilin yang mengandung bahan aktif GA_3 sebanyak 90% dibeli di pasar tradisional. Penelitian diawali dengan penyemaian benih tomat pada bak semai berukuran 18x29 cm berisi media tanah selama 3 minggu sampai memiliki 2-4 helai daun, lalu dilakukan pemindahan tanaman ke dalam *polybag* berukuran 5 kg berisi arang sekam. Pemeliharaan tanaman meliputi pemupukan secara langsung dengan memberikan pupuk NPK, pupuk pelengkap cair melalui irigasi tetes, pengendalian hama penyakit tanaman dilakukan secara mekanik menggunakan fungisida, pestisida, dan pemangkasan tunas liar. Aplikasi GA_3 dilakukan sebanyak tiga kali penyemprotan pada pagi hari. Penyemprotan pertama dimulai saat tanaman mulai berbunga sedangkan penyemprotan kedua dan ketiga dilakukan dengan interval waktu satu minggu sesudahnya.

Tanaman tomat varietas Ratna dipanen saat memasuki 130-140 hari setelah tanam. Variabel pengamatan meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah buah, bobot basah buah, jumlah lokul, ketebalan daging buah, volume buah, diameter buah, bobot kering buah, dan bobot kering tanaman. Suhu dan kelembaban di lokasi penelitian dicatat setiap hari.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan dan pemberian GA_3 dengan konsentrasi 0, 50, 100, 150, dan 200 ppm, dengan 6 ulangan. Kesamaan ragam antar perlakuan diuji dengan uji *Bartlett*. Data dianalisis ragam kemudian dilanjutkan dengan analisis kecenderungan menggunakan *polynomial orthogonal* pada taraf nyata 1 dan 5% (Vincent, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menjelaskan bahwa pemberian GA_3 tidak berpengaruh terhadap penambahan tinggi tanaman. Tanaman tomat varietas Ratna merupakan tanaman yang memiliki tipe pertumbuhan determinat yaitu tanaman tidak dapat tumbuh tinggi dengan diakhiri bunga (Pracaya, 2003), sehingga pada penelitian ini tinggi tanaman tomat tidak berpengaruh nyata oleh pemberian GA_3.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pemberian GA_3 berpengaruh pada jumlah daun tanaman tomat. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa dengan pemberian GA_3 selain dapat meningkatkan luas daun juga dapat merangsang pertumbuhan daun (Wilkins, 1989). Pernyataan tersebut berbeda dengan penelitian ini, kemungkinan karena suhu dan kelembaban yang kurang optimum dalam rumah kaca sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan daun tanaman tomat kurang baik. Tanaman tomat membutuhkan suhu optimum berkisar 20-28 ^{o}C, sedangkan yang terjadi di dalam rumah kaca adalah suhu dan kelembaban rata-rata pada pagi hari berkisar suhu 26,81^{o}C dengan kelembaban 74,67%, siang hari suhu 33,79^{o}C dengan kelembaban 67,45%, dan sore hari suhu

30,52°C dengan kelembaban 69,89%. Suhu siang antara 22-28 °C dengan suhu malam antara 20-23 °C merupakan keadaan yang optimum untuk pertumbuhan dan pembungaan.

Tabel 1. Rerata Pengaruh GA_3 terhadap Variabel Pengamatan

Variabel Pengamatan	GA_3 (ppm)					
	0	50	100	150	200	F hitung
Tinggi Tanaman (cm)	58,74	55,09	59,06	60,83	58,04	ns
Jumlah daun (helai)	20,52	18,71	18,33	17,64	18,36	*
Jumlah buah	14	12,83	15,66	14	12	ns
Bobot Basah Buah (g)	31,29	28,31	30,94	30,62	30,74	ns
Jumlah Lokul	5,49	4,52	4,47	4,31	4,12	**
Ketebalan daging Buah (mm)	3,44	4,02	4,3	4,94	4,8	**
Volume Buah (ml)	23,28	21,77	24,79	25,28	23,39	ns
Diameter Buah (cm)	3,69	3,59	3,73	3,73	3,76	ns
Bobot kering Buah (g)	1,6	1,51	1,66	1,57	1,50	ns
Bobot Kering Tanaman (g)	68,74	75,17	84,19	97,8	93,18	**

Keterangan: (*) berbeda nyata pada 0,05 ,(**) berbeda nyata pada 0,01
(ns) tidak nyata

Menurut *Asian Vegetable Research and Development Centre* (AVRDC, 1986a), suhu tinggi yang mengakibatkan penurunan kelembaban udara menyebabkan lebih banyak air yang dibutuhkan khususnya dalam proses transpirasi. Tingginya transpirasi menyebabkan hasil fotosintesis yang seharusnya digunakan untuk pertumbuhan tanaman menjadi berkurang karena hasil fotosintesis lebih banyak yang diakumulasikan ke bagian batang tanaman.

Pemberian giberelin selain menambah tinggi tanaman juga meningkatkan bobot kering tanaman (Widiastoety, 1990), sehingga pemberian GA_3 berpengaruh terhadap bobot kering tanaman tomat (Tabel 1). Penyemprotan GA_3 terhadap tanaman tomat varietas Ratna berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah buah, bobot basah buah, volume buah, diameter buah, dan bobot kering buah. Menurut Heddy (1986) penyemprotan giberelin pada fase generatif dapat merangsang pembungaan, pembentukan buah, dan pembesaran buah. Wattimena (Wattimena, 1988) menyatakan bahwa dengan pemberian giberelin (GA_3) dapat memperbaiki produksi, ukuran, dan pembentukan buah.

Suhu tinggi yang terjadi di dalam rumah kaca selama penelitian berkisar 33-35 °C pada siang hari menyebabkan pertumbuhan tanaman tomat menjadi terhambat, keringnya serbuk sari dapat menghambat proses penyerbukan bunga, rontoknya bunga, menurunnya kualitas buah dapat terlihat dari mengecilnya ukuran buah (AVRDC, 1986b) Tugiyono (1989) menyatakan bahwa angin kering dan udara panas kurang baik bagi pertumbuhan tanaman dan sering menyebabkan kerontokan bunga. Menurut Ginting (1997), penurunan bobot basah buah seiring dengan semakin menurunnya suplai auksin selama pertumbuhan dan perkembangan buah, sehingga buah yang dihasilkan berukuran kecil. Kecilnya ukuran buah disebabkan aktivitas pembelahan sel tidak normal akibat kekurangan auksin.

Pemberian GA_3 juga berpengaruh terhadap penurunan jumlah lokul buah tomat (Tabel 1). Terjadinya penurunan jumlah lokul buah disebabkan adanya perubahan secara fisiologis karena pemberian GA_3 yang mempengaruhi ukuran ruang lokul pada buah tomat, sehingga buah tomat yang mendapatkan perlakuan GA_3 mempunyai ruang-ruang

lokul yang mengecil atau bahkan hampir tidak nampak sama sekali. Hal ini berbeda dari buah tomat yang tidak mendapatkan perlakuan GA_3 (kontrol). Pengaruh GA_3 pada tanaman tomat juga mengakibatkan terjadinya peningkatan ketebalan daging buah. Kondisi ini dapat terjadi karena tanaman tomat yang mendapatkan perlakuan GA_3 memiliki jumlah biji lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman tomat yang tidak mendapatkan perlakuan GA_3 (kontrol). Pemberian giberelin dapat mendorong proses pengembangan dinding sel, hal ini yang menyebabkan hasil fotosintesis yang seharusnya digunakan untuk pembentukan biji pada buah kemudian dialokasikan kepada pengembangan dinding sel yang mengakibatkan terjadinya peningkatan ketebalan daging buah pada tanaman tomat (Weaver, 1972).

Dari penelitian yang dilakukan, teknik budidaya memegang yang sangat penting untuk memperoleh pertumbuhan dan produksi yang maksimal. Salah satu alternatif adalah dengan penanaman di rumah kaca dan aplikasi GA_3. Aplikasi penyemprotan GA_3 yang dilakukan saat tanaman telah memasuki fase generatif memberikan pengaruh pada produksi tanaman tomat. Suhu dalam rumah kaca yang terlalu tinggi rata-rata pada siang hari 33^{o}C. Selain itu masih ada beberapa faktor penentu lainnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tanaman tomat. Menurut Weaver (1972), respon tanaman atau bagian tanaman dari suatu varietas terhadap pemberian zat pengatur pertumbuhan sangat bervariasi, hal ini disebabkan oleh kondisi lingkungan, fase pertumbuhan, dan kondisi fisiologis dari tanaman. Sawhney (1984) menyatakan bahwa tidak konsistennya hasil yang didapat karena pengaruh GA_3 terhadap respon tanaman sangat ditentukan oleh beberapa faktor yaitu waktu aplikasi, jumlah dan jenis GA, dan kultivar yang digunakan.

KESIMPULAN

Pemberian *Gibberellic Acid* (GA_3) berpengaruh nyata terhadap jumlah daun, jumlah lokul, ketebalan daging buah, dan bobot kering tanaman, tetapi tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman, jumlah buah, bobot basah buah, volume buah, diameter buah, dan bobot kering buah pada tanaman tomat varietas Ratna. Pertumbuhan dan produksi tomat dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban serta belum diperolehnya konsentrasi GA_3 yang dapat memberikan respon maksimal dalam memacu pertumbuhan dan produksi tanaman tomat varietas Ratna.

DAFTAR PUSTAKA

Turkim, Sukarsih, dan Soetisno. 1998. Usaha Pembenihan Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) 206 Kaliurang di UPTD Hortikultura Ngipiksari Sleman-Yogyakarta. *Laporan Pemantapan Pengalaman Belajar di Unit Usaha (PPU) Siswa Sekolah Pertanian Pembangunan (SPP) YOS SUDARSO Sidareja*. Yogyakarta. 30 hlm.

Biro Pusat Statistik. 2000. *Survai Pertanian Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-buahan*. Jakarta. 24 hlm.

Lisa, A.E. 2001. *Pengaruh Konsentrasi Kalsium Klorida terhadap Hasil dan Kejadian Busuk Ujung Buah (BER) pada tiga kultivar Tomat (Lycopersicon esculentum* Mill*.)*. Skripsi Sarjana. Universitas Lampung. 57 hlm.

Rismunandar. 1988. *Hormon Tumbuhan dan Ternak*. Penebar Swadaya. Jakarta. 86 hlm.

Heddy, S. 1986. *Hormon Tumbuhan*. Diterbitkan dalam Rangka Program Penulisan Buku Proyek Pelita Depdikbud dan Pelaksanaan Pendidikan Diploma (D III) di Fakultas Pertanian UNIBRAW. Malang. 95 hlm.

[6] Vincent G. 1995. *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan jilid 2*. Penerbit Tarsito. Bandung. 719 hlm.

Pracaya. 2003. *Bertanam Tomat*. Penebar Kanisius. Yogyakarta. 98 hlm.

Wilkins, M.B. 1989. *Fisiologi Tanaman*. Diterjemahkan oleh Mul Mulyani Sutedjo dan A.G. Kartasapoetra. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta. 454 hlm.

AVRDC. 1986a. Tomato Physiology: Responses of Isogenic Lines of Determinate and Indeterminate Tomatoes to Flooding and Unicolazol at High Temperatures. *Progress Report*. Shanhua (Taiwan). Pp. 243—267.

---------- b. Tomato Physiology: Water Uptake and Dry Matter Production of Tomato Under Cool and Hot Season. *Progress Report*. Shanhua (Taiwan). Pp. 283—296.

Widiastoety, D. 1990. Pemberian GA_3 pada Tanaman Anggrek Bulan. *Buletin Penelitian Hortikultura Vol.XIX*. Jakarta. 19—24 hlm.

Wattimena, G.A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor bekerjasama dengan Lembaga Sumber Daya Informasi Institut Pertanian Bogor Bogor. 145 hlm.

Tugiyono, H. 1989. *Bertanam Tomat*. Penebar Swadaya. Jakarta. 37 hlm.

Ginting, Y.C. 1997. *Efek GA_{4+7} dan IAA Terhadap Karakteristik Fisik Buah Tomat*. Tesis Magister Pertanian. Universitas Padjadjaran. 46 hlm.

Weaver, R.J. 1972. *Plant Growth Substances in Agriculture*. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 48—61 pp.

Sawhney, V.K. 1984. Gibberellin and fruit Formation in Tomato: A Review. *Scientia Hort*. 1—8 pp.

PENGARUH PUPUK ORGANIK, PUPUK MIKRO, DAN VARIETAS PADA VIGOR DAYA SIMPAN BENIH PADI (*Oryza sativa* L.)

Eko Pramono
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl.S.Brojonegoro 1 Bandar Lampung 351.

ABSTRACT

Rice plant (Oryza sativa L.) is one of important food crops that will always be cultivated and developed in producing the main food for people of Indonesia. The experiment aiming to know effect of organik manure and micro nutrient on storability vigor (SV) of seeds of two rice varieties had been conducted during July 2009 to January 2010. Three treatments were arranged factorially within a split-split plot design with three replicates. The organic manure of 0 ton/ha (as control) and 2 ton/ha were applied as main plots, the micro nutirent of 0 (as control), 1, and 2 kg/ha were applied as subplots, and two varieties of Mira and Mayang were applied as sub-subplots. The storability vigor of seeds was measured using a chemical rapid ageing method with saturated ethanol vapour (CRAM). Intensity of ageing used were 0, 10, 20, 30, 40, and 50 minutes. The seeds used in each replicate were 50 seeds. Variable observed in this experiment was the slope value (b) of each linear curves of SV that derivated from each variable of seed viability. Those were percent of total normal seedling (TNS), strong normal seedling (SNS), percent of abnormal seedlings (ANS), and dry weight of normal seedling (DWNS). The SV curves of straight line Y = a ± b X were built from the values of seed viability as Y axis and ageing intensity as X axis. Then, the data of slope (b) values of SV curves were analyzed using analysis of variance at 5% level of significance. Tukey's test, at 5% level of significance, was used to comparing mean value among the treatments. Results show that storability vigor of seed was affected by orgnic manure and micronutrient, and between organic manure and varieties. Combining between organic manure of 2 ton/ha and micronutrient of 1 kg/ha could produce rice seeds with the highest storability vigor of seed. The storability vigor of Mira seeds was higher than of Mayang seeds. The storability vigor of seed of Mira variety was higher than those of the Mayang.

Key word: manure, micro nutrient, organic, rice, storability vigor.

PENDAHULUAN

Vigor daya simpan (VDS) benih padi menjadi sangat menentukan bagi usaha membangun ketahanan pangan nasional sebagaimana tercantum dalam Agenda Riset Nasional (Dewan Riset Nasional, 2006), yaitu dengan cara meningkatkan produktivitas. Upaya peningkatan produktivitas pangan tersebut tidak terlepas dari teknik intensifikasi pertanian yang mencakup peningkatan kesuburan tanah, penggunaan benih unggul bermutu, pengaturan pengairan, dan pengendalian hama dan penyakit tanaman.

Vigor daya simpan adalah garis vigor benih selama periode penyimpanan atau periode II (Sadjad, 1989), atau kemampuan lamanya suatu lot benih dapat disimpan (Sadjad, 1989), atau periode waktu yang diperlukan oleh suatu lot benih untuk mencapai suatu nilai viabilitas minimum tertentu dalam suatu kondisi simpan tertentu (Pramono, 2009b). Dengan pengertian tersebut maka lot benih dengan VDS tinggi memiliki DS lebih tinggi daripada lot benih dengan VDS lebih rendah. Nilai-nilai VDS dapat dinyatakan sebagai garis lurus Y = a ± b X (Pramono, 1991; 2000; 2001; 2009a; 2009b). Garis VDS dapat

memiliki nilai slope (b) positif atau negatif yang tergantung pada peubah yang mengukurnya. Nilai b negatif bila menggunakan peubah persen kecambah normal total (KNT), dan nilai b positif bila menggunakan peubah benih mati (BM). Besarnya nilai b menunjukkan tinggi atau rendahnya VDS suatu lot benih.

Garis VDS benih dapat dibentuk oleh hubungan antara nilai-nilai viabilitas benih sebagai sumbu Y dan waktu alamiah atau periode simpan alamiah (PSA) atau oleh intensitas pengusangan cepat (IPC) sebagai sumbu X (Pramono, 2000; 2001; 2009a; 2009b). Intensitas pengusangan cepat adalah kekuatan pengusangan yang diterapkan pada benih sehingga benih mengalami pengusangan atau penuaan dalam waktu yang relatif singkat. Intensitas pengusangan cepat itu dapat berupa periode waktu penderaan dengan uap jenuh etanol (IPCKU), atau berupa konsentrasi larutan etanol yang makin tinggi (IPCKL), atau periode waktu yang makin lama untuk penderaan benih oleh suhu 41^{o}C dan kelembaban nisbi 100% (Pramono, 2008).

Vigor daya simpan sangat ditentukan oleh faktor lingkungan selama pertumbuhan dan perkembangan benih (faktor indus), dan oleh faktor genetik (faktor innet) (Sadjad, 1972). Peranan unsur hara terhadap vigor telah dinyatakan secara jelas oleh Mengel dan Kirby (1982). Pengaruh genetik terhadap vigor daya simpan telah dilaporkan oleh beberapa peneliti, seperti pada kedelai (Abdul Kadir, 2001; Chazimah, 2000), padi (Susana, 2003; Pramono, 2009a), jagung (Sugiyanto, 2000), dan kacang tanah (Sulianti, 2003; Herlambang, 2005; Heryanto, 2010). Beberapa perbedaan antara padi varietas Mayang dan Mira adalah kadar amilosa (Mayang lebih tinggi daripada Mira), dan asal tetua (Mayang dari radiasi benih F-1 dari Cilosari dan IR-64, dan Mira dari radiasi benih Cisantana).

Beberapa penelitian telah melaporkan garis VDS benih akibat PSA setara dengan VDS akibat IPC, yaitu pada benih kedelai (Pramono, 2000; 2001), pada kacang tanah (Pramono, 2008). Karena adanya kesetaraan nilai viabilitas benih pada sumbu Y akibat PSA dan IPC tersebut maka ada kesetaraan antara PSA dan IPC (Pramono, 2001; 2008), dan dengan demikian hasil pengukuran VDS dengan metode pengusangan cepat (MPC) dapat digunakan untuk mengukur vigor daya simpan dugaan suatu lot benih (Pramono, 2000; 2009b). Metode pengusangan cepat dapat menggunakan uap jenuh etanol (MPCKU) (Sadjad, 1972), atau larutan etanol (MPCKL) (Pramono, 2000), atau suhu 41^{O}C dan kelembaban nisbi 100% (MPCF) (Delouce dan Baskin, 1973).

Unsur nitrogen berpengaruh sangat jelas pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman itu, seperti pada ukuran biji "ryegrass" (Ene dan Bean, 1975), pada kedelai (Ham et al., 1975), dan jagung (Eck, 1984). Bahkan waktu pemberian pupun nitrogen juga berpengaruh pada ukuran biji, yaitu bila diberikan pada awal pertanaman menyebabkan peningkatan ukuran biji gandum (Larger dan Liew, 1973), dan biji padi (Humpreys et al., 1987), sedangkan bila diberikan pada akhir masa pertanaman menurunkan ukuran biji gandum (Frederick dan Marshall, 1985). Akan tetapi pemberian nitrogen yang berlebihan dapat menurunkan mutu benih karena menyebabkan kurang masak pada benih bit gula (Scott, 1969). Benih yang dipanen dari tanaman *watercress* yang kekurangan P menghasilkan benih dengan daya berkecambah dan kecepatan perkecambahan yang rendah (Austin, 1966). Pemupukan P dapat meningkatkan kandungan P benih kacang koro (Peck et al., 1980), kedelai (Cassman et al., 1981), dan gandum (Porter dan Paulsen, 1983). Benih-benih yang berkadar P rendah menghasilkan tanaman yang lebih kecil daripada benih-benih yang berkandungan P tinggi.

Dalam meningkatkan produksi tananam, potensi pupuk organik setara pupuk buatan Bertham (2002). Peningkatan produktivitas tanah akibat pemberian pupuk organik karena penambahan kadar C-organik tanah. Untuk memperoleh produktivitas optimal

dibutuhkan C-organik >2,5% (Suriadikarta dan Simanungkalit, 2006). Pupuk organik "petroganik" memiliki kadar C-organik ± 12,5% (PT Sinar Makmur Organik, tanpa tahun). Penggunaan pupuk organik (1) dapat mencegah kahat unsur mikro pada tanah marginal atau tanah yang telah diusahakan secara intensif dengan pemupukan yang kurang seimbang, (2) meningkatkan kapasitas tukar kation (KTK) tanah, dan (3) dapat membentuk senyawa kompleks dengan ion logam yang meracuni tanaman seperti Al, Fe, dan Mn (Suriadikarta dan Simanungkalit, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pupuk organik, pupuk mikro, dan varietas pada pertanaman produksi benih pada vigor daya simpan benih padi.

METODE PENELITIAN

Benih sumber padi varietas Mira dan Mayang dari kelas benih dasar yang berasal dari Laboratorium Benih Universitas Lampung ditanam di lahan Desa Pujorahayu, Kecamatan Negeri Katon, Kabupaten Pesawaran, Propinsi Lampung pada Juli 2009 sampai Januari 2010. Pengujian VDS benih yang dipanen dari percobaan itu dilakukan di Laboratorium Benih Tanaman Fakultas Petanian Universitas Lampung dilakukan pada Januari 2010.

Benih padi disemai pada tanggal 27 Juli 2009 hingga bibit berumur 20 hari, lalu bibit dipindah tanam ke lahan pertanaman. Jarak tanam adalah 25cm x 25cm. Ukuran per petak percobaan adalah 5m x 5m. Jumlah bibit yang ditanam adalah 2 bibit per lubang tanam. Pertanaman diberi pupuk dasar urea 250 kg/ha, SP-18 200 kg/ha, dan KCl 100 kg/ha. Pupuk urea dan KCl diberikan dua kali, yaitu 1/3 bagian pada umur 10 hari setelah tanam (HST), dan 2/3 harian pada 40 HST. Pupuk SP-18 diberikan satu kali pada 10 HST.

Perlakuan yang diterapkan dalam setiap percobaan adalah dosis pupuk organik (P), dosis pupuk mikro (M), dan varietas (V). Dosis pupuk organik terdiri dari dua taraf yaitu 0 ton/ha (kontrol) (P1) dan 2 ton/ha (P2). Dosis pupuk mikro terdiri dari tiga taraf, yaitu 0, 1, dan kg/ha. Varietas terdiri dari dua macam, yaitu Mira dan Mayang. Ketiga perlakuan tersebut disusun secara faktorial dalam rancangan petak terbagi-terbagi (*split-split-plot*) dengan tiga ulangan. Dosis pupuk organik sebagai petak utama, dosis pupuk mikro sebagai anak petak, dan varietas sebagai anak-anak petak. Perlakuan pupuk organik, "petroganik", diterapkan pada satu hari sebelum bibit padi ditanam, ditaburkan secara merata pada lahan. Pupuk mikro, "plant catalyst", diterapkan dua kali yaitu 1/3 bagian pada umur tanaman 10 HST dan 2/3 bagian pada umur 40 HST dengan menebarkan secara merata pada lahan pertanaman. Perawatan pertanaman yang meliputi penyiangan gulma, pemberantasan hama, dan pengairan dilakukan dengan baik selama percobaan ini. Panen benih dilakukan pada 26 Nopember 2009. Benih lalu dijemur hingga mencapai kadar air 11-12%, dibersihkan, dan diuji vigor daya simpannya (VDS).

Pengujian VDS benih dilakukan dengan metode pengusangan cepat dengan uap jenuh larutan etanol 95% (Sadjad, 1972; Pramono, 2008; 2009a; 2009b) menggunakan alat mesin pengusang cepat (MPC) Tipe IPB 77-1. Intensitas pengusangan cepat yang digunakan dalam pengujian VDS adalah 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 menit. Benih padi bernas dilembabkan selama 12 jam lalu diletakkan dalam MPC yang jenuh dengan uap etanol tersebut. Setelah perlakuan pengusangan, benih ditanam untuk melihat viabilitas. Viabilitas benih padi dilihat dengan uji keserempakan perkecambahan (UKsP) dengan metode UKDdp (uji kertas digulung diberdirikan dilapisi plastik) (Sadjad, 1972) dan menggunakan kertas merang lembab sebagai medium perkeambahannya. Perkecambahan benih diletakkan dalam alat pengecambah benih Tipe IPB 73-2. Pengamatan kecambah dilakukan pada 6 x 24 jam setelah penanaman. Kecambah

normal total (KNT), kecambah normal kuat (KNK), dan kecambah abnormal (KAN), bobot kering kecambah normal (BKKN) dihitung dalam pengamatan tersebut. Setelah perlakuan pengusangan, nilai daya hantar listrik (DHL) benih juga diukur. Nilai BKKN adalah kecambah normal tanpa endosperm yang dioven selama 24 jam pada suhu 105^{O}C. Peubah KNT, KNK, dan KAN diukur sebagai persen terhadap benih yang ditanam, yaitu 50 butir per ulangan. Nilai DHL diukur dari 15 g benih yang direndam selama 24 jam dalam 150 ml air aquades, dan dinyatakan dalam satuan □mhos.cm/gram.

Data yang dianalisis adalah nilai slop (*b*) dari setiap garis VDS Y = a ± b X, yang dibentuk oleh nilai viabilitas (Y) dan intensitas pengusangan cepat (IPC) sebagai X. Setelah memenuhi asumsi kehomogenan antarperlakuan (dilihat dengan uji Bartlett) dan keaditivan data pengamatan (dilihat dengan uji Tukey), analisis data dilanjutkan dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji perbandingan nilai tengah antarperlakuan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) masing-masing pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam data nilai slob (*b*) garis VDS dari semua peubah viabilitas yang diukur (Tabel 1) menunjukkan bahwa a) pengaruh pupuk organik pada VDS benih nyata yang ditunjukkan oleh peubah-peubah KNK dan BKKN, b) pengaruh pupuk mikro pada VDS benih nyata yang ditunjukkan oleh peubah-peubah KNT, KNK, dan BKKN, c) pengaruh varietas pada VDS benih nyata yang ditunjukkan oleh peubah-peubah KNT, KNK, KAN, dan DHL, d) pengaruh interaksi pupuk organik dan pupuk mikro pada VDS benih nyata yang ditunjukkan oleh peubah BKKN, e) pengaruh interaksi pupuk organik dan varietas pada VDS benih nyata yang ditunjukkan oleh peubah KNT dan KNK, dan f) pengaruh interaksi pupuk mikro dan varietas dan pupuk organik, pupuk mikro, dan varietas pada VDS benih tidak nyata.

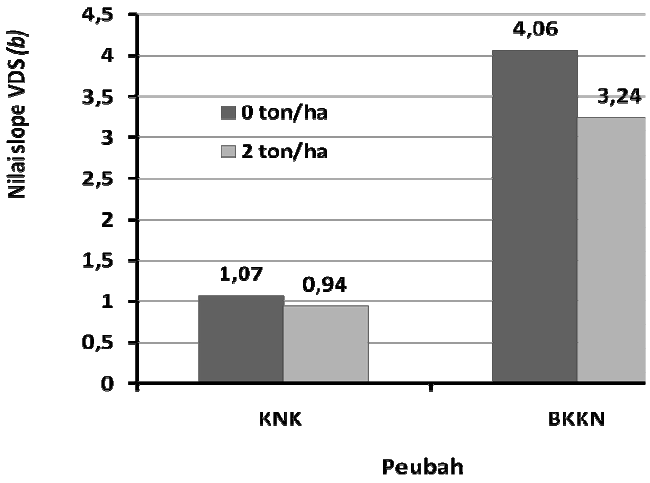
Tabel 1. Rekapitulasi analisis ragam pengaruh pupuk organik (P), pupuk mikro (M) dan varietas (V) pada slope garis VDS dari peubah yang diamati

Peubah	P	M	V	PM	PV	MV	PMV
Kecambah normal total (KNT) (%)	tn	*	**	tn	*	tn	tn
Kecambah normal kuat (KNK) (%)	*	**	**	tn	**	tn	tn
Kecambah abnormal (KAN) (%)	tn	tn	**	tn	tn	tn	tn
Bobot kering kecambah normal (BKKN) (g)	**	**	tn	*	tn	tn	tn
Daya hantar listri (DHL) (umhos.cm/g)	tn	tn	*	tn	tn	tn	tn

Keterangan: tn=tidak nyata; * = nyata pada taraf 5%; ** = nyata pada taraf 1%

Pengaruh Pupuk Organik pada VDS

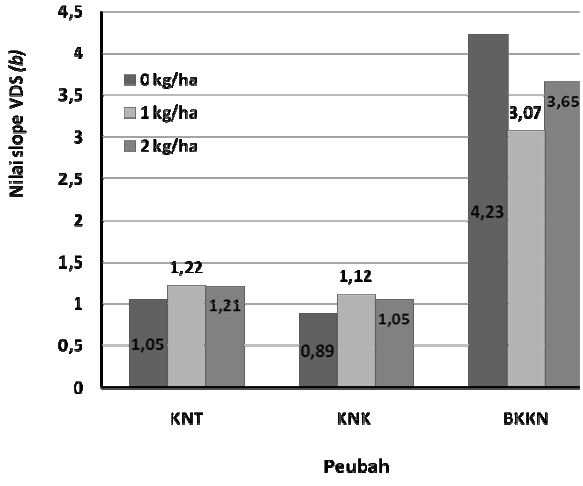
Pupuk organik berpengaruh nyata pada VDS benih yang ditunjukkan oleh slop garis VDS dari peubah KNK dan BKKN. Dua peubah tersebut menunjukkan bahwa pemebrian pupuk organik 2 ton/ha pada pertanaman produksi benih padi dapat meningkatkan VDS benih. Hal ini terlihat pada nilai slop VDS pada lot benih yang dipanen dari pertanaman yang tidak diberi pupuk organik lebih besar (1,07 dari peubah KNK dan 4,06 dari peubah BKKN) daripada nilai slop VDS benih yang dipanen dari pertanaman yang diberi pupuk organik (0,94 dari peubah KNK dan 3,24 dari peubah BKKN) (Gambar 1).



Gambar 1. Pengaruh pupuk organik pada nilai slope (*b*) garis vigor daya simpan (VDS) benih yang diukur dengan peubah kecambah normal kuat KNK) dan bobot kering kecambah normal (BKKN); BNT 5% untuk KNK 0,09%, dan untuk BKKN 0,27 mg.

Pengaruh Pupuk Mikro pada VDS

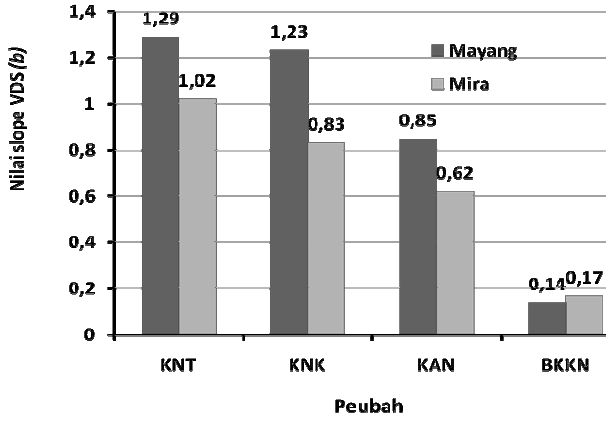
Pengaruh pupuk mikro pada VDS benih nyata ditunjukkan oleh slop garis VDS dari peubah KNT, KNK, dan BKKN (Gambar 2). Menurut slop VDS dari peubah KNT dan KNK, pemberian pupuk mikro pada pertanaman dengan dosis 1 dan 2 kg/ha menurunkan VDS benih yang ditunjukkan oleh nilai slop VDS yang makin besar dari 1,05 pada dosis 0 kg/ka menjadi 1,22 dan 1,22 pada dosis 1 dan 2 kg/ha. Menurut peubah BKKN terjadi sebaliknya, yaitu pemberian pupuk mikro pada pertanaman dengan dosis 1 kg/ha meningkatkan VDS benih.



Gambar 2. Pengaruh dosis pupuk mikro pada nilai slope (*b*) garis vigor daya simpan (VDS) benih yang diukur dengan peubah kecambah normal total (KNT), kecambah normal kuat (KNK), dan bobot kering kecambah normal (BKKN); BNT 5% untuk KNT 0,12%; KNK 0,13%, dan untuk BKKN 0,58 mg.

Pengaruh Varietas pada VDS

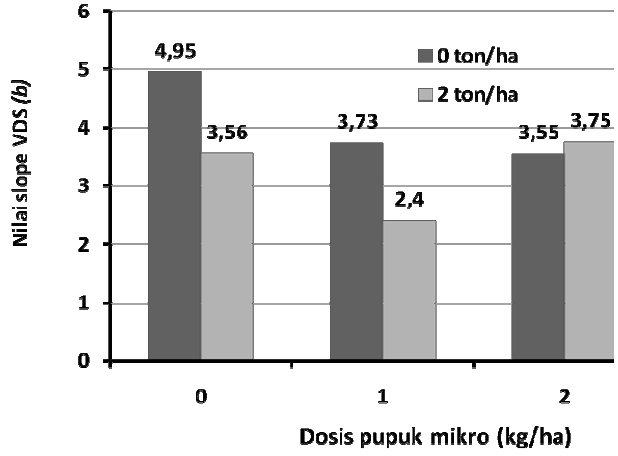
Pengaruh varietas pada VDS benih nyata ditunjukkan oleh slop slop garis VDS dari peubah KNT, KNK, KAN, dan DHL (Gambar 3). Peubah KNT, KNK, dan KAN menunjukkan bahwa varietas Mira memiliki VDS benih lebih tinggi daripada Mayang, tetapi peubah BKKN menunjukkan sebaliknya.



Gambar 3. Laju penurunan persen KNT, KNT, dan peningkatan KAN oleh intensitas pengusangan cepat pada Mayang lebih tinggi daripada Mira, tetapi laju penurunan bobot kering kecambah normal kuat pada Mira lebih tinggi daripada Mayang.

Pengaruh interaksi pupuk organik dan pupuk mikro pada VDS

Pengaruh interaksi pupuk organik dan pupuk mikro pada VDS nyata ditunjukkan oleh slop garis VDS dari peubah BKKN (Gambar 4). Bila pertanaman tidak diberi pupuk mikro, pemberian pupuk organik meningkatkan VDS benih. Pada pertanaman yang diberi pupuk organik 1 kg/ha, pemberian pupuk organik 2 ton/ha meningkatkan VDS benih dari slop VDS 3,73 menjadi 2,40. Pada pertanaman yang diberi pupuk mikro 2 kg/ha, pemberian pupuk organik 2 ton/ha menurunkan VDS benih dari slop 3,55 menjadi 3,75. Dengan demikian, kombinasi antara pupuk organik dan pupuk mikro yang paling baik untuk VDS adalah pupuk mikro 1 kg/ha dan pupuk organik 2 ton/ha.

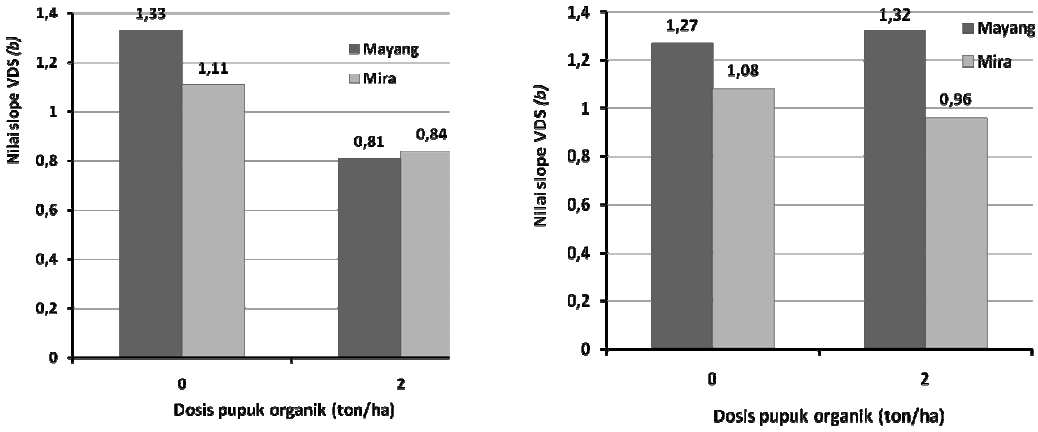


Gambar 4. Pengaruh interaksi pupuk organik dan pupuk mikro pada nilai slope (*b*) garis vigor daya simpan (VDS) benih yang diukur dengan peubah bobot kering kecambah normal (BKKN); Nilai BNT 5% = 1,15 mg.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pengaruh pupuk organik saja hanya meningkatkan VDS dari slop 4,95 (pada 0 ton/ha) menjadi 3,56 (pada 2 ton/ha), dan pengaruh pupuk mikro saja hanya meningkatkan VDS dari slop 4,95 (pada 0 kg/ha) menjadi 3,73 (pada 1 kg/ha). Pengaruh kombinasi pupuk organik 2 ton/ha dan pupuk mikro 1 kg/ha meningkatkan VDS benih lebih besar lagi, yaitu dari slop 4,95 pada kombinasi 0,0 menjadi slop 2,40 pada kombinasi 2,1. Pada kombinasi PM 2,2 sudah menurunkan VDS benih lagi. Hal ini diperkirakan bahwa sudah terjadi kelebihan ketersediaan unsur hara mikro yang mungkin dapat meracuni tanaman.

Pengaruh interaksi pupuk organik dan varietas pada VDS

Pengaruh interaksi pupuk organik dan varietas pada VDS benih nyata ditunjukkan oleh slop garis VDS dari peubah KNT dan KNK (Tabel 1). Pembandingan nilai tengah dari kombinasi perlakuan pupuk organik dan varietas dengan BNT disajikan pada Gambar 5 (peubah KNT) dan Tabel 8 (peubah KNK). Menurut peubah KNT, pemberian pupuk organik 2 ton/ha pada pertanaman varietas Mayang tidak meningkatkan VDS dari tanpa diberi pupuk organik. Begitu juga pada varietas Mira. Akan tetapi, munurut peubah KNK, dibadingkan tanpa pemberian pupuk organik, pemberian pupuk organik 2 ton/ha pada pertanaman padi varietas Mira maupun Mayang meningkatkan VDS benih, dari slop 1,33 ke 0,81 pada Mayang dan dari 1,11 ke 0,84 pada Mira.



Gambar 5. Pengaruh interaksi pupuk organik dan varietas pada nilai slope (*b*) garis vigor daya simpan (VDS) benih yang diukur dengan peubah kecambah normal kuat (KNK) (kiri);dan kecambah normal total (KNT) (kanan). Nilai BNT 5% untuk KNK = 0,21%, dan untuk KNT = 0,19 %/hari.

Gambar 1 sampai dengan Gambar 5 menunjukkan bahwa vigor daya simpan (VDS) benih padi dipengaruhi oleh pengaruh interaksi antara pupuk organik (P) dan pupuk mikro (M), dan antara pupuk organik (P) dan varietas (V), tetapi VDS tidak dipengaruhi oleh pengaruh interaksi antara pupuk mikro (M) dan varietas (V) maupun oleh pengaruh interaksi antara P, M, dan V. Dengan demikian, ada kombinasi terbaik dan kombinasi terburuk antara pupuk organik dan pupuk mikro dalam mepengaruhi VDS. Kombinasi terbaik adalah pupuk organik 2 ton/ha + pupuk mikro 1 kg/ha (Gambar 4), kombinasi terburuk adalah pupuk organik 0 ton/ha (tanpa pupuk organik) + pupuk mikro 0 kg/ha (tanpa pupuk mikro) (Gambar 4). Pada kombinasi terbaik tersebut, VDS benih varietas Mira lebih tinggi daripada varietas Mayang (Gambar 5), dan pada kombinasi terburuk tersebut, VDS benih varietas Mayang lebih rendah daripada Mira (Gambar 5). Dengan demikian, pemberian pupuk organik 2 ton/ha + pupuk mikro 1 kg/ha pada pertanaman padi varietas Mira dan varietas Mayang menyebabkan VDS benih Mira lebih tinggi

daripada VDS benih vairetas Mayang. Begitu pula, tanpa pemberian pupuk organik dan pupuk mikro pada pertanaman Mira dan Mayang, VDS benih Mira lebih tinggi daripada VDS benih Mayang.

KESIMPULAN

Secara umum dapat disimpulkan bahwa pengaruh interaksi antara pupuk dan pupuk mikro atau pupuk organik dan pengaruh varietas nyata pada vigor daya simpan benih padi. Pemberian kombinasi pupuk organik (P) 2 ton/ha + pupuk mikro (M) 1 kg/ha pada pertanaman menghasilkan vigor daya simpan benih padi paling tinggi di antara kombinasi PM lainnya, terutama untuk varietas Mira, yang lebih tinggi daripada varietas Mayang. Benih padi yang dipanen dari pertanaman yang tidak diberi pupuk organik maupun pupuk mikro memiliki vigor daya simpan yang paling rendah di antara kombinasi pemberian PM lainnya, terutama untuk varietas mayang, yang lebih rendah daripada Mira.

DAFTAR PUSTAKA

Abdul Kadir. 2001. Studi daya tahan deraan secara fisik pada benih dua varietas kedelai (*Glycine max* [L.] Merril). *Skripsi*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 59 hlm. Tidak dipublikasikan.

Austin, R.B. 1966. The growth of watercress (*Roripa nasturtium-aquaticum* L. (Hayck) from seed as affected by the phosphorus nutrition of the mother plant. *Plant and Soil* 24:113-120.

Bertham, R.Y.H. 2002. Potensi pupuk hayati dalam peningkatan produktivitas kacang tanah dan kedelai pada tanah seri Kandang Limun Bengkulu. *Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian Indonesia* 4(1):18-26.

Cassman, K.G., A.S. Whitney, and R.L. Fox. 1981. Phosphorus requirement of soybean and cowpea as affected by mode of N fertilization. *Agron. J.* 73:17-22.

Chazimah, N. 2000. Pengaruh penderaan dengan larutan etanol terhadap kemunduran benih kedelai (*Glycine max* [L.] Merr.). *Skripsi*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 70 Hlm. Tidak dipublikasikan.

Copeland, L.O, and M.B. McDonald. 1985. *Principles of Seed Science and Technology.* Macmillan Publ. Co. New York. Collier Macmillan Publ. London. pp. 321.

Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed. Sci. and Technol.* 1:427-452.

Dewan Riset Nasional. 2006. Agenda Riset Nasional 2006-2009. Kementerian Negara Riset dan Teknologi. Jakarta.

Eck, H.V. 1984. Irrigated corn yield responses to nitrogen and water. *Agron J.* 76:421-428.

Ene, B.N. and E.W. Bean. 1975. Variation in seed quality between certified seed lots of parennial ryegrass and their relationships to nitrogen supply and moisture status during seed development. *J. of British Grassland Soc.* 30:195-199.

Frederick, J.R. and H.G. Marshall. 1985. Grain yield and yield component of soft red winter wheat as affected by management practices. *Agron J.* 77:495-499.

Ham, G.E., I.E Leiner, S.D. Evans, R.D. Frazier, and W.W. Nelson. 1975. Yield and composition of soybean seed as affected by nitrogen and sulfur fertilization. *Agron J.* 67:293-297.

Herlambang, D. 2005. Pengaruh lama penderaan secara fisik terhadap viabilitas benih dua varietas kacang tanah. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 105 Hlm. Tidak dipublikasikan.

Heryanto, R. 2010. Pengaruh periode simpan pada viabilitas benih lima varietas kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 72 Hlm. Tidak dipublikasikan.

Humphreys, E., W.A. Muirhead, F.M. Melhuish, and R.J.G. White. 1987. Effect of time of urea application on combine-sown calrose rice in south-east Australia. 1. Crop response and nitrogen uptake. *Australian J. of Agric. Research* 38:101-112.

Larger, R.H.M., and F.H.Y. Liew. 1973. Effect of varying nitrogen supply at different stages of reproductive phase on spikelet and grain production and on grain nitrogen in wheat. *Australian J. of Agric. Research* 24:647-656.

Leggatt, C.W. 1948. Germination of boron-deficiant peas. *Scientific Agriculture* 28:131-139.

Mengel, K., and E.A. Kirby. 1982. Principles of Plant Nutrition. Intl. Potash Inst. PO Box, CH – 3048 Worbblaufen-Bern. Switzerland. 655pp.

Peck, N.H., D.L. Grunes, R.M. Welch, and G.E. MacDonald. 1980. Nutritional quality of vegetable crops as affected by phosporus and zinc fertilizers. *Agron. J.* 72:528-534.

Porter, M.A., and G.M. Paulsen. 1983. Grain protein response to phosphorus nutrition of wheat. *Agron. J.* 75:303-305.

Pramono, E. 1991. Penggunaan nilai delta dan nilai rasio viabilitas untuk menduga daya konservasi pratanam benih kedelai (*Glycine max* [L.] Merr.). *Tesis.* Fak. Pascasarjana IPB. Bogor. 103 Hlm. Tidak dipublikasikan.

Pramono, E. 2000. Pendugaan daya simpan benih kedelai dengan metode pengusangan cepat kimiawi. *Prosiding Seminar Nasional III Pengembangan Wilayah Lahan Kering.* Hal. 180-187. Universitas Lampung. Bandar Lampung,

Pramono, E. 2001. Kesetaraan antara deteriorasi dan devigorasi dari metode pengusangan cepat fisik pada benih kedelai (*Glycine max* L. Merill.). *J. Agrin* 5:18-25.

Pramono, E. 2008. Kesetaraan antara periode simpan alamiah (PSA) dan intensitas pengusangan cepat (IP) pada kacang tanah (*Arachis hipogaea* L.). *Laporan Penelitian.* Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 23 hlm. Tidak dipublikasikan.

Pramono, E. 2009a. Pengukuran Vigor Daya Simpan Benih Lima Varietas Unggul Padi (*Oryza sativa* L.) dengan Metode Pengusangan Cepat Kimiawi Uap Etanol (MPCKU). *Laporan Penelitian*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 23 hlm. Tidak dipublikasikan.

Pramono, E. 2009b. Daya Simpan Dugaan 90% (DSD-90) dari Intensitas Pengusangan Cepat Kimiawi dengan Uap Etanol (IPCKU) pada Benih Kacang Tanah (*Arahis hypogaea* L.). *Prosiding Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat*. Hlm B12-18. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Sadjad, S. 1972. Kertas merang untuk uji viabilitas benih di Indonesia: Beberapa penemuan dalam bidang teknologi benih. *Disertasi*. Fak. Pascasarjana IPB. Bogor. 281 Hlm. Tidak dipublikasikan.

Sadjad, S. 1989. Konsepsi Steinbauer-Sadjad sebagai landasan matematika benih di Indonesia. Orasi Ilmiah. Institut Pertanian Bogor. 42 Hlm.

Scott, R.K. 1969. The effect of sowing and harvesting dates, plant population and fertilizers on seed yield and quality of direct-drilled of sugar beet seed crops. *J. of Agric. Sci.* 70:373-385.

Sugiyanto. 2000. Pengaruh lama penderaan secara fisik terhadap kemunduran benih dua varietas jagung (*Zea mays* L.). *Skripsi*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 73 hlm. Tidak dipublikasikan.

Sulianti, W. 2004. Pengeauh penderaan dengan larutan etanol terhadap vigor benih tiga varietas kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Skripsi*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 95 hlm. Tidak dipublikasikan.

Suriadikarta, D.A. dan R.D.M. Simanungkalit. 2006. Pendahuluan. *Dalam* R.D.M. Simanungkalit, Didi Ardi Suriadikarta, Rasti Saraswati, Diah Setyorini, dan Wiwik Hartatik (Editor). *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Hlm 1-10. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.

Susana, D. 2003. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap vigor benih empat varietas padi (*Oryza sativa* L.). *Skripsi*. Fak. Pertanian Univ. Lampung. Bandar Lampung. 101 hlm. Tidak dipublikasikan.

PEMBEKALAN PEMBELAJARAN IPA BIOLOGI MELALUI MEDIA "MIVI" UNTUK MENINGKATKAN KOMPETENSI GURU

Mia Nurkanti, Nuryani Y Rustaman, Zaenal A, Suroso A Y
Email: mee.nkanti@yahoo.com

ABSTRACT

A study about inservivce training science teacher to teach biology using research and development method was carried out to investigate the effectiveness of empowering science teacher to learn science/biology regarding curricular demand and students' characteristics and limitation at senior secondary school for special need students. Two science teachers and three eleventh graders from Cicendo State school for special need students in Bandung were involved as research subjects. Science instruction on organic wastes management had been designed and developed using MIVI approach (multimedia interactive visual) based on research findings on need analysis in preliminary study at the same grade level in previous class. Teaching materials was in the modular form for teachers and worksheets for the student teachers. Data was collected through questionaires, observation sheet, researcher's note, and other suportring instruments. Pre-test was administered to students before being inservice training to science teachers, while post test was administered to the students after the science instruction held by one of the science teachers. Data was analyzed using Single Subject Research (SSR) method. Researched results showed that student improved their concept mastery (56.3 %). Inservice training MIVI to science teacher on content as well as on teaching skill could help them to teach science suitable for special need students at senior highschool for deaf students.

Key words: inservice training, science instruction, MIVI approach, special need education/ School for special need students.

PENDAHULUAN

Pembekalan kepada guru merupakan salah satu program untuk meningkatkan profesionalisme guru. Berbagai usaha dilakukan oleh berbagai pihak mulai kelembagaan pemerintah dari tingkat pemerintah pusat, pemerintah daerah dan tingkatan sekolah maupun unsur yang berasal dari dari organisasi profesi seperti PGRI, ISPI maupun pihak lain, misalnya perguruan tinggi yang kesemua itu pada dasarnya ikut berperan serta dalam pembinaan profesionalisme guru. Penelitian Freeman dkk (2005) yang menyatakan bahwa peningkatan penguasaan guru akan materi berpengaruh pada keberhasilan peningkatan profesionalisme guru.

Hambatan yang dihadapi oleh guru-guru dalam mengajarkan IPA di SLB, diantaranya berhubung banyak guru yang bukan berlatar belakang IPA maka materi yang ada dalam standar kompetensi dan kompetensi dasar dirasa sulit dan terlalu tinggi bagi siswa SLB maka kadang-kadang guru melewatkan konsep-konsep penting IPA tersebut. Sebaliknya karena guru merasa bertanggung jawab ingin tercapai sesuai SK dan KD yang telah ditentukan maka guru tetap memberikan konsep tersebut walaupun tidak sesuai artinya terjadi miskonsepsi. Contoh : seorang guru menjelaskan konsep peranan bioteknologi dalam bidang pangan, guru tersebut memberi contoh dengan menuliskan di papan tulis yaitu kloning tanaman dan kloning sapi tetapi tidak menjelaskan arti kloning, hal ini terlihat dari buku catatan siswa. Hasil observasi (Nurkanti,2009) memperlihatkan bahwa

betapa pengetahuan guru akan suatu konsep IPA itu salah. Bagaimana siswa SLB akan meningkat kemampuan kognitifnya apabila guru yang memberikan pelajarannya masih belum paham.

Berdasarkan penelitian Widodo dkk. (2009) tentang program peningkatan profesionalisme di dapat bahwa model duel mode merupakan program yang diharapkan oleh guru. Juga dikemukakan oleh Adey P (2004) bahwa jenis program yang diperlukan guru untuk meningkatkan keprofesionalismeannya adalah berupa pelatihan (88%).

Oleh karena itu diperlukan pelatihan pembelajaran IPA agar profesionalisme guru meningkat. Pelatihan guru untuk yang akan dilaksanakan pada penelitian ini di fokuskan pelatihan pembelajaran IPA Biologi pada konsep mendaur ulang limbah dengan menggunakan media pembelajaran MIVI.

Pembelajaran MIVI diberikan kepada guru yang mengajar IPA dengan langkah-langkah sebagai berikut : 1) guru dibekali materi pembelajaran daur ulang limbah berupa permainan edukatif monopoli tentang konsep sampah, 2) guru dibekali materi pembelajaran daur ulang sampah organic berupa kit IPA (modul dan cd), 3) guru dibekali materi praktek mengolah atau memanfaatkan sampah. Setelah guru dibekali konsep mengolah sampah diharapkan guru tersebut dapat membelajarkan kepada siswa. Siswa selain diberi penjelasan melalui cd jiga diberi modul yang berisi LKS tentang pengolahan sampah organik.

Oleh karena itu diperlukan pelatihan-pelatihan yang berkesinambungan tentang konsep-konsep IPA agar guru dapat memberikan konsep yang benar. Keterbatasan anak tunarungu jangan sampai bertambah dengan tidak dikuasainya konsep-konsep IPA dari gurunya. Penelitian ini merupakan salah satu cara meningkatkan kemampuan kognisi siswa melalui pendekatan MIVI dengan diberikan pelatihannya kepada guru yang mengajar IPA.

Kriteria kompetesi guru ada empat hal yaitu pertama guru harus merencanakan tujuan dan mengidentifikasi kompetensi yang hendak dicapai siswa. Kedua, guru harus melihat keterlibatan peserta didik dalam pembeljaran. Ketiga, guru harus memaknai kegiatan belajar. Keempat harus melaksanakan penilaian (BSN, 2001).

Sehubungan dengan uraian di atas, agar dapat memenuhi harapan dalam meningkatkan kualitas pendidikan maka perlu diadakannya pembekalan-pembekalan yang terus menerus.

Tujuan penelitian ini diharapkan untuk menemukan model pembelajaran yang sesuai kepada guru IPA sehingga guru dapat meningkatan kualitas pembelajarannya dan memenuhi kebutuhan siswa dalam belajar IPA di di SLB-Tunarungu.

Manfaatnya bagi guru adalah dengan mengikuti pembekalan pendekatan MIVI diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang pembelajaran yang memudahkan guru dalam menjelaskan materi tertentu sesuai standar kompetensi dan kompetensi dasar yang berlaku berdasarkan kurikulum, sedangkan manfaat bagi siswa yaitu memberikan pengetahuan dan motivasi belajar IPA sehingga terkesan belajar IPA itu mudah dan menyenangkan. Pelatihan guru untuk pembelajaran IPA yang dilaksanakan pada penelitian ini adalah di fokuskan pelatihan pembelajaran IPA pada konsep mendaur ulang sampah dengan menggunakan media pembelajaran MIVI.

METODOLOGI

Metode penelitian yang dilakukan menggunakan model penelitian R & D karena pada penelitian ini akan dikembangkan program pembelajaran biologi melalui media MIVI (computer interaktif) yang digunakan untuk meningkatkan kompetensi guru IPA di SLB. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan desain SSR (*single subject research*) yaitu strategi penelitian yang dikembangkan bertujuan untuk mendokumentasikan kemampuan guru secara individual (modifikasi perilaku/ *behavior modification*).

1. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas (X_1) adalah perlakuan berupa model pembekalan pembelajaran"MIVI" dan assesmennya. Variabel terikat (Y_1) adalah meningkatnya kompetensi guru IPA di SLB-Tunarungu.

2. Teknik pengumpulan data

Lokasi penelitian di SLB Negeri Cicendo Bandung
Waktu penelitian: mulai bulan Juni 2009 - Juni 2010
Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

1) Hasil observasi tentang keefektifan pembekalan guru berupa angket data untuk mengetahui jenjang pendidikan, latar belakang kompetensi guru, sumber bahan ajar, metode, model, hambatan, saran, dan tanggapan guru terhadap model pembelajaran MIVI.
2) Wawancara kepala sekolah untuk mengetahui cakupan kondisi fisik, tenaga pengajar, tenaga administrasi dan teknis yang terlibat di SLB-tunarungu.

Karakteristik subjek : dua orang guru yang mengajar IPA (perempuan)

Nama : I1 Pendidikan : S1 UPI prodi pendidikan kimia Tahun : 2007 Lama mengajar : 2 tahun	Nama : I2 Pendidikan : S1 PLB Tahun : 1999 Lama mengajar : 14 tahun

Setelah diperoleh gambaran dari kondisi obyektif sebelum dilaksanakan intervensi kemudian dibandingkan dengan kondisi setelah dilakukan intervensi (pembelajaran IPA dengan media MIVI) yang selanjutnya dilakukan analisis kualitatif deskriptif sederhana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

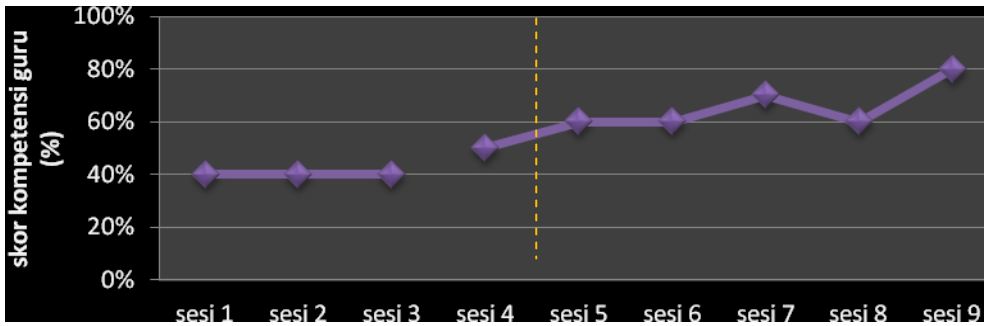
Tabel di bawah ini memperlihatkan aspek kompetensi guru sebelum dan sesudah diberi pembekalan MIVI pada materi pengelolaan sampah.

ASPEK KOMPETENSI GURU	SEBELUM PEMBEKALAN MIVI (%)	SESUDAH PEMBEKALAN MIVI (%)
PERSIAPAN MENGAJAR	40	70
KETERLIBATAN SISWA	80	80
MEMAKNAI PEMBELAJARAN	40	70
EVALUASI	100	100
JUMLAH	260	320

Analisis data

Subjek 1

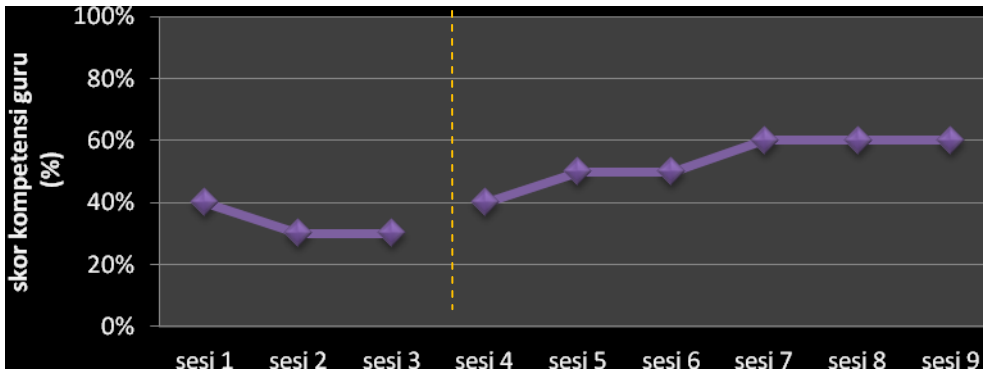
Pada subjek 1 untuk skor kompetensi sebelum pembekalan pada keempat aspek yang diamati cenderung konstan yaitu 40 %. Setelah pembekalan ada kenaikan meskipun cukup tinggi 63,3%. Terlihat pada grafik di bawah ini.



Grafik.1. Kompetensi guru sebelum dan sesudah pembekalan (%)

Subjek 2

Pada subjek 2 untuk skor kompetensi sebelum pembekalan pada keempat aspek yang diamati cenderung menurun yaitu 33,3%. Setelah pembekalan ada kenaikan meskipun tidak terlalu tinggi 30 %. Terlihat pada grafik di bawah ini.



Grafik. 2. Kompetensi guru sebelum dan sesudah pembekalan (%)

KESIMPULAN

Model pembekalan pembelajaran MIVI dirasa sesuai dengan kebutuhan dan karakteristik siswa di SLB Tunarungu. Kriteria kompetesi guru ada empat hal yaitu pertama guru harus merencanakan tujuan dan mengidentifikasi kompetensi yang hendak dicapai siswa. Kedua, guru harus melihat keterlibatan peserta didik dalam pembelajaran. Ketiga, guru harus memaknai kegiatan belajar. Keempat harus melaksanakan penilaian (BSN, 2001).

Dengan mengikuti pembekalan pembelajaran ini kompetensi pertama guru tentang merencanakan tujuan dan mengidentifikasi kompetensi yang hendak dicapai siswa sudah cukup baik terlihat dengan adanya pembuatan rpp dan perencanaan pembelajaran setiap akan mengajar. Aspek kedua tentang keterlibatan siswa dalam pembelajaran sudah baik terlihat dari metode pembelajaran yang digunakan telah menciptakan interaksi timbal balik antara guru dan siswa. Aspek ketiga, dalam memaknai kegiatan belajar cukup baik dilihat dari penggunaan alat peraga atau media, meskipun di sekolah sudah disediakan tetapi kadang guru tidak menggunakannya. Sehingga materi yang

bersifat abstrak sulit diterima siswa. Walaupun guru tetap berusaha dengan memberi penjelasan dengan menuliskan hal-hal yang penting saja. Sebaiknya guru memenuhi kebutuhan siswa tunarungu dengan memberi pembelajaran yang bersifat nyata. Hal yang keempat, guru telah melakukan penilaian setiap akhir pelajaran meskipun bentuknya berupa pertanyaan secara lisan.
Melalui pembekalan pembelajaran IPA Biologi dengan media "MIVI" dapat meningkatkan kompetensi guru sekitar 60 % pada materi pengelolaan sampah organik.

DAFTAR PUSTAKA

Adey, P, (2004). *The Proffesional Development of Teachers* : Practice and Theory. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher.

Chin, C (2007). Multi Modality in teaching and Learning Science (keynote speaker's paper) Proceeding of the first International Seminar of Science Education, 27-20-07. ISBN:979-25-0599-7. P 8-12.

Delphie, B. (2006). *Pembelajaran Anak Berkebutuhan Khusus dalam setting Pendidikan Inklusi*, Bandung, Refika Aditama.

Depdiknas, (2004). *Standar Kompetensi PGSMP/SMA,* Jakarta,P2TK Titjen Dikti.

Depdiknas, (2006). *Standar Kompetensi dan Kompetensi Dasar*, Dirjen Manajemen Pendidikan Pendidikan Dasar dan Menengah, Direktorat Pembinaan Sekolah Luar Biasa.

Doetkott, C. dan Helms, C.T. (2007). An educational software for simulating the sample size of Moleculer Marker Experiments. *Journal of Natural Resources & Life Sciences Education.* **36.** Tersedia : http: // www. JNRLSE.org. [Maret 2008].

Dolan, E. (2008). Recent research in Science Teaching and Learning, The American Society for Cell Biology, *CBE-Life Sciences Education*, **7**, 2008. Tersedia : http: //www.nsta.org. [Maret 2008].

Hallahan, D.P. and Kauffman J.M. (2006). *Exceptional Learners, An Introduction to Special Education*, Tenth Edition, Pearson Education Inc.

Hergenhahn, B. R. dan Olson, M.H. (2008*). Theories of Learning*, (seven ed.) Hamline University. *Life Skill.* Tersedia: http://miximingblogging.com/2007/06.html.[Pebruari 2008].

Jeanpierre, B., Oberhauser, K. & Freeman, C (2005). Characteristic of professional development that class: A comparison of unsuccessful and successful performance. **Science education,** 463-480.

Lang, H.G., Hupper, M.L., Monte, D.D., (2006). A Study of Technical Sign in Science: Implication for Lexical Data base Development. *Journal of Deaf Studies and Deaf Education,* Advance Access Published, September 4, 2006, 1-15.

Lewton, and Mackey. (2004), *Augmentative and Alternative Communication,* Orkney Islands Council, Department of Education and Recreation Services School Place, Kirkwall, Orkney, KW15 1NA.

Mahler, R. *et al*. (2007), "Linking public attitudes with perceptions of factors impacting water quality and attending learning activities", *Journal of Natural Resources & Life Sciences Education,* **36.** Tersedia : http: // www. JNRLSE.org [Maret,2008].

Nurkanti, M, (2007), Hasil field study, *laporan makalah*, tidak dipublikasikan.

STUDI EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) SEBAGAI FITOHORMON PADA TANAMAN CABAI

Agus Karyanto
Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Email: agusk@unila.ac.id or agsknila@yahoo.com

ABSTRACT

Other than water, fertilizer, high yielding variety, crops need additional input to get better yield. The application of plant hormone (phytohormone) is a common practice to improve the quality and quantity of horticultural crop product. Although could boost crop yield and quality, commercial plant hormone is considered very expensive. A cheap and natural phytohormone, yet under-explored, is moringa leaf extract. The objectives of the study were to quantify the effect of (1) the concentration of moringa leaf extract, (2) the frequency of moringa leaf extract application, and the (3) combined effect of moringa leaf extract concentrations and spraying frequencies on the growth and yield of red hot chilly pepper (Capsicum annuum L.). The research was done in West Lampung from August to December 2008. Experiments were arranged in a completely randomized design with three replicates. The first treatment was three concentrations of moringa leaf extract, i.e. 0 g, 10 g, and 20 g fresh leaf/100 ml ethanol 80%. The second treatment was two spraying frequencies, i.e. 3 and 5 times. Results showed that the concentration of 20g/100 ml ethanol improved plant growth (i.e. plant height, leaf greenness, leaf nitrogen, and plant biomass) and chilly pepper yield in terms of fruit number, weight, and size. Combined effect of extract of 20g leaf/100 ml ethanol that sprayed 5 x increased chilly pepper plant biomass, fruit number, and fruit weight. Application of moringa leaf extract increased chilly pepper yield up to 30% over the yield of control plant.

Key words: moringa leaf extract, chilly pepper growth and yield

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi per satuan luas masih dapat dilakukan melalui perbaikan teknik budidaya tanaman, misalnya dengan aplikasi fitohormon. Fitohormon (atau sering disebut hormon atau zat pengatur tumbuh) adalah substansi yang secara alami diproduksi oleh tanaman yang mengatur berbagai fungsi tanaman agar berjalan normal, seperti pertumbuhan akar/tajuk, pembentukan bunga dan buah, absisi bunga dan buah, serta proses-proses pertumbuhan dan perkembangan lainnya (Hopkins, 1995; Fishel, 2006).

Pada umumnya, zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah jenis sintetik (buatan pabrik/industri) baik dari golongan auksin, sitokinin, giberelin, etilen, maunpun asam absisat. Namun demikian, meskipun terbukti mampu meningkatkan produksi tanaman, bahan-bahan tersebut harganya cukup mahal sehingga sangat jarang petani di Indonesia yang mau menggunakannya. Untuk itu, eksplorasi zat pengatur tumbuh alternatif yang diperoleh dari bahan-bahan tanaman yang ada di sekitar kita patut diujicoba.

Salah satu fitohormon alami dapat diperoleh dari ekstrak daun kelor seperti dilaporkan oleh Makkar dan Becker (1996) di India dan oleh Fuglie (2000) di Nicaragua. Selain mengandung berbagai macam mineral dan vitamin (Utami dkk, 2005; Fuglie 2000 dan 2001), salah satu bahan aktif ekstrak daun kelor adalah senyawa mirip zeatin, suatu

hormon tanaman dari kelompok sitokinin (Fuglie, 2000 dan 2001). Sebagaimana aplikasi fitohormon lainnya, penyemprotan ekstrak daun kelor digunakan sebagai tambahan setelah aplikasi pupuk yang cukup. Foidl *et al.* (2001) melaporkan bahwa aplikasi ekstrak daun kelor dapat meningkatkan hasil berbagai tanaman 20-35% dibandingkan kontrol, baik pada tanaman pangan (sorgum, kedelai, dan jagung), tanaman sayuran (bawang bombay, paparika, dan cabai), tanaman buah (melon), serta tanaman perkebunan (kopi dan teh).

Tanaman cabai termasuk komoditas bernilai ekonomi tinggi sehingga perbaikan teknik budidaya sangat diperlukan untuk memenuhi permintaan cabai yang terus meningkat seiring dengan bertambahnya kebutuhan masyarakat (Setiadi, 2001; Prajnanta, 2003). Peningkatan permintaan ini harus diimbangi dengan peningkatan produksi. Rata-rata produksi cabai di Indonesia masih berkisar antara 3 – 4,5 ton/ha (BPS, 2007). Meskipun produktivitas cabai merah di beberapa sentra produksi telah meningkat sampai 5.67 ton per hektar (Sumber: http://agribisnis.deptan.go.id/) namun masih di bawah potensi produksinya yang mencapai 8 -18 ton/ha. Produktivitas tanaman cabai yang belum optimal ini diharapkan dapat ditingkatkan melalui pemupukan yang berimbang serta dengan aplikasi fitohormon yang diperoleh dari ekstrak daun kelor

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui (1) pengaruh taraf konsentrasi ekstrak daun kelor pada pertumbuhan dan hasil cabai merah, (2) pengaruh frekuensi penyemprotan ekstrak daun kelor pada pertumbuhan dan hasil cabai merah, serta (3) pengaruh interaksi antara taraf konsentrasi dan frekuensi penyemprotan ekstrak daun kelor pada pertumbuhan dan produksi cabai merah.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di kebun petani di dusun Tugusari Kecamatan Sumberjaya, Kabupaten Lampung Barat dari bulan Agustus sampai Desember 2008.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih cabai merah varietas Bintoro, etanol 80%, daun kelor muda, air destilata, pupuk kandang sapi, pupuk (urea, ZA, TSP, dan KCl), bambu, tanah, insektisida (Curacron dan Furadan 3G), antraktan (metil eugenol), dan fungisida (Benlate dan Dithane M-45).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: cangkul, *hand sprayer*, gelas mineral ukuran 200 ml, tabung reaksi, gelas ukur, labu erlenmeyer, gelas piala, jerigen volume 5 liter, kertas saring, mortar & pestle, sprayer, pipet, *cutter*, timbangan, meteran, termometer, Minolta SPAD 502, lux meter, kamera digital, dan alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan perlakuan terstruktur regresi dalam rancangan percobaan teracak sempurna. Faktor perlakuan yang digunakan adalah 3 taraf konsentrasi dan 2 taraf frekuensi pemberian ekstrak daun kelor. Tiga taraf konsentrasi ekstrak daun kelor adalah 0 (tanpa), 10 g daun muda segar yang ditumbuk dalam 100 ml etanol 80%, dan 20 g daun muda segar yang ditumbuk dalam 100 ml etanol 80%. Campuran kemudian disaring dan hasil ekstraksi diencerkan dengan air aquades hingga mencapai volume 1 liter sebelum disemprotkan secara merata ke tajuk tanaman. Dua taraf frekuensi penyemprotan ekstrak daun kelor yaitu (a) disemprotkan setiap dua minggu sekali pada umur 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu setelah tanam (atau 5 kali

penyemprotan) dan (b) disemprotkan 3 kali yaitu pada umur 2, 6 (saat pembungaan), dan 8 minggu setelah tanam (saat pembentukan buah). Jumlah ulangan setiap perlakuan ada 3 dan setiap satuan percobaan terdiri petakan ukuran 1,2 m x 5m.

Homogenitas ragam diuji dengan uji Bartlett, analisis data dilakukan dengan menggunakan sidik ragam, sedangkan uji nilai tengah menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan program SAS versi 9.1 (SAS Intitute, Cary NC).

Sebelum tanam, benih cabai disemai terlebih dahulu selama 3 minggu. Bibit yang sehat hasil semaian dipindahkan ke lahan dengan jarak tanam 60 x 60 cm yang ditanam secara zig-zag pada petakan berukuran 1,2 x 5 m. Jumlah tanaman per petak adalah 64 tanaman dan 10 tanaman contoh diambil secara acak untuk pengamatan pertumbuhan dan produksi. Pemeliharaan tanaman meliputi pemupukan, penyiraman, penyulaman, perompesan, pemasangan ajir, dan pengendalian organisme pengganggu tanaman. Pupuk anorganil dengan dosis 100 kg Urea/ha, 200 kg ZA/ha, 100 kg SP-36/ha, dan 100 kg KCl/ha diberikan dalam dua tahap, sebagai pupuk dasar dan susulan. Pupuk dasar diberikan saat pindah tanam dengan dosis 1/3 campuran Urea dan ZA (2/3 sisanya untuk pupuk susulan), semua SP-36 dan semua KCl. Pupuk susulan yang diberikan pada umur 30 hari setelah tanam adalah 1/3 bagian campuran Urea dan ZA, sedangkan pada umur 45 hari setelah tanam adalah 1/3 bagian dari sisa campuran Urea dan ZA. Pupuk dimasukkan ke dalam lubang diantara barisan tanaman. Penyulaman dilakukan pada bibit yang mati, perompesan atau pembuangan tunas air pada saat muncul tunas air, dan bunga yang pertama kali muncul juga dibuang. Pengendalian organisme pengganggu tanaman disesuaikan dengan kondisi yang ada, misalnya penyakit layu daun dikendalikan dengan fungisida Benlate, pengendalian hama lalat buah penyebab busuk buah dipasang jebakan yang diberi Antraxtan, sedangkan untuk mengendalikan serangga pengisap daun seperti Thrips dan Aphid digunakan insektisida Curacron konsentrasi 2 ml/l.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyemprotan ekstrak daun kelor dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman cabai merah. Secara umum, pengaruh konsentrasi ekstrak daun kelor lebih dominan dibandingkan dengan pengaruh frekuensi penyemprotan yang dilakukan. Rangkuman hasil analisis ragam disajikan pada Tabel 1.

Frekuensi pemberian 5 x meningkatkan tinggi tanaman cabai secara nyata pada umur 7, 9, dan 11 MST, sedangkan pengaruh konsentrasi berbeda nyata pada umur 5, 7, 9, dan 11 MST (Tabel 1). Tidak terdapat pengaruh interaksi frekuensi dan konsentrasi ekstrak daun kelor terhadap tinggi tanaman cabai merah. Pengamatan tinggi tanaman dihentikan pada umur 11 MST karena pada umur tersebut tanaman sudah memasuki fase generatif, sehingga meskipun masih ada penambahan tinggi namun dianggap tidak lagi signifikan mengingat hasil fotosintesis tanaman akan lebih banyak didistribusikan menuju organ reproduktif yaitu bunga dan buah.

Tingkat kehijauan daun, sebagai salah satu indikator tinggi rendahnya kandungan zat hijau daun, lebih dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun kelor (Tabel 1). Frekuensi pemberian ekstrak 5 x hanya lebih unggul dalam nilai tingkat kehijauan daun tanaman umur 11 MST. Interaksi antara frekuensi dan konsentrasi ekstrak terhadap tingkat kehijauan daun tanaman cabai terjadi pada saat tanaman berumur 7 dan 11 MST.). Pengaruh konsentrasi esktrak daun kelor 10 g/100 ml etanol 80% yang disemprotkan sebanyak 5 x (perlakuan F5K2) secara umum sebanding dengan konsentrasi 20 g/100 ml

etanol 80% yang disemprotkan sebanyak 3X (perlakuan F3K3). Perlakuan kontrol (penyemprotan dengan air) memiliki nilai tingkat kehijauan daun terendah.

Pengaruh konsentrasi dan frekuensi pemberian ekstrak daun kelor terhadap kandungan unsur N, P, dan K tajuk tanaman cabai umur 9 MST disajikan pada Tabel 2. Tanaman cabai umur 9 MST adalah bertepatan dengan fase awal pembentukan buah cabai dan tanaman sedang berada pada pertumbuhan vegetatif yang maksimum. Kandungan unsur N, P, dan K tajuk tanaman cabai diamati di laboratorium dengan metode Kjeldahl (untuk N) dan metode pengabuan yang dilanjutkan dengan uji spektrofotometri (untuk P dan K). Pengukuran kandungan hara hanya dilakukan pada tajuk tanaman karena kesulitan untuk memperoleh akar tanaman secara utuh dan lengkap. Konsentrasi ekstrak daun kelor 20 g/100 ml etanol 80% meningkatkan secara nyata kandungan nitrogen dan kalium tajuk tanaman cabai, namun tidak untuk kandungan fosfor (Tabel 2). Frekuensi penyemprotan tidak mempengaruhi kandungan N, P, dan K tajuk tanaman cabai, demikian pula tidak terdapat interaksi antara kedua faktor perlakuan yang dicobakan.

Tabel 1. Rekapitulasi hasil analisis ragam pengaruh konsentrasi dan frekuensi penyemprotan ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai.

No	Variabel yang diamati	Konsentrasi	Frekuensi	Kons *Frek
1	Tinggi tanaman umur 2 MST'	tn	tn	tn
2	Tinggi tanaman umur 3 MST	tn	tn	tn
3	Tinggi tanaman umur 5 MST	*	tn	tn
4	Tinggi tanaman umur 7 MST	*	*	tn
5	Tinggi tanaman umur 9 MST	*	*	tn
6	Tinggi tanaman umur 11MST	*	*	tn
7	Tingkat kehijauan daun 2 MST	tn	tn	tn
8	Tingkat kehijauan daun 3 MST	*	tn	tn
9	Tingkat kehijauan daun 5 MST	*	tn	tn
10	Tingkat kehijauan daun 7 MST	*	tn	*
11	Tingkat kehijauan daun 9 MST	*	tn	tn
12	Tingkat kehijauan daun 11 MST	*	*	*
13	Kandungan N daun 9 MST	*	tn	tn
14	Kandungan P daun 9 MST	tn	tn	tn
15	Kandungan K daun 9 MST	*	tn	tn
16	Bobot basah tajuk 11 MST	*	*	*
17	Bobot kering tajuk 11 MST	*	*	*
18	Jumlah buah total /tanaman	*	*	*
19	Jumlah buah normal /tanaman	*	*	*
20	Jumlah buah cacat /tanaman	tn	tn	tn
21	Bobot buah total /tanaman	*	*	*
22	Bobot buah normal /tanaman	*	*	*
23	Bobot buah cacat /tanaman	*	tn	tn
24	Panjang buah /tanaman	*	*	tn

Keterangan: MST = minggu setelah (pindah) tanam ke lapang
* berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji BNJ, tn = tidak berbeda nyata

Tabel 2. Kandungan unsur N, P, dan K pada tajuk tanaman cabai umur 9 MST

Konsentrasi ekstrak	N tajuk (%)	P tajuk (%)	K tajuk (%)
0 g/100 ml etanol 80%	6,07 a	0,38 a	2,69 a
10 g/100 ml etanol 80%	6,69 a	0,37 a	3,11 b
20 g/100 ml etanol 80%	7,04 b	0,38 a	3,42 c
BNJ 5%	0,58	0,07	0,17
Frekuensi penyemprotan			
3 x (2, 6, 8 MST)	6,45 a	0,37 a	3,03 a
5 x (2, 4, 6, 8, 10 MST)	6,76 a	0,38 a	3,11 a
BNJ 5%	0,39	0,05	0,11

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bobot basah dan bobot kering tajuk tanaman cabai pada umur 11 MST dipengaruhi oleh frekuensi penyemprotan pada berbagai taraf konsentrasi ekstrak daun kelor (Tabel 1). Karena sangat sulit untuk mendapatkan sampel akar yang utuh dan lengkap tanpa merusak tanaman di sekitarnya, maka biomassa akar tidak diamati. Penimbangan bobot kering dilakukan setelah bahan tanaman dikeringkan dengan oven pada suhu 70^{o} C selama 3 hari sampai bobotnya konstan dan batangnya mudah dipatahkan dengan jari tangan. Bobot basah dan bobot kering tanaman tertinggi diperoleh pada kombinasi penyemprotan 5 x dengan konsentrasi 20 g/100 ml (F5K3), diikuti oleh kombinasi penyemprotan 5 x dengan konsentrasi 10 g/100 ml (F5K2) dan kemudian diikuti oleh kombinasi penyemprotan 3 x dengan konsentrasi 20 g/100 ml (F3K3). Perlakuan kontrol dan F3K2 menghasilkan bobot basah dan bobot kering terrendah.

Pengamatan ukuran buah hanya dilakukan terhadap panjang buah cabai. Pengukuran panjang buah dilakukan pada sampel 10 buah cabai setiap kali panen dan kemudian di rata-ratakan. Baik frekuensi maupun konsentrasi ekstrak daun kelor meningkatkan panjang buah cabai , namun tidak terdapat interaksi di antara kedua faktor perlakuan tersebut (Tabel 1). Frekuensi penyemprotan 5 x meningkatkan rerata panjang buah cabai 0,49 cm dari 12,97 cm menjadi 13,46 cm, sedangkan konsentrasi ekstrak 20 g/100 ml meningkatkan panjang buah cabai sebesar 1,5 cm dari 12,27 cm menjadi 13,79 cm.

Komponen produksi meliputi jumlah dan bobot buah per tanaman, baik secara total maupun dipisahkan menjadi normal dan cacat (Tabel 3). Jumlah buah normal dan totalnya dipengaruhi oleh kombinasi perlakuan, demikian pula dengan bobot buah normal dan totalnya. Jumlah dan bobot buah cacat tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Tabel 3. Pengaruh kombinasi perlakuan terhadap komponen produksi per tanaman cabai

Kombinasi perlakuan	Jumlah buah normal	Jumlah buah cacat	Jumlah buah total	Bobot buah normal (g)	Bobot buah cacat (g)	Bobot buah total (g)
F3K1	160,15 a	15,69 a	175,84 a	332,59 a	15,13 a	347,72 a
F3K2	152,70 a	22,17 a	174,86 a	314,89 a	24,42 a	339,31 a
F3K3	211,68 b	22,01 a	233,69 b	410,83 b	27,60 a	435,60 b
F5K1	162,13 a	17,39 a	179,52 a	349,23 a	13,11 a	362,34 a
F5K2	240,87 bc	29,50 a	270,37 b	479,28 bc	38,67 a	523,27 c
F5K3	250,86 c	29,66 a	280,52 b	503,81 c	37,59 a	540,90 c
BNJ 0,05	35,47	14,02	48,69	87,88	25,96	72,49

Keterangan: F3 = frekuensi penyemprotran 3 x; F5 = 5 x; K1 = kontrol, K2 = konsentrasi ekstrak daun kelor 10 g/100 ml etanol; K3 = 20 g/100 ml etanol.

Kombinasi perlakuan F5K3 memiliki jumlah buah normal, jumlah buah total, bobot buah normal dan bobot buah total tertinggi meskipun tidak berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan F5K2 dan F3K3 (Tabel 3). Produksi bobot buah total tanaman yang disemprot dengan ekstrak daun kelor sebanyak 5 x meningkat lebih dari 30% dibandingkan dengan kontrol.

PEMBAHASAN

Pertumbuhan dan produksi tanaman cabai dapat ditingkatkan dengan penyemprotan ekstrak daun kelor muda ke tajuk tanaman selama fase vegetatif dan awal fase reproduktif tanaman. Konsentrasi 20 g/100 ml etanol 80% mampu meningkatkan variabel vegetatif tanaman yang meliputi tinggi tanaman, tingkat kehijauan daun, kandungan N dan K tajuk, serta bobot basah dan bobot kering tanaman. Cairan atau ekstrak daun kelor diduga mengandung fitohormon seperti sitokinin (Fuglie, 2000; 2001). Sitokinin merupakan hormon tanaman yang mampu merangsang pertumbuhan tunas dan menunda penuaan (senesens) atau memperpanjang umur produktif tanaman (Hopkins, 1995; Fishel 2006). Akibatnya tanaman cabai yang disemprot dengan ekstrak daun kelor mampu menghasilkan fotosintat yang lebih banyak dalam jangka waktu yang lebih lama.

Daun yang memiliki nilai tingkat kehijauan daun tinggi dapat diasumsikan memiliki kandungan klorofil yang padat per satuan luas daun. Beberapa penelitian mendemosntrasikan adanya korelasi antara kandungan nitrogen dengan nilai tingkat kehijauan daun, baik pada tanaman jagung (Piekielek dan Fox, 1992; Blackmer dan Scherpers, 1995), kapas (Fridgen dan Varco, 2004) maupun pada tanaman tomat (Fontes dan Ronchi, 2002). Kepadatan klorofil sangat erat kaitannya dengan kemampuannya menyerap energi surya dalam proses fotosintesis (Salisbury dan Ross, 1995). Kandungan klorofil yang tinggi akan lebih efisien dalam menyerap radiasi surya, sehingga hasil fotosintesis (fotosintat) akan lebih banyak dibandingkan dengan daun yang kandungan klorofilnya rendah.
Kandungan N daun juga mencerminkan kesuburan tanaman. Selain sebagai unsur penyusun molekul klorofil, nitrogen juga menjadi bagian penting protein dan enzim. Semakin banyak N diserap tanaman maka daun akan semakin hijau, sedangkan bila terjadi defisiensi N maka akan daun akan mengalami gejala klorosis (Marschner, 1986). Protein dalam daun yang aktif berfotosintesis sekitar 60% atau lebih adalah dalam bentuk enzim, terutama enzim *rubisco* (*ribulose bisphosphate carboxylase oxygenase*) yang sangat penting dalam fiskasi karbon dioksida dari udara pada tanaman C3 (Salisbury dan Ross, 1995).

Biomassa tanaman (bobot basah dan bobot kering tajuk) juga meningkat akibat aplikasi ekstrak daun kelor. Pada prinsipnya, akumulasi bahan kering tanaman ditunjang melalui proses-proses yang terkait dengan fotosintesis dan distribusi fotosintat ke seluruh bagian tanaman. Jika faktor pendukung fotosintesis seperti tingkat kehijauan daun tinggi maka tanaman akan mampu menghasilkan biomassa yang tinggi pula, baik pada bagian vegetatif dan/atau bagian reproduktif tanaman.

Dalam penelitian ini bobot buah cabai per tanaman meningkat lebih dari 30% dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Bobot buah cabai merupakan fungsi dari jumlah dan ukuran buah; semakin banyak jumlah buahnya dan semakin besar ukurannya maka bobotnya akan meningkat (Berkel *et al*., 2005). Dalam fase reproduktif, bunga dan buah merupakan *sink* yang kuat bagi alokasi fotosintat yang dihasilkan oleh daun. Dengan pertumbuhan vegetatif yang baik maka akan semakin banyak fotosintat yang dialirkan menuju buah, dan sebagai akibatnya ukuran dan jumlah buah meningkat sekaligus menurunkan kerontokan bunga/buah. Kerontokan bunga dan buah dapat diatasi dengan

pemberian zat pengatur tumbuh (Chen dan Hanson, 2001) dan aplikasi ekstrak daun kelor secara tidak langsung dapat me

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi ekstrak daun kelor segar 20 g/100 ml etanol 80% mampu meningkatkan pertumbuhan (*i.e.* tinggi tanaman, tingkat kehijauan daun, kandungan N tajuk, biomassa tanaman) dan hasil (jumlah, bobot, dan ukuran buah) cabai merah.
2. Frekuensi penyemprotan 5x dapat meningkatkan biomassa dan hasil (jumlah, bobot, dan ukuran buah) cabai merah.
3. Konsentrasi ekstrak daun kelor segar 20 g/100 ml etanol 80% yang disemprotkan 5 x mampu meningkatkan biomassa serta jumlah dan bobot buah tanaman cabai

Saran

1. Perlu dilakukan pengujian laboratorium untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak daun kelor.
2. Perlu dikaji perbedaan pengaruh ekstraksi daun kelor dengan menggunakan etanol vs air destilata

UCAPAN TERIMAKASIH

Publikasi ini merupakan hasil penelitian yang didanai oleh DIPA UNILA tahun 2008.

DAFTAR PUSTAKA

BPS. 2007. Badan Pusat Statistik: Komoditas Pertanian. Jakarta.

Blackmer, T. M. dan J.S. Scherpers. 1995. Use of a chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. Journal of Production Agriculture, Madison, 8: 56-60 (1995).

Berke1, T., L.L. Black, N.S. Talekar, J.F. Wang, P. Gniffke, S.K. Green, T.C. Wang, dan R. Morris. 2005. Suggested Cultural Practices for Chili Pepper. AVRDC pub # 05-620. P.O. Box 42, Shanhua; Taiwan 741; ROC. www: http://www.avrdc.org Diakses tanggal 12 Maret 2008.

Chen, J.T. dan P. Hanson. 2001. Summer Tomato Production Using Fruit-Setting Hormones. AVRDC pub # 01-511. February 2001. P.O. Box 42, Shanhua; Taiwan 741; ROC. www: http://www.avrdc.org Diakses tanggal 2 April 2007.

Fishel, F.M. 2006. Plant Growth Regulators. University of Florida. IFAS Extension. PI-102. http://edis.ifas.ufl.edu. Diakses tanggl 14 Januari 2007.

Fontes, P.C.R. dan C. P. Ronchi. 2002. Critical values of nitrogen indices in tomato plants grown in soil and nutrient solution determined by different statistical procedures. Pesq. agropec. bras., Brasília, 37(10): 1421-1429 (2002).

Fridgen, J. L. dan J. J. Varco. 2004. Dependency of cotton leaf nitrogen, chlorophyll, and reflectance on nitrogen and potassium availability. Agron. J. Madison, 96:63–69 (2004).

Fuglie, L. J. 2000. New uses of Moringa studied in Nicaragua. ECHO's Tropical Agriculture Site. Available at: http://www.echotech.org/network/.. Diakses tanggal 14 Februari 2008.

Fuglie, L. J. 2001. The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa (Ed) CTA, Wageningen, The Netherlands. http://www.moringanews.org/ Diakses tanggal 10 April 2008.

Foidl, N., H.P.S. Makkar, dan K. Becker. 2001. The potential of Moringa oleifera for agricultural and industrial uses, pp 45-76, In: The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa (Ed) Lowell J. Fuglie, CTA, Wageningen, The Netherlands. http://www.moringanews.org/actes/foidl_en.doc Diakses tanggal 10 April 2008.

Hopkins, W.G. 1995. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Makkar, H.P.S. dan K. Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. Animal Feed Science and Technology 63, 211-228.

Marschner, H. 1986. Mineral Nutrition of Higher Plant. Academic Press. London. 674 hlm.

Piekielek, W. P. dan R.H. Fox. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. Agron. J. Madison, 84: 59-65 (1992).

Prajnanta, F. 2003. Agribisnis Cabai Hibrida. Penebar Swadaya. Jakarta. 162 hlm.

Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. Plant Physiology. Academic Press.

Setiadi. 2001. Bertanam Cabai. Penebar Swadaya. Jakarta. 188 hlm .

Utami, Y. R., K. Ruslan, dan A. Nawawi. 2005. Telaah Fitokimia Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Skripsi. Sekolah Farmasi ITB. http://bahan-alam.fa.itb.ac.id. Diakses 22 Maret 2008.

KORELASI ANTARA KEHIAJUAN DAUN DAN JUMLAH TANGKAI BUNGA DENGAN JUMLAH POLONG, RATA-RATA PANJANG POLONG DAN BOBOT BENIH PER TANAMAN PADA TANAMAN KACANG PANJANG

Nyimas Sa'diyah
Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas lampung
Jl. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar lampung
e-mail: nyimas_diyah@yahoo.com

ABSTRAK

Untuk meningkatkan produksi tanaman, penggunaan benih unggul bermutu adalah hal utama yang harus diperhatikan. Tetapi sampai saat ini benih unggul masih sangat langkah, terutama benih unggul pada tanaman sayuran seperti pada tanaman kacang panjang. Oleh karena itu perakitan varietas unggul kacang panjang perlu dilakukan. Salah satu langkah yang harus dilakukan pada proses perakitan varietas unggul adalah seleksi. Seleksi dapat dilakukan pada karakter yang diinginkan disebut seleksi langsung dan seleksi melalui karakter lain yang berkorelasi dengan karakter yang diinginkan disebut seleksi tidak langsung. Seleksi tidak langsung dapat menghemat waktu dan biaya untuk seleksi. Penelitian ini dilaksanakan di lahan Politeknik Negeri Lampung dari bulan April—Agustus 2008. Benih yang ditanam merupakan benih F_3 Seleksi tidak langsung dilhat dari adanya korelasi antarkarakter. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengulangan Lanjaran dilakukan secara individu dengan menggunakan tali rafia. Peubah yang diamati adalah kehijauan daun, jumlah tangkai bunga per tanaman,, jumlah polong per tanaman, rata-rata panjang polong per tanaman (cm), dan bobot benih per tanaman (g). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hanya karakter jumlah bunga per tanaman yang berkorelasi dengan jumlah polong dan panjang polang. Karakter lain tidak berkorelasi.

Kata kunci: Kacang panjang, korelasi

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi tanaman dapat ditempuh dengan ektensifikasi maupun intensifikasi. Peningkatan produksi secara intensifikasi, penggunaan benih unggul bermutu adalah hal yang sangat penting. Perakitan benih unggul di Indonesia perkembangannya sangat lambat. Sebagai contoh di Australia dihasilkan satu varietas unggul bermutu per harinya, Jepang 2,67, sedangkan di Indonesia dalam waktu 64 tahun (1940-2004) hanya dihasilkan 201 varietas unggul baru pada tanaman padi (Baihaki, 2006). Pada tanaman hortikultura jauh lebih rendah lagi, pada tahun 2000 – 2003, rata-rata ketersediaan benih varietas unggul bermutu tanaman buah, sayur, tanaman hias dan obat berturut-turut baru dipenuhi sebesar 5.95 %, 2.53 %, 2 % dan 1.5 % dari total kebutuhan (Soeroto, 2004 yang dikutip Baihaki,2006). Oleh karena itu perakitan varietas unggul baru di Indonesia perlu digalakkan. Perakitan kultivar unggul dapat ditempuh melalui Pemuliaan Tanaman. Salah satu langkah dalam pemuliaan Tanaman adalah seleksi. Seleksi dapat dilakukan secara langsung pada karakter yang diinginkan, ataupun melalui karakter lain yang berkorelasi dengan karakter yang diinginkan. Seleksi demikian disebut seleksi tidak langsung. Seleksi tidak langsung dapat dilakukan untuk menghemat waktu seleksi dan biaya seleksi. Pada tanaman kedelai terdapat korelasi antara kehijauan

daun dengan hasil (Rostini, 2000) Kehijauan daun juga berberkorelasi dengan hasil melalui laju asimilasi bersih rata-rata (Sa'diyah, 2007). Selain dilihat dari kehijauan daun dapat juga dilihat dari karakter jumlah bunga. Jumlah tangkai bunga diharapkan akan berkorelasi dengan jumlah polong dan bobot benih, karena bunga adalah bagian tanaman yang nantinya akan menjadi polong.

Pada tanaman kacang panjang, sasaran karakter yang diinginkan bisa berupa jumlah polong dan panjang polong kalau produksi yang diinginkan berupa polong segar. Tetapi dapat juga sasaran karakter yang diinginkan adalah bobot benih sebagai hasil yang diinginkan. Untuk mendapatkan data jumlah polong dan panjang polong baru dapat diamati setelah dua bulan tanam dan memerlukan beberapa kali panen, sedangkan bobot benih baru didapat hasilmya setelah empat bulan tanam.

Pada tanaman menyerbuk sendiri seperti tanaman kacang panjang untuk merakit varietas unggul diperlukan waktu 5-10 tahun (Kasno, 1992); 10-15 tahun (Baihaki, 2004). Dengan menghemat waktu seleksi maka akan menghemat juga waktu secara keseluruhan untuk mendapatkan varietas unggul pada tanaman menyerbuk sendiri pada umumnya dan kacang panjang pada khususnya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang seleksi tidak langsung pada kacang panjang dalam hal ini korelasi antara kehijauan daun dan jumlah tangkai bunga dengan jumlah polong, panjang polong, dan bobot benih per tanaman.

Penelitian ini bertujuan mengetahui korelasi antara kehijauan daun dan jumlah tangkai bunga per tanaman dengan jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benih per tanaman. Penelitian ini akan bermanfaat untuk seleksi tidak langsung terhadap hasil tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di lahan Politeknik Negeri Lampung dari bulan April—Agustus 2008. Jenis tanah di lahan percobaan adalah Latosol coklat kemerahan/Udults. Nilai pH tanah tersebut sebesar 5,97.
Bahan yang digunakan adalah benih kacang panjang famili F_3 Keseluruhan benih yang ditanam adalah 120 lubang dan seluruh perlakuan sebagai sampel. Dari 120 tanaman yang hidup dan dapat diperoleh data hanya 102 tanaman.
Koefisien korelasi yang dihitung berdasarkan rumus Walpole (1995):

$$r = \frac{n\sum_{i=1}^{n} xiyi - (\sum_{i=1}^{n} xi)(\sum_{i=1}^{n} yi)}{\sqrt{\left[n\sum_{i=1}^{n} x^2 i - \left(\sum_{i=1}^{n} xi\right)^2\right]\left[n\sum_{i=1}^{n} y^2 i - \left(\sum_{i=1}^{n} yi\right)^2\right]}}$$

Keterangan:

r = nilai korelasi antara peubah *x* dan *y*
n = jumlah pengamatan
xi = nilai variabel *x* pada tanaman ke-i
yi = nilai variabel *y* pada tanaman ke-i

Pada penelitian ini tidak dilakukan pengulangan karena benih yang digunakan benih F_3 merupakan genotipe yang belum homozigot dan masih bersegregasi (Baihak,i 2000; Suharsono dan Jusuf, 2006)). Kehijauan daun diukur dengan menggunakan *klorofilmeter* SPAD 502 Minolta Kehijauan daun diukur pada daun pertama dan daun ke tiga saat berbunga, pengisian polong, dan terbentuk polong. Lanjaran dilakukan secara individu dengan menggunakan tali rafia. Pemanenan yang dilakukan setelah polong kering. Polong yang dipanen setelah berwarna kuning kecokelatan, batang sudah kering, dan sebagian besar daunnya kering. Panen dilakukan hingga beberapa kali hingga tanaman sudah tidak mampu berproduksi lagi yaitu sekitar 4 kali. Peubah yang diamati adalah kehijauan daun, jumlah tangkai bunga per tanaman,, jumlah polong per tanaman, rata-rata panjang polong per tanaman (cm), dan bobot benih per tanaman (g).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kehijauan daun pada daun pertama dan daun ke tiga saat berbunga, pengisian polong dan terbentuknya polong tidak berkorelasi dengan jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benih per tanaman (Tabel 1). Tidak adanya korelasi antara kehijauan daun dengan jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benih per tanaman, kemungkinan karena fotosintesis tidak hanya dipengaruhi oleh kandungan klorofil, tetapi juga CO_2, H_2O, dan cahaya matahari. Rostini (2000) dan Wu *et al*. (2000) menyatakan bahwa kehijauan daun berkorelasi dengan kandungan klorofil, sehingga kehijauan yang terukur pada penelitian ini dapat dianggap sebagai kandungan klorofil. Selain itu, di duga gen karakter kandungan klorofil tidak berangkai dengan gen karakter jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benit dan tidak adanya pleotropi. Dengan tidak adanya korelasi antara kehijauan daun dengan jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benih berarti tidak dapat dilakukan seleksi tidak langsung melalui kehijauan daun untuk jumlah polong, rata-rata panjang polong, dan bobot benih per tanaman.

Tabel 1. Korelasi antara kahijauan daun dengan panjang polong, rata-rata panjang polong dan bobot benih per tanaman.

Peubah yang dikorelasikan	Korelasi	
Kehijauan daun 1saat berbunga dg jumlah polong	-0.05	tn
Kehijauan daun 3 saat berbunga dg jumlah polong	-0.05	tn
Kehijauan daun 1saat berbunga dg rata-rata panjang polong	0.04	tn
Kehijauan daun 3 saat berbunga dg rata-rata panjang polong	0.02	tn
Kehijauan daun 1saat berbunga dg bobot benih per tanaman	0.09	tn
Kehijauan daun 3 saat berbunga dg bobot benih per tanaman	-0.04	tn
Kehijauan daun 1 saat pengisian polong dg jumlah polong	**0.28**	tn
kehijauan daun 3 saat pengisian polong dg jumlah polong	0.03	tn
Kehijauan daun 1saat pengisian polong dg rata-rata panjang polong	0.03	tn
kehijauan daun 3 saat pengisian polong dg rata-rata panjang polong	0.15	tn
Kehijauan daun1 saat pengisian polong dg bobot benih per tanaman	**0.29**	tn
kehijauan daun 3 saat pengisian polong dg bobot benih per tanaman	0.03	tn
Kehijauan daun 1 saat terbentuk polong dg jumlah polong	0.05	tn
kehijauan daun 3 saat terbentuk polong dg jumlah polong	-0.14	tn
Kehijauan daun 1saat terbentuk polong dg rata-rata panjang polong	0.05	tn
kehijauan daun 3 saat terbentuk polong dg rata-rata panjang polong	-0.08	tn
Kehijauan daun1 saat terbentuk polong dg bobot benih per tanaman	0.08	tn
kehijauan daun 3 saat terbentuk polong dg bobot benih per tanaman	-0.18	tn

Keterangan: * berbedanyata; ** berbeda sangat nyata; tn tidak berkorelasi

Jumlah tangkai bunga berkorelasi dengan jumlah polong, rata-rata panjang polong, tetapi tidak berkorelasi dengan bobot benih per tanaman. (Tabel 2). Hal ini menunjukkan makin banyak tangkai bunga per tanaman maka akan makin banyak pula jumlah polong dan makin panjang polong. Tetapi pertambahan jumlah tangkai bunga tidak berpengaruh pada penambahan bobot benih. Bobot benih tidak hanya dipengaruhi oleh jmlah tangkai bunga, jumlah polong dan panjang polong, tetapi juga bobot 100 butir, dan jarak antarlokul kacang panjang.

Tabel 2. Korelasi antara jumlah bunga per tanaman dengan panjang polong, rata-rata panjang polong dan bobot benih per tanaman.

Peubah yang dikorelasikan	Korelasi	
Jumlah tangkai bunga dg jumlah polong	0.58	**
Jumlah tangkai bunga dg rata-rata panjang polong	0.37	*
Jumlah tangkai bunga dengan bobot benih per tanaman	0.19	^{tn}

Keterangan: * berbedanyata; ** berbeda sangat nyata; ^{tn} tidak berkorelasi

KESIMPULAN

1. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antara karakter jumlah bunga per tanaman dengan jumlah polong dan panjang polang. Karakter lain tidak berkorelasi
2. Seleksi tidak langsung terhadapa jumlah polong dan rata-rata panjang polong dapat dilakukan berdasarkan karakter jumlah tangkai bunga per tanaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Rizky Thabrana dan Denyar, yang telah membantu pelaksanaan di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

Baihaki, A, 2000. Teknik Rancangan dan Analisis Penelitian Pemuliaan. Diktat Kuliah. Fakultas Pertanian. Universitas Padjadjaran.

....., 2004. Manfaat dan implementasi UU No. 29 th 2000 tentang PVT dalam pembangunan industri perbenihan. Makalah disampaikan pada Kongres Komisi Daerah Plasma Nutfah se Indonesia, Komisi Nasional Plasma Nutfah, Balitbang Deptan, 31 Juli – 2 Agustus 2006, di Balikpapan, Kaltim.

Kasno, A.1992. Pemuliaan tanaman kacang-kacangan. p 39-68 dalam Kasno, M.Dahlan, dan Hasnam (ed.) Proseding Simposium Pemuliaan Tanaman I. Perhimpunan Pemuliaan Tanaman Indonesia. Komisariat Jawa Timur.

Rostini, N. 2000. Variabilitas genetik, heritabilitas dan pewarisan kandungan klorofil serta korelasinya pada tanaman kedelai. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran Bandung. (tidak dipublikasikan).

Sa'diyah, N. 2007. Korelasi dan analisis lintas karakter daun dan karakter fisiologi dengan hasil pada empat lingkungan pemupukan organik guano Walet. Agrista 11(3): 151-156.

Suharsono dan M. Jusuf. 2006. Analisis ragam, heritabilitas, dan pendugaan kemajuan seleksi populasi F_2 dari persilangan kedelai kultivar Slamet x Nokonsawon. *Jurnal Tanaman Tropika* 9(2) : 86—93.

Walpole, Ronald E. 1995. *Pengantar Statistika* Edisi ke-3. Diterjemahkan oleh Bambang, S. Diedit oleh Ipong, P.S. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 515 hlm.

Xu. W., D. T. Rosenow, H. T. Nguyen . 2000. Stay green trait in grain sorghum: relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration.Plant Breeding 119 (4), 365-367.

EFEK SITOGENETIK PADA PEKERJA RADIASI

Yanti Lusiyanti, Zubaidah Alatas, Sofiati Purnami, Dwi Ramadhani,
Masnelly Lubis, dan Viria Agesti S.
Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi
Badan Tenaga Nuklir Nasional
E-mail : k_lusiyanti@batan.go.id

ABSTRACT

Radiation exposure to the body will cause the interaction of radiation with biological materials where part of the cells will be damaged cytogenetically as the alterations of chromosome structure or aberrations in peripheral blood lymphocytes. These aberrations can be an unstable form such as dicentric chromosomes and rings, and a stable form such as translocations. Dicentric chromosome is the gold standard for radiation exposure, and chromosome translocation is a cytogenetic biomarker for retrospective biodosimeter. The frequency of chromosome aberrations induced by natural or background radiation exposure is 1-3 dicentrics and 3-5 translocations in 1000 cells. The aim of this paper is to conduct the examination of chromosome aberrations in radiation workers to evaluate the health effects induced by working with radiation or an accident. Process of chromosome aberration screening was carried out on 50 blood samples, compromising cell culturing in enriched medium, harvesting, slide preparating and Giemsa staining using and chromosome painting with fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. The results showed that the dicentric chromosome found only in three radiation workers each with frequency of 0.001/cell. It can be concluded that based on the observed chromosome of worker is still in good condition and within normal limit.

Keywords: Aberration of chromosomes, dicentric, translocation, FISH.

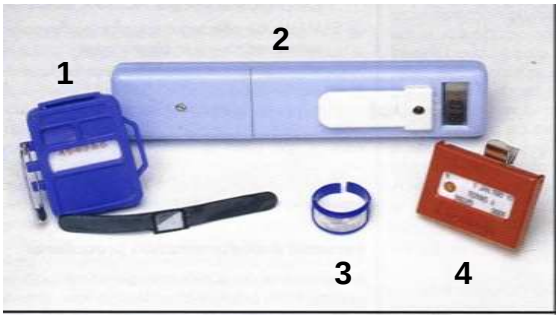
PENDAHULUAN.

Pemanfaatan tenaga nuklir di samping mempunyai manfaat yang cukup besar dalam berbagai aplikasi seperti di bidang industri, pertanian, kesehatan, hidrologi, energi, pendidikan, penelitian dan bidang lainnya, juga mempunyai potensi bahaya radiasi yang perlu diwaspadai, sehingga pemanfaatan teknologi ini harus berwawasan keselamatan yaitu dengan membuat peraturan yang ketat dan dilaksanakan dengan seksama serta dilakukan pengawasan agar potensi itu tidak menjadi kenyataan.

Radiasi pengion adalah gelombang elektromagnetik (foton) atau partikel berenergi yang akan menimbulkan proses ionisasi bila melewati materi termasuk materi biologi. Apabila tubuh terpapar radiasi pengion, akan terjadi perubahan pada materi biologik tubuh, paling tidak pada tingkat molekuler dan seluler khususnya materi genetik sel (sitogenetik). Sejumlah perubahan atau kerusakan yang timbul dapat digunakan untuk memprediksi kemungkinan risiko akibat radiasi pada tubuh, antara lain kerusakan pada kromosom sel tubuh (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1990).

Pekerja radiasi berpotensi menerima paparan radiasi dengan besaran dosis ekivalen yang melebihi atau mendekati nilai batas dosis yang diizinkan, bila terjadi suatu kecelakaan yang dikarenakan tata kerja yang salah. Program pemantauan radiasi diterapkan secara rutin pada semua pekerja radiasi dengan menggunakan dosimeter fisika dan dosimeter biologi sebagai alat pemantau. Pemantauan dilakukan secara rutin dan periodik misalnya

setiap 3, 6 atau 12 bulan sekali, bergantung pada kondisi kerja atau hasil pemantauan dan dapat juga dilakukan sewaktu-waktu jika diperlukan, misalnya akibat kecelakaan kerja. Pemantauan radiasi eksternal diterapkan secara rutin pada semua pekerja radiasi, misalnya dengan menggunakan dosimeter sebagai alat pemantau, seperti dosimeter film dan dosimeter termoluminisence (TLD), Film badge , dosimeter poket atau dosimeter cincin (Gambar 1) (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1990, 1992, dan 2002).



Gambar 1. Jenis-jenis dosimeter Fisik 1) Film Badge 2) Dosimeter Poket 3) Dosimeter cincin 4) TLD

Analisis aberasi kromosom telah digunakan secara meluas sebagai *biomarker* pada pekerja radiasi dan masyarakat umum yang terpajan radiasi pengion. Metode ini digunakan untuk mendeteksi aberasi kromosom dalam limfosit darah perifer yang merupakan sel yang paling sensitif terhadap radiasi. Metode ini juga telah digunakan pada rekonstruksi pada populasi yang terpajan radiasi dalam skala besar populasi pada korban selamat dari Hiroshima dan Nagasaki di Jepang, pekerja pembersihan di kecelakaan reaktor Chernobyl, atau masyarakat yang terkena pajanan pada kecelakaan yang melibatkan sumber ^{137}Cs di Goiânia Brazil, serta pada pekerja radiasi di Bulgaria (Tubiana, M. 1998 dan Syaifudin dan Lusiyanti, 2004).

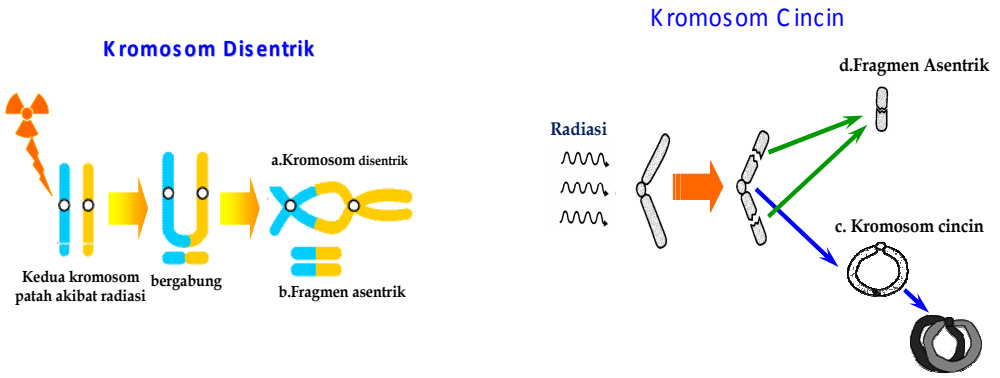
Jika tubuh terpajan radiasi, akan terjadi interaksi antara energi radiasi dengan materi biologik baik secara langsung ataupun tidak langsung. Disebut langsung jika penyerapan energi langsung terjadi pada molekul, terutama yang penting seperti DNA dan menimbulkan kerusakan, secara tidak langsung jika terlebih dahulu terjadi interaksi radiasi dengan molekul air menghasilkan radikal bebas yang kemudian akan mempengaruhi molekul seperti DNA. Mengingat sekitar 80% tubuh manusia terdiri dari air, maka sebagian besar interaksi radiasi dalam tubuh terjadi secara tidak langsung (Alatas, 2003 dsn Hall, 2000).

Kromosom manusia yang berjumlah 46 (23 pasang) mengandung ribuan gen, yang merupakan suatu rantai *Deoxyribonucleic acid* (DNA) yang membawa kode informasi genetik tertentu dan spesifik. Kerusakan pada kromosom akibat radiasi pengion (aberasi kromosom) dapat menyebabkan terjadinya perubahan baik pada jumlah maupun pada struktur kromosom. Perubahan jumlah kromosom misalnya menjadi 47 buah pada sel somatik yang memungkinkan timbulnya kelainan genetik. Sedangkan kerusakan struktur kromosom dapat berupa patahnya lengan kromosom yang terjadi secara acak. Penyebab aberasi sama dengan mutasi gen, dapat berupa bahan fisika, kimia, atau bahan biologi. Sinar gelombang pendek non-radioaktif seperti sinar ultraviolet, tidak akan menyebabkan aberasi kromosom (Yatim, 1982 danIAEA, 2001).

Radiasi pengion dapat menginduksi berbagai jenis kerusakan DNA, yaitu terjadinya perubahan struktur molekul gula atau basa, putusnya ikatan hidrogen antar basa dan hilangnya gugus gula atau basa. Kerusakan lain yang lebih parah adalah putusnya salah

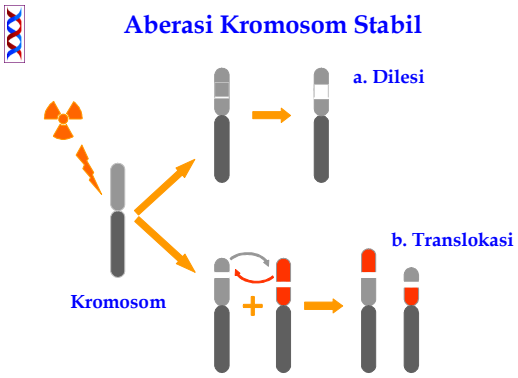
satu untai DNA yang disebut *single strand break* dan putusnya kedua untai DNA yang disebut *double strand break*. Secara alamiah sel mempunyai kemampuan untuk melakukan proses perbaikan terhadap kerusakan tersebut diatas dalam batas normal dengan menggunakan jenis enzim yang spesifik. Namun apabila kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki atau diperbaiki dengan tidak sempurna, maka akan berpotensi sebagai pemicu perubahan pada materi genetik berupa mutasi dan kerusakan pada kromosom (Hall, 2000 dan IAEA, 2001).

Paparan radiasi pengion dapat menyebabkan terjadinya perubahan, baik pada jumlah maupun pada struktur kromosom, yang dikenal dengan istilah aberasi kromosom. Kerusakan struktur berupa patahnya lengan kromosom terjadi secara acak dengan peluang yang makin besar sesuai dengan meningkatnya dosis radiasi. Aberasi kromosom yang mungkin dapat terjadi adalah 1) fragmen asentrik yaitu terjadinya delesi atau patahnya bagian kecil atau fragmen lengan kromosom yang tidak mengandung sentromer, 2) *ring* atau kromosom bentuk cincin yang merupakan hasil penggabungan dua lengan yang mengalami delesi pada kromosom yang sama, 3) disentrik berupa kromosom dengan dua buah sentromer sebagai hasil peng-gabungan dua buah kromosom yang mengalami patah (Gambar 2). Dari semua kerusakan tersebut, kromosom disentrik diyakini spesifik terjadi akibat pajanan radiasi. Dosis tunggal 200 mGy sudah dapat menimbulkan aberasi kromosom yang dapat dideteksi. Frekuensi terjadinya aberasi kromosom bergantung pada jenis dan dosis radiasi yang diterima (Hall, 2000 dan IAEA, 2001). Pemeriksaan ini harus dilakukan dalam waktu 24 jam - 30 hari paska pajanan radiasi, karena jumlah sel yang mengandung aberasi kromosom ini akan mengalami penurunan sebagai akibat dari proses seleksi dominan yang terjadi selama proliferasi sel. Kebolehjadian kromosom disentrik secara spontan akibat radiasi latar adalah 1-3 disentrik/1000 sel metafase (IAEA, 2001).



Gambar 2. Skema proses pembentukan aberasi kromosom tak stabil
(a) Kromosom disentrik (b) Kromosom cincin

Individu yang terpajan radiasi secara kronik dalam waktu yang lama dapat dilakukan pemeriksaan aberasi kromosom yang bersifat stabil yaitu translokasi yaitu terjadinya perpindahan atau pertukaran fragmen dari dua atau lebih kromosom (Gambar 3). Kromosom ini tidak hilang dengan berjalannya waktu karena sel yang mengandung kromosom bentuk ini tidak mengalami kerusakan ketika melakukan pembelahan sel. Dengan demikian keberadaan kromosom translokasi dapat digunakan sebagai indikator kerusakan genetik pada sel darah individu yang terpajan radiasi setelah waktu yang lama atau sebagai indikator terjadinya akumulasi kerusakan untuk pendugaan risiko timbulnya kerusakan yang mengarah pada pembentukan kanker akibat radiasi. Translokasi berperan dalam proses perkembangan kelainan atau penyakit genetik dan dalam



Gambar 3. Skema proses pembentukan aberasi kromosom Stabil (translokasi)

termasuk proses aktivasi onkogen yang menyebabkan sel normal berkembang menjadi sel malignan. Kebolehjadian kromosom translokasi secara spontan atau alamiah pada manusia dewasa sehat lebih besar yaitu sekitar 5-10 translokasi/1000 sel (Kondo, 1993 dan
Coco-Martin dkk, 1994.

Pemeriksaan tehnik aberasi kromosom disentrik menggunakan pewarna giemsa telah diaplikasikan untuk mendeteksi kerusakan kromosom pada sel para pekerja radiasi industri. Sedangkan saat ini tehnik *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH)F dengan *probe* tunggal telah digunakan untuk pemeriksaan aberasi kromosom pada sel para pekerja radiasi khususnya yang telah menerima akumulasi dosis dalam jangka waktu yang lama. Tujuan dari penulisan makalah ini adalah melakukan pemeriksaan aberasi kromosom pada para pekerja radiasi untuk mengevaluasi dampak kesehatan akibat bekerja dengan radiasi atau kecelakaan yang melibatkan radiasi. Dari penelitian ini diharapkan akan diperoleh gambaran Kondisi tingkat kerusakan kromosom pada sel darah pekerja yang diinduksi oleh paparan radiasi akibat kerja dalam rangka memantau penerapan ketentuan keselamatan kerja dengan radiasi.

BAHAN DAN METODE

1. Subjek Penelitian

Sampel darah diperoleh dari 45 pekerja radiasi di BATAN Jakarta, Tangerang dan Bandung dengan rentang usia 28-60 tahun, dan 5 non pekerja radiasi.

Tabel 1. Karakteristik Pekerja Radiasi yang diamati

		Jumlah subyek yang diperiksa	
		Pekerja radiasi	Kontrol
Jumlah subyek	50	45	5
Masa kerja	1-10 th	5	5
	11-20 th	17	-
	21 – 30 th	18	-
	>31 th	5	-
Dosis akumulasi	0-5 mSv	12	5
	6-10 mSv	24	-
	11-30 mSv	8	-

	50>mSv	1	-
Jenis kelamin	Laki-laki	40	5
	Perempuan	5	-
Umur	21-40 th	7	5
	41-60 th	37	-
Kebiasaan	Tidak	40	5
Merokok	Ya	5	-

Setiap pekerja wajib mengisi formulir biodata meliputi riwayat penyakit dan riwayat bekerja dengan radiasi untuk mengetahui riwayat pekerjaan yang berkaitan dengan penerimaan dosis radiasi seperti yang disajikan pada Tabel 1.

2. Pembiakan dan pemanenan sel darah limfosit tahap Metafase

Dari setiap pekerja radiasi diambil sekitar 5 ml darah tepi menggunakan *syringe* dan segera ditambah 0,03 ml heparin sebagai anti koagulan. Sampel darah ini dibiakkan secara duplo. Ke dalam tabung kultur, dimasukkan media pertumbuhan 7,5 ml RPMI-1640, 0,1 ml L-Glutamin, 1 ml Fetal Bovine Serum, 0,2 ml Penicillin Streptomycin, 1 ml darah dan 0,25 ml Phytohaemagglutinin. Tabung kemudian ditutup disimpan dalam inkubator 37^{o}C selama 48 jam. Pada 3 jam sebelum pemanenan, ke dalam biakan ditambahkan 0,1 ml colchisin untuk menghentikan proses pembelahan untuk memperoleh sel tahap metafase.

Darah yang telah dibiakkan, disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Pada endapan darah ditambahkan 10 ml KCl 0,56%, diaduk dengan pipet Pasteur dan disimpan pada *waterbath* 37º C selama 25 menit. Larutan selanjutnya disentrifuse kembali dengan kecepatan yang sama selama 10 menit. Pada endapan ditambahkan 4 ml larutan carnoy (metanol : asam asetat = 3 : 1), divortex, dan kemudian ditambahkan lagi larutan carnoy sampai volume total mencapai 10 ml. Larutan tersebut disentrifus kembali beberapa kali sampai diperoleh endapan sel limfosit yang berwarna putih.

3. Pembuatan preparat dan pengecatan kromosom dengan teknik FISH (2 -3 probe)

Endapan sel limfosit diteteskan di atas gelas preparat pada 1-2 tempat yang berbeda, dibawah mikroskop, dilakukan seleksi terhadap preparat yang mempunyai sebaran kromosom yang baik pada sel tahap metafase dan dikeringkan di atas *hot plate* 65º C selama 1½ jam. Preparat tersebut didehidrasi dengan dimasukkan ke dalam seri *coplin jar* yang berisi etanol 70% sebanyak 2x masing-masing selama 2 menit, etanol 90% 2x selama 2 menit dan etanol 100% sebanyak 1x selama 5 menit. Kromosom pada preparat selanjutnya di denaturasi dengan dimasukkan ke dalam larutan formamida dan diinkubasi pada *waterbarh* 65ºC selama 1½ menit. Preparat dicuci secara berturutan dengan alkohol bertingkat 70% dingin selama 4 menit, 70% selama 2 menit, 90% sebanyak 2 x masing-masing selama 2 menit dan 100% selama 5 menit. Kromosom pada preparat telah siap untuk dilakukan hibridisasi dengan campuran *whole chromosome probe* (WCP) dengan fluorochrom *Fluorescent isothiocyanate* (FITC) nomor 1, 2, 5, 6 dan 10 WCP dengan fluorochrome texas red no 1 dan 5 yang digunakan merupakan produksi *ID Labs*. USA.

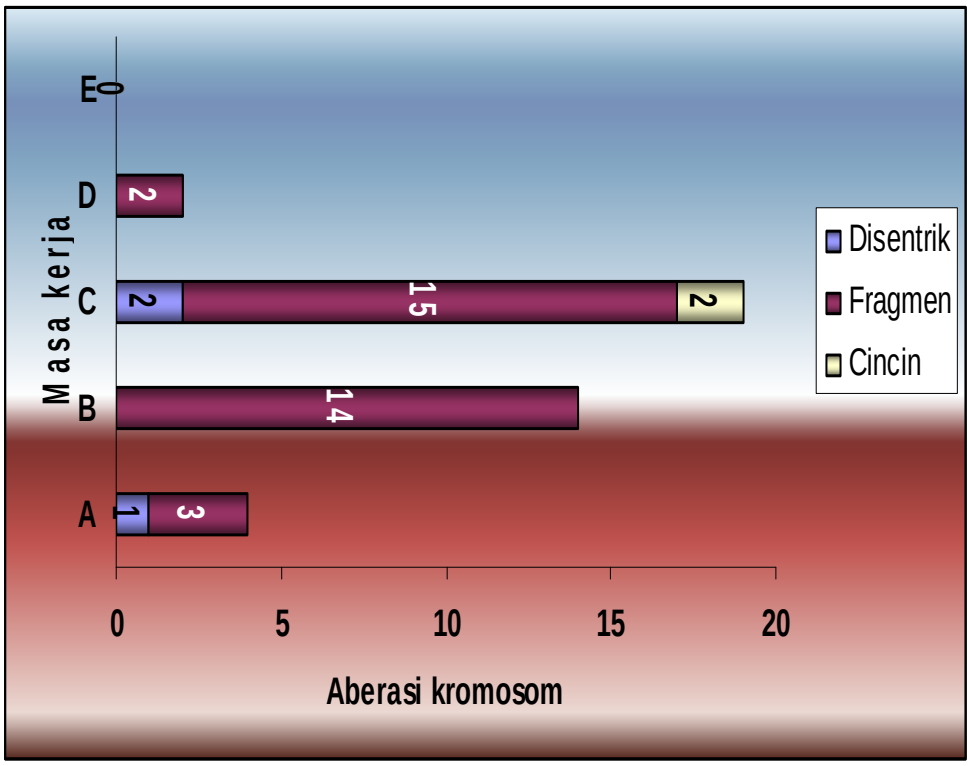
Dibuat campuran masing-masing 2 µl WPC berlabel *Fluorescent isothiocyanate* (FITC) dan 2 µl WPC texas red dengan 6 µl *buffer*, disentrifus selama 1-3 detik, didenaturasi pada suhu 65º C selama 10 menit, dan kemudian diinkubasi pada *waterbath* 37 ºC selama 45 menit. Proses hibridisasi (pengecatan) dilakukan dengan meneteskan larutan *probe* pada preparat yang telah di denaturasi, kemudian ditutup dengan *coverslip* dan dilem untuk mencegah terjadi penguapan. Preparat diletakkan dalam wadah plastik dan diinkubasi pada suhu 37 ºC selama 16 jam. Setelah proses hibridisasi *coverslip* dibuka,

selanjutnya dilakukan tahap pencucian dengan cara berturutan preparat direndam dalam seri *coplin jar* yang berisi larutan pencuci *stringency* 45 ºC sebanyak 2x masing-masing selama 5 menit, larutan 1 x SSC sebanyak 2 x selama 5 menit, dan larutan detergen sebanyak 1x selama 4 menit. Pencucian dilakukan kembali untuk WCP dengan fluorochrome texas red dengan melakukan inkubasi preparat dengan reagen campuran biotinylated Anti Avidin pada larutan pencuci detergen, diteteskan 10 µl 4,6 *diamidino*-2-*phenylindole* (DAPI), ditutup, dan didiamkan selama 10 menit. DAPI yang merupakan *counterstain* terhadap kromosom yang tidak dihibridisasi dengan WCP, diperoleh dari VYSIS (VX-32804830). Preparat segera diamati dengan mikroskop *epi-fluorescent* yang dilengkapi dengan *dual filter*, dan dilakukan pemotretan terhadap kromosom yang memiliki pendaran *probe* kromosom.

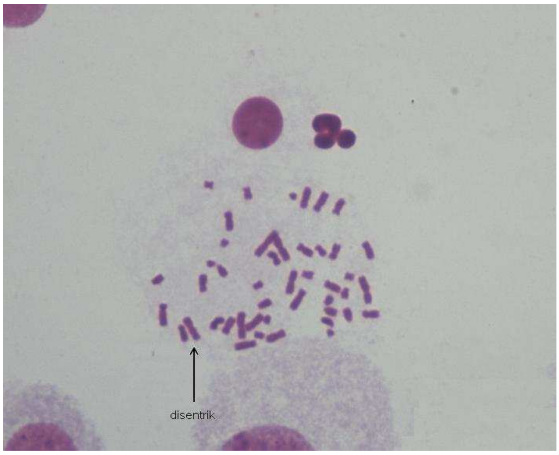
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan aberasi kromosom telah digunakan sebagai biomonitoring pada pekerja radiasi yang telah terpapar radiasi pengion sebagai konsekwensi pekerjaan. Dalam penelitian ini sampel darah limfosit diperoleh dari 45 pekerja radiasi dan 5 non pekerja radiasi. Untuk pekerja radiasi yang telah diambil sampel darahnya mempunyai masa kerja bervariasi yaitu 2-36 th, dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, pekerja dengan masing-masing kisaran masa kerja 1 – 10 tahun (A), masa kerja 11- 20 tahun (B), masa kerja 21-30 tahun (C), masa kerja >31 tahun (D) dan (E) adalah kelompok pekerja kontrol. Penerimaan dosis berdasarkan data rata-rata film badge dan atau TLD untuk 3-5 tahun terakhir berkisar berkisar < 50 mSv/tahun.

Pemeriksaan terhadap aberasi kromosom dilakukan untuk jenis aberasi kromosom tak stabil yaitu disentrik, fragmen dan cincin, menggunakan pewarna giemsa. Hasil pengamatan kromosom tak stabil (disentrik) pada 45 sampel darah yang masing-masing diamati untuk setiap 500 atau 1000 sel metafase dikelompokan berdasarkan kisaran masa kerja ditampilkan pada Grafik 1. Pada kelompok pekerja radiasi A yang telah diamati aberasi kromosomnya telah ditemukan 1 pekerja radiasi dengan masa kerja 7 tahun dengan jumlah aberasi kromosom tak stabil 0,1 disentrik per sel yang dilengkapi dengan 3 fragmen. Pada kelompok B hanya ditemukan 14 fragmen dari 7 orang pekerja dengan kisaran jumlah fragmen bervariasi 1–4 fragmen. Sedangkan untuk kelompok C telah ditemukan aberasi kromosom pada 3 pekerja yaitu masing-masing dengan masa kerja 23 tahun dengan 1 disentrik, pada masa kerja 24 tahun dengan 1 ring dan 2 fragmen, dan pada masa kerja 26 tahun, dengan 1 disentrik, 1 ring dan 6 fragmen. Namun untuk semua jenis aberasi kromosom tersebut masih dikategorikan dalam kisaran normal, karena mengacu pada IAEA bahwa frekuensi latar untuk kedua jenis aberasi tersebut berturut-turut 1-3 disentrik dan 4-7 fragmen masing-masing dalam setiap 1000 sel metafase masih dikategorikan normal (Coco-Martin dkk, 1994 dan Zeljezic, dan Garajvrhovac, 2006).

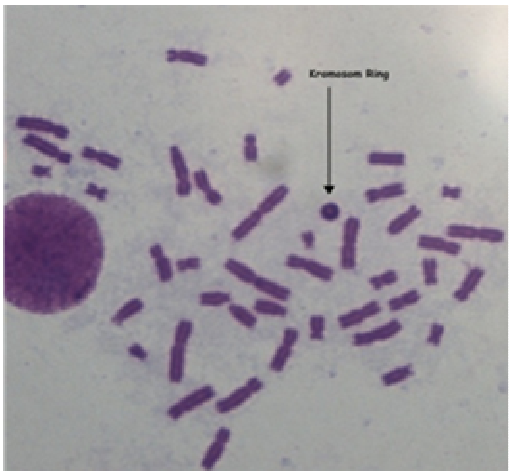


Grafik 1. Jumlah aberasi kromosom pada kelompok pekerja radiasi yang diamati dengan pewarnaan Giemsa

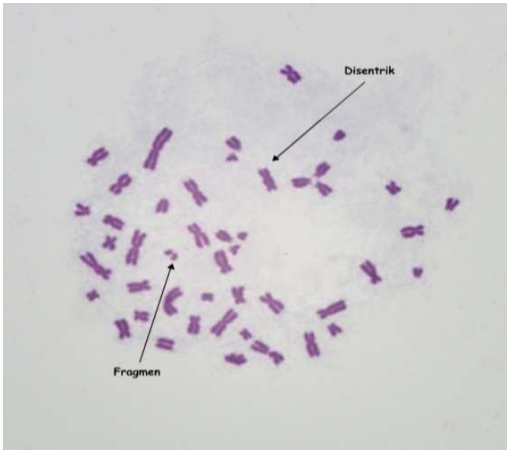


Gambar 4 . Visualisasi sel metafase dengan kromosom disentrik pada pekerja radiasi dengan masa kerja 7 tahun

Gambar 5. Visualisasi sel metafase dengan kromosom disentrik pada pekerja radiasi dengan masa kerja 23 tahun



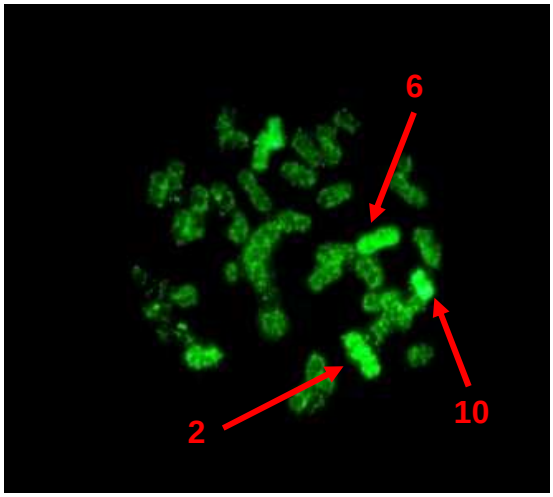
Gambar 6. Visualisasi sel metafase dengan kromosom ring pada pekerja radiasi dengan masa kerja 24 tahun



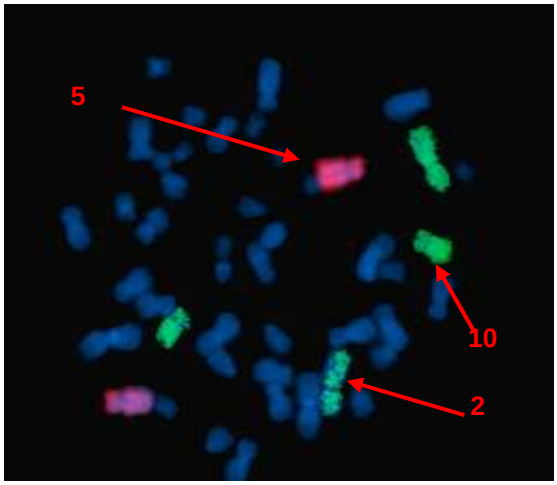
Gambar 7. Sebaran kromosom pada tingkat metafase. Sel metafase dengan kromosom disentrik dan fragmen pada pekerja radiasi dengan masa kerja 26 tahun.

Frekuensi dari kromosom disentrik telah dianggap sebagai indikator sensitif terhadap paparan radiasi pengion dan telah diaplikasikan untuk biomonitoring dan dosimeter biologi (Natarajan dkk., 2000). Namun demikian kromosom disentrik merupakan kromosom tak stabil karena frekuensi disentrik akan tereliminasi sejalan dengan umur dari limfosit. Rata rata half life untuk kromosom disentrik adalah 130 hari [12,13]. Pada kasus pajanan kronik yang diterima pekerja dengan penerimaan dosis rendah pada laju dosis rendah kemungkinan aberasi kromosom yang diinduksi pada limfosit adalah hanya pada populasi limfosit yang mempunyai umur panjang (long life population) (Zeljezic, dan Garajvrhovac, 2006).

Pada penelitian ini pemeriksaan kromosom stabil dengan teknik FISH *painting*, dilakukan pada sampel pekerja radiasi dengan masa kerja >20 tahun dan untuk masa kerja < 5 tahun untuk mengkaji dosis radiasi akibat pajanan kronik (akumulasi dosis yang diterima) terhadap kondisi kromosomnya. Visualisasi keberadaan aberasi kromosom translokasi dilakukan dengan menggunakan teknik pengecatan kromosom (*chromosome painting technique)* yang disebut *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) dengan komposisi nomor probe kromosom nomor 2,6,10 yang dilabel hanya fluorochrom FITC atau sering disebut pewarna tunggal yang ditunjukkan dengan warna berpendar pada kromosom target (Gambar 8).



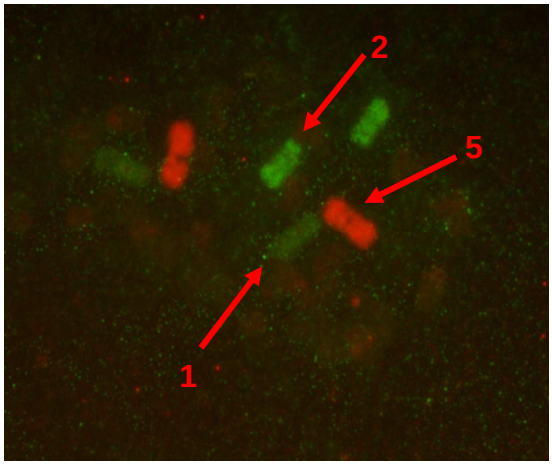
Gambar 8. Pewarnaan kromosom dengan teknik FISH pewarna tunggal FITC menggunakan probe kromosom nomor 2,6,10.



Gambar 9. Pewarnaan kromosom dengan teknik FISH pewarna ganda FITC dan Texas red menggunakan probe kromosom nomor 2,5,10 .

Pengecatan kromosom juga dilakukan dengan komposisi probe kromosom kromosom no 2,5,10 menggunakan campuran fluorochrome texas red dan FITC atau sering disebut pewarna ganda ditunjukkan pada Gambar 9. Dengan pengecatan ganda menggunakan warna berbeda ini akan lebih memudahkan dalam menganalisa adanya kerusakan kromosom translokasi.

Pengecatan kromosom yang sama juga dilakukan pada komposisi kromosom nomor 1,2,5 ditunjukkan pada Gambar 10. Namun dari hasil pengecatan yang telah dilakukan hasil pengamatan kromosom stabil untuk pekerja radiasi dengan masa kerja > 20 maupun untuk pekerja radiasi dengan masa kerja < 5 tahun yang diamati pada sel limfosit tidak ditemukan adanya aberasi kromosom translokasi.



Gambar 10. Pewarnaan kromosom dengan teknik FISH pewarna ganda FITC dan Texas red menggunakan probe kromosom nomor 1,2,5.

Tehnik FISH ini di dasarkan pada hybridisasi pada molekul DNA pendek yang probenya dilengkapi dengan *complementari sequence* pada genom. *Probe* selanjutnya dilabel dengan *fluorescent dye* yang akan menunjukkan warna pendar pada fragmen kromosom yang mengalami translokasi. Penggunakan *probe* dengan urutan genom yang spesifik memungkinkan untuk memperoleh informasi sejumlah gambaran dan lokasi patahan kromosom. Dengan proses hibridisasi yang simultan dengan *probe* yang dilabel dan penggunaan *flurescent dye* yang berbeda dapat mendeteksi beberapa translokasi yang berbeda pada genom secara bersamaan. Hal ini dapat memberikan informasi tentang sekuen amplifikasi, dilesi atau translokasi beserta lokasinya pada genom (Zeljezic, dan Garajvrhovac, 2006).

Tidak ditemukannya aberasi kromosom translokasi pada pekerja radiasi karena paparan radiasi yang diterima tidak cukup besar untuk menginduksi terbentuknya aberasi kromosom, atau translokasi terjadi pada kromosom yang tidak dilakukan proses painting. Dosis ambang radiasi secara akut yang dapat menginduksi aberasi kromosom translokasi adalah sekitar 0,25 Gy atau sebagai efek deterministik (Hall, 2000) sedangkan frekuensi latar akibat radiasi untuk aberasi kromosom stabil translokasi adalah 5-/1000 sel, dan waktu paro translokasi berkisar 3 - 11 tahun akibat radiasi secara parsial pada tubuh dengan dosis tinggi (Stephan dkk, 2001dan George dkk., 2005).

KESIMPULAN

Pendeteksian adanya aberasi kromosom dalam sel limfosit yang diketahui sebagai biomarker yang spesifik hanya terinduksi oleh paparan radiasi pengion. Terhadap pekerja radiasi yang diperkirakan menerima paparan radiasi berlebih, dapat dilakukan suatu tindakan sebagai konfirmasi terhadap data dosis radiasi yang diperoleh dari dosimeter fisik**.** Pemantauan status kesehatan para pekerja radiasi berdasarkan pemeriksaan aberasi kromosom menunjukan :

- Aberasi kromosom disentrik yang ditemukan pada pekerja radiasi yaitu 0,001 % masih dalam batas normal.
- Aberasi kromosom translokasi tidak ditemukan pada sampel darah pekerja radiasi.
- Kondisi tingkat kerusakan kromosom pada sel darah pekerja yang diinduksi oleh paparan radiasi akibat kerja masih dalam dalam batas normal.

DAFTAR PUSTAKA

Alatas, Z. 2003. Indikator biologik kerusakan tubuh akibat pajanan radiasi, *Cermin Dunia Kedokteran*, 138, 41-45.

BADAN PENGAWAS TENAGA NUKLI. 2002. Penyuluhan Peraturan Perundangan Keselamatan Nuklir, Jakarta.

Coco-Martin, J.M., Smeet, M.F.M.A., Poggensee, M., Mooren, E., Hofland, I., Van De Brug, M., Ottenheim, C., Bartelink, H. And Begg, A.C. 1994. USE OF Flourescence In Situ Hybridization To Measure Chromosome Aberrations As A Predictor Of Radiosensitivity In Human Tumour Cells. Int. J. Radiat. Biol. 66 (3). 297-307.

George, K. Willingham, V., And Cucinotta, F.A. 2005. Stability of Chromosome Aberrations in the Blood Lymphocytes of Astronauts Measured after Space Flight by FISH Chromosome Painting. *Radiation Research* 164,474-480.

Hall, E.J. 2000. Radiobiology For The Radiobiologist Jb Lippincott Company, Philadelphia.5 Edition.

IAEA. 2001. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. Technical Reports Series No. 405. IAEA, Vienna.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1990 Safety Series No. 102, Recommendations for the Safe Use and Regulation of Radiation Sources in Industry, Medicine, Research, and Teaching, IAEA, Vienna.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. 1992. Practical Radiation Safety Manual, Manual on Nuclear Gauge, IAEA, Vienna.

Kondo, S. 1993. Health Effects of Low Level Radiations. Kinki University Press, Osaka Japan and Medical Physics Publishing, Madison USA.

Natarajan, At, Darroudi. F, Berg. M et al. Biological dosimetric studies in the Goiania accident. 2000. IAEA-TECDOC-1131, Restoration of environments affected by residues from radiological accidents.Approaches to decision makingÓ 127-1.

Natarajan,at, santos, sj, darroudi, F et al. 1998. 137 Cesium-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence in situ hybridization: eight years follow up of the Goiania radiation accident victims. Mutat Research 400 (8): 299-312.

Stephan. G, Pressl S, Koshpessova Gulsym,K And Guesuv, I.B. 2001. Analysis of FISH Painted Chromosomes in Individual Living Near Semipalatinsk Nuclear Test Site. Radiation Research 155: 796-800.

Syaifudin, M. dan Lusiyanti, Y. 2004. Nuklir mengabdi kemanusiaan, Buletin ALARA, Vol. 6 No. 1.

Tubiana, M. 1998. The report to the French Academy of Science. Problems associated with the effects of low dose of ionizing radiation, J. Radiation Protection. 18: 243-248

Yatim, W. 1982. Biologi, Tarsito, Bandung.

Zeljezic, D and Garajvrhovac, V. 2006. Fluorescence In Situ Hibridisation in Detecting Chromosome Aberrations Caused By Occupational Exposure to Ionising Radiation, Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Croatia, Arh Hig Rada Toksikol. 57:65-68.

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ARTEMISININ GALUR IRADIASI GAMMA TERHADAP *Plasmodium berghei* SECARA *IN VIVO*

Mukh Syaifudin[a], Indra Sumantri[b], Devita Tetriana[a], Darlina[a], Siti Nurhayati[a], Teja Kisnanto[a] dan Aryanti[c]
a. Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN
b. Mahasiswa Institut Sains dan Teknologi Nasional
c. Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN

ABSTRACT

It is predicted that currently at least 107 millions of Indonesian people are still risky because they are living in malaria endemic areas. Controlling this disease met an obstacle due to the spreading of Plasmodium sp. resistant to main drug chloroquin so that it urgent to develop anti malaria drugs such as artemisinin. The content of artemisinin in Artemisia annua L. plant is mostly low so that we were attempted to do genetic variation of artemisinin plant by using gamma irradiation. In this research we tested the suppression capability of extract of artemisinin of plant obtained from tissue culture irradiated with gamma rays at dose of 40 Gy. Male mice were injected intraperitoneally with ±1x10^5 of P. berghei, and two days later were orally administered with artemisinin at doses of 5 mg/kg body weight for three days consecutively. Mouse given with chloroquin 25 mg/kg BW and Carboxymethylcellulose (CMC) 1 g/100 ml solution were used as control. Inhibitory power was observed based on the percentage of parasitemia of thin blood smear. The research showed that given dose of artemisinin were not effectively inhibit the proliferation of P. berghei in vivo, where the parasites were still proliferated up to 20% at day 3 post first extract treatment that may be due to low doses and or the existence of various components in the extract and its treatment route. At other hand chloroquin was effectively inhibit the growth of parasite but the survival time of mouse was short that was possibly due to very high dose of drug treated. It is crucial to do research with higher dose of artemisinin and lower dose of chloroquin.

Keywords: malaria, drug, artemisinin, irradiation, parasitemia, inhibitory power

PENDAHULUAN

Berdasarkan laporan *The World Malaria*, di seluruh dunia terdapat 3,2 miliar penderita malaria yang tersebar di 107 negara dan setiap tahun lebih dari satu juta orang meninggal akibat penyakit ini. Dari jumlah tersebut, sekitar 80 persen kematian terjadi di Afrika, yakni di sebelah Selatan Sahara (WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2005). Indonesia masih merupakan salah satu negara yang beresiko terhadap penyakit malaria, dan hingga akhir tahun 2008 tercatat sebanyak 1,62 juta kasus. Tahun 2007 lalu melalui pemeriksaan mikroskopis positif kuman malaria mencapai 311 ribu kasus. Jumlah ini menurun di tahun 2008 menjadi sebanyak 266 ribu kasus (DEPARTEMEN KESEHATAN. 2009). Namun kasus malaria masih relatif tinggi di beberapa daerah endemis. Kendala penanganan malaria diantaranya karena adanya plasmodium (parasit) penyebab malaria yang telah kebal (resistan) terhadap obat kloroquin sebagai obat utama. Upaya Kementerian Kesehatan dalam pengendalian malaria pada 2009 di antaranya adalah sosialisasi dan peningkatan kualitas pengobatan malaria dengan ACT di seluruh Indonesia (Anoim, 1989. Pengobatan baru dengan menggunakan *Artemisinin*

Combination Theraphy (ACT) ini masih terbatas dan terancam resistensi. Resistensi parasit terhadap obat anti malaria ditemukan dalam berbagai penelitian baik secara *in-vivo* maupun *in*-vitro (Wright dkk, 2010).

Artemisia annua L. merupakan tanaman perdu semusim yang berasal dari China dan telah lama digunakan sebagai obat malaria. Bahan aktifnya, artemisinin, terbukti dapat menghambat perkembangan *Plasmodium sp*. (Khrisna, 2004). Mekanisme penghambatan plasmodium oleh artemisinin yang merupakan senyawa sesquiterpen lakton yang mengandung jembatan endoperoksida yaitu melalui penghambatan enzim PfATP6 yang mirip dengan enzim ATPase yang tersebar di dalam sitoplasma. Artemisinin yang terbungkus dalam gelembung membran akan masuk ke dalam sel parasit kemudian diaktifkan oleh ion besi dekat enzim PfATP6 dalam retikulum endoplasma dan terlibat dalam reaksi reduksi hemikatalisis yang menghasilkan senyawa sitotoksik. Senyawa ini mengikat dan menghambat PfATP6 secara irreversible dan spesifik. Jadi pemutusan jembatan peroksida yang dikatalisis oleh heme menghasilkan radikal bebas berinti karbon. Parasit malaria sensitif terhadap radikal bebas ini (Klayman, 1985). Menurut Klayman (1985), artemisinin sangat efektif membunuh plasmodium yang terdapat dalam darah hewan, tidak beracun dan tidak berbahaya terhadap hewan percobaan. Artemisinin yang berfungsi sebagai anti malaria pada *Artemisia annua* lebih efektif dibanding sulfadoksin-pirimetamin.

Pengembangan tanaman artemisia di Indonesia mengalami kendala karena belum ada tanaman yang kandungan artemisininnya di atas 0,5%, sehingga perlu dilakukan upaya melalui teknik keragaman somaklonal dan mutasi menggunakan iradiasi sinar gamma. Pada LD50 dosis iradiasi akan merubah gen tertentu yang diinginkan dengan tidak merubah karakter unggul yang sudah ada. Iradiasi 50 Gy pada mata tunas telah menghasilkan genotipe baru yang menghasilkan artemisinin ≥ 1% (Laughli, 2002). Meskipun artemisia berasal dari daerah sub tropis, tetapi tanaman ini dapat dikembangkan di daerah tropis, melalui pemuliaan (seleksi adaptasi dan hibridisasi) termasuk dengan radiasi sinar gamma yang dikembangkan di BATAN. Beberapa negara telah membudidayakan artemisia dan menghasilkan artemisinin yang cukup tinggi yaitu 0,5-1,5% (Laughli, 2002; Kamchonwongpaisan, dan Meshnick, 1996). Ekstrak artemisinin galur iradiasi terbukti efektif menghambat *P. falciparum* secara *in vitro* (Noviyanti dkk., 2007), namun belum diketahui efektivitasnya secara *in vivo* dengan harapan hasil yang didapat nantinya bisa lebih menggambarkan kondisi parasit sesungguhnya dalam tubuh inang dibandingkan uji aktivitas secara *in vitro*. Dalam penelitian ini disajikan hasil uji daya hambat artemisinin galur iradiasi terhadap perkembang biakan *P. berghei* dalam tubuh mencit.

METODE PENELITIAN

Parasit dan hewan mencit

Plasmodium berghei strain ANKA diperoleh dari Lembaga Biologi Molekuler Eijkman Jakarta. Sedangkan mencit strain *Swiss Webster* jantan berumur ±2 bulan dengan berat badan sekitar 35 gram diperoleh dari Badan Litbang Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta dan dipelihara dalam sangkar plastik dengan tutup kawat serta diberi makanan pelet dan minuman secara *ad libitum*. Makanan pelet diperoleh dari Virovet (komposisi atas rekomendasi Badan Pengawas Obat dan Makanan). Bantalan sebagai alas kandang adalah berupa serutan kayu dan diganti sekali seminggu.

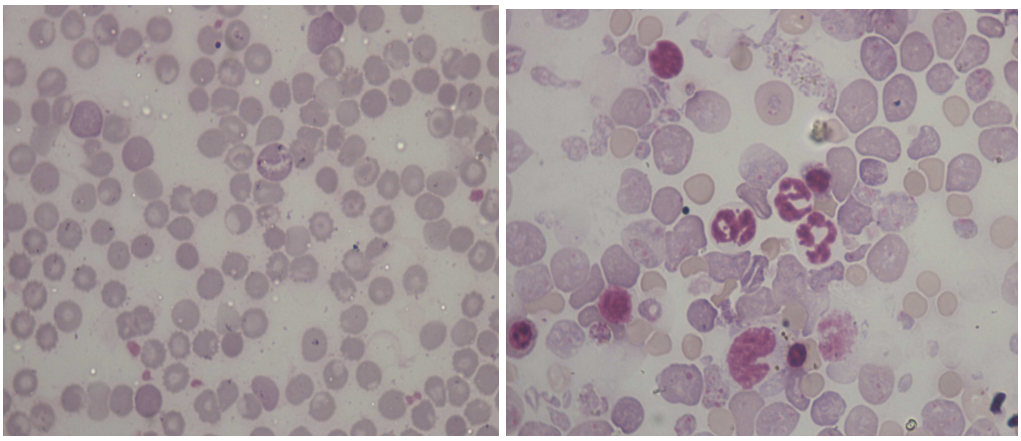
Ekstrak artemisinin dan kloroquin.
Ekstrak artemisinin diperoleh dari daun tanaman galur *Artemisia Annua L* yang diiradiasi sinar gamma 40 Gy pada umur 2 minggu kultur jaringan dan diperoleh dari Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi BATAN. Cara ekstraksi dan karaktersitiknya telah ditinjau seperti sebelumnya [11]. Kloroquin diperoleh dari suatu apotek. Ekstrak artemisinin dan kloroquin masing-masing dilarutkan dalam larutan *Carboxymethylcellulose* (CMC) dengan konsentrasi 5 mg/kg BB dan 25 mg/kg BB. Konsentrasi CMC sebagai pelarut adalah 1 g/100 ml akuadest.

Propagasi P. berghei dalam tubuh mencit.
Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 3 (tiga) kelompok. Dengan prosedur baku, sembilan mencit disuntik secara intraperitoneal (IP) ±1 x 10^6 parasit inokulum stadium eritrositik menggunakan syringe steril 1 ml dengan gauge 26Gx1/2" (0,45x13 mm) (P1) [12], kemudian mencit dibagi ke dalam 3 kelompok masing-masing 3 ekor. Satu hari (24 jam) kemudian kelompok tikus pertama diberi secara oral ekstrak artemisinin dosis 1, 10 dan 100 mg/kg berat badan (BB), kelompok kedua diberi kloroquin dosis 10 mg/kg BB, dan kelompok kontrol CMC 1% selama 3 hari berturut-turut (sesaat sebelum perlakuan, darah mencit diambil untuk pengamatan parasitemia.). Pemberian secara oral dilakukan dengan peralatan sonde *stainless steel* steril. Pengamatan parasitemia dilakukan sesaat sebelum pemberian pertama (hari ke 0) dan hari-hari ke 1, 2, 3, 7, 14 dan 30 pasca infeksi. Parasitemia pada mencit dilakukan dengan mengambil darah perifer dari ujung ekor.

Pengamatan parasitemia dengan preparasi apusan darah tipis
Ujung ekor mencit terinfeksi dilap dengan kapas yang dibasahi etanol kemudian dipotong sedikit menggunakan gunting steril. Dari pangkal hingga ujung ekor diurut untuk mengeluarkan darah sebanyak sekitar 5 mikroliter kemudian ditempelkan pada kaca preparat untuk apusan tipis. Setelah selesai ujung ekor dilap kembali dengan etanol hingga bersih. Setelah apusan mengering kemudian diwarnai dengan 10% larutan Giemsa dan dibiarkan mengering kemudian ditutup dengan *coverslip*. Selanjutnya preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 1000x dengan meneteskan minyak immersi. Parasitemia dihitung dengan memilih bagian-bagian dimana tiap lapangan pandang mengandung sel dengan susunan tidak saling menumpuk. Dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi dari sekitar 4000-6000 sel eritrosit yang terhitung . Prosedur ini mengacu pada prosedur standard 11 (Suwarni dkk.,1995.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan mikroskopis terhadap daya hambat ekstrak yaitu persentase parasitemia pada apusan darah tipis menunjukkan bahwa dosis tunggal artemisinin 5 mg/kg BB tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo*. Parasit *P. berghei* dalam tubuh hewan mencit tetap dapat berkembang biak dimana pada hari ke 3 sudah muncul parasit dalam darah perifer (Gambar 1, kiri) dan pada hari ke tiga mencapai 5% dan hingga 12% pada hari ke 5 pasca pemberian ekstrak. Pada hari ke 30 parasitemia bahkan telah mencapai 35% (Gambar 1, kanan), kecuali pada hari ke 2 dan 7. Ketiga mencit dalam kelompok artemisinin masih dapat bertahan hidup dimana satu mencit hampir mati karena menderita anemia dan hampir seluruh sel darah merahnya terinfeksi. Tampaknya pemberian artemisinin dapat memperpanjang masa hidup mencit. Tingginya parasitemia ini mungkin disebabkan karena dosis ekstrak yang diberikan masih rendah dan jumlah pengulangan yang masih sedikit dan atau karena masih dalam bentuik ekstrak dimana di dalamnya terdapat berbagai komponen yang justru bersifat antagonis atau saling menghilangkan fungsi masing-masing. Diduga cara pemberian ekstrak artemisinin secara oral tidak efektif menekan parasit. Perlu



Gambar 1. Parasitemia dalam darah mencit 2 hari (kiri) dan 30 hari (kanan) setelah penginfeksian intraperitoneal *P. berghei* dan pemberian artemisinin 5 mg/kg BB.

dilakukan uji pemberian dengan rute lain seperti secara intravena, intraperitoneal, atau intramuskular dll.

Klorokuin yang digunakan sebagai pembanding/kontrol sangat efektif menghambat pertumbuhan parasit dimana parasitemia di bawah 4% teramati pada hari 0 dan terus menurun pada hari-hari pengamatan berikutnya (Tabel 1). Akan tetapi daya tahan hidup mencit menjadi pendek (3 hari untuk kloroquin versus 30 hari atau lebih untuk kelompok lain) yang mungkin disebabkan karena dosis kloroquin yang terlalu tinggi. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian dengan menurunkan dosis klorokuin. Parasitemia pada kelompok kontrol CMC terlihat tinggi dan mencapai 24,5% pada hari 14 pasca pemberian, namun terjadi penurunan pada hari ke 7. Kloroquin sebagai obat utama malaria banyak digunakan sebagai kontrol. Pada siklus hidupnya parasit malaria bermultiplikasi dan menghancurkan sel darah merah. Parasit membutuhkan nutrisi yang diperoleh sebagian dari penghancuran hemoglobin sel hospes di vakuola makanan dan menghasilkan molekul hem yang toksik yaitu ferriprotoporphyrin IX (FPIX) dan globin. Parasit malaria intraeritrositik mampu mendegradasi molekul hem menjadi sesuatu yang tidak berbahaya yang disebut pigmen malaria atau hemozoin. Kloroquin dan obat antimalaria kuinolin lainnya bekerja melawan parasit stadium intraeritrositik yang sedang aktif menghasilkan pigmen (Gambar 1) (Aryanti, dkk., 2006).

Hasil penelitian sebelumnya terhadap ekstrak artemisinin galur iradiasi menunjukkan bahwa ekstrak dosis 100 µg/ml efektif menekan pertumbuhan parasit hingga 85,77% dalam kultur *in vitro P. falciparum* (Noviyanti dkk., 2007). Penelitian oleh Chawira dkk (Ridwan dkk., 2003) menunjukkan bahwa artemisinin yang diberikan secara subkutan selama tiga hari berturut-turut memiliki ED50 5,6 mg/kg BB dan bersifat sinergis dengan obat mefloquin, primaquin dan klindamisin. Pemberian secara intravena juga efektif menekan parasit dalam tubuh mencit (empat dari enam mencit) dengan dosis 18, 35 mg/kg. Sedangkan pemberian artemisinin secara oral belum diteliti lebih lanjut. Mencit diinfeksi strain *P. berghei* yang resisten dan sensitif kloroquin kemudian disuintik intravena artemisinin selama tiga hari berturut-turut diperoleh dosis efektif 50% 2,87 mg/kg untuk strain sensitif dan 2,87 mg/kg untuk strain resisten (Ridwan dkk., 2003). Sedangkan pemberian secara oral yang dilakukan dalam penelitian ini belum terlihat efektif menekan perkembangan parasit. Hal ini mungkin karena selain dosisnya rendah, cara pemberian pun sangat berpengaruh.

Terlihat ada perbedaan antara hasil penelitian ini dengan hasil-hasil penelitian lain. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena selain faktor seperti disebutkan di atas, juga suhu ruangan pemeliharaan hewan percobaan karena suhu lingkungan yang panas akan mengurangi tingkat parasitemia. Suhu ruangan yang digunakan oleh peneliti lain untuk memelihara mencit yang diinfeksi adalah 28° – 30°C.

Tabel 1. Persentase rata-rata parasitemia dalam darah mencit pada hari-hari pasca penginfeksian secara intraperitoneal *P. berghei* dan pemberian artemisinin, kloroquin dan CMC.

Hari ke	Persentase rata-rata parasitemia		
	Artemisinin	Kloroquin	CMC (kontrol)
0	11,32	3,9	8,3
1	11,04	3,08	10
2	7,50	1,64	10,08
3	20,66	1,16	17,36
7	7,71	1,02 *)	7,39
14	22,85	0,22 **)	24,5 *)
30	35,2	0,21	25,9

Keterangan: *) = rata-rata dari 2 mencit, **) : hanya dari 1 mencit

sedangkan ruangan yang dipergunakan untuk memelihara mencit dalam penelitian ini mempunyai suhu 20° – 22°C. Perbedaan lainnya dapat disebabkan karena cara pelarutan ekstrak dalam larutan 0,5% *Carboxymethylcellulose* (CMC) atau akuades yang ditambah Tween 80. Cara pemberian demikian tidak menjamin seluruh obat dapat masuk dan proses penyerapan obat menjadi lebih lambat (Nandakumar , 2006).

Penelitian oleh Ridwan dkk, (2003) mengkombinasi antara artemisinin dan vitamin E yang diberikan secara oral pada mencit Swiss webster dengan tujuan untuk mengetahui manfaat dan efèktivitas yang optimal dari artemisinin bila diberikan bersama-sama dengan vitamin E. Hasilnya menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar vitamin E mencit semakin tahan terhadap infèksi *P. berghei* akan tetapi efektifitas artemisinin menurun bila kadar vitamin E yang diberikan semakin tinggi, dengan demikian perlu dihindari pemberian vitamin E bersamaan dengan pengobatan artemisinin. Sedangkan penelitian Nandakumar dkk (2006) menunjukkan bahwa kombinasi artemisinin dan kurkumin sangat efektif menekan parasitemia baik secara *in vitro* dalam kultur *P. berghei* strain ANKA maupun secara *in vivo* pada mencit untuk pemberian oral.

Berbagai macam tanaman juga dicoba efektivitasnya sebagai obat anti malaria. Tanaman johar (*Cassia siamea Lamk*.) misalnya, juga diteliti kemungkinannya sebagai obat malaria yakni bagian daunnya. Di dalamnya terdapat alkaloid yang bersifat racun dan *oxymethylanthraquinone*. Seperti halnya hasil penelitian ini, diketahui sampai dosis 100 mg serbuk daun/100 g BB tikus dalam bentuk infus oral tidak mengurangi jumlah eritrosit (sel darah merah) terinfeksi parasit (plasmodium). Ada kemungkinan perlu dosis lebih besar dan dengan frekuensi lebih sering supaya efek yang diharapkan bisa dicapai. Secara *in vivo* ekstrak tersebut tidak bersifat plasmodisida terhadap *P. berghei*, tapi memperpanjang masa hidup mencit terinfeksi karena limpa dan hatinya tidak rusak. Daun johar juga memiliki daya imunostimulasi (merangsang produksi zat kekebalan tubuh), bersifat antipiretik yang potensinya seperti asetosal. Infusnya juga bersifat hepatoproteksif (melindungi hati dari kerusakan) (Iwo, 1996).

Berbeda dengan hasil penelitian tersebut, hasil penelitian lain oleh Ekasari (Ekasari, 2008) terhadap uji khasiat ekstrak daun tanaman Johar menunjukkan bahwa ekstrak etanolnya mempunyai aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo* pada mencit dengan harga ED50 sebesar 34,69 mg/kg BB fraksi kloroform mempunyai harga ED50 sebesar 19, 59 mg/kg BB sedangkan fraksi alkaloid total sebesar 0,47 mg/kg BB. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui lebih jauh potensi dari senyawa alkaloid daun Cassia siamea dengan melakukan isolasi serta mengujinya secara *in vivo* sehingga akhirnya didapatkan senyawa yang berkhasiat sebagai antimalaria. Ternyata ekstrak etanol 70% daun johar dapat memperpanjang masa hidup mencit sampai hari ke-16. Kontrol positif menggunakan Fansidar bertahan sampai hari ke-28, sedang kontrol negatif menggunakan akuades bertahan sampai hari ke-5. Berdasarkan hasil penelitian *in vitro* terhadap *P. falciparum*, menurut cara Trager & Jensen, ternyata ekstrak etanol 70% daun johar dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum* pada stadium tropozoit ke schizont dibandingkan dengan control (Ekasari, 2008)

Penelitian *in vivo* oleh Muhadi dkk. (2005) menggunakan daun dadap ayam (*Erythrina variegata L.*) menunjukkan bahwa *inhibitory concentration* 50% (IC50) ekstrak asetat dan butanol masing-masing adalah 0,46 dan 1,51 mg/kg. Sedangkan IC50 ekstrak daun puspa (*Schima wallichii Korth*) adalah jauh lebih tinggi yakni 358,13 dan 122,87 mg/kg masing-masing untuk ekstrak etil asetat dan butanol. Tidak disebutkan daya/efektivitasnya terhadap masa hidup hewan coba yang dipergunakan.

Resistensi parasit merupakan masalah yang besar dalam pengendalian malaria. Obat-obat baru baik sintetis maupun tradisional telah dipersiapkan sebagai obat alternatif untuk menanggulangi kasus malaria yang resisten. Beberapa diantaranya sudah dalam tahap uji coba pada penderita di lapangan, dan beberapa masih dalam tahap penelitian dengan binatang percobaan. Adanya resistensi terhadap obat-obat ini perlu didukung oleh pemantauan atau pengujian sensitivitas terhadap obat-obat yang sudah dipakai maupun yang baru mungkin perlu dilakukan. Beberapa obat sudah sejak lama dipakai seperti kina dan bila ada obat tradisional baru yang berkhasiat sebagai obat anti malaria dapat dikembangkan penggunaannya. Upaya lain juga perlu dilakukan seperti pencegahan strain resisten yang berasal dari luar Indonesia masuk ke dalam wilayah negara kita terutama di daerah-daerah perbatasan yang endemisitasnya masih tinggi. Menurut WHO yang dimaksud dengan resistensi terhadap obat adalah kemampuan parasit untuk terus hidup dalam tubuh manusia, berkembang biak dan menimbulkan gejala penyakit, meskipun telah diberikan pengobatan secara teratur baik dengan dosis standar maupun dosis yang lebih tinggi yang masih bisa ditolerir oleh pemakainya (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Dengan banyaknya obat anti malaria baru sebagai obat alternatif, perlu dipikirkan dan diatur penggunaannya agar tidak menimbulkan hal-hal yang tidak diharapkan. Meskipun banyak obat-obat baru yang tampaknya dapat menjadi obat pilihan untuk mengatasi masalah resistensi terutama terhadap klorokuin, para ahli berpendapat bahwa klorokuin masih tetap digunakan untuk mengurangi gejala penyakit pada penderita yang resisten dan sebagai profilaksis di daerah yang sensitif. Klorokuin juga masih dipakai untuk pengobatan radikal *P. vivax* maupun plasmodium yang lain. Demikian pula halnya dengan kina, sampai saat ini masih merupakan obat pilihan untuk mengatasi *P. falciparum* dengan komplikasi serebral. Dengan demikian, selain penelitian atau uji coba obat-obat baru, penelitian/pengembangan obat-obat yang sudah ada maupun obat tradisional perlu mendapat perhatian (Simanjuntak, 1995). Resistensi parasit terhadap beberapa obat anti malaria terutama klorokuin, fansidar dan obat-obat baru menimbulkan beberapa masalah yang perlu diperhatikan yaitu upaya pemantauan sensitivitas terhadap obat-obat yang telah dipakai maupun yang baru, pengembangan pemakaian obat yang sudah ada

dengan mengurangi efek sampingnya, dan pengembangan obat-obat malaria tradisional lainnya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis artemisinin 5 mg/kg BB secara oral tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* dalam mencit secara *in vivo* dimana parasit tetap berkembang biak hingga 12% pada hari ke 5 pasca pemberian ekstrak. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dosis ekstrak yang rendah dan atau adanya berbagai komponen dalam ekstrak yang menghambat efektivitas anti parasitnya. Diduga artemisinin hanya mampu memperpanjang masa hidup mencit. Rute pemberian secara oral juga diduga berpengaruh pada efektivitas artemisinin. Sebaliknya klorokuin sangat efektif menghambat parasit tetapi daya tahan hidup mencit menjadi pendek yang mungkin disebabkan oleh dosis yang terlalu tinggi. Perlu dilakukan pemberian dosis lebih tinggi dan waktu pemberian yang lebih sering serta penurunan dosis klorokuin.

DAFTAR PUSTAKA

ANONIM. 1989. Indonesia masih berresiko malaria, Pusat Data Kementerian Komunikasi dan Informatika. SEKARTUTI, E., Masalah Obat Anti Malaria, Cermin Dunia Kedokteran No. 54.

Aryanti, Ermayanti, T.M., Prinadi, K.I., Dewi, R.M. 2006. Uji daya antimalaria Artemisia spp. terhadap *Plasmodium falciparum*, Majalah Farmasi Indonesia. 17(2): 81-84.

DEPARTEMEN KESEHATAN. 2009. Mengendalikan penyakit malaria dan mulai menurunnya jumlah kasus malaria dan penyakit lainnya pada 2015, 2003.

Ekasari, W. 2008. Aktivitas antimalaria ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi positif alkaloid daun *Cassia Siamea* terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*, Research Report.

Gati, E., Perbaikan genetik tanaman artemisia (Artemisia annua. L) melalui mutasi dan keragaman somaklonal,

Iwo, M.I. , 1996. Efek antimalaria falciparum in vitro dan mekanisme kerja ekstrak methanol dan fraksi kloroform korteks *Aistonia scholaris (L.) R.Br.* dan daun *Cassia siamea Lamk.* serta toksisitas dan isolasi alkaloid dari *korteks A. scholaris (L.).R.Br.*. PhD Thesis, MIPA ITB.

Kamchonwongpaisan, S. And Meshnick, S.R. 1996. The mode of action of the antimalarial artemisinin and its derivatives**,** General Pharmacology: The Vascular System. Volume 27(4): 587-592.

Klayman, D.L. 1985. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China**,** Science. 228:1049-1055.

Khrisna, S., Uhlemann, A.C., Haynes, R.K. 2004. Artemisinins: mechanisms of action and potential for resistance, Drug Resistance Updates. 7: 233-244.

Laughlin, J.C., Heazlewood, G.N., And Beattie, B.M. 2002. Cultivation of Artemisia annua L, In : Artemisia (Wright, CW Ed.), Taylor & Francis, London.

Muhadi Dan Haryoto. 2005. Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun tumbuhan dadap ayam (*Erythrina variegata L.*) dan puspa (*Schima wallichii Korth*), Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi. 6(1): 14-25.

Nandakumar, D.N., Nagaraj, V.A., Vathsala, P.G., Rangarajan, P. And Padmanaban, G. 2006. Curcumin-artemisinin combination therapy for malaria, Antimicrobial agents and Chemotherapy, 50(5): 1859-1860.

Noviyanti, R., Syafruddin, D., Duffy, M., 2007. Research on Malaria Manual of Methods, Australia/Indonesia Medical Research Initiative (AIMRI), 26 Februari CHAWIRA, D.N., WARHURST, D.C., ROBINSON, B.L. and PETERS, W., The effect of combination of quinghaosu (artemisinin) with standard antimalarial drugs in the suppressive treatment of malaria in mice, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 81: 554-558.

Ridwan, E., Tita, M, Susilowati, H. Dan Sahat, O. 2003. Pengaruh pemberian vitamin E terhadap efektifitas artemisinin sebagai obat malaria, Jurnal Kedokteran Media Medika IndonesianA, 38(1).

Simanjuntak, P., Tumbuhan sebagai sumber aktif antimalaria, Buletin Penelitian Kesehatan 23(2): 1-11.

Suwarni, Sekartuti, Rita, M.D., Dan Warwoto, H.A. 1995. Pengaruh Klorokuin terhadap Jumlah Parasit pada Mencit yang Diinfeksi dengan *P. berghei*, Cermin Dunia Kedokteran No. 101: 58-60.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2005. Initiative for Vaccine Research, State the art of vaccine research and development. http:/www.who.int/vaccines-documents.

WORLD HEALTH ORGANIZATION / ROLL BACK MALARIA. 2001. Malaria early warning systems – concepts, indicators and partners. A framework for field research in Africa. Geneva : The organization.

Wright, C.W., Linley, P.A., Brun, R., Wittlin, S., And Hsu, E. 2010. Ancient Chinese methods are remarkably effective for the preparation of artemisinin-rich extracts of Qing Hao with potent antimalarial activity. Molecules. 15: 804-812.

STUDI EKOLOGI PADA MEDIA UJI SEMI LAPANG TEMPAT PERINDUKAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* DI SUKARAME BANDAR LAMPUNG

S. Murwani, Endah S, Decy KS, Nanda HS
Jurusan Biologi FMIPA UNILA,
Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No. 1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145

ABSTRAK

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyakit demam berdarah yg telah menyebabkan kematian di Asia Tenggara lebih dari 30%. Kondisi lingkungan baik biotis maupun abiotis sangat berpengaruh terhadap habitatnya terutama saat stadium larva. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi ekologi pada media semi lapang tempat perindukan larva *Ae aegypti* di Sukarame Bandar Lampung. Penelitian telah dilakukan di Kecamatan Sukarame Bandar Lampung pada bulan Mei s/d Juni 2010. Media uji semi lapang dipergunakan adalah air sumur dan air rendaman kangkung sebagai perindukan larva nyamuk *Ae aegypti*. Parameter yang diamati meliputi fisik, kimia, dan biologi dan hubungan timbal baliknya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa species plankton yang ditemukan pada media uji yaitu air sumur sebanyak 38 species dan rendaman kangkung pada skala uji semi lapang sebanyak 46 species. Total rata-rata kemelimpahan plankton pada media air sumur sebesar 3,557 X 10^5 ekor/liter dan pada media air kangkung sebesar 3,946 X 10_5 ekor/liter. Kadar Oksigen terlarut (DO) dan pH berkorelasi erat terhadap kepadatan larva nyamuk Nitrat (NO3) dan suhu berkorelasi tinggi terhadap kepadatan larva *Ae aegypti.*

Kata kunci: Ekologi, media uji semi lapang, larva *Ae aegypti*

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah yg telah menyebabkan kematian lebih dari 30% penduduk di Asia Tenggara, vektor utamanya adalah nyamuk *Aedes aegypty* (WHO, 2006; Depkes RI, 2007), perlu diberantas baik pada nyamuk dewasa maupun larvanya. Larva nyamuk *Ae. aegypti* secara alamiah memiliki musuh musuh alami di tempat perindukannya, seperti Ikan Cere (*Gambusia affinis*) dan *Mesocyclops aspericornis* (Yumiarti, 2001; Fishbase, 2004; Setyaningrum, Susilo, Murwani, 2008). Selain itu ikan Guppy (*Lebistus reticulates*) dan ikan kepala timah (*Panchax-panchax*) dapat menjadi agens hayati untuk memberantas larva nyamuk Anopheles (Hiswani,2004). Beberapa agens hayati tersebut masih perlu kajian ekologinya terutama untuk yang berhubungan dengan kehidupan larva nyamuk *Ae. Aegypti.* Larva nyamuk ini menyukai air bersih dan terlindung cahaya matahari, seperti air hujan yang ditampung di tempayan, air sumur, kolam jernih, dan lain-lain yang cocok sebagai tempat hidup larvanya (Kireina,2009). Hasil Penelitian Yanti (2009) menunjukkan bahwa faktor fisik, kimia media air sumur dan media rendaman air kangkung serta faktor biologi seperti plankton dan mikroorganisme lainnya, saling berhubungan satu sama lain dalam proses pengendalian larva nyamuk *Ae. Aegypti* pada skala laboratorium.

Dari hasil penelitian tersebut kami lanjutkan ke penelitian tentang faktor-faktor ekologi yang meliputi faktor biotis maupun abiotis yang menunjang kehiduan larva *Ae. aegypti* pada uji semi lapang di kecamatan Sukarame, Bandar Lampung. Kecamatan Sukarame merupakan salah satu wilayah endemik demam berdarah di Propinsi Lampung, sampai

mencapai status kejadian Luar Biasa (KLB) (Setyaningrum, dkk. 2008, WHO,2006). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari studi ekologi pada media uji semi lapang tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti* yang meliputi faktor biologi (Plankton), fisik, kimia, dan korelasinya dengan kepadatan larva *Ae. aegypti* di Sukarame Bandar Lampung.

METODE PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Mei – Juni 2010 di Kecamatan Sukarame Bandar Lampung dengan melakukan survey pendahuluan untuk menentukan lokasi yang berpotensi terdapat larva *Ae. aegypti.* Kemudian meletakkan baskom dengan volume 10 liter pada 6 rumah dan masing masing rumah diletakkan 4 baskom sebagai ulangan, untuk diisi dengan air sumur dan air rendaman kangkung masing masing 5 liter. Selanjutnya dilakukan faktor biologi berupa jenis organisme yang sehabitat dengan larva *Ae. aegypti* dan kepadatannya. Diamati pula faKtor fisik dan kimia seperti suhu air, pH air, Kadar O2, CO2 dan NO3. Analisis data dilakukan dengan uji t pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan factor ekologi antara air sumur dan air rendaman kangkung.sebagai media hidup larva *Ae. aegypti*. Untuk mengetahui pengaruh faktor biotis dan abiotis terhadap kepadatan larva *Ae. aegypti* di analisis dengan korelasi pearson SPSS for Window version 13.0

HASIL DAN PEMBAHASAN

Species Plankton Pada Media Uji Skala Semi Lapang

Species plankton yang ditemukan pada media uji yaitu air sumur sebanyak 38 species dan rendaman kangkung pada skala uji semi lapang sebanyak 46 species. Species yang banyak ditemukan pada media air sumur hádala *Synendra* sp., *Paramaecium* sp., *Scytonema* sp., *Nitzchia* sp., *Vasiola ciliata*, *Mesocyclops aspericornis*. Sedangkan species yang banyak ditemukan pada media kangkung lebih banyak adalah *Synendra* sp., *Paramaecium* sp., *Scytonema* sp., *Vorticella* sp., *Stentor* sp*., Nitzchia* sp., *Monallanthus* sp., dan *Mesocyclops aspericornis*. Keanekaragaman plankton di media kangkung lebih tinggi dibandingkan dengan keragaman plankton pada media air sumur, namun tidak berbeda nyata (P>0,05).

Banyaknya plankton di media rendaman kangkung diduga karena di dalam media tersebut banyak mikroorganisme sebagai pakan alami plankton-plankton tersebut. Dugaan ini berdasarkan pendapat Suriawiria *dalam* Setyaningrum dkk (2008) bahwa mikroorganisme sangat menyukai media rendaman sayuran dengan kandungan air 68-96%, Karbohidrat 2,7 – 27,9 %, protein 6,5 – 6,7 % , dan lemak 0,1 – 1,2 %.

Total rata- rata kemelimpahan plankton pada media air sumur sebesar 3,557 X 10^5 ekor/liter dan pada media air kangkung sebesar 3,946 X 10_5 ekor/liter. Kemelimpahan plankton direndaman air kangkung mungkin disebabkan oleh adanya predasi dari zooplankton yang dominan (*Mesocyclop aspericornis*) pada ke dua media tersebut. Hal ini berdasarkan hasil penelitian Yanti (2009) bahwa daya predasi *M. aspericornis* pada media air sumur lebih tinggi (79%) dibandingkan dengan media air kangkung (19%).

Indeks keanekaragaman Shannon-Wienner plankton pada kedua media tersebut termasuk dalam kategori rendah karena H' <2, ini menunjukkan bahwa ekosistem di kedua media kurang stabil, sehingga sering terjadi perubahan populasi (Khoiriyah, 2004).

Kepadatan Larva Nyamuk *Ae.Aegypti* dan Plankton Pada Media Uji Semi Lapang

Hasil pengamatan mengenai kepadatan larva *Ae. aegypti* pada media air sumur diperoleh sebesar 9 ekor/liter, sedangkan kepadatan larva *Ae. aegypti* pada media air rendaman kangkung sebesar 10 ekor/liter (Tabel 1)

Kepadatan larva tertinggi terdapat pada rendaman air kangnung di rumah ke 4 yaitu 15,2 ekor/liter, sedangkan kepadatan terendah terdapat pada air sumur pada rumah yang ke 6 yaitu 1,2 ekor/liter (Tabel 1). Tingginya kepadatan larva pada rumah yang ke 4 diduga karena kondisi sekitar rumah terlindung oleh pepohonan yang rimbun. Dugaan ini berdasarkan pendapat dari Kireina (2009) yang menyatakan bahwa larva nyamuk Aedes aegypty menyukai tempat penampungan yang cukup jernih dan terlindung dari sinar matahari. Namun hasil uji t menunjukkan tidak berbeda nyata antara kepadatan larva pada kedua media uji tersebut (P> 0,05) (Tabel 1).

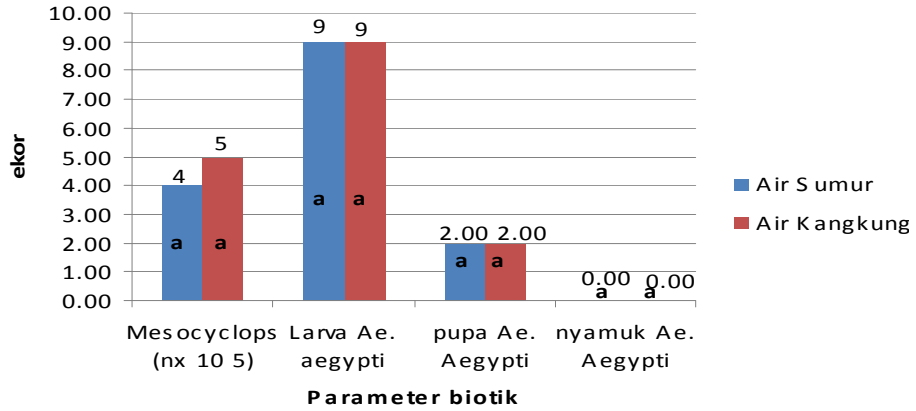
Tabel 1. Kepadatan larva nyamuk *Ae.Aegypti* pada media air sumur dan air rendaman kangkung

Pengulangan	Kepadatan larva *Ae. aegypti* pada media (ekor/lt)	
	Air sumur	Air rendaman kangkung
R1	10	14,1
R2	11,2	5,6
R3	12,8	9,5
R4	9,2	15,2
R5	6,9	6,6
R6	1,2	6,1
Rata-rata	9	10

Keterangan: R = rumah

Selain kepadatan larva *Ae. aegypti* pada media air sumur dan air rendaman kangkung, juga diamati kepadatan plankton yang dominan seperti *Mesocyclops aspericornis*. Zooplankton ini mempunyai kepadatan rata-rata 4 ekor/liter, sedangkan larva *Ae.aegypti* rata-rata 9 ekor/liter, stadium pupanya 2 ekor/liter, dan nyamuk dewasanya hanya 0 ekor/liter (Gambar 1). Hal tersebut menunjukkan adanya proses keseimbangan ekosistem dengan *M. aspericornis* sebagai konsumen sekunder yang membutuhkan pakan dari konsumen primer yaitu *Ae. aegypti* (Setyaningrum dkk, 2008; Yanti, 2009)

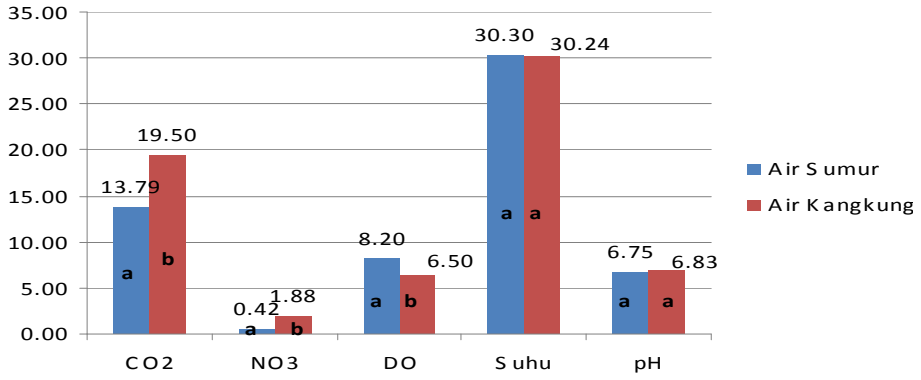
M. aspericornis dapat digunakan sebagai pengendali larva nyamuk baik dalam skala laboratorium maupun skala yang lebih luas di alam terbuka (Yumiarti, 2001). Selanjutnya dikatakan bahwa zooplankton ini merupakan predator jentik nyamuk *Ae. Aegypti* yang mempunyai daya predasi yang tinggi dan mempunyai kemampuan memakan berbagai macam mikroorganisme seperti ganggang, Rorifera, Copepoda, Oligochaeta, Chironomi, larva ikan, dan crustacea dari Eumalacostraca.



Gambar 1. Rata-rata jumlah zoolankton dan larva *Aedes aegypti* pada media air sumur dan rendaman kangkung

Parameter Fisik dan Kimia Media Air Sumur, Air Kangkung, dan Korelasi Personnya

Hasil pengukuran parameter fisik dan kimia pada media air sumur menunjukkan bahwa kadar CO_2 berkisar antara 8,8 – 16,72 mg/L dengan rata-rata 13,79, kadar Nitrat (NO_3) rata-rata 0,42 mg/L. Untuk DO rata-rata 8,20, dengan suhu rata-rata 30,3^o C, dan pH rata-rata 6,75 (Gambar 2).



Gambar 2. Rata-rata parameter faktor fisik dan kimia media air sumur dan rendaman kangkung

Sel anjutnya parameter fisik dan kimia pada media air rendaman kangkung menunjukkan bahwa kadar CO_2 berkisar antara 15,84 – 22,82 mg/L dengan rata-rata 13,79, kadar Nitrat (NO3) rata-rata 1,88 mg/L. Untuk DO rata-rata 6,50 mg/L dengan suhu rata-rata 30,24^o C, dan pH rata-rata 6,83 (Gambar 2). Berdasarkan uji t menunjukkan parameter fisik dan kimia pada kedua media tersebut yang berbeda nyata adalah CO_2, NO_3, dan DO ($P<0,05$), sedangkan yang tidak berbeda nyata adalah parameter suhu dan pH ($P>0,05$). Kondisi fisik dan kimia pada kedua media tersebut masih pada batas normal untuk menunjang kehidupan organisme

Tabel 2. Korelasi pearson antara parameter biotik dan abiotik pada media air sumur

Correlations

		CO2	NO3	DO	Suhu	pH	Mesocyclops	Larva Ae. aegypti	Pupa Ae. aegypti	Nyamuk Ae. aegypti
CO2	Pearson Correlation	1	-.703	-.544	.853*	-.019	-.593	-.258	-.043	-.228
	Sig. (2-tailed)		.119	.264	.031	.972	.215	.621	.936	.664
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
NO3	Pearson Correlation	-.703	1	.118	-.705	.055	.940**	.320	-.150	.506
	Sig. (2-tailed)	.119		.824	.118	.917	.005	.536	.776	.306
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
DO	Pearson Correlation	-.544	.118	1	-.717	-.516	-.170	.457	.783	.424
	Sig. (2-tailed)	.264	.824		.108	.295	.747	.362	.066	.402
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Suhu	Pearson Correlation	.853*	-.705	-.717	1	.406	-.520	-.646	-.465	-.679
	Sig. (2-tailed)	.031	.118	.108		.424	.290	.166	.353	.138
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
pH	Pearson Correlation	-.019	.055	-.516	.406	1	.262	-.444	-.727	-.764
	Sig. (2-tailed)	.972	.917	.295	.424		.616	.378	.102	.077
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Mesocyclops	Pearson Correlation	-.593	.940**	-.170	-.520	.262	1	.259	-.369	.333
	Sig. (2-tailed)	.215	.005	.747	.290	.616		.621	.471	.519
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Larva Ae. aegypti	Pearson Correlation	-.258	.320	.457	-.646	-.444	.259	1	.719	.742
	Sig. (2-tailed)	.621	.536	.362	.166	.378	.621		.107	.091
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Pupa Ae. aegypti	Pearson Correlation	-.043	-.150	.783	-.465	-.727	-.369	.719	1	.615
	Sig. (2-tailed)	.936	.776	.066	.353	.102	.471	.107		.193
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Nyamuk Ae. aegyp	Pearson Correlation	-.228	.506	.424	-.679	-.764	.333	.742	.615	1
	Sig. (2-tailed)	.664	.306	.402	.138	.077	.519	.091	.193	
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Ketetangan
R = 0,7 – 1,0 = korelasi tinggi
R = 0,4 – 0,7 = korelasi erat
R = 0,2 – 0,4 = korelasi rendah
R = 0 – 0,2 = korelasi diabaikan (Sulaiman,2003).

perairan (Effendi, 2000; Yanti,2009). Perbedaan kadar CO_2, NO_2 dan DO diduga karena aktivitas metabolisme dari organisme yang ada di dalam media air sumur dan media air kangkung berbeda. Dugaan ini berdasarkan pendapat Setyaningrum, dkk (2008) dan Yanti (2009) bahwa pada media air kangkung proses dekomposisi yang dilakukan oleh mikroorganismenya lebih tinggi dibandingkan dengan pada air sumur.

Korelasi Pearson antara faktor Biotik dan Abiotik pada Uji Semi Lapang

Untuk mengetahui apakah ada hubungan antara parameter kimia dan biologi, digunakan uji korelasi person α = 0,05. Pada media air sumur menunjukkan bahwa Nitrat (NO3) berkorelasi tinggi terhadap plankton dominan (*Mesocyclops aspericornis*) (r = 0,7 – 1,0), artinya NO3 sangat mempengaruhi populasi *M. aspericornis* (Tabel 2). Hal ini diduga bahwa NO3 merupakan komponen penting untuk menunjang kehidupan zooplankton ini. Nitrat (NO3) merupakan nutrien utama bagi pertumbuhan algae dan plankton, senyawa ini mudah larut dalam air dan bersifat stabil (Effendi, 2000).

Kemudian DO dan pH berkorelasi erat terhadap kepadatan larva nyamuk (r < 0,7) artinya DO dan pH mempengaruhi kepadatan larva *Ae. Aegypti.* Kandungan Oksigen terlarut (DO) sangat diperlukan oleh semua organisme yang hidup di air untuk respirasi dan sebagian besar dari DO ini adalah hasil fotosintesis fitoplankton dan tumbuhan air, sehingga bila DO rendah dalam waktu singkat organisme yg hidup di dalam nya akan mati (Effendi, 2000). Sedangkan pH merupakan salah satu parameter yang berhubungan

dengan proses respirasi, bila respirasi tinggi maka pH akan tinggi sebaliknya kadar DO akan menurun dan ini yang dapat menyebabkan pertumbuhan organisme di dalamnya dapat terhambat (Mulyanto, 1992).

Tabel 3. Korelasi pearson antara parameter biotik dan abiotik pada media air rendaman kangkung

Correlations

		CO2	NO3	DO	Suhu	pH	Mesocyclops	Larva Ae. aegypti	Pupa Ae. aegypti	Nyamuk Ae. aegytpi
CO2	Pearson Correlation	1	-.177	.384	-.849*	-.466	.579	-.293	.412	.406
	Sig. (2-tailed)		.738	.452	.033	.351	.228	.573	.417	.424
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
NO3	Pearson Correlation	-.177	1	-.496	.173	-.504	-.077	.864*	-.265	.789
	Sig. (2-tailed)	.738		.317	.742	.308	.885	.026	.612	.062
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
DO	Pearson Correlation	.384	-.496	1	-.215	.569	.198	-.606	.180	-.080
	Sig. (2-tailed)	.452	.317		.683	.238	.706	.202	.733	.881
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Suhu	Pearson Correlation	-.849*	.173	-.215	1	.549	-.894*	.017	-.167	-.381
	Sig. (2-tailed)	.033	.742	.683		.260	.016	.975	.752	.456
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
pH	Pearson Correlation	-.466	-.504	.569	.549	1	-.457	-.537	-.229	-.607
	Sig. (2-tailed)	.351	.308	.238	.260		.363	.272	.663	.201
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Mesocyclops	Pearson Correlation	.579	-.077	.198	-.894*	-.457	1	.222	.080	.365
	Sig. (2-tailed)	.228	.885	.706	.016	.363		.673	.880	.476
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Larva Ae. aegypti	Pearson Correlation	-.293	.864*	-.606	.017	-.537	.222	1	-.389	.640
	Sig. (2-tailed)	.573	.026	.202	.975	.272	.673		.446	.171
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Pupa Ae. aegypti	Pearson Correlation	.412	-.265	.180	-.167	-.229	.080	-.389	1	-.164
	Sig. (2-tailed)	.417	.612	.733	.752	.663	.880	.446		.756
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Nyamuk Ae. aegytpi	Pearson Correlation	.406	.789	-.080	-.381	-.607	.365	.640	-.164	1
	Sig. (2-tailed)	.424	.062	.881	.456	.201	.476	.171	.756	
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Keterangan:
R = 0,7 – 1,0 = korelasi tinggi
R = 0,4 – 0,7 = korelasi erat
R = 0,2 – 0,4 = korelasi rendah
R = 0 – 0,2 = korelasi diabaikan (Sulaiman,2003).

Ada korelasi tinggi Antara CO2 dan suhu (r > 0,7) artinya bila suhu meningkat, maka proses dekomposisi akan meningkat, pemakaian oksigen menjadi dua kali lipat dan CO2 di perairan tinggi (Novonty and Olem, 1998; Effendi, 2000). Suhu juga mempunyai korelasi erat (r < 0,7) terhadap semua parameter biotik (Tabel 2) artinya perubahan suhu dapat berpengaruh terhadap jumlah biota yang ada di dalamnya. Michael (1994) menyatakan bahwa bila suhu perairan meningkat maka metabolisme juga akan meningkat dan kadar oksigen akan menurun karena proses dekomposisi meningkat, kondisi ini sangat mengganggu pertumbuhan organisme yang hidup diperairan tersebut.

Hasil analisis korelasi pearson α = 0,05 pada media air kangkung menunjukkan bahwa suhu dan pH berkorelasi tinggi terhadap *M. Aspericornis* (r > 0,7) artinya suhu dan pH sangat mempengaruhi populasi *M. Aspericornis* (Tabel 3) Pengaruh tersebut menggambarkan bahwa semakin tinggi suhu suatu perairan , kelarutan oksigen semakin rendah, kadar CO2 bebas tinggi yg menyebabkan pH tinggi, sehingga akan mengganggu aktivitas organisme yang hidup di dalamnya (Michael,1994; Effendi,2000). Demikian pula dengan Nitrat (NO3) dan suhu berkorelasi tinggi terhadap kepadatan larva *Ae aegypti* (r > 0,7), artinya NO3 dan suhu sangat berpengaruh terhadap kepadatan larva tersebut. Kondisi ini diduga berkaitan dengan fungsi NO3 dalam kehidupan hewan-hewan air. Dugaan ini berdasarkan pendapat Effendi (2000) bahwa Nitrat merupakan sumber nitrogen bagi tumbuhan yang selanjutnya dikonversi menjadi protein yang dibutuhkan

oleh tubuh organisme perairan. Selanjutnya DO dan pH berkorelasi erat terhadap kepadatan larva *Ae aegypti* (r < 0,7) artinya DO dan pH mempengaruhi kepadatan larva *Ae aegypti*. Hal ini berkaitan dengan aktivitas organisme perairan yang melakukan metabolisme, bila katabolismenya tinggi maka DO menurun dan CO2 bebas meningkat, sehingga pH perairan juga meningkat (Mulyanto, 1992).

KESIMPULAN

Dari hasil dan pembahasan dari penelitian pada skala semi lapang ini disimpulkan bahwa:

1. Species plankton yang ditemukan pada media uji yaitu air sumur sebanyak 38 species dan rendaman kangkung pada skala uji semi lapang sebanyak 46 species
2. Total rata- rata kemelimpahan plankton pada media air sumur sebesar 3,557 X 10^5 ekor/liter dan pada media air kangkung sebesar 3,946 X 10_5 ekor/liter.
3. Kadar Oksigen terlarut (DO) dan pH berkorelasi erat terhadap kepadatan larva nyamuk
4. Nitrat (NO3) dan suhu berkorelasi tinggi terhadap kepadatan larva *Ae aegypti*

DAFTAR PUSTAKA

Depkes RI, 2007. Inside (Inspirasi dan Ide Litbangkes P2B2) vol. 2 : Nyamuk vampir mini yang mematikan. BPPKes. Loka Litbang P2B2. Ciamis. 95 hal.

Effendi, H.,2000. Telaah Kualitas Air. Bagi Pengelola Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. IPB Bogor. 241 hal.

Fishbase, 2004.Species profile *Gambusia affinis Mosquito Fish*. Invasive Specialist Group (ISSG).

Hiswani. 2004. Gambaran Penyakit dan Vektor Malaria di Indonesia. Fakultas Kesehatan Masyarakat Univ. Sumatra Utara.

Kireina,Y. 2009. Demam berdarah. Dalam http:/hikariyuli.blogspot.com /2009/aedes-aegypti.html. 3 januari 2010.

Khoiriyah, N. 2004. Distribusi Horizontal Keanekaragaman dan Kemelimpahan Plankton pada Sungai Cibanten di Sekitar Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Serang Propinsi Banten. Skripisi Mahasiswa. Jurusan Biologi. FMIPA. UNILA. Bandar Lampung

Michael, P. 1994. Metode Ekologi untuk Penyelidikan Lapangan dan Laboratorium. Diterjemahkan oleh Yanti R.K. Indonesia University Press. Jakarta.

Mulyanto, 1992. Lingkungan hidup untuk ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Jakarta.

Setyaningrum, E., F.X. Susilo, S. Murwani, 2008. Pemanfaatan Mesocyclops sp (Copepoda) Sebagai Agens Hayati Untuk Mengendalikan Vektor Penyakit Demam Berdarah dan malaria di Lampung. Penelitian Hibah Bersaing tahun ke II. Universitas Lampung.

Sulaiman, W.2003. Statistik non-Parametrik: Contoh kasus dan pemecahannya dengan SPSS. Andi Yogyakarta.

WHO, 2006. Demam Berdarah Dengue, Diagnosis, Pengobatan, Pencegahan, dan Pengendalian. Penerbit buku Kedokteran. Jakarta. 90 hal.

Yanti, F., 2009. Uji Predasi *Mesocyclops aspericornis* terhadap Larva *Aedes aegypti*Skala Laboratorium. Skripisi Mahasiswa. Jurusan Biologi. FMIPA. UNILA. Bandar Lampung.

Yumiarti R.A, 2001. Biologi *Mesocyclops aspericornis* Stasiun Penelitian VektorPenyakit, Salatiga. http://www.tempo.co.id/medika/arsip/062001/sek-2.htm

ANALISIS SUSTAINABILITAS LAHAN UNTUK PRODUKSI KASSAVA *(MANIHOT ESCULENTA CRANTZ)* DENGAN SISTEM PEMUPUKAN BERIMBANG DAN DAMPAKNYA TERHADAP PENDAPATAN USAHA TANI PETANI DI KECAMATAN SEPUTIH AGUNG KABUPATEN LAMPUNG TENGAH

Sabirin

ABSTRAK

Kassava (*Manihot esculenta Crantz)* merupakan tanaman pangan di daerah tropis, dikenal sebagai tanaman yang rakus dalam menyerap unsur hara. Pemberian pupuk kimia saja tanpa dicampur dengan pupuk organik *(animal manure* dan *green manure*) secara terus menerus di lahan produksi telah menyebabkan tanah menjadi keras (*surface crust*). Kondisi ini menyulitkan infiltrasi air ke dalam tanah, meningkatkan erosi (*runoff*) yang berujung menurunkan produktivitas kassava. Dalam rangka pembangunan pertanian yang berkelajutan *(sustainable agriculture development)*, maka penelitian ini bertujuan (1) mengetahui pengaruh penerapan teknologi budidaya kassava dengan sistem pemupukan berimbang terhadap produksi kassava di kecamatan Seputih Agung, (2) menganalisis sustainabilitas tanah untuk produksi kassava dengan sistem pemupukan berimbang dan hubungannya dengan daya dukung N,P,K,C,dan pH serta jumlah spesies arthrophoda, dan (3) menganalisis dampak dari penerapan teknologi sistem pemupukan berimbang terhadap pendapatan petani.

Penelitian ini dilaksanakan di 5 desa. Analisa kimia tanah di Laboratorium Tanah Jurusan Ilmu Tanah Universitas Lampung. Teknik sampling yang dipilih *simple cluster sampling* terdiri dari 62 responden yang menggunakan pemupukan berimbang dan 27 responden yang tidak menerapkan pemupukan berimbang. Setiap desa diambil 1 sampel tanah yang menerapkan pemupukan berimbang dan 1 sampel tanah yang tidak menerapkan pemupukan berimbang. Sampel arthrophoda diambil setiap hari selama 3 hari berturut-turut menggunakan metode *Pitfall Trap* dengan tiga transek di masing–masing lokasi. Data dianalisis dengan MSExcell dan SPSS 16, pengujian hipotesis dilakukan dengan uji T.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) Ada perbedaan yang nyata rata- rata produktivitas kassava di lahan pemupukan berimbang dengan pemupukan tidak berimbang. Produktivitas rata-rata di lahan pemupukan berimbang 20.800 kg/ha sedangkan produktivitas rata-rata di lahan pemupukan tidak berimbang 17.400 kg/ha , (2) Ada perbedaan yang nyata daya dukung C organik, K dan jumlah arthrophoda di lahan pemupukan berimbang lebih tinggi dibandingkan di lahan pemupukan tidak berimbang, sedangkan daya dukung N, P dan pH tidak ada perbedaan yang nyata, (3) dan pendapatan usaha tani pemupukan berimbang Rp.18.700.000,00/ha lebih tinggi dibandingkan dengan usaha tani pemupukan tidak berimbang Rp.15.700.000,00/ha pada harga kassava Rp.900,00/kg.

Kata kunci: berkelanjutan, pemupukan berimbang, produktivitas kassava

PENDAHULUAN

Kassava *(Manihot esculenta Crantz)* merupakan tanaman pangan di daerah tropis yang dapat memberikan hasil tinggi walaupun tumbuh pada lahan yang kurang subur ataupun lahan dengan curah hujan rendah. Kassava banyak dihasilkan di Lampung, Bogor, Pati, Wonogiri dan Jepara. Di Indonesia tanaman kassava merupakan tanaman pangan pokok setelah padi dan jagung (Hafsah,2003). Kassava juga dapat dipergunakan sebagai bahan baku industri dan bahan makanan ternak, bagi petani seringkali dijadikan lumbung pangan yang disimpan di bawah tanah. Bahkan apabila terjadi kegagalan panen pada komoditas padi dan jagung akibat kemarau panjang atau musim paceklik maka peranan kassava sangat membantu di dalam mengatasi kondisi tersebut.

Dalam rangka memenuhi kebutuhan industri olahan yang semakin tumbuh dan berkembang perlu diiringi dengan penyediaan bahan baku yang berkelanjutan. Hal ini penting artinya agar industri olahan dapat berproduksi sesuai kapasitasnya dan menghindari industri yang telah tumbuh tersebut tidak menjadi terbengkalai yang pada akhirnya tidak berfungsi.

Akan tetapi kassava dikenal sebagai tanaman yang rakus dalam menyerap unsur hara. Hasil percobaan membuktikan bahwa penanaman kassava selama beberapa tahun terus-menerus tanpa pemupukan menyebabkan penurunan produksi umbi segar (Chumpol dkk,2002). Penelitian Chairoj dkk (2002) penanaman kassava tanpa pemupukan terjadi penurunan produktivitas dari 27 t/ha pada tahun pertama menjadi hanya 8 t/ha dan 3 t/ha setelah 12 dan 25 tahun penanaman secara terus-menerus. Penelitian Hairiah (2000) pada musim pertama setelah pembukaan hutan, produksi umbi mencapai 40 ton/ha, dan pada tahun ketiga turun menjadi 30 ton/ha (*monokultur*) dan 20 ton/ha (*tumpangsari*). Setelah lahan diberakan dan ditumbuhi alang-alang selama 4-5 tahun, kemudian dibuka kembali dan ditanami kassava pada tahun ke delapan, ternyata produksi umbi yang diperoleh bahkan lebih rendah dibandingkan dengan produksi yang diperoleh pada tahun ke tiga (Hairiah,2000). Pemberian pupuk kimia selalu bertambah setiap tahunnya agar produktivitas meningkat, akan tetapi dapat menyebabkan tanah menjadi keras (*surface crust*) (Duangpatra,1983). Kondisi ini menyulitkan infiltrasi air ke dalam tanah, meningkatkan erosi (*run off*) yang berujung menurunkan produktivitas kassava. Kajian runut waktu terhadap data produktivitas kassava di propinsi Lampung dari tahun 2000 sampai 2009 dapat memberikan gambaran riil tentang tingkat pencapaian produktivitas yang berjalan lambat yaitu 1,15 % per tahun. Pada tahun 2008 tercatat produktivitas ubikayu 24,21 ton/ha dan pada tahun 2009 baru mencapai 24,49 ton/ha. Produktivitas potensial tertinggi kassava adalah 30,4 ton/ha (Suwarto,2009).

Antara produksi potensial tertinggi dengan produksi riil tahun 2009 terdapat selisih 19,4%. Ini berarti terdapat peluang untuk meningkatkan produksi riil. Untuk meningkatkan produksi riil terdapat berbagai faktor yang terkait dengan penerapan teknologi budidaya di tingkat petani. Diantaranya persiapan lahan, penggunaan bibit, pengendalian gulma, pengendalian hama penyakit, pemupukan, dan penentuan panen merupakan komponen penerapan teknologi budidaya yang menentukan tingkat produktivitas dan produksi riil yang akan dicapai.

Dalam penelitian ini komponen teknologi budidaya kassava yang diamati adalah sistem pemupukan yang dapat meningkatkan produktivitas dan menjamin ketersediaan unsur hara secara berkelanjutan. Penerapan teknologi sistem pemupukan budidaya kassava di Lampung terlihat sangat beragam, antar wilayah maupun antar petani dalam satu wilayah sehingga produktivitasnya pun beragam (suwarto,2009).

Produktivitas kassava yang *sustainable* memerlukan masukan yang cukup. Kecukupan hara diperlukan oleh tanaman untuk dapat tumbuh secara baik dan mempunyai produktivitas tinggi. Pada tanah yang kekurangan hara perlu ditambahkan hara melalui pemupukan. Jenis dan dosis pupuk yang diberikan haruslah disesuaikan dengan tingkat ketersediaan hara yang telah ada di dalam tanah dan kebutuhan tanaman. Kelemahan sumber daya lahan yang telah teridentifikasi di daerah sentra produksi kassava umumnya berkadar bahan organik sangat rendah sampai sedang, demikian juga untuk hara makro N,P dan K. Komponen teknologi yang diperlukan untuk mengatasi kelemahan tersebut adalah sistem pemupukan berimbang. Pemupukan yang dimaksud adalah pemupukan berimbang spesifik lokasi yaitu: pemupukan dengan memberikan pupuk anorganik atau pupuk buatan dan pupuk organik atau pupuk kompos secara berimbang, termasuk pula jenis unsur dan dosisnya sesuai dengan kondisi kesuburan tanah dan kebutuhan tanaman (Supadma, 2009). Pada penelitian ini didefinisikan pupuk berimbang adalah pencampuran pemakaian pupuk anorganik atau pupuk buatan dengan pupuk organik atau pupuk kompos tanpa melihat komposisinya.

Oleh karena itu, penelitian untuk memperoleh paket teknologi pemupukan secara berimbang spesifik lokasi menjadi suatu keharusan untuk dilakukan agar produktivitas kassava dapat mendekati produktivitas potensialnya. Akan tetapi informasi tentang sistem pemupukan berimbang pada tanaman kassava yang *sustainable* pada wilayah kecamatan Seputih Agung ini belum dilaporkan secara baik, sehingga inilah yang melatarbelakangi dilaksanakannya penelitian ini.

METODE PENELITIAN

Waktu pelaksanaan penelitian ini pada bulan Juli hingga September 2010, di daerah sentra produksi kassava di Kecamatan Seputih Agung, Kabupaten Lampung Tengah. Pemilihan Kecamatan Seputih Agung sebagai lokasi penelitian ini karena Kecamatan ini memiliki 5 Desa sebagai sentra budidaya kassava dari 9 desa yang masuk wilayah ini. Wawancara dilakukan secara langsung dengan 10 responden di Desa Sulusuban, 18 responden di Desa Fajar Asri, 15 responden di Desa Dono Arum, 10 responden di Desa Gayau Sakti dan 9 responden di Desa Muji Rahayu yang menggunakan pemupukan berimbang dan wawancara secara langsung dengan responden yang tidak menggunakan pupuk berimbang di Desa Sulusuban 10 responden, di Desa Fajar Asri 1 responden, di Desa Dono Arum 9 responden, di Desa Gayau Sakti 5 responden dan di Desa Muji Rahayu 2 responden. Total responden seluruhnya 89 petani kassava. Teknik sampling yang dipilih adalah *simple cluster sampling*. Pemilihan teknik sampling ini karena (1) biaya penelitian terbatas, (2) populasi dapat dikelompokkan menurut cluster-cluster. Kelebihan teknik sampling ini: (1) list populasi *(sampling frame)* tidak diperlukan, (2) biaya untuk membuat list berkurang, (3) biaya transport lebih murah, (4) lebih murah dibandingkan dengan *stratified* atau *simple random sampling*.

Untuk mengetahui pengaruh penambahan bahan organik terhadap daya dukung tanah, penelitian ini juga menganalisis kimia tanah dan jumlah arthrophoda tanah. Analisis kimia tanah, seperti N, P tersedia, K, C organik dan pH , dilakukan setelah panen atau sebelum tanam. Contoh tanah diambil dari lima titik secara diagonal di sepuluh lokas, masing-masing 5 lokasi pemupukan berimbang dan lima lokasi pemupukan tidak berimbang. Contoh tanah kemudian dijadikan satu dan dikeringkan kemudian diayak dengan saringan 50 mesh selanjutnya N, P tersedia, C, dan pH dianalisa di Laboratorium Ilmu Tanah F. Pertanian Unila dan analisis K di Laboratorium Kimia FMIPA dan Matematika Unila. Sampel arthrophoda diambil setiap hari selama 3 hari berturut-turut di setiap desa dengan menggunakan metode *Pitfall Trap* dengan tiga transek di sepuluh lokasi. Transek diatur dengan satu garis sepanjang 10 m, dengan jarak antar transek

minimal 5 m. Transek tersebut digunakan untuk meletakkan perangkap. *Pifall trap* yang digunakan adalah ember plastik kecil dengan diameter atas 13 cm dan tinggi 15 cm. Masing-masing transek terdiri dari 3 ember, ulangan dilakukan secara blok sebanyak 3 kali. Pemasangan ember jebak dan pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari pukul 07.00- 09.00 WIB. Ember diisi dengan 200 ml ditambah 1 % diterjen. Di atas ember plastik diletakkan plastik ukuran 20 x 20 cm setinggi 15 cm untuk mencegah air hujan masuk ke dalam ember. Sampel Arthrophoda diambil setiap 24 jam selama 3 hari. Sampel kemudian dipindahkan ke dalam kantong plastik yang berisi larutan alkohol 70%, selanjutnya diidentifikasi dan dihitung jumlah individu masing-masing famili.

Analisis data dilakukan terhadap keragaan agronomis yaitu komponen hasil, dan daya dukung dengan uji statistik menggunakan program excell dan SPSS® versi 16, hasil uji t dianggap berbeda nyata pada Sig.< 0,05. Keanekaragaman dihitung dengan indeks Shannon Wiener .Untuk mengetahui aspek ekonomi dilakukan analisis usaha tani.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produktivitas kassava dan Daya Dukung

Hasil penelitian di Kecamatan Seputih Agung menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada produktivitas kassava di lahan produksi kassava yang menggunakan pemupukan berimbang dibandingkan dengan lahan produksi kassava yang tidak menerapkan pemupukan berimbang (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji selisih rata-rata (T-test) antara Produktivitas kassava di lahan pemupukan berimbang dan pemupukan tidak berimbang

Produktivitas	N	Rata-rata kg/ha	t-test for Equality of Means		
			T	df	Sig.(2-tailed)
Pemupukan berimbang	62	20.800	2.270	87	.026*
Pemupukan tdk berimbang	27	17.400	2.277	49.888	.027*

Keterangan: * Sig. (2-tailed)<0.05, Ho ditolak, Ha diterima.

Tabel 2. Hasil uji selisih rata-rata (T-test) antara Kandungan kimia tanah dan arthrophoda di lahan pemupukan berimbang dan pemupukan tidak berimbang

Jenis Pemupukan		N	Mean %.ppm	t-test for Equality of Means				
				F	Sig	t	df	Sig.(2-tailed
Nitrogen (%)	tidak berimbang	5	.1720	1.333	.282	-.787	8	.454
	berimbang	5	.1960			-.787	7.144	.457
P tersedia (ppm)	Tidak berimbang	5	12.9700	.274	.615	-1.841	8	.103
	berimbang	5	20.1700			-1.841	7.802	.104
C organik (%)	tidak berimbang	5	.3492	8.242	.021*	-7.731	8	.000
	berimbang	5	1.5960			-7.731	4.655	.001
Kalium (%)	tidak berimbang	5	.34920	5.488	.047	1.078	8	.312

pH	berimbang	5	.30100			1.078	4.076	.341
	tidak berimbang	5	4.2260	.631	.450	.436	8	.675
Arthro-phoda	berimbang	5	4.1600			.436	6.520	.677
	tidak berimbang	5	23.40	16.708	.003*	-1.438	8	.188
	berimbang	5	49.00	13		-1.438	5.029	.210

Keterangan: *sig.<0.05, Ho ditolak, Ha diterima

Bahan organik berfungsi sebagai pengikat butiran primer tanah menjadi butiran sekunder dalam pembentukan agregat yang mantap. Keadaan ini berpengaruh besar pada porositas, penyimpanan dan penyediaan air serta aerasi dan temperatur tanah.

Adanya perbedaan yang nyata kandungan kimia tanah C organik dan jumlah arthrophoda di lahan pemupukan berimbang dibandingkan dengan lahan yang tidak menerapkan pemupukan berimbang. Dari analisis kimia tanah N, P, K, dan pH tidak ada perbedaan yang nyata antara keduanya. Pupuk organik atau bahan organik memiliki sumber C organik tanah berperan cukup besar dalam memperbaiki sifat fisik, kimia, dan biologis tanah serta lingkungan. Di dalam tanah, pupuk organik akan dirombak oleh organisme menjadi humus atau bahan organik tanah, akan tetapi belum mampu meningkatkan kandungan N, P, K, dan pH secara signifikan. Kondisi tanah di Kecamatan Seputih Agung tergolong asam dengan pH rata-rata 4 (Tabel 2).

Tabel 3. Jenis dan Jumlah pemakaian rata-rata bahan organik

Jenis Bahan Organik	Frequency	Percent	Avrg.Rate kg/ha
Kotoran Ayam	50	80,6	2.810
Kotoran Sapi	24	37,1	3.500
Kotoran Kambing	8	12,9	426
Petroganik	8	14,5	80

Fungsi biologis bahan organik adalah sebagai sumber energi dan makanan mikroorganisme tanah, sehingga dapat meningkatkan aktivitas mikroorganisme tanah dan arthrophoda tanah yang sangat bermanfaat dalam penyediaan hara tanaman. Dengan demikian pemberian pupuk organik dapat meningkatkan produktivitas kassava.
Penggunaan pupuk organik dapat mengurangi pencemaran lingkungan karena bahan-bahan organik tersebut tidak dibuang sembarangan yang dapat mengotori lingkungan terutama badan perairan umum. Penggunaan bahan organik sebagai pupuk merupakan upaya penciptaan siklus unsur hara yang sangat bermanfaat dalam mengoptimalkan pemakaian sumberdaya alam yang berkelanjutan (*sustainability*). Bahan organik juga dapat mengurangi unsur hara yang bersifat racun bagi tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesifik lokasi lahan pertanian produksi kassava di Kecamatan Seputih Agung, mempunyai kandungan bahan C organik tanah yang rendah (<2%). Pengalaman petani kassava menggunakan pupuk organik dimulai sejak 5 tahun terakhir, setelah tanah mereka menjadi keras (*surface crust*) akibat pemakaian pupuk kimia saja terus menerus tanpa dicampur dengan pupuk/bahan organik . Akibat dari *surface crust* terjadinya *runoff* pada *top soil*, pada akhirnya tanah menjadi turun kesuburannya. Laju penambahan bahan organik mulai dari 800 kg/ha dengan produktivitas kassava 14.50 kg/ha, sedangakan laju penambahan bahan organik tertinggi 10.000 kg/ha dengan produktivitas kassava 34.000 kg/ha. Jenis bahan organik yang digunakan petani adalah kotoran ayam, kotoran sapi, kotoran kambing, dan petroganik (Tabel 3).

Tabel 4. Komunitas Arthrophoda Tanah di Kebun Kassava Kecamatan Seputih Agung

No	Spesies pada lahan pemupukan berimbang	Jml	Spesies pada lahan pemupukan tidak berimbang	Jml
1	Dissotura sp. (Belalang)	9	Dissotura sp. (Belalang)	8
2	Gryllus sp (Jangkrik)	54	Gryllus sp (Jangkrik)	29
3	Monomorium sp. (semut hitam)	26	Monomorium sp. (semut hitam)	36
4	Agropidae sp. (laba-laba)	26	Agropidae sp. (laba-laba)	18
5	Diplopoda (ulat kaki seribu)	5	Bubekia fallax (semut merah)	18
6	Columbicola columbae (kutu tanah)	44	Diplopoda (ulat kaki seribu)	3
7	Blattella sahinai (kecoa tanah)	12	Jenis componotus (semut besar)	2
8	collembola (serangga tanah)	66	Tachindae (lalat tanah)	2
9	Tachindae (lalat tanah)	3		
	TOTAL	245		116

Kelimpahan arthrophoda permukaan tanah yang didapat selama kurun waktu pengamatan di kebun kassava pada masing-masing lokasi dalam 30 jebakan adalah 245 individu pada sistem pertanian pemupukan berimbang dan 116 individu pada sistem pemupukan tidak berimbang. Keberadaan serasah, tanah yang remah dan terjaga kelembabannya memungkinkan keberadaan dari ordo Collembola yang melimpah (Tabel 4). Menurut Borror *et al*. (1992) Collembola ditemukan melimpah di tanah yang banyak mengandung bahan organik, serasah, di bawah kulit kayu, kayu yang membusuk dan jamur dan bersama mikroorganisme mati atau feses dari organisme lain.

Diversitas fauna tanah yang didapat berdasarkan *Indeks Shanon Wiener* pada sistem pertanian pemupukan berimbang lebih tinggi (H= 1,874) daripada pertanian pemupukan tidak berimbang (H= 1,695). Hal ini menunjukkan bahwa dengan sistem pertanian pemupukan berimbang maka tingkat kesuburan tanah di kebun kassava menjadi lebih baik dibandingkan dengan sistem pemupukan tidak berimbang, hal ini sesuai dengan hasil perhitungan pada gambar 3. Menurut Begon *et al.* (1986) dalam Gama (2008), tingkat nilai diversitas berdasarkan *Indeks Shanon Wiener*(Tabel 5).

Tabel 5. Nilai Diversitas berdasarkan *Indeks Shanon Wiener*

Grade	Tingkat Dekomposisi	Tingkat Kesuburan
> 3	Tinggi	Baik
1 – 3	Sedang	Sedang
< 1	Rendah	Rendah

Analisis Usaha Tani

Penerapan pemupukan berimbang dengan mencampur pupuk organik dengan pupuk kimia menunjukkan ada perbedaan yang nyata dibandingkan dengan pemupukan tidak berimbang. Pendapatan petani kassava menjadi Rp.18.700.000,00/ha dengan menggunakan pemupukan berimbang dibandingkan dengan tidak berimbang Rp.15.700.000,00/ha (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil uji selisih rata-rata (T-test) antara pendapatan dari produksi kassava di lahan pemupukan berimbang dan pemupukan tidak berimbang

Pendapatan	N	Income Rata-rata (Rp/ha)[#]	t-test for Equality of Means		
			T	df	Sig.(2-tailed)
Pemupukan berimbang	62	18.700.000,00	2.269	87	.026*
Pemupukan tdk berimbang	27	15.700.000,00	2.273	49.797	.027*

Keterangan: *Sig.<0.05, Ho ditolak. Ada perbedaan yang nyata.
[#]Harga kassava Rp.900,00/kg.

Alasan petani kassava tidak menggunakan pemupukan berimbang adalah (1) Tidak ada modal untuk membeli pupuk organik, (2) lokasi kebun yang jauh, (3) ketersediaan pupuk organik.

Pupuk organik bersifat *bulky* dengan kandungan hara makro dan mikro rendah (Diah, 2005), sehingga perlu diberikan dalam jumlah banyak, biaya pengangkutan menjadikan harga pupuk organik menjadi tinggi. Harga pupuk organik dari kotoran ayam dan kambing Rp.400,00/kg, dari kotoran sapi Rp.500,00/kg dan petroganik Rp.2.000,00/kg.
Dari hasil penelitian penggunaan pemupukan berimbang di Kecamatan Seputih Agung menunjukkan bahwa penggunaan pupuk organik yang dicampur dengan pupuk kimia memberi keuntungan sebesar Rp.3.000.000,00/ha dibanding tanpa penggunaan pupuk organik, dengan peningkatan produksi sampai 3.400 kg/ha.

KESIMPULAN

1. Penerapan sistem pemupukan berimbang, pencampuran pupuk organik dengan pupuk kimia di lahan produksi kassava di Desa Sulusuban, Fajar Asri, Dono Arum, Gayau Sakti dan Muji Rahayu di Kecamatan Seputih Agung dapat meningkatkan produktivitas kassava rata-rata menjadi 20.800 kg/ha, dibandingkan produktivitas kassava rata-rata di lahan pemupukan tidak berimbang 17.400 kg/ha.
2. Kandungan C organik tanah dan individu arthrophoda tanah pada penerapan sistem pemupukan berimbang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Sedangkan kandungan N, P, K dan pH tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. . Berdasarkan nilai diversitas *Indeks Shannon –Winner*, tingkat kesuburan lahan di lahan pemupukan berimbang lebih tinggi dibandingkan dengan di lahan pemupukan tidak berimbang.
3. Dari hasil analisis usaha tani, pendapatan petani kassava yang menerapkan pemupukan berimbang lebih tinggi Rp.3.000.000,00/ha dibandingkan dengan pemupukan yang tidak berimbang.

DAFTAR PUSTAKA

Borror, D.J., A. Triplehorn dan N. F. Johnson. 1992. Pengenalan Pelajaran Serangga. Edisi keenam. Terjemahan S. Partosoedjono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 12-100.

Chumpol, N. Dkk. 2002. Cassava Long-Term Fertility Experiments in Thailand. Proceedings of the Seventh Regional Workshop held in Bangkok, Thailand.

Chairoj, W, dkk. 2020. Soil Fertility Improvement Through Manures and Cropping Systems and The Effect on Cassava Production in Thailand. Proceedings of the Seventh Regional Workshop held in Bangkok, Thailand.

Diah,S. 2005. Journal: Warta dan Pengembangan Pertanian Vo.27, No.6, 2005.

Duangpatra, P. 1983. Characteristic and Potential Productivities of Some Major Cassava Soil in Thailand. Department of Soils Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Thailand.

Gama, Zulfaidah Penata; Amin Setyo Leksono**.**2008. Pengaruh Intensifikasi Pertanian Di Kebun Apel Terhadap komunitas Arthropoda Tanah Di Bumiaji, Kota batu, Malang, Jawa Timur. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

Hafsah, M. J. 2003. Bisnis Ubi kayu Indonesia. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta

Hairiah, K. 2000. Sistem Agroforestri: Tawaran untuk pemecahan masalah.

Howeler,H. 1981. Mineral Nutrition and Fertilization of Cassava. Cali, Colombia, Centro International de Agricultural Tropical. 52 p.

Muhajir, U. 2005. Pengelolaan Lahan Kering Untuk Pertanian Berkelanjutan Unila, Lampung.

Muhajir, U. 1993. Pengaruh Sistem Olah Tanah dan Pemberian Zeolit Terhadap pencucian Kalium Pada Tanah Ultisol. Prosiding Semnas IV Budidaya Pertanian Olah tanah Konservasi. Bandar lampung.

Pankhurts, C.E. 1994. Biological Indicator of Soil Health and Sustainable Productivity. Dalam J. Greenland and I. Szabolcs (Eds). Soil Resilience and sustainable Land Use. CAB International . New York. Page : 331 – 347.

Reijnts, Coen. 1999. Pertanian Masa depan.Kanisius, Yogyakarta. Susilo, F.X & A. Karyanto, (ed). 2005. Methods for assessment of below-ground biodiversity in Indonesia. Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Supadma , A. A. N., Dibia, Ngurah Bagus. 2009. Sosialisasi dan Aplikasi Teknologi Pemupukan Berimbang Spesifik Lokasi untuk meningkatkan Mutu hasil Tanaman kakao Di Kecamatan Selemadeg Tabanan.

Suwarto. 2009. Peningkatan produktivitas Cassava: Analisis kesenjangan produksi potensial dengan produksi riil. Loka Karya Nasional, Balai kartini, Jakarta.

Widiastuti, M. 2009. Judul skripsi: Penyebab kemiskinan rumah tangga petani ubi kayu di kampung Komering Putih, kecamatan Gunung Sugih, Kabupaten Lampung Tengah. Fakultas Pertanian Unila.

PERILAKU PASIEN TUBERKULOSIS DALAM MENCARI PENGOBATAN UNTUK MENDUKUNG KEBERHASILAN PROGRAM TUBERKULOSIS DI KECAMATAN TANJUNG BINTANG

Nurul Islamy
Bagian Ilmu Kedokteran Komunitas
Persiapan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
nurulislamy@gmail.com

ABSTAK

Latar belakang: Tuberkulosis (TB) Paru merupakan penyakit menular yang masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Propinsi Lampung mulai melaksanakan strategi DOTS sejak tahun 2003 dan CDR propinsi ini hanya 40.6%. Puskesmas Tanjung Bintang mempunyai tenaga kesehatan yang memadai dan tersedia anggaran untuk program TB, namun CDR masih jauh dari target yang diharapkan yaitu 27.8%. Rendahnya CDR diduga terjadi karena perilaku pasien TB dalam mencari pengobatan masih belum memanfaatkan pelayanan kesehatan dengan optimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan perilaku pasien TB dalam mencari pengobatan. Penelitian menggunakan metoda eksploratif dilaksanakan di kecamatan Tanjung Bintang. Pengumpulan data dilakukan dengan wawancara terstruktur menggunakan kuesioner pada 82 responden dari kelompok pasien TB yang teregister di Puskesmas Tanjung Bintang. Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan SPSS versi 15. Hasil menunjukkan bahwa pemanfaatan puskesmas oleh pasien TB sebagai sarana pengobatan masih rendah (30.8%), dan pemanfaatan pelayanan kesehatan luar gedung tinggi yaitu 69,1%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa perilaku pasien TB dalam mencari pengobatan pertama yaitu pada pelayanan kesehatan luar gedung.

Kata kunci: Perilaku mencari pengobatan, Tuberkulosis.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Prevalensi TB menunjukkan peningkatan setiap tahun, dengan perkiraan 8 juta penderita baru dan mortalitas sebesar 3 juta pertahun. Data yang dilaporkan WHO menunjukkan bahwa 95% kasus TB terjadi di negara berkembang dan 75%-80% terjadi pada usia produktif. Indonesia merupakan negara dengan jumlah penderita TB ke-3 terbanyak di dunia setelah Cina dan India (WHO, 2006). Hasil SKRT tahun 2005 menunjukkan bahwa penyakit TB merupakan penyebab kematian utama dari golongan penyakit infeksi (Depkes, 2007).

Propinsi Lampung mulai melaksanakan strategi penanggulangan TB yang dikenal sebagai strategi DOTS (*Directly Observed Treatment Shortcourse*) di 10 kabupaten/kota pada tahun 2003, dan sampai tahun 2007 sudah menjangkau 100% puskesmas. Walaupun tingginya partisipasi puskesmas dalam DOTS, data dari Dinas Kesehatan Propinsi Lampung pada akhir tahun 2008 melaporkan *Case Detection Rate* (CDR) provinsi ini hanya 40.6%, jauh dibawah dari target nasional sebesar 70%. Hal ini menunjukkan bahwa penemuan kasus TB yang rendah menjadi masalah utama dalam Program Pengendalian TB di Propinsi Lampung. Faktor-faktor penyebab dari rendahnya cakupan ini adalah masih rendahnya pengetahuan masyarakat dan petugas kesehatan tentang TB,

tidak tersedia sarana yang mendukung diagnosis dan pengobatan serta belum terlibatnya penyedia pelayanan kesehatan lain selain Puskesmas seperti rumah sakit, balai pengobatan/klinik, dokter praktek swasta, perawat dan bidan praktek swasta dalam mendukung program pelayanan TB (Dinkes Prov, 2007).

Kabupaten Lampung Selatan merupakan kabupaten dengan penduduk terbanyak kedua di Propinsi Lampung dengan jumlah penduduk 1.192.921 jiwa (Puskesmas Tanjung Bintang, 2008). Kecamatan Tanjung Bintang merupakan kecamatan dengan jumlah penduduk terbesar dan memiliki wilayah terluas di kabupaten Lampung Selatan. Pada tahun 2008 dilaporkan bahwa CDR di kabupaten Lampung Selatan sebesar 40.4% dengan cakupan terendah di puskesmas Tanjung Bintang sebesar 27.8%. (Puskesmas Tanjung Bintang, 2008). Puskesmas Tanjung Bintang mempunyai sumber daya manusia (tenaga kesehatan terlatih) yang memadai dan tersedia anggaran untuk program TB, akan tetapi pencapaian CDR masih jauh dari target yang diharapkan. Mengingat jumlah deteksi suspek dan hasil CDR yang rendah, tampak bahwa pemanfaatan sarana pelayanan TB di masyarakat masih rendah. Rendahnya CDR diduga terjadi karena perilaku pasien TB dalam mencari pengobatan masih belum memanfaatkan pelayanan kesehatan dengan optimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan perilaku pasien TB dalam mencari pengobatan.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian dan definisi operasional

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksploratif.
Perilaku mencari pengobatan ; Perilaku masyarakat untuk mencari bantuan oleh karena masalah kesehatan atau penyakit.
Pasien TB : Penderita yang pernah didiagnosis dan terdaftar di Puskesmas sebagai penderita TB yang sedang menjalani pengobatan atau yang telah selesai menjalani pengobatan.

Variabel

Variabel penelitian pada subyek penyedia pelayanan kesehatan luar gedung meliputi:
Karakteristik dasar responden; Kondisi sosio-demografi responden yaitu usia, jenis kelamin, pekerjaan, pendidikan, status sosial ekonomi, suku bangsa, penghasilan, jumlah anggota dalam satu rumah, status tempat tinggal, keadaan rumah dan status tempat tinggal.
Perilaku mencari bantuan pengobatan; Perilaku masyarakat untuk memenuhi keperluan pengobatan di berbagai tingkat kebutuhan termasuk sakit yang dapat diobati sendiri (sakit kepala ringan, batuk pilek) hingga yang memerlukan bantuan puskesmas atau rumah sakit.
Perilaku mencari bantuan untuk sakit batuk lebih dari 3 minggu atau TB; Perilaku masyarakat untuk memenuhi keperluan pengobatan bila sakit batuk lebih dari 3 minggu atau gejala TB.

Pelaksanaan Penelitian

Data diperoleh melalui wawancara terstruktur menggunakan kuesioner. Izin komite etik penelitian diajukan pada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Bandung. Semua responden yang dilibatkan dalam penelitian memperoleh keterangan lengkap mengenai penelitian ini dan dimintakan izinnya untuk bersedia diwawancarai. Semua pasien TB yang terdaftar di Puskesmas Tanjung Bintang tahun 2005-2007 diambil untuk dijadikan sampel dengan Total Sampling.

Pretesting dilakukan di Desa Pancasila Kecamatan Natar Kabupaten Lampung Selatan yang memiliki karakteristik relatif sama dengan Kecamatan Tanjung Bintang. Penentuan subjek dilakukan berdasarkan *Purposive Sampling* dengan mewawancara 7 pasien TB yang terdaftar di puskesmas setempat. Pengumpulan data dilaksanakan dengan wawancara terstruktur menggunakan kuesioner. Hasil dari pretesting yang terbatas digunakan untuk memperbaiki perangkat kuesioner terstruktur yang akan disusun.
Data kuantitatif hasil wawancara terstruktur dianalisis menggunakan SPSS 15.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik penderita TB

Penderita TB yang terlacak sebagian besar berjenis kelamin laki-laki (58,0 %) dan mayoritas berasal dari suku jawa (96,3 %) dengan umur terbanyak berkisar antara 30 – 49 tahun (39,5 %), dan latar belakang pendidikan terbanyak adalah lulusan SD dan lulusan SMP (51,9 %). Umumnya responden bekerja sebagai petani (43,4 %) dengan pendapatan terbanyak berkisar antara Rp. 300.000,- - Rp. 599.000,- (48,1 %).

Sosial ekonomi dihitung berdasarkan pendapatan dan kepemilikan barang berupa mobil, motor, lemari es, televisi, tape recorder, sepeda dan kebun. Berdasarkan hasil perhitungan sosial ekonominya, diperoleh bahwa sebagian besar penderita TB mempunyai tingkat sosial ekonomi menengah, yakni sebesar 72,8 %.
Gambaran karakteristik penderita TB selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Karakteristik Penderita TB Tahun 2005 – 2007 di Kecamatan Tanjung Bintang

Karakteristik		n	%
Sex	laki-Laki	47	58,0
	Perempuan	34	42,0
Etnic	Java	78	96,3
	Others	3	3,7
	Total	81	100,0
Age	< 30 tahun	20	24,7
	30 - 49tahun	32	39,5
	> 49 tahun	29	35,8
Education	TS & TTSD	24	29,6
	Tamat SD & Tamat SMP	42	51,9
	Tamat SMA +	15	18,5
Occupational	Farmer	33	43,4
	Labour	15	19,7
	Housewife	10	13,2
	Private	16	21,1
	Others	2	2,6
Income	< Rp. 300.000,-	25	30,9
	Rp. 300.000,- - Rp. 599.000,-	39	48,1
	> Rp. 600.000,- -	17	21,0
Socio Economic	rendah	19	23,5
	menengah	59	72,8
	tinggi	3	3,7

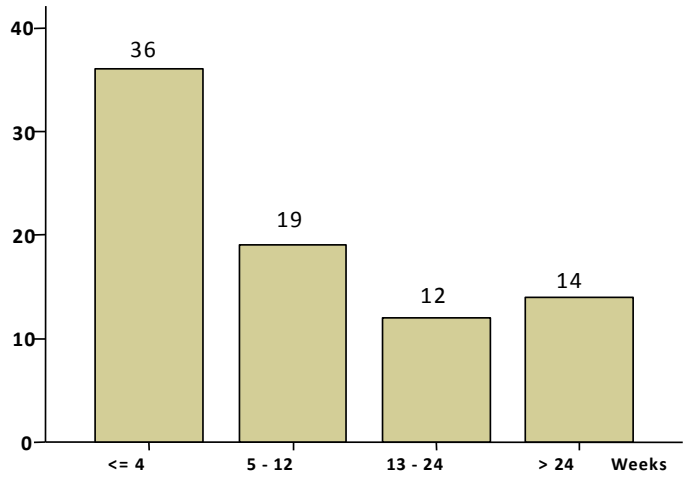
Perilaku pencarian pengobatan Penderita TB

Lama gejala yang diderita penderita TB sebelum mendapatkan pengobatan TB 36 orang penderita TB (44,4 %) mengalami gejala sakit TB selama ≤ 4 minggu sebelum mendapat pengobatan TB di pelayanan kesehatan, sedangkan sisanya mengalami gejala sakit TB dalam waktu yang bervariasi antara 5 minggu hingga lebih dari 24 minggu sebelum mendapatkan pengobatan TB. Informasi selengkapnya dapat terlihat pada gambar 5 berikut.

Tempat pencarian pengobatan

Perilaku pencarian pengobatan dari penderita TB dapat digambarkan dari tempat pengobatan yang didatangi oleh penderita TB pada saat membutuhkan pertolongan pengobatan, baik saat pertama kali membutuhkan pengobatan, kali kedua dan seterusnya, maupun pada kali terakhir pengobatan hingga selesai ataupun berhentinya proses pengobatan yang dijalankannya.

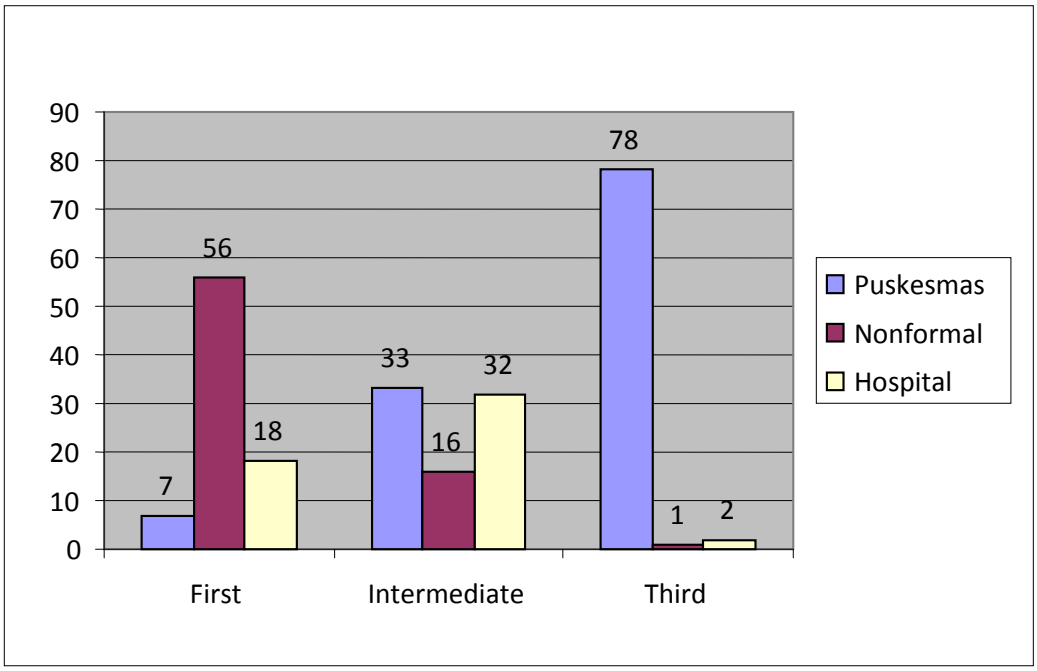
Pada gambar 6 berikut tampak bahwa penderita TB yang memilih Puskesmas sebagai tempat pencarian pengobatannya mengalami peningkatan jumlah, bila dibandingkan antara tempat pengobatan pertama kali, tempat pengobatan antara, dan tempat pengobatan terakhir kali. Hanya sebagian kecil saja (7 orang) yang memilih Puskesmas pada pengobatan pertamakali dan sebagian besar (56 orang) lebih memilih Pelayanan Kesehatan Nonformal (seperti: Pustu, bidan, perawat, dokter, BP, dukun). Sedangkan pada pengobatan antara, penderita TB yang mendatangi Puskesmas meningkat menjadi 33 orang, dan pada pengobatan akhir berjumlah 78 orang.



Gambar 1. Duration of having symptoms after starting TB treatment in puskesmas

Alasan pemilihan tempat berobat

Penderita TBC dalam menentukan tempat berobat, umumnya berdasarkan pertimbangan jarak yang dekat dengan tempat tinggalnya (33,3 %), sedangkan sisanya berdasarkan beberapa pertimbangan lainnya, seperti pelayanan yang baik, pengobatan yang cocok dan lain sebagainya. Informasi selengkapnya dapat terlihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Tempat pencarian pengobatan

Tabel 2. Alasan pemilihan tempat berobat

Alasan	**n**	**%**
Dekat dengan rumah	27	33,3
Pelayanannya baik	13	16,0
Pengobatannya cocok	8	9,9
Penyakitnya tidak sembuh2	23	28,4
Jaminan perusahaan	5	6,2
Saran dari keluarga	5	6,2
Total	81	100

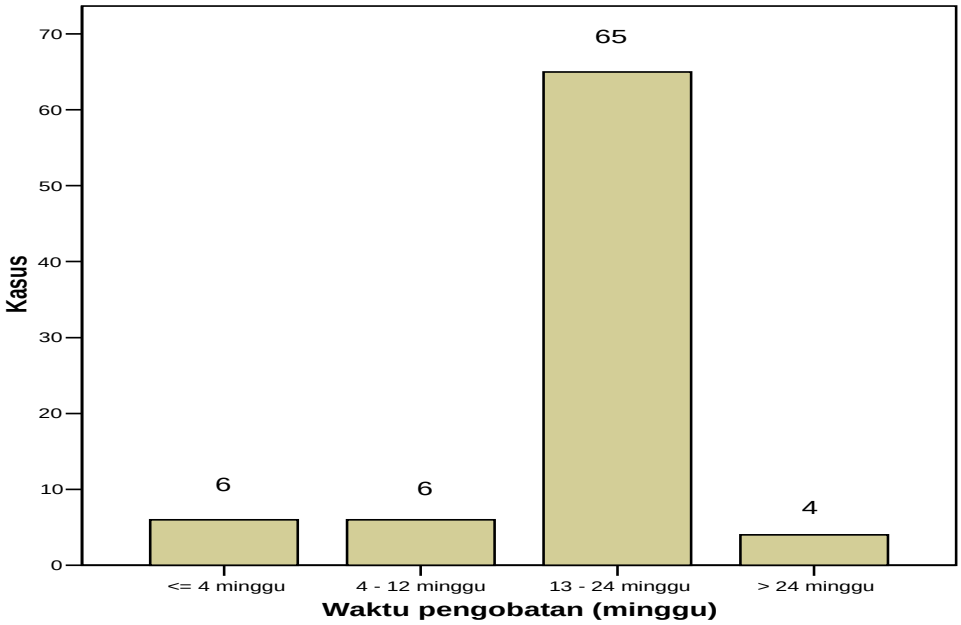
Jarak dengan tempat pengobatan

Waktu tempuh merupakan salah satu pertimbangan penderita TB dalam mencari tempat pengobatan. Sebagian besar penderita TB (51,9 %) menghabiskan waktu antara 10 – 30 menit dalam mencapai tempat pengobatan dari tempat tinggalnya.

Tabel 3. Waktu tempuh ke tempat pengobatan

Waktu Tempuh	n	%
< 10 menit	14	17,3
10 - 30 menit	42	51,9
> 30 menit	19	23,5
Tidak menjawab	6	7,4
Total	81	100

Pelayanan TB di HC
Lama Pengobatan
Gambar 2 menggambarkan lamanya waktu pengobatan yang dijalan penderita TB di Puskesmas Tanjung Bintang. 65 orang penderita TB (80,2%) menyatakan telah



Gambar2. Lamanya waktu pengobatan di Puskesmas (minggu).

menjalani waktu pengobatan selama 13 - 24 minggu. Sebagian kecil sisanya menjalani masa pengobatannya kurang dari 12 minggu dan lebih dari 24 minggu.

Tenaga Kesehatan yang menangani
Penanganan penderita TB di Puskesmas, dilaksanakan oleh tenaga paremedis (44,4 %) dan petugas TB (39,5 %) yang juga merangkap sebagai tenaga analis di Puskesmas Tanjung Bintang. Sedangkan sisanya ditangani oleh dokter dan bidan. Data selengkapnya dapat terlihat pada Tabel 4 berikut:

Tabel 4. Tenaga kesehatan yang menangani penderita TB

Petugas Kesehatan	n	%
Dokter	12	14,8
Paramedis	36	44,4
Bidan	1	1,2
Petugas TB	32	39,5
Total	81	100,0

Kepuasan penderita
Dari 81 orang penderita TB, 49 orang (60,5 %) menyatakan tidak menemui kendala atau kesulitan dalam menjalani pengobatan di Puskesmas, mereka menilai lancar-lancar saja. Sedangkan sisanya menyatakan menemui kesulitan dalam menjalani pengobatan di Puskesmas Tanjung Bintang, antara lain: adanya efek samping dari obat yang dikonsumsi, jarak puskesmas yang jauh dari tempat tinggal penderita, kurangnya biaya yang dimiliki penderita TB untuk melakukan pengobatan TB.

SARAN DAN KESIMPULAN

Kesimpulan

1. Pada pasien TB sebagian besar bekerja sebagai petani, tingkat pendidikan rendah dan status sosial ekonomi pada kelompok ekonomi menengah.
2. Pemanfaatan puskesmas rendah (40.7%), selebihnya karena pasien TB mencari pengobatan di penyedia layanan kesehatan luar gedung yaitu rumah sakit, bidan, perawat dan dokter.
3. Alasan yang mempengaruhi pasien TB datang ke pelayanan kesehatan luar gedung yaitu jarak yang dekat, pelayanan yang baik dan merasa cocok.

Saran

1. Peran dan partisipasi dari penyedia pelayanan kesehatan luar gedung perlu ditindaklanjuti oleh program.
2. Pembinaan kemitraan dan koordinasi antara puskesmas dan penyedia pelayanan kesehatan luar gedung.

DAFTAR PUSTAKA

Aditama, TY. 2005. Pengetahuan Penderita TB Paru tentang Penyakit Paru. *Cermin Dunia Kedokteran* . Vol XII No. 50. Jakarta.

Departemen Kesehatan RI. 2007. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*. Edisi ke-2 Cetakan Pertama. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan RI. 2002. *Modul Pelatihan Strategi DOTS Program P2 TB Paru.* Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dinas Kesehatan Provinsi Lampung. 2007. *Hasil Kegiatan Program Penanggulangan TB Dinkes Provinsi Lampung.* Laporan Tahunan.

Lönnroth K, Thuong LM, Linh PD, Diwan VK. 2001. *Utilization of private and public health-care providers for tuberculosis symptoms in Ho Chi Minh City, Vietnam*. Health Policy Plan;16(1):47-54.

Mohan CI, Bishai D, Kumar S, ten Asbroek G, Niessen L. 2005. *Changes in utilization of TB health services in Nepal.* Int J Tuberc Lung Dis. Sep;9(9):1054-6.

Mohan V, Shanthirani CS, Deepa M, Datta M, Williams OD, Deepa R. 2006. *Community empowerment--a successful model for prevention of non-communicable diseases in India--the Chennai Urban Population Study (CUPS-17).* J Assoc Physicians India. Nov;54:858-62.

Puskesmas Tanjung Bintang. 2007. *Laporan Tahunan*. Dinkes Provinsi Lampung.

Uplekar M, Pathania V, Raviglione M. 2001. *Private practitioners and public health: weak links in tuberculosis control.* Lancet ;358(9285):912-6.

WHO. 2006. *Five Elemen DOTS*. http://www.who.int/tb/dots /whatisdots/en /index4.html.5. Diakses 22 Agustus 2008.

_____. 2007. *Working Together for Health.* The World Health Report 2007. Geneva.

KAJIAN KARAKTERISTIK PATI RESISTEN DARI BERBAGAI VARIETAS PISANG

Nanti Musita
Balai Riset dan Standardisasi Industri Bandar Lampung, Bandar Lampung 35144
email : nantimusita @yahoo.co.id

ABSTRACT

Production of banana in Indonesia at this time reach 50% from totally in Asia and also have the immeasurable banana type. Banana represents a source of very potential dietary fibre to keep in good health and resistant starch is included in group of dietary fibre. The purpose of this research was to study characteristic of resistant starch from some banana types. Five types were used in this experiment. They were Banana of Ambon, Batu, Kepok Kuning, Raja Bulu, and Tanduk. This experiment done by examination of resistant starch characteristic (gel capacity, water absorpsion power and swelling power), examination of fermentability power (pH, total BAL, and rate SCFA). The result indicate that (1) Water absorption and swelling power resistant starch Banana of Ambon (1,44 ml/g; 2,53 g/g), Batu (0,80 ml/g; 1,76 g/g), Kepok Kuning (1,49 ml/g; 2,58 g/g), Raja Bulu (0,89 ml/g; 2,11 g/g), and Tanduk (1,32 ml/g; 2,23 g/g), and represent the resistant starch type 2 (RS Type II), (3) Resistant starch Banana of Ambon; Batu; Kepok Kuning; Raja Bulu; and Tanduk each other have the acetate acid (33,35; 30,71; 38,61; 36,01; and 4,86 mmol/l), propionate (22,54; 21,60; 21,60; 22,54; and 38,91 mmol/l), butirate (2,47; 2,70; 2,70; 2,47; and 23,43 mmol/l), BAL (12,66; 12,56; 12,99; 12,71; and 12,82 log CFU/ml), and have potency as prebiotik based on the test of fermentability (pH, total of lactate acid bacterium, short chain fatty acid) by in-vitro during 24 hours at temperature 37°C by rat digesta Sprague Dawley.

Keywords: banana, resistant starch, dietary fiber.

PENDAHULUAN

Buah pisang (*Musa paradisiaca*) adalah bahan pangan yang bergizi yang merupakan sumber karbohidrat, vitamin, dan mineral. Komponen karbohidrat terbesar pada buah pisang adalah pati pada daging buahnya, dan akan diubah menjadi sukrosa, glukosa dan fruktosa pada saat pisang matang (15-20 %) (Bello *et al*., 2000).

Penelitian yang telah dilakukan selama ini pada buah pisang sebagian besar hanya ditekankan pada penanfaatan dan pengolahannya. Penelitian yang bertujuan untuk mengetahui dan mengkaji sifat-sifat fisiologis dari komponen fungsional buah pisang belum banyak ditemukan di Indonesia termasuk laporan mengenai kandungan dan sifat-sifat pati resisten (*resistant starch*). Hasil yang akan didapat dari penelitian ini diharapkan berguna untuk meningkatkan pemanfaatannya khususnya sebagai sumber pangan fungsional.

Dahulu diyakini bahwa pati yang dikomsumsi dapat tercerna secara sempurna di dalam usus halus. Pemahaman tersebut berubah setelah banyak peneliti mengungkapkan dan menemukan bahwa adanya pati dalam usus besar. Fraksi pati yang sampai di usus besar dikenal sebagai pati resisten.

Pati resisten didefinisikan sebagai sejumlah pati dari hasil degradasi pati yang tidak dapat diserap oleh usus halus manusia dan dikelompokkan ke dalam serat pangan (*dietary fiber*) (AACC, 2001). Kenyataan menunjukkan bahwa daya tahan pati terhadap serangan enzim alfa amilase berbeda-beda. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa beberapa jenis pati mengalami retrogradasi selama penyimpanan setelah tergelatinisasi (Kalichevsky *et al*., 1990; Frederikson *et al*., 1998; dan Jayakody *et al*., 2005). Hal ini menunjukkan bahwa pati-pati tersebut mengandung bagian yang tidak dapat tergelatinisasi dengan baik dan diduga bahwa bagian ini merupakan pati resisten.

Keberadaan pati resisten dalam bahan makanan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Salah satu sifat fisiologis dari pati resisten adalah kemampuannya untuk dapat difermentasi oleh bakteri-bakteri usus yang menguntungkan (Johnson and Southgate, 1994). Di dalam usus kecil pati resisten tidak diserap sehingga tetap utuh sampai di dalam usus dan akan difermentasi oleh bakteri-bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*, sehingga pati resisten juga berpotensi sebagai prebiotik (Haralampu, 2000).

Untuk mengetahui potensi pati resisten buah pisang sebagai serat pangan dan prebiotik dilakukan pengujian fermentabilitas (kemampuan untuk difermentasi oleh mikloflora usus manusia) dari pati resisten tersebut. Pengujian fermentabilitas pati resisiten buah pisang dilakukan secara *in-vitro* menggunakan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley*. Pengujian secara *in-vitro* ini merupakan simulasi dari degradasi serat pangan oleh mikroflora usus manusia. Akhirnya tujuan penelitian ini adalah mengkaji karakteristik pati resisten beberapa jenis buah pisang.

METODOLOGI

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah 5 jenis pisang yaitu Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var Sapientum*), Pisang Batu (*Musa brachycarpa* Harper), Pisang Kepok Kuning (*Musa normalis* L.), Pisang Raja Bulu (*Musa sapientum var Paradisiaca* baker), dan Pisang Tanduk (*Musa corniculata rumph*). Pisang tersebut sudah tua tetapi belum matang penuh dengan warna masih hijau dan tekstur keras. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain pepsin, enzim alfa amilase (merk NOVO) dan enzim amiloglukosidase (merk NOVO), buffer fosfat (0,1 M) pH 6,5, KCl-HCl buffer pH 1,5, KOH (0,1 M), 0,4 M asetat buffer (20 mM $CaCl_2$), HCl (2 M), NaOH 0,1 N), air destilat, alkohol, regen nelson, regen arsenomolybdat, garam fisiologis, Inulin (Casucra) dan bahan kimia lain. Analisis total bakteri asam laktat (BAL) menggunakan media MRS (*de Mann Ragoso Sharp*) agar. Uji fermentabilitas pati resisten digunakan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* yang berumur tiga bulan.

Alat-alat yang digunakan adalah blender, oven, neraca analitik (Mettler Rj 2000), penangas air (GLF), pH meter (Hanna), *shaker incubator* (Polyscience Dual Action Shaker)*, vortex mixer, magnetic stirer (*IKA Mag*), centifuge, autoclave* (Sturdy)*,* termometer, *colony counter* (Erma), *Ion Chromatography* (ICS 1000) dan peralatan lainnya.

Metode Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pengujian karakteristik pati resisten pisang berupa kapasitas pembentukan gel; daya serap air dan daya kembang, pengujian daya fermentabilitas berupa penentuan pH; total bakteri asam laktat; dan asam lemak rantai pendek (asam asetat, propionat, butirat).

Pembuatan pati resisten

Pati resisten yang digunakan dibuat dengan prosedur berikut yaitu : sebanyak 100 mg pati pisang yang kering dimasukkan ke dalam tabung sentrifius. Lalu ditambahkan 10 ml KCl-HCl buffer pH 1,5 pengaturan pH dilakukan dengan menambah HCl (2 M) atau NaOH (0,5 M). Kemudian ditambahkan 2 ml larutan pepsin (1 g pepsin/10 ml buffer KCl-HCl). Campuran dimasukkan ke dalam *water bath* suhu 40°C selama 60 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Setelah itu pH diatur menjadi 6,9 dengan menambah NaOH (0,5 M) lalu ditambah 1 ml larutan enzim alfa amilase. Campuran diinkubasi selama 16 jam pada *water bath* suhu 37°C dengan pengadukan konstan. Campuran disentrifius selama 15 menit (3000 rpm) lalu supernatan yang diperoleh dibuang. Sedangkan residu ditambahkan dengan 10 ml air destilat, lalu disentrifius kembali (15 menit, 3000 rpm). Residu yang tersisa kemudian dikeringkan.

Karakteristik pati

a Kapasitas pembentukan gel (*gelling ability*)

Sebanyak 8% (w/v) pati resisten pisang disuspensikan dalam 10 ml air destilat (suspensi dimasukkan dalam tabung reaksi) kemudian dipanaskan selama 1 jam dalam air mendidih lalu secara cepat didinginkan dalam air dingin dan dibiarkan selama 3 jam pada suhu 5^{O}C. Kapasitas pembentukan gel dari tiap sampel diamati secara visual dan dibandingkan dengan kapasitas pembentukan gel dari pati pisang.

b. Daya serap air dan daya kembang

Untuk mengukur daya serap air, daya kembang, dan kapasitas pembentukan gel dilakukan modifikasi analisis daya serap air metode Rosario and Flores (1981). Sebanyak 1 gram sampel dicampur dengan 10 ml akuades. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam sentrifius dan diletakkan dalam waterbath 30°C selama 30 menit, kemudian disentrifius selama 20 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Setelah itu volume supernatan diukur. Bagian air yang terikat merupakan selisih antara volume air yang ditambahkan dengan supernatan.

Air yang terikat (ml) = vol. air yang ditambahkan (10 ml) – vol. supernatan (ml)

$$\text{Daya serap air (ml/g)} = \frac{\text{Air yang terikat (ml)}}{\text{Berat sampel kering (g)} - \text{padatan terlarut (g)}}$$

$$\text{Daya kembang (g/g)} = \frac{\text{Endapan (g)}}{\text{Berat sampel kering (g)} - \text{padatan terlarut (g)}}$$

c. Daya Fermentabilitas

Daya fermentabilitas dari pati resisten pisang dilakukan pengujian dengan *in-vitro*. Simulasi fermentasi di dalam usus besar dilakukan dengan memodifikasi metode yang digunakan Kotcharian *et al.* (2004). Pati resisten pisang, inulin dan inokulum (suspensi *rat digesta flora* tanpa penambahan substrat) sebanyak 10 mg dicampur dengan 1 ml suspensi *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* (20 g/100 ml 0,1 M buffer fosfat; pH 6,5) dengan digoyang selam 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam penarikan sampel dilakukan secara steril dan langsung dianalisis nilai pH, total bakteri asam laktat (BAL) dan asam lemak rantai pendek (SCFA).

c.1. Nilai pH

Pengukuran pH ditujukan untuk melihat derajat keasaman pati resisten yang difermentasi bakteri. Pengukuran nilai pH dilakukan menurut metode AOAC (1990) yaitu dengan menggunakan pH meter.

c.2. Asam lemak rantai pendek (Short Chain Fatty Acid/SCFA)

Penentuan asam lemak rantai pendek (asam asetat, butirat dan propionat), dilakukan dengan menggunakan alat Ion Kromatografi. Larutan standar asam asetat, butirat, dan propionat dibuat dengan konsentrasi 100-250-500-750-1000 ppm.

c.3. Total bakteri asam laktat (BAL)

Analisis parameter ini dilakukan dengan metode Fardiaz (1987). Sebanyak 1 ml sampel diambil dan diencerkan menjadi 10^{-1}, 10^{-2}, sampai 10^{-11} dengan larutan pengencer aquades steril. Dari pengenceran diambil 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15 ml MRS agar steril. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari dalam kondisi cawan terbalik dan dihitung koloni yang tumbuh. Total koloni yang terhitung harus memenuhi *Standar International Comission Microbiology of Food* (ICMF), yaitu antara 30-300 koloni per cawan petri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Pati

Kemampuan membentuk gel (G*el Capacity*)

Pengamatan terhadap kemampuan membentuk gel dari berbagai pati resisten pisang disajikan pada Tabel 1 yang memperlihatkan bahwa pati resisten Pisang Ambon, Batu, Kepok Kuning, Raja Bulu, danT tidak dapat membentuk gel pada konsentrasi 8%, sedangkan pada konsentrasi yang sama, pati pisang tersebut sedikit membentuk gel. Hal ini menunjukkan bahwa pati resisten kelima jenis pisang tersebut tergolong dalam pati resisten tipe 2 (RS type II) yang bersifat tidak tergelatinisasi (*ungelatinized starch*) (Yue and Waring, 1998; Haralampu, 2000).

Pati pada umumnya bila dilarutkan dalam air (larutan sekitar 8-12%) dan dipanaskan akan mengalami suatu proses yang disebut gelatinisasi, yang akan meningkatkan disintegrasi granula sehingga molekul-molekul pati akan lebih mudah dicerna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pati resisten yang telah diisolasi dari pati pisang setelah dilarutkan dengan air (8%) dan dipanaskan sampai mendidih tidak mengalami pembentukan gel tetapi bersifat kental. Sifat kental pati resisten sebagaimana serat pangan larut air (*soluble fiber*) itu dapat menghambat pencernaan dan absorbsi karbohidrat di dalam usus halus. Bentuknya yang kental akan menyebabkan peningkatan ketebalan lapisan antara makanan dan permukaan *brush-border* di dalam usus halus sehingga mencegah absorbsi zat gizi, termasuk glukosa sehingga nilai glisemik indeksnya menjadi rendah (Marsono, 1998).

Kemampuan pati membentuk gel dapat dipengaruhi oleh komposisi kimia pati itu sendiri seperti perbandingan antara kandungan amilosa dan amilopektin dan juga ukuran granula pati (Tester, 1997). Pati dengan ukuran granula kecil akan lebih mudah mengalami proses gelatinisasi. Selain itu perbandingan antara bagian amorf dan bagian kristalin juga mempengaruhi gelatinisasi. Semakin tinggi bagian amorf maka pati akan semakin mudah mengalami proses gelatinisasi karena bagian amorf dapat menyerap air lebih banyak sehingga granula pati akan membengkak dan membentuk gel. Pada bagian amorf kandungan amilosa lebih banyak dibandingkan kandungan amilopektinnya (Jane and Chen, 1992). Hasil pembacaan dengan teknik spektroskopi infrared menunjukkan bahwa pati pisang mempunyai komponen kristalin lebih besar dari pada daerah amorphs

(Bello, *et al*., 2005) dan ini sejalan dengan hasil penelitian Von Loesecke (1950) yang menunjukkan proporsi amilosa 20,5% dan amilopektin 79,5% pada buah pisang segar. Pati resisten Pisang Ambon, Batu, Kepok Kuning, Raja Bulu, dan Tanduk diduga memiliki bagian kristalin yang tinggi dan kandungan amilopektin yang banyak sehingga sulit membentuk gel.

Tabel 1. Kemampuan pembentukan gel pada pati dan pati resisten pisang,

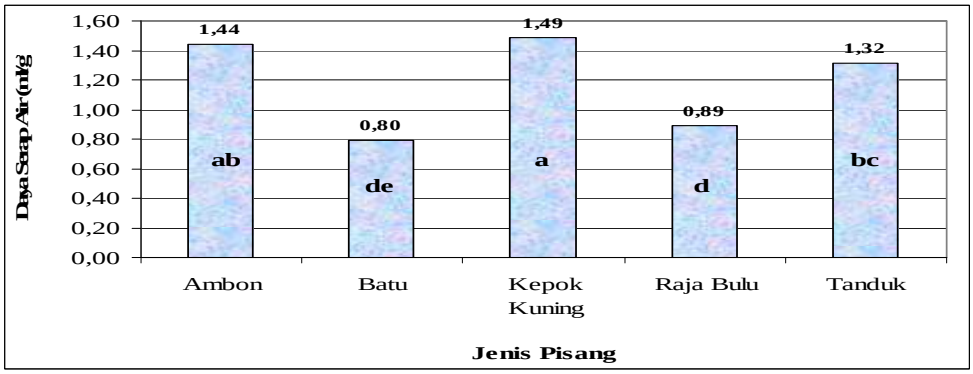
Jenis Pisang	Pati Pisang			Pati Resisten		
	1	2	3	1	2	3
Pisang Ambon	(*)	(*)	(*)	(–)	(–)	(–)
Pisang Batu	(*)	(*)	(*)	(–)	(–)	(–)
Pisang Kepok Kuning	(*)	(*)	(*)	(–)	(–)	(–)
Pisang Raja Bulu	(*)	(*)	(*)	(–)	(–)	(–)
Pisang Tanduk	(*)	(*)	(*)	(–)	(–)	(–)

Keterangan: (*) = sedikit membentuk gel pada konsentrasi 8%
(–) = tidak terbentuk gel pada konsentrasi 8%

Hasil penelitian González-Soto *et al*. (2006) menunjukan suhu gelatinisasi pati pisang lebih tinggi dibandingkan pati jagung dan pati mangga, yaiu 76,3 ±0,06 °C dan entalpinya 11,8 ± 0,64 J/g, dari penelitian Bello *et al*. (2005) adalah 77,6 dan entalpinya 23.4J/g. Menurut Lii and Chang (1991), suhu gelatinisasi pati pisang relatif tinggi dibandingkan dengan pati umbi-umbian, diduga disebabkan adanya kandungan posfor yang relatif tinggi (0,05-0,07 mg/g), posfor tersebut diduga teresterfikasi dengan granula pati sehingga memperkuat struktur granula pati.

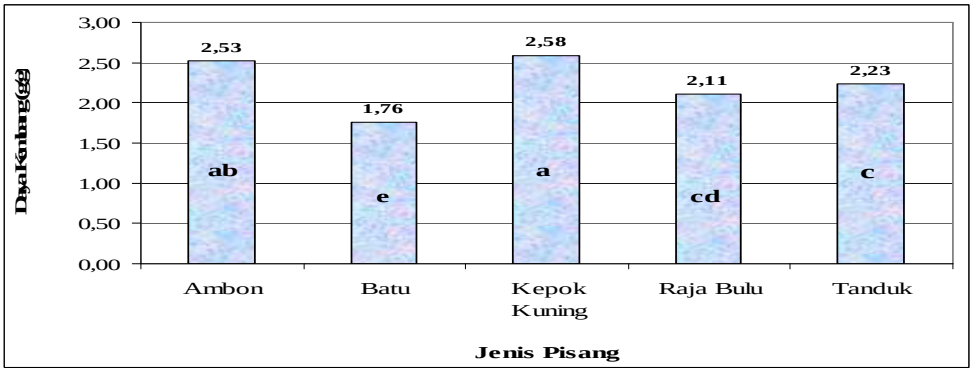
Daya serap air dan daya kembang

Jenis pisang berpengaruh terhadap daya serap air dan daya kembang pati resisten pisang. Gambar 1 memperlihatkan bahwa pati resisten Kepok Kuning memiliki daya serap air (1,49 ml/g) paling tinggi dibandingkan pati resisten pisang jenis lain tetapi tidak berbeda dengan daya serap air pati resisten Pisang Ambon (1,44 ml/g). Sedangkan Pisang Batu memiliki daya serap air paling rendah (0,80 ml/g) tetapi tidak berbeda dengan daya serap air pati resisten Pisang Raja Bulu (0,89 ml/g).



Gambar 1. Daya serap air pati resisten dari berbagai jenis pisang

Pada Gambar 2 memperlihatkan adanya perbedaan daya kembang pada kelima jenis pisang. Keadaan tersebut disebabkan oleh perbedaan kandungan pati resistennya yang selanjutnya berpengaruh terhadap daya serap air. Pati resisten Pisang Kepok Kuning memiliki daya kembang paling tinggi (2,58 g/g) dibandingkan pati resisten pisang lain, tetapi tidak berbeda dengan pisang ambon (2,53 g/g). Untuk pati resisten Pisang Batu memiliki daya kembang paling rendah yaitu 1,76 g/g.



Gambar 2. Daya kembang pati resisten dari berbagai jenis pisang

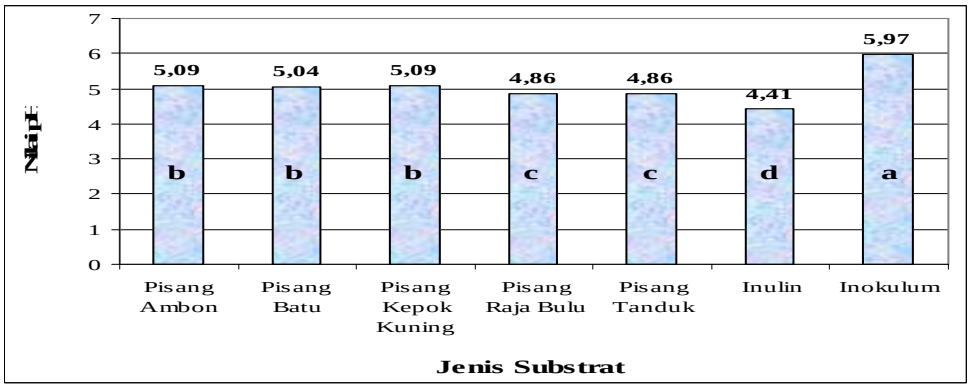
Menurut González-Soto *et al*. (2006), pati mangga dan pisang ekstrudat mempunyai persentase pengembangan yang kecil dibandingkan pati jagung ekstrudat. Ukuran granula dan perbandingan amilosa dan amilopektin mempunyai peranan penting dalam hal ini. Ukuran granula pisang yang sangat besar (20-50 µm) berpengaruh terhadap kelarutan dan pengembangannya, sehingga semakin kecil rasio antara permukaan volume yang berarti memperkecil kemungkinan kontak, akibatnya adalah rendahnya daya kembang dan kelarutannya (Thomas and Atwell, 1999).

Daya Fermentabilitas

Serat pangan dapat difermentasi sebagian atau secara menyeluruh oleh mikroflora usus tergantung dari struktur dan sifat fisikokimia serat pangan tersebut. Pada penelitian ini pengujian daya fermentabilitas pati resisten pisang dilakukan secara *in-vitro* menggunakan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley*. Fermentasi secara *in-vitro* ini merupakan simulasi dari degradasi serat pangan oleh mikroflora usus manusia.

Nilai pH

Jenis substrat berpengaruh terhadap nilai pH pati resisten pisang yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37°C.



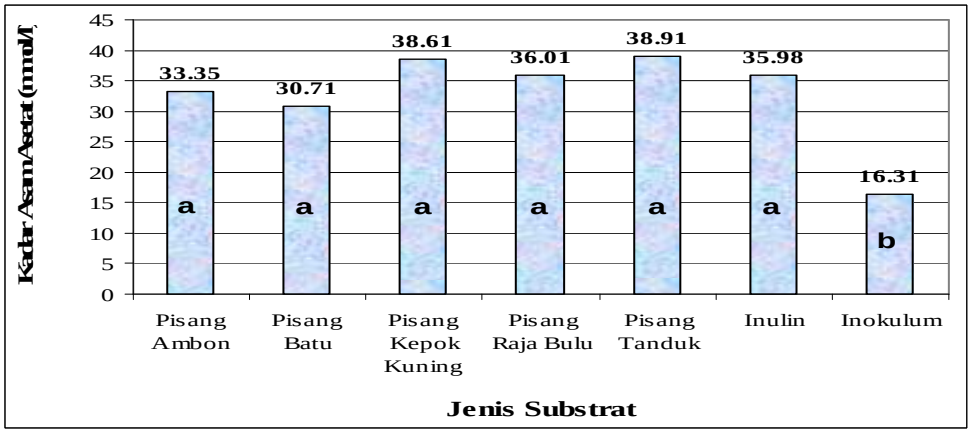
Gambar 3. Nilai pH pati resisten berbagai jenis pisang, inulin, dan inokulum yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pati resisten akan difermentasi oleh mikroflora menghasilkan zat-zat metabolit seperti asam laktat dan asam-asam lemak rantai pendek yang berperan dalam penurunan nilai

pH. Adanya zat tersebut menyebabkan nilai pH akan turun. Gambar 3 memperlihatkan bahwa fermentasi inulin menunjukkan nilai pH terendah. Inulin adalah serat yang bersifat larut dalam air, tetapi tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim dalam sistem pencernaan mamalia. Inulin dapat mencapai usus besar tanpa mengalami perubahan struktur. Meskipun demikian, inulin dapat mengalami fermentasi akibat aktivitas mikroflora (*Bifidobacterium dan Lactobacillus*) yang terdapat didalam usus besar menjadi asam laktat dan asam-asam lemak rantai pendek (Niness, 1999). Diduga persentase asam laktat lebih besar dibandingkan asam organik lain yang menyebabkan pH substrat dari inulin lebih rendah.

Asam lemak rantai pendek

Asam lemak rantai pendek yang diamati adalah asam asetat propionat, dan butirat. Jenis substrat berpengaruh nyata terhadap kadar asam asetat, propionat dan butirat pati resisten pisang yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37^{o}C. Pada Gambar 4, 5, dan 6 terlihat bahwa dari fermentasi pati resisten Pisang Tanduk dihasilkan asam asetat (38.91 mmol/l) dan propionat (23,43 mmol/l) tertinggi, tidak berbeda dengan pati resisten Pisang Ambon, Batu, Kepok Kuning, Raja Bulu. Sedangkan asam butirat tertinggi pada Pisang Batu (27,0 mmol/l).

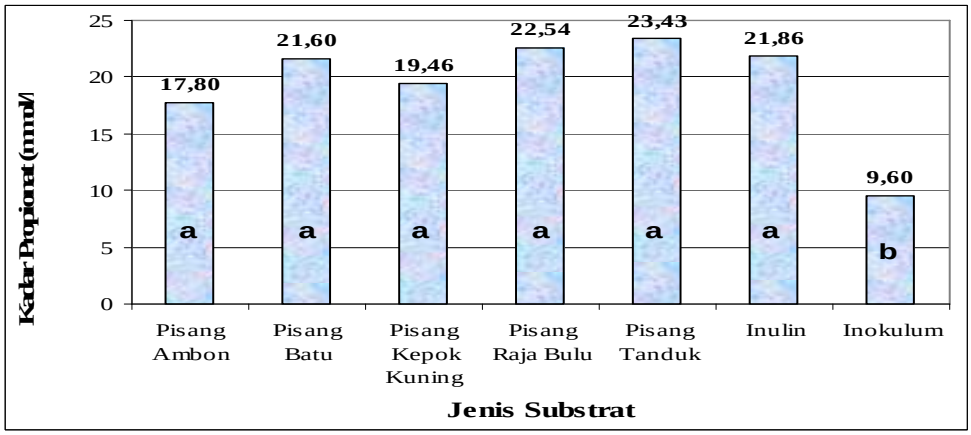


Gambar 4. Kadar asetat pati resisten (mmol/l) berbagai jenis pisang, inulin, dan inokulum yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37°C.

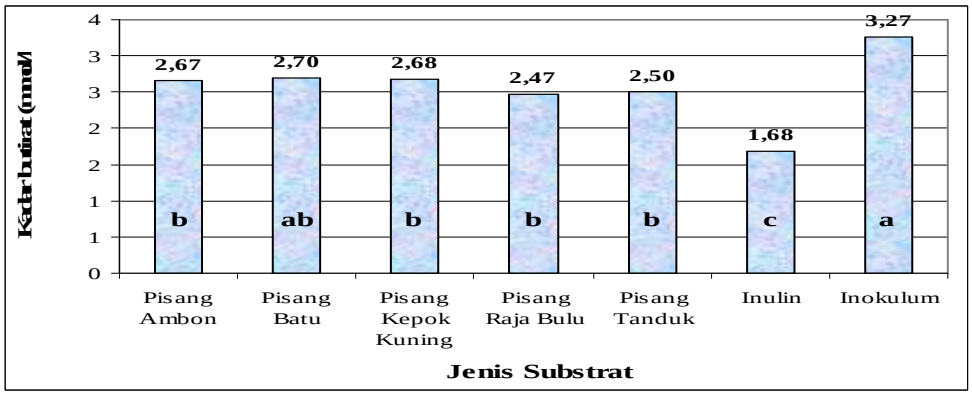
Substrat pembanding dalam penelitian ini digunakan inulin dan inokulum. Inulin adalah serat yang bisa dilarutkan yang merupakan polimer dari unit-unit fruktosa yang dihubungkan dengan ikatan beta (2-1) glikosidik (Phelps, 1965), umumnya mempunyai terminal glukosa (di ujung masing-masing rantai fruktosa) dan dihubungkan oleh suatu alfa (1-2) seperti di sukrosa. Ikatan beta (2-1) glikosidik ini mencegah inulin dari dicerna seperti karbohidrat dan mempunyai efek seperti serat pangan (Deleenheer and Hoebregs 1994). Menurut Niness (1999), *Bifidobacteria* mencerna inulin menjadi asam lemak rantai pendek seperti asam propionat dan butirat. Pada fermentasi inulin dihasilkan asam asetat dan propionat relatif lebih besar sehingga dengan jumlah inulin yang tetap menghasilkan butiratnya lebih rendah dibandingkan substrat lainnya.

Di dalam usus besar manusia, pati resisten dapat digunakan secara selektif oleh bakteri menguntungkan sebagai substrat untuk pertumbuhannya dan menghasilkan asam lemak rantai pendek. Bakteri menghasilkan enzim ekstra seluler yang akan menguraikan polisakarida menjadi monosakarida sehingga dapat terpenetrasi ke dalam sel-sel bakteri. Metabolisme monosakarida kemudian berlanjut dalam sel bakteri menghasilkan produk

akhir diantaranya asam asetat, propionat, butirat, laktat, CO_2, metan dan H_2 (Johnson and Southgate, 1994).



Gambar 5. Kadar propionat pati resisten (mmol/l) berbagai jenis pisang, inulin, dan inokulum yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 6. Kadar butirat pati resisten (mmol/l) berbagai jenis pisang, inulin, dan inokulum yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37°C.

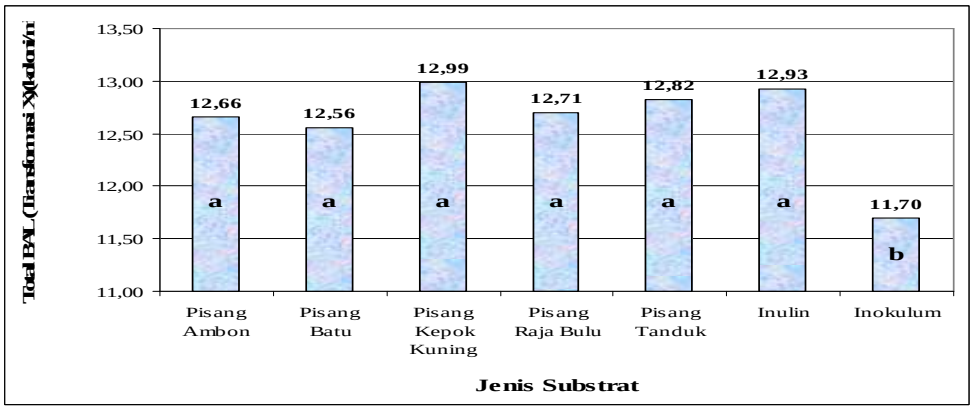
Perbandingan persentase asam asetat, propionat dan butirat pada pati resisten pisang cukup bervariasi. Secara umum persentase asam asetat jauh lebih besar dari asam propionat dan butirat, dan persentase asam propionat juga jauh lebih besar dari pada butirat. Dari hasil penelitian yang dilakukan Breves dan Stuch (2003) diketahui bahwa perbandingan persentase (mol) bervariasi tergantung spesies hewan percobaan yang digunakan. Pada tikus dan babi, asam asetat selalu dominan (55-70% dari total), propionat 25-30% dari total.

Dalam usus besar, pati resisten akan difermentasi oleh bakteri anaerob sehingga dihasilkan asam lemak rantai pendek terutama asam butirat, asetat dan propionat. Perbandingan persentase asam butirat, propionat, dan asetat dari total asam yang terbentuk dari substrat pati resisten (38:21:41), pati (29:22:50), dan polisakarida bukan pati (Non Starch Polysacharide/NSP) (10:25:60). Produksi butirat yang sangat nyata inilah yang ternyata dapat memberikan efek menyehatkan usus besar bagi mereka yang mengkonsumsi pati resisten (Cummings, 1981). Sodium butirat diketahui menghambat pembelahan sel kanker, menginduksi apoptosis (kematian sel yang terprogram secara

alami), menghambat proliferasi sel-sel mukosa kolon dan sanggup menormalkan resistensi sel-sel kanker kolon yang pertumbuhannya tak terkendali menjadi kembali apoptosis.

Total bakteri asam laktat

Jenis substrat berpengaruh sangat nyata terhadap total bakteri asam laktat pati resisten pisang yang difermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam pada suhu 37^{o}C. Total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari fermentasi inulin dan inokulum yang dijadikan sebagai substrat pembanding masing-masing adalah 12,93 log CFU/ml dan 11,70 log CFU/ml (Gambar 7).



Gambar 7. Total bakteri asam laktat pati resisten berbagai jenis pisang, inulin, dan inokulum yang fermentasi dengan *digesta flora* dari tikus *Sprague Dawley* secara *in-vitro* selama 24 jam suhu 37°C.

Fermentasi inokulum menghasilkan total bakteri asam laktat terendah. Hal ini dikarenakan tidak adanya substrat yang dapat difermentasi oleh bakteri untuk menstimulir pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut. Total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari fermentasi substrat pati resisten Pisang Ambon, Batu, Kepok Kuning, Raja Bulu, dan Tanduk mempunyai total bakteri asam laktat yang lebih tinggi dibandingkan dengan fermentasi substrat inokulum. Hal ini mengindikasikan bahwa pati resisten pisang tersebut dapat dijadikan sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri-bakteri asam laktat dan menghasilkan asam lemak rantai pendek (asetat, propionat, butirat) yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan fermentasi Inokulum. Pati resisten pisang tersebut sebelum digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan bakteri asam laktat akan diuraikan terlebih dahulu. Menurut Dzirkova *et al.,* (2005), sebelum proses fermentasi, bakteri akan menghasilkan enzim yang dapat menguraikan polisakarida menjadi unit-unit yang lebih kecil yaitu monosakarida. Monosakarida-monosakarida tersebut kemudian dijadikan sebagai sumber energi bagi kehidupan sel-sel bakteri.

Bahan pangan yang bersifat prebiotik akan menyebabkan perubahan komposisi mikroflora yang ada di usus manusia karena hanya secara selektif digunakan oleh bakteri-bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus* untuk menstimulir pertumbuhannya serta mengurangi aktivitas bakteri-bakteri merugikan (Brouns and Arrigoni, 2002; Helzaptel and Schillinger, 2002; Roberfroid, 2002).

KESIMPULAN

1. Daya serap air dan daya kembang pati resisten Pisang Ambon (1,44 ml/g; 2,53 g/g), Batu (0,80 ml/g; 1,76 g/g), Kepok Kuning (1,49 ml/g; 2,58 g/g), Raja Bulu (0,89 ml/g; 2,11 g/g), dan Tanduk (1,32 ml/g; 2,23 g/g, dan termasuk pati resisten tipe 2 (RS type II).
2. Pati resisten Pisang Ambon; Batu; Kepok Kuning; Raja Bulu; dan Tanduk masing-masing mengandung asam asetat (33,35; 30,71; 38,61; 36,01; dan 4,86 mmol//l), propionat (22,54; 21,60; 21,60; 22,54; dan 38,91 mmol/l), butirat (2,47; 2,70; 2,70; 2,47; dan 23,43 mmol/l), BAL (12,66; 12,56; 12,99; 12,71; dan 12,82 log CFU/ml), dan berpotensi sebagai prebiotik didasarkan atas uji fermentabilitas (pH, total bakteri asam laktat, asam lemak rantai pendek) secara in-vitro selama 24 jam pada suhu 37°C dengan digesta tikus Sprague Dawley.

DAFTAR PUSTAKA

American Association of Cereal Chemist (AACC). 2001. *The Definition of Dietary Fiber* . Cereal Foods. World.

The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. 16th Edition,

Bello-Pérez, L.A. A. De Francisco, E. Agama-Acevedo, F. Gutierrez-Meraz, F. J.L. García-Suarez. 2005. Morphological and Molecular Studies of Banana Starch. *SAGE Publications*, DOI: 10: 1177.

Brouns, F., Ketlitz, B., and Arrigoni, E. 2002. Resistant Starch and The Butyrate Revolution. *Trends in Food Science and Techology*. 13: 251-261.

Cummings, J.H. 1981. Short Chain Fatty Acids in Human Colon, Gut. *J. Nutr. Research* 22: 763-779.DeLeenheer L., Hoebregs H. 1994. Progress in The Elucidation of The Composition of Chicory Inulin. Starch. *J. Biochem*. 46: 193.

Dzirkova, B., G.Dongowski, E. Gebhardt, and A. Habel. 2005. The Composition of Dietary Fibre-Rich Extrudates from Oat Effects Bile Acid Binding and Fermentation in Vitro. *J. Food Chem*. 90: 181-192.

Fardiaz, S. 1987. *Penuntun Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi*. Fateta IPB Bogor. 14 hlm.

Fredricson, H., J. Silverio, R. Anderson, A.C. Elliason, and P. Aman. 1998. The Influence of amylase and Amylopectine Characteristic and Gelatinization and Retrogradation Properties. *J. Carbohydr. Polym*. 35: 119-134.

Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of Human Clonic Microbiota: Introduction The Concept of Prebiotic. *J. Nutr*. 125: 1401-1412.

González-Soto, R.A., L.Sánchez-Hernández, J. Solorza-Feria, C. Núñez-Santiago, E. Flores-Huicochea1 and L.A.Bello-Pérez. 2006. Resistant Starch Production from Non-conventional Starch Sources by Extrusion. *J. Food Sci. Tech.* Int SAGE Publications 12 (1): 5–11.

Haralampu, S.G. 2000. Resistant Starch-AReview of The Physical Properties and Biological Impact of RS. *J. Carbohydr. Polym*. 41 : 285-292.

Helzapfel, W.H. and U.Schillinger. 2002. Introduction to Pre- and Probiotic. *J. Food Research Inter.* 35: 109-116.

Lii, Cheng-Yi and Chang, Yung-Ho. 1991. Study of Starch in Taiwan. Food Reviews International, Marcel Dekker, Inc., New York. 7 (2): 192-193.

Jane, J.L. and J.F. Chen. 1992. Effect of Amylose Molecular Size and Amylopectin Branch Chain Length on Paste Properties of Starch. *J. Cereal Chem*. 69: 60-65.

Jayakody, L., R. Hoover, Q.Liu, and W.Weber. 2005. Studies on Tuber and Root Starch. Structure and Physicochemical Properties of Innala Starch Grown in Sri Lanka. *Food Research International*. Pp.1-25.

Johnson, L.T. and D.A.R. Soutgate. 1994. Dietary Fiber and Related Substrate. Chapman and Hall London.

Marsono, Y. 1998. Perubahan Kadar Resistant Starch (RS) dan Komposisi Kimia Beberapa Pangan Kaya karbohidrat dalam Pengolahan. *J. Agritech* 19 (3): 124-127.

Niness, R.K. 1999. Inulin and Oligofructose: What Are They. *J. Nutr*. 129: 1402S-1406S.

Kalichevsky, M.T., P.D. Orford, and S.G. Ring. 1990. The Retrogradation and Gelation of Amylopectine from Farious Botanical Sources. *J. Carbohydr. Research* 198: 49-55.

Kotcharian, A., Kunzek, H., and Dongowski, G. 2004. The Influence of Variety on The Enzymatic Degaradation of carrots and on Functional and Physiological Properties of Cell Wall Matrials. *J. Food Chem*. 87: 231-245.

Phelps C. F. 1965. The Physical Properties of Inulin Solutions. *J. Biochem*. 95: 41.

Roberfroid, M. 2002. Functional Food Concept of Food Its Application to Prebiotics. Digest Liver Dis.(Supply.2): S105-S110.

Rosario, R. del and D.M. Flores. 1981. Functional Properties of Mung Bean Flour. *J. Sci. Food Agriculture* 32: 175-180.

Tester, R.F. 1997. Starch: The Polysaccharide Frections In P.J. Frazier, P. Richmond and A.M. Donald. *Starch, Structure and Functionally*. Royal Society of Chemistry. Pp: 163-171.

Thomas D.J. and Atwell W.A. 1999. *Starches: Practical Guides for the Food Industry*. St. Paul, MN: Eagan. Press Handbook Series AACC.

Von Loesecke. 1950. Banana Chemistry, Physiology and Technology. Vol. I Interscience Publisher Ld. London dalam Pengaruh Pengolahan terhadap Pati Resisten Pisang Kepok dan Pisang Tanduk, Marsono, Y. J. 22 (2): 56-59.

Yue, P and S. Waring. 1998. Resistant Starch and Food Application. *J. Cereal Food World* 43 (9): 690-695.

POPULASI NYAMUK *AEDES AEGYPTI* DAN *Mesocyclops apericornis* PADA MEDIA TEMPAT PERINDUKAN AIR SUMUR DAN AIR KANGKUNG DI BANDAR LAMPUNG

Endah Setyaningrum, Siti Nurjanah, Sri Murwani dan F.X. Susilo
Jurusan Biologi F.MIPA Universitas Lampung

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Populasi Nyamuk *Aedes aegypti* dan *Mesocyclops aspericornis* pada Media Tempat Perindukan Air Sumur dan Air Kangkung di Bandar Lampung bulan Maret – Mei 2010. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui populasi nyamuk *Ae. aegypti* mulai dari larva, pupa dan nyamuk dewasa serta *M. aspericornis* sebagai predator larva *Ae. aegypti* pada media air kangkung dan air sumur skala semi lapangan di Bandar Lampung.

Percobaan dirancang dengan menggunakan 2 perlakuan yaitu media air kangkung dan air sumur dengan pengulangan sebanyak 16 kali. Hasil pengamatan berupa populasi dari larva, pupa dan nyamuk *Ae. aegypti* beserta populasi *M. aspericornis* pada air sumur dan air kangkung dianalisis dengan uji t pada taraf nyata 5 %. Analisis juga dilakukan untuk perbandingan rata-rata populasi *M. aspericornis* dengan jumlah *M. aspericornis* pada inokulasi pertama kali yaitu 5 ekor dengan uji t pada taraf nyata 5 %.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata populasi nyamuk *Ae. aegypti* (jumlah dari populasi larva, pupa dan nyamuk dewasa *Ae. aegypti*) cenderung lebih tinggi pada media air kangkung dari pada media air sumur baik di Kelurahan Way Dadi maupun di Kelurahan Kampung Baru. Rata-rata kepadatan populasi *M. aspericornis* juga cenderung lebih tinggi pada media air kangkung dari pada media air sumur baik di Kelurahan Way Dadi maupun di Kelurahan Kampung Baru.

Kata kunci: Populasi, *Aedes aegypti, Mesocyclops aspericornis*, media air sumur, dan kangkung.

PENDAHULUAN

Penanggulangan penyakit demam berdarah merupakan masalah yang cukup kompleks, karena penyakit ini belum ditemukan obat yang efektif dan efisien. Namun melalui pemberantasan jentik nyamuk penularnya atau dikenal dengan istilah pemberantasan Sarang Nyamuk Demam Berdarah Dengue (PSN-DBD) diharapkan akan dapat mengurangi penyebaran nyamuk vektornya (Arifah, 2008). Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah perkembangbiakan jentik nyamuk penyebab penyakit DBD ini, namun hasilnya belum optimal. Cara yang saat ini banyak dikembangkan adalah dengan pengendalian hayati. Pengendalian hayati pada dasarnya adalah usaha untuk memanfaatkan dan menggunakan musuh alami sebagai pengendali populasi serangga tersebut, salah satu musuh alami dari larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah *Mesocylops aspericornis* (Widyastuti dkk. 1995).

M. aspericornis merupakan salah satu jenis zooplankton yang tersebar luas di danau air tawar, reservoir, parit, kolam, lubang pohon, sumur, sawah, dan liang atau lubang kepiting. Hewan ini termasuk dalam kelas Crustacea dan ordo Cyclopoida yang memiliki

panjang tubuh antara 0,5-2,0 mm, memiliki chephalothorax dan abdomen, serta memiliki bentuk tubuh menyerupai udang (Brown dan Greenwood, 1991 dalam Insyani, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian Yanti (2009) tentang daya predasi *M. aspericornis* terhadap larva *Ae. aegypti* di Laboratorium diketahui bahwa *M. aspericornis* memiliki daya predasi yang lebih tinggi pada media air sumur (79%) dibandingkan pada media air kangkung (19%). Dari hasil tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk melihat survival perkembagan nyamuk *Ae. aegypti* mulai dari larva, pupa sampai dewasa serta *M. aspericornis* sebagai predator larva *Ae. aegypti* pada media kangkung dan air sumur skala semi lapangan di Kelurahan Way Dadi, Kecamatan Sukarame dan di Kelurahan Kampung Baru, Kecamatan Kedaton Bandar Lampung sebagai salah satu daerah endemik demam berdarah di Bandar Lampung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui populasi nyamuk *Ae. aegypti* mulai dari larva, pupa dan nyamuk dewasa serta *M. aspericornis* sebagai predator larva *Ae. aegypti* pada media air kangkung dan air sumur skala semi lapangan di Bandar Lampung.

BAHAN DAN CARA KERJA

Pengadaan dan Pemeliharaan *Mesocyclops aspericornis*

Mesocylops aspericornis berasal dari area persawahan di Desa Banjarnegeri, Kecamatan Waylima, Kabupaten Pesawaran. *M. aspericornis* diambil dengan dengan menggunakan pipet tetes. *M. aspericornis* yang diperoleh kemudian diaklimatisasi di Laboratorium dengan menggunakan air sawah yang sedikit demi sedikit di ubah ke media air sumur dan air kangkung.

Pembuatan media

Uji predasi ini menggunakan dua media yaitu media air sumur dan media air kangkung. Pembuatan media air kangkung dimulai dengan mengeringkan kangkung selama 2-3 hari kemudian dilakukan penimbangan berat keringnya dengan perbandingan 5 gram seresah kangkung per liter air sumur. Setelah itu seresah direndam dalam air sumur selama 4 hari sebelum media tersebut dapat digunakan.

Pelaksanaan penelitian di lapangan

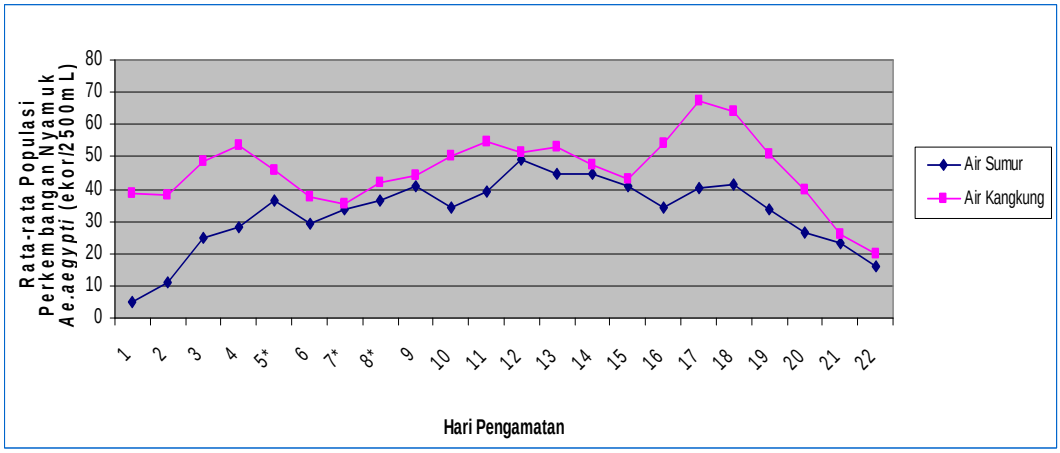
Langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian meliputi :

1. Menyiapkan baskom yang akan digunakan pada tiap perlakuan dan pengulangan yang berjumlah 16 baskom, 8 baskom untuk media air kangkung dan 8 baskom lainnya untuk media air sumur.
2. Mengisi baskom dengan media pemeliharaan. Masing-masing baskom akan berisi 2,5 liter air rendaman kangkung dan air sumur.
3. Membiarkan baskom yang berisi media selama 1-2 hari sampai terdapat telur nyamuk di sekitar pinggiran baskom
4. Melakukan infestasi *M. aspericornis* sebanyak 5 ekor pada hari dimana telur telah berubah menjadi larva instar 1 – 2.
5. Menutup baskom dengan kain kasa dan melakukan pengamatan terhadap populasi jentik nyamuk, pupa, nyamuk dewasa dan *M. aspericornis* setiap hari. Pengamatan dilakukan selama 22 hari terhitung sejak infestasi *M. aspericornis* dilakukan.
6. Pengamatan jentik nyamuk vektor dilakukan secara langsung dengan *loup* (perbesaran 4 kali) dan penghitungan jumlah larva dilakukan dengan menggunakan *hand counter*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

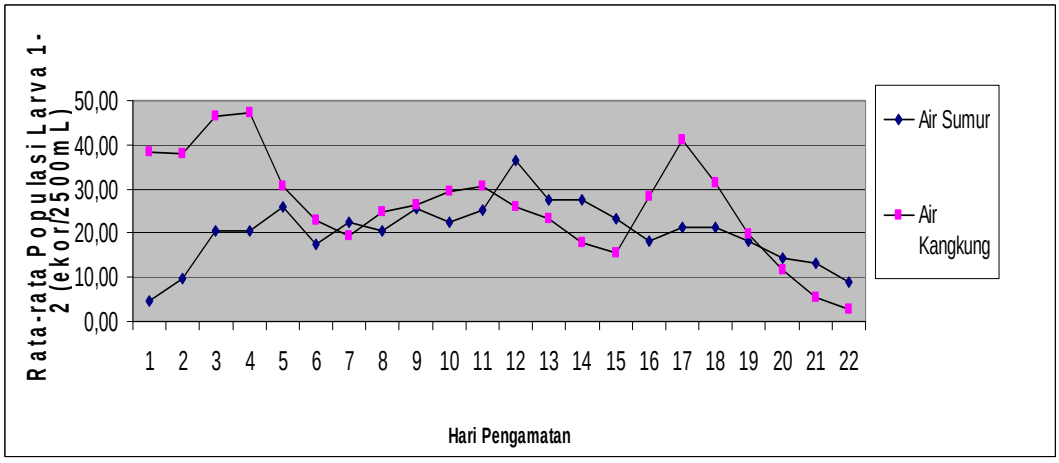
Populasi *Aedes aegypti*

Hasil pengamatan rata-rata populasi nyamuk *Ae. aegypti* selama 22 hari di Kelurahan Way Dadi pada media air sumur yaitu sebesar 32,5 ekor / 2500ml, sedangkan pada media air kangkung 50,5 ekor / 2500ml, secara visual dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Rata-rata Populasi *Aedes aegypti* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Way Dadi

Populasi dari larva 1-2 *Ae. aegypti* pada media air sumur dan air kangkung selama 22 hari di Kelurahan Way Dadi disajikan pada Gambar 2.

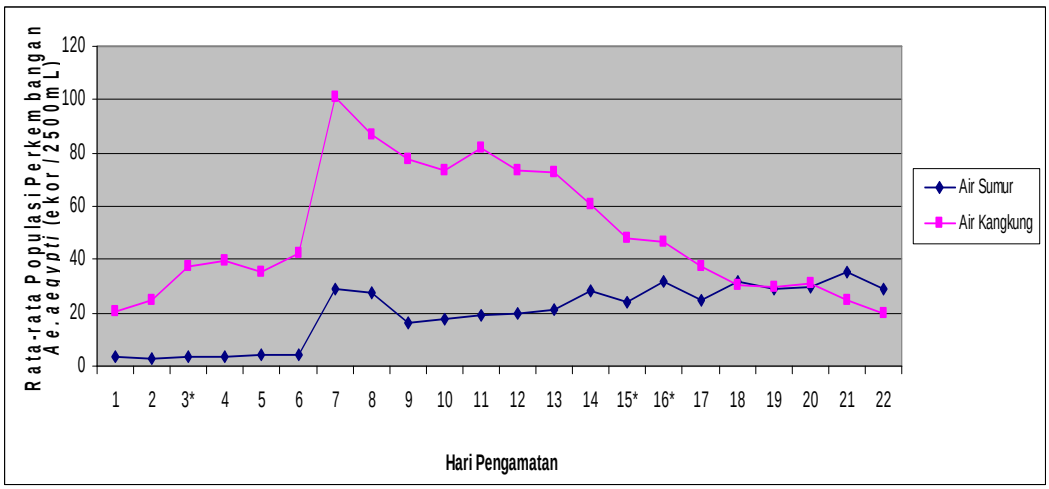


Gambar 2. Grafik Rata-rata Populasi Larva 1-2 *Aedes aegypti* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Way Dadi

Populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kelurahan Way Dadi pada media air kangkung lebih tinggi dari pada media air sumur, namun secara statistika tidak beda nyata (P>0,05). Hasil ini diduga karena populasi nyamuk dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti curah hujan, suhu, evaporasi dan adanya predator. Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Supartha (2008), faktor yang berpengaruh terhadap kehidupan vektor adalah faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik seperti curah hujan, temperatur dan evaporasi dapat mempengaruhi kegagalan telur, larva dan pupa nyamuk menjadi imago. Faktor biotik seperti predator, parasit, kompetitor dan makanan yang berinteraksi dalam kontener sebagai habitat akuatiknya pradewasa juga sangat berpengaruh terhadap

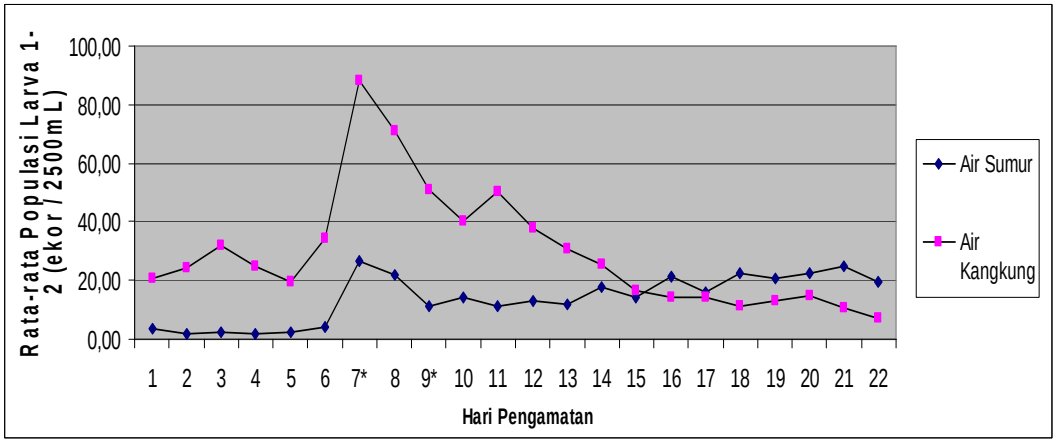
keberhasilannya menjadi imago. Pada penelitian ini baik faktor abiotik maupun faktor biotik hampir sama antara media air sumur dan air kangkung.

Hasil pengamatan rata-rata populasi nyamuk *Aedes aegypti* di Kelurahan Kampung Baru sebesar 19,8 ekor / 2500ml pada media air sumur, sedangkan pada media air kangkung 49,8 ekor / 2500ml, secara visual dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Rata-rata Populasi *Aedes aegypti* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Kampung Baru

Populasi dari larva 1-2 *Ae. aegypti* pada media air sumur dan air kangkung disajikan pada Gambar 4.



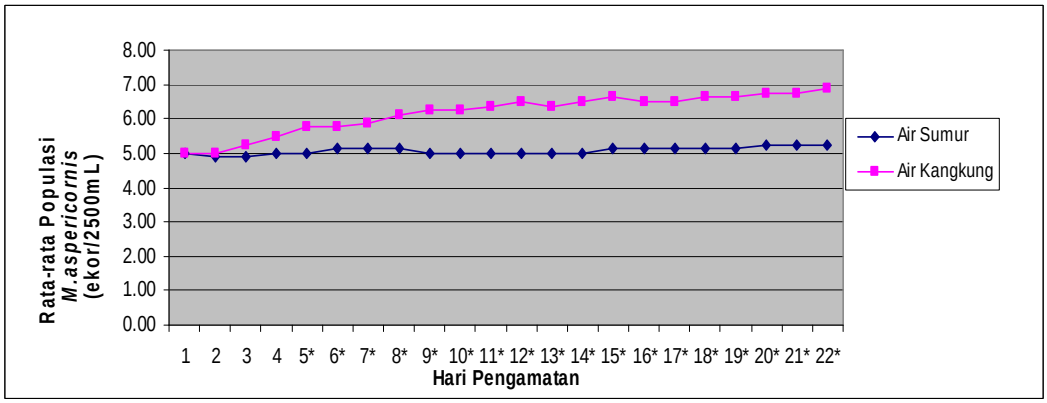
Gambar 4. Grafik Rata-rata Populasi Larva 1-2 *Aedes aegypti* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Kampung Baru

Hasil analisis data populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kelurahan Kampung Baru secara statistika menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) yaitu lebih tinggi pada media air sumur dari pada media air kangkung. Dugaan tersebut sesuai dengan penelitian Yanti (2009), bahwa daya predasi *M. aspericornis* terhadap larva *Ae. aegypti* pada media air sumur lebih tinggi (79%) dibandingkan pada media air kangkung. Hal tersebut menyebabkan populasi larva *Ae. aegypti* pada media air kangkung menjadi lebih tinggi dari pada air sumur. Berdasarkan pendapat Widiastuti dkk. (1995) bahwa kepadatan populasi larva dipengaruhi oleh adannya predator alami dari larva *Ae. aegypti*. *M. aspericornis* merupakan salah satu pemangsa dari larva nyamuk terutama *Aedes*. Larva

yang di mangsa umumnya merupakan larva instar I dan II. Spesies ini dapat memangsa jentik nyamuk sekitar 5 – 10 ekor per hari. Tingginya populasi larva pada media air kangkung selain dipengaruhi oleh adanya predator juga dipengaruhi oleh fase larva *Ae. aegypti*. Fase larva nyamuk pada media air kangkung lebih cepat dibandingkan pada media air sumur. Hal ini disebabkan tersedianya sumber vitamin yang cukup sebagai makanan dari larva sedangkan pada media air sumur kurang tersedia. Dugaan ini berdasarkan pendapat Nazaruddin dalam Yanti (2008) yang menyebutkan bahwa daun kangkung mengandung zat besi, protein, dan lemak. Zat-zat tersebut merupakan sumber makanan bagi larva *Ae. aegypti.*

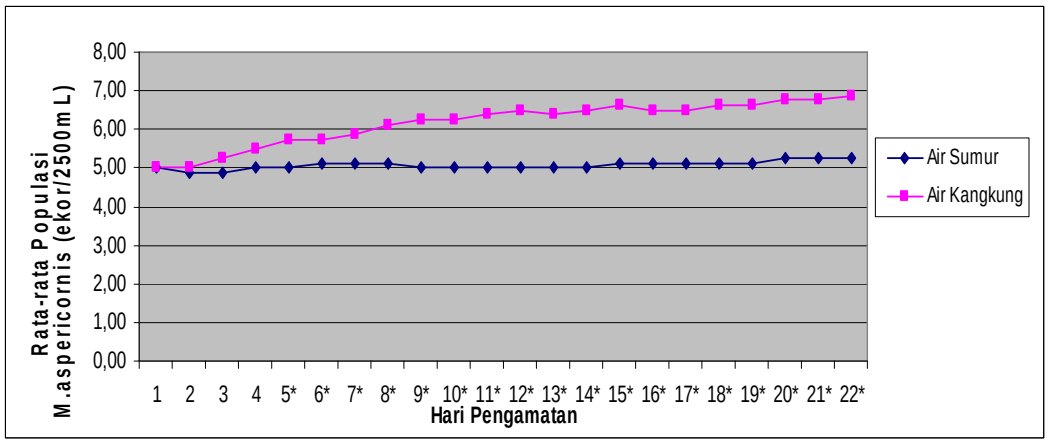
Populasi *Mesocyclops aspericornis*

Hasil pengamatan rata-rata populasi *M. aspericornis* selama 22 hari pengamatan Kelurahan Way Dadi pada media air sumur yaitu sebesar 5,2 ekor / 2500ml, sedangkan pada media air kangkung y itu sebesar 6,5 ekor / 2500ml, secara visual dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Rata-rata Populasi *Mesocyclops aspericornis* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Way Dadi

Hasil pengamatan rata-rata populasi *M. aspericornis* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Kampung Baru pada media air sumur yaitu sebesar 5,1 ekor/ 2500 ml, sedangkan pada media air kangkung 6,2 ekor / 2500ml, secara visual dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Rata-rata Populasi *Mesocyclops aspericornis* selama 22 hari pengamatan di Kelurahan Kampung Baru

Berdasarkan pengamatan perbandingan rata-rata populasi *M. aspericornis* antara media air sumur dan air kangkung Kelurahan Way Dadi dan Kampung Baru secara statistika berbeda nyata (Gambar 14) artinya populasi *M. aspericornis* pada media air kangkung lebih tinggi dibandingkan pada media air sumur. Tingginya populasi *M. Aspericornis* Kelurahan Way Dadi dan Kampung Baru diduga disebabkan tingginya kemelimpahan pakan bagi *M. aspericornis.* Dugaan tersebut didasari oleh penelitian Suwarni (2009), daya reproduksi *M. aspericornis* pada media air kangkung adalah 7 kali pembentukan telur yang mengandung 515, 9 ekor nauplius sedangkan pada media air sawah hanya 2 kali pembentukan kantung telur dengan jumlah nauplius 91,7 ekor. Hal itu juga didukung oleh penelitian yang dilakukan Setyaningrum dkk (2008) bahwa daya reproduksi tertinggi dari *M. aspericornis* diperoleh pada media kangkung dengan rata-rata sebesar 177 ekor larva/10 ml.

Dari hasil tersebut diduga bahwa *M. aspericornis* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dan berkembang (*self sustenance*) baik pada media air sumur maupun pada media air kangkung. Sementara itu bertahannya *M. aspericornis* pada kedua media tidak menyebabkan menurunnya populasi nyamuk *Ae. aegypti* pada kedua media. Hal itu diduga bahwa antara populasi *M. aspericornis* dan populasi nyamuk *Ae. aegypti* tidak berpengaruh antara satu dan lainnya. Menurut Price (1997) dalam Yanti (2009), kemampuan makan predator terhadap mangsa utama akan menurun apabila ada mangsa lain, sehingga besarnya populasi *M. aspericornis* tidak berpengaruh terhadap populasi nyamuk *Ae. aegypti* yang merupakan pakan alami dari *M. aspericornis.*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Populasi nyamuk *Ae. aegypti* pada media air kangkung cenderung lebih tinggi daripada media air sumur baik di Kelurahan Way Dadi maupun di Kelurahan Kampung Baru
2. Populasi *M. aspericornis* pada media air kangkung cenderung lebih tinggi daripada media air sumur baik di Kelurahan Way Dadi maupun di Kelurahan Kampung Baru.

DAFTAR PUSTAKA

Arifah, S. 2008. *Hubungan Pengetahuan dengan Perilaku Pemberantasan Sarang Nyamuk dalam Upaya Pencegahan Penyakit Demam Berdarah di Desa Kliwonan Masaran Sragen.* Sripsi S1 Keperawatan. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhamaddiyah Surakarta. Surakarta.

Insyani, A. Y., 2009. *Siklus Hidup Mesocylops aspericornis pada media buatan (Rendaman Kangkung) dan Alami (Air sawah).* Skripsi Sarjana. Jurusan Biologi. FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Setyaningrum, F.X. Susilo, dan S. Murwani. 2008. Pemanfaatan *Mesocylops sp: (Copepoda) Sebagai Agen Pengendali Hayati Untuk mengendalikan Vektor Penyakit Malaria dan Demam Berdarah di Lampung.* Laporan Tahunan Hasil Penelitian Hibah bersaing XVI / I. FMIPA UNILA. Bandar Lampung.

Supartha, I. W., *Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, Aedes aegypti (Linn.) dan aedes albopictus (Skuse) (Diptera : Culicidae).* Jurnal Pertemuan Ilmiah, 3-6 September 2008. Universitas Udayana. Denpasar.

Susilo, FX. 2007. *Pengendalian Hayati dengan Memberdayakan Musuh Alami Hama Tanaman*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

Suwarni, S. 2009. *Daya Reproduksi Mesocylops aspericornis Dalam Media Rendaman Kangkung (Ipomoea batatas Forsk.) Dan Air Sawah*. Skripsi Sarjana. Jurusan Biologi. FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Widyastuti, U, R.A. Yuniarti dan Widiarti. 1995. Efektifitas *Mesocylops aspericornis (Copepoda : Cylopoida) terhadap Jentik Aedes aegypti pada Berbagai tipe penampunngan air.* Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga 56.

Wijaya, S., Darsono, F. D., 2004. *Uji Efek Bioinsektisida Ekstrak Daun Sirih Terhadap Nyamuk Aedes aegypti Linn. Dalam Pelarut Polar dan Non Polar*. Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala. Surabaya.

Williamson, CE. 1991. *Copepoda. In Ecology and classification of North America Freshwater Invertebrates*. Academi C Press Inc. 787-822.

Yanti, Febri. 2009. *Uji Daya Predasi Mesocylops aspericornis Terhadap Larva Aedes aegypti di Laboratorium.* Skripsi Sarjana. Jurusan Biologi. FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Yuniarti, R.A., U. Widyastuti dan N. Sustriayu 1995. *Pengaruh Kepadatan Dan Spesies Jentik Nyamuk Terhadap Kemampuan Makan Mesocylops (Copepoda : Cylopoida)*. Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit. Salatiga.

PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMBANG SUNGSANG (*Glorisa superb* L) TERHADAP INDEKS MITOSIS SEL AKAR KECAMBAH CABAI MERAH (*Capsicum annum* L)

Eti Ernawiati, Sri Wahyuningsih, Yulianty
Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandara Lampung 35145
ernawiati@unila.ac.id.

ABSTRAK

Kolkisin merupakan senyawa alkaloid yang umum digunakan untuk menghambat pembelahan sen (antimitosis). Daun kembang sungsang mengandung senyawa kolkisin yang cukup besar,yaitu 0,44 %. Kandungan kolkisin tersebut dapat dimanfaatkan sebagai biomutagen yang prospektif untuk menghambat mitosis dan mengahsilkan sel poliploid. Indeks mitosis dapat digunakan sebagai salah satu indikator proses mitosis yang terjadi pada suatu sel. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi ekstrak daun dan waktu perendaman yang optimum menghambat mitosis. Pembuatan ekstrak daun menggunakan metode ekstraksi dan metode pengenceran digunakan untuk menentukan konsentrasi perlakuan. Preparasi mitosis menggunakan metode squash. Penelitian disusun secara factorial dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 ulangan. Faktor pertama, konsentrasi ekstrak daun (0, 20,40, 60, dan 80 %), faktor kedua, waktu perendaman benih cabai dalam ekstrak (24, 48 dan 72 jam). Analisis Ragam dan uji lanjut DMRT digunakan untuk menganalisis data yang terkumpul.

Hasil Pengamatan diperoleh bahwa indeks mitosis menampakan kecenderungan menurun sejalan meningkatnya konsentrasi dan waktu perendaman, meskipun tidak konstan. Indeks mitosis tertinggi yaitu 5,193 % terdapat pada konsentrasi 0 % selama 24 jam, dan terendah 1,928 % terdapat pada konsentrasi 80 % selama 48 jam. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak daun 80 % selama 48 jam merupakan kombinasi terbaik untuk menghambat mitosis pada sel akar kecambah cabai merah.

Kata Kunci: *Gloriosa superba*, kolkisin, mitosis

PENDAHULUAN

Kembang sungsang (*Gloriosa superba* L) termasuk dalam tanaman obat-obatan yang cukup terkenal di dunia dan telah diberdayakan secara intensif dalam bidang kesehatan, misalnya di India. Sebaliknya, tanaman ini kurang dikenal bahkan cenderung sulit ditemukan di Indonesia. Hal ini dapat dilihat dari minimnya literature yang menelaah potensi dan pemanfaatan tanaman ini, baik dalam bidang kesehatan maupun bidang genetika. Selain itu, pengalaman dan pengamatan langsung diperoleh fakta bahwa masyarakat, khususnya di Lampung umumnya tidak mengenal tanaman ini, apalagi potensi dan pemanfaatannya. Meskipun demikian, tanaman ini memiliki beberapa nama lokal, yaitu kembang jonggrang atau kembang kuku macan (Jakarta), ketongkat atau kembang sungsang (Sunda) dan Mandalika (Bali). Sedangkan, nama umum yang dikenal di dunia adalah Flame lily, glory lily, gloriosa lily, tiger claw, isimiselo, vlamlelie, atau riri vavaimoa (Anonim, 2006, Acharya *et al*, 2005).

Kembang sungsang mengandung senyawa kolkisin di hampir seluruh bagian tanamannya (Anonim, 2006 dan Acharya *et al*, 2005), khususnya daun mengandung kolkisin sebanyak 0,44 % (Isnawati dan Arifin, 2007). Kandungan kolkisin yang cukup banyak pada daun kembang sungsang dapat dimanfaatkan sebagai mutagen alami (biomutagen) yang potensial. Kolkisin dikenal secara luas sebagai senyawa antimitosis, yaitu mampu menghambat proses mitosis dengan cara menghambat pembentukan benang gelendong sehingga kromosom yang telah mengganda pada saat profase tidak dapat ditarik ke kutub yang berlawanan dan kromosom tetap menyebar di dalam sel, pembentukan membrane sel baru juga dihambat dan akhirnya menyebabkan sel memiliki jumlah kromosom yang berlipat (poliploid) (Addink, 2002). Selain perubahan jumlah kromosom, penghambatan mitosis dari kolkisin juga dapat dilihat dari laju mitosis (indeks mitosis). Kolkisin diketahui dapat menurunkan indeks mitosis pada sel akar bawang merah (Rajening, 2005), bawang Bombay (Ernawiati, 2008), cabai merah (Ernawiati, 2007).

Sel poliploid yang terbentuk akibat induksi dengan kolkisin ditentukan oleh konsentrasi dan waktu perlakuan yang tepat, serta jenis dan bagian tanaman target. Dari banyak literature dikatakan bahwa setiap tanaman memiliki rentang konsentrasi dan waktu perlakuan tersendiri untuk menimbulkan poliploid. Pemberian dosis tinggi dan waktu yang lama dapat berdampak buruk terhadap tanaman, bahkan bisa menyebabkan kematian. Sebaliknya, dosis rendah dan waktu yang singkat menyebabkan tingkat ploidi tidak tercapai (Sari dan Kazim, 1996). Mengingat hal ini, maka penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi konsentrasi ekstrak daun kembang sungsang dan waktu perendaman benih cabai yang mampu menghambat mitosis (antimitosis) dan terbentuknya sel poliploid pada cabai merah.

METODE PENELITIAN

Daun kembang sungsang diperoleh dari halaman rumah penduduk di Bandar Lampung, Lampung. Pembuatan ekstrak daun menggunakan metode ekstraksi dari Harbone (1996), dan metode pengenceran digunakan untuk menentukan konsentrasi perlakuan. Benih cabai sebanyak 60 buah direndam dalam ekstrak daun dan dikecambahkan dalam cawan petri sampai tumbuh akar sepanjang 3-5 cm. Penelitian ini disusun secara faktorial dalam rancangan acak lengkap (RAL) dan diulang sebanyak 4 kali. Faktor pertama, konsentrasi ekstrak: 20 %, 40 %, 60 %, 80 % dan 1 kontrol (0 %), factor kedua, waktu perendaman : 24, 48 dan 72 jam.

Preparasi mitosis menggunakan metode yang telah dimodifikasi dari Jahier *et al* (1996) dan Gunarso (1989). Ujung akar kecambah cabai dipotong sepanjang 3 – 5 mm dan dimasukkan ke dalam *cold water* (akuades yang telah dibekukan selama 15 menit), selanjutnya taruh ke dalam lemari es dengan suhu 5^0 C selam 10 menit dan dicuci dengan akudes. Potongan akar berikutnya difiksasi dengan asam asetat 45 % selama 15 menit pada suhu 5^0 C, kemudian dicuci dengan akudes untuk menghilangkan fiksatif. Setelah itu, ujung akar dimaserasi dengan larutan HCl 1 N pada suhu 55^0 C selama 10 menit dan dibersihkan dengan akudes. Sampel selanjutnya diwarnai dengan *acetoorcein* 1 %. Sedian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 X dan sediaan yang baik difoto dengan kamera digital. Nilai indeks mitosis dhitung menggunakan rumus dari Pandey et al (1994) sebagai berikut:

$$IM = \frac{\text{Jumlah sel dalam fase mitosis}}{\text{Jumlah total sel yang diamati}} \times 100\ \%$$

Data yang terkumpul dianalisis menggunakan ANARA dan jika ada pengaruh maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

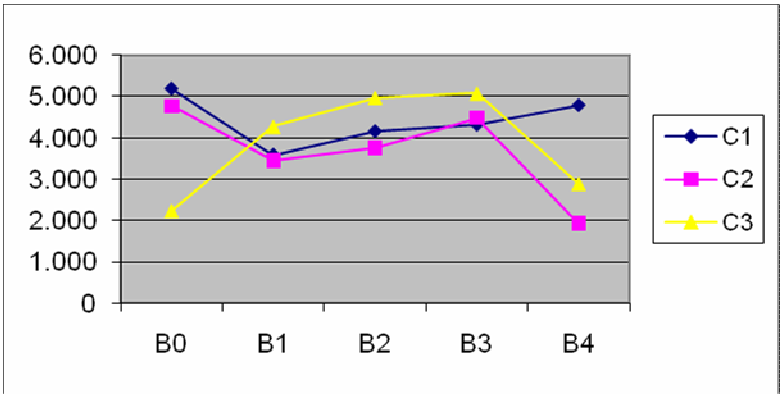
Hasil analisis menunjukkan bahwa Pemberian ekstrak daun kembang sungsang dengan konsentrasi dan waktu perendaman yang bervariasi mempengaruhi indeks mitosis secara nyata, sebaliknya pengulangan perlakuan memberikan pengaruh yang sama terhadap indeks mitosis. Hasil analisis Anara selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini:

Hasil uji lanjut yang tertera dalam Tabel 2 memberikan gambaran indeks mitosis yang cukup bervariasi pada setiap konsentrasi dan waktu perendaman yang dilakukan. Indeks mitosis menampakan kecenderungan menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi pada perendaman selama 24 dan 48 jam. Namun, perendaman selama 72 jam menunjukkan kecenderungan mengikuti kurva normal, yaitu pada kontrol indeks mitosis rendah kemudian terus meningkat sampai konentrasi 60 %, selanjutnya menurun pada konsentrasi 80 %. Indeks mitosis akar kecambah cabai merah dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Ragam Indeks Mitosis Sel Akar Kecambah Cabai Merah Setelah Perendaman dalam Ekstrak Daun Kembang sungsang

SK	dB	JK	KT	F_{Hitung}	$F_{\alpha=5\ \%}$
Ulangan	3	0,101	0,034	$0,133^{tn}$	2,830
Kombinasi	14	57,521	4,109	$16,252^{**}$	1,940
Konsentrasi	4	14,085	3,521	$13,928^{**}$	2,590
Waktu	2	5,620	2,810	$11,115^{**}$	2,320
Interaksi	8	37,816	4,727	$18,698^{**}$	2,170
Galat	42	10,618	0,253		
Total		5968,239			

Keterangan: tn = tidak berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata



Gambar 1. Nilai rata-rata indeks mitosis sel akar kecambah cabai merah setelah perendaman dalam ekstrak daun kembang sungsang

Keterangan : B0 = konsentrasi ekstrak 0 %, B1 = konsentrasi ekstrak 20 %, B2 = konsentrasi ekstrak 40 %, B3 = konsentrasi ekstrak 60 %, B4 = konsentrasi ekstrak 80 %,
C1 = perendaman selama 24 jam, C2 = perendaman selama 48jam,
C3 = perendaman selama 72 jam.

Dari kurva di atas dapat diketahui bahwa kolkisin yang terkandung dalam ekstrak daun kembang sungsang ternyata cukup efektif digunakan untuk menghambat mitosis(antimitosis) pada sel meristematis (sel embrionik pada benih) cabai. Efektifitas penghambatan laju mitosis dapat diindikasikan oleh indeks mitosis yang lebih kecil dibandingkan sel tanaman kontrol. Sedar *et al* (1947) menjelaskan bahwa kolkisin mampu menghentikan mitosis dengan cara merusak benang gelendong, yakni menyebarkan bagian dari unit-unit yang menyusun benang gelendong. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lama perlakuan (kontak) dengan mutagen akan menyebabkan material benang gelendong kehilangan orientasi dan merubah bentuk normal kromosom. Pendapat senada dikatakan Zolock (2003) bahwa kolkisin menyebabkan terputusnya (depolimerasi) protein mikrotubula yang membentuk benang gelendong.

Tabel 2. Hasil Analisis DMRT terhadap Indeks Mitosis Sel Akar Kecambah Cabai Merah Setelah Perendaman Dalam Ekstrak Daun kembang Sungsang

Waktu	Konsentrasi					Rerata
	0 %	20 %	40 %	60 %	80 %	BNJD W= 0,587
24 jam	5,193 ^{a}	3,585 ^{bc}	4,156 ^{b}	4,314 ^{ab}	4,790 ^{ab}	4,407
48 jam	4,773 ^{ab}	3,450 ^{bc}	3,765 ^{bc}	4,479 ^{ab}	1,928 ^{c}	3,679
72 jam	2,232 ^{c}	4,274 ^{ab}	4,997 ^{ab}	5,079 ^{ab}	2,887 c	3,890
Rerata BNJD K= 4,55	4,066	3,770	4,299	4,624	3,201	BNJD KW= 1,017

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada α = 5 %

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa ekstrak daun kembang sungsang cukup efektif digunakan sebagai biomutagen yang mampu menghambat mitosis (antimitosis). Konsentrasi ekstrak daun 80 % selama 48 jam merupakan kombinasi yang terbaik untuk menghambat mitosis pada sel akar kecambah cabai merah dengan indeks mitosis sebesar 1,928 %.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penul;is mengucapkan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada DP2M DIKTI dalam program Penelitian Hibah Bersaing tahun 2010 yang telah member dana dan mahasiswa-mahasiswa yang tergabung dalam tim penelitian "*Gloriosa club*" atas bantuan dan kerjasamanya sehingga penelitian ini berhasil dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Acharya, D., S. Shrivastava, dan G. S. Wed. 2005. *Gloriosa superba* : Naturally a Handsome Herb.http://www.disabled-world.com/artman/publish/glori.shtml. 21/03/ 2005.

Addink, W. 2002. *Colchicin*e. http://actahort.org/books/502/502- 27. htm. 18/06/ 2004.

Anonim. 2006 a. Tanaman Obat Indonesia. http://www.Iptek.net.id/pd.tanobat/view. 08/12/2006.

Crowder, L.V. 1997. Genetika Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Lilik Kusdiarti. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Ernawiati, E. 2007. Efek Antimitosis Ekstrak Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* L.) terhadap Pembelahan sel Akar Tanaman Cabai Merah. Jurnal Sains dan Teknologi edisi khusus 13 (1).

_____. 2008. Pengaruh Ekstrak Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* L.) Terhadap Pembelahan sel Akar Umbi Bawang Bombay (*Allium cepa* L.). Jurnal Sains MIPA 14 (2). Hal. 129 – 132.

Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K dan Soediro. I. ITB. Bandung.

Pandey, R., R.Shukla, dan S. Datta. 1994. Chromosome effects of one fungicide (dithane M-45) and two insecticides (aldrex-30 and metacid-50**).** Cytologia. 59 : 419-422.

Rajening, N.K. 1995. Efek antimitotik ekstrak rimpang kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) pada ujung akar bawang merah. http://Iptek.apjii.or.id/artikel/ttg.tanaman-obat/depkes-2/buku10.pdf 12/5/2006.

Sari, N dan K. Abak. 1996. Effect of colchicine treatment with different doses and periods on in vitro chromosome doublication i haploid watermelon. Abstrak. Turk.J.Agric. For., 20. iss.6. 555 – 559.

Sedar, A.W. and D.F. Wilson. 2010. Electron Microscope Studies on The Normal and Colchicinized Mitotic Figure of The Onion Root Tip (Allium cepa). Departement of Zoology, and Radiation Research Laboratory. State University of Iowa. Iowa City. USA. P. 107 – 115.

Suryo. 1995. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 217 – 225.

Zolock, S.A. 2003. Polyploid in Daylily and Hosta.

EFEK BIOMUTAGEN EKSTRAK UMBI KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L.) TERHADAP VIABILITAS POLEN DAN PRODUKSI CABAI MERAH (*CAPSICUM ANNUM* L.)

Sri Wahyuningsih, Eti Ernawiati, Yulianty
Jurusan Biologi FMIPA Unila
Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro no. 1 Bandar Lampung

ABSTRAK

Kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) merupakan tanaman yang mengandung alkaloid kolkisin yang dapat digunakan sebagai biomutagen alami. Senyawa kolkisin dapat digunakan untuk menginduksi tanaman poliploid yang mempunyai ciri di antaranya ukuran sel, organ, serta produksi tanamannya meningkat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak umbi kembang sungsang terhadap viabilitas polen dan produksi buah. Selain itu juga untuk menentukan konsentrasi dan lama perendaman benih dalam ekstrak umbi kembang sungsang yang optimum, yang dapat meningkatkan viabilitas polen dan produksi buah cabai merah. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola faktorial. Faktor pertama yaitu konsentrasi yang terdiri dari 5 taraf (0%, 20%, 40%, 60%, 80%) dan faktor kedua yaitu lama perendaman yang terdiri dari 3 taraf (24 jam, 48 jam, 72 jam). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali ulangan. Semua data yang diperoleh dianalisis ragam kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5 %.
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi konsentrasi ekstrak umbi kembang sungsang 40% dan lama perendaman 24 jam yang optimum untuk menghasilkan diameter polen terbesar dan produksi buah tertinggi atau dapat dikatakan paling meningkatkan viabilitas polen dan produksi tanaman cabai merah.

Kata kunci: *Gloriosa superba*, tanaman cabai, kolkisin.

PENDAHULUAN

Tanaman cabai merupakan tanaman semusim yang buahnya banyak digunakan oleh masyarakat. Permintaan cabai dari tahun ke tahun senantiasa meningkat. Meningkatnya industri berbahan baku cabai dan cabai untuk diekspor juga meningkatkan kebutuhan cabai di Indonesia. Kebutuhan buah cabai yang begitu tinggi ini belum diimbangi oleh produksi cabai yang ada dewasa ini (Warisno dan Dahana, 2010). Untuk mengatasi hal ini maka salah satu caranya melalui kegiatan pemuliaan tanaman cabai. Dengan pemuliaan tanaman cabai, diharapkan muncul kultivar cabai unggul baru yang mempunyai sifat-sifat yang diinginkan seperti produktivitasnya tinggi, cepat berbuah, serta tahan terhadap penyakit (Harpenas dan Darmawan, 2010).

Kembang sungsang merupakan salah satu tanaman obat yang banyak diteliti. Kebanyakan penelitian mengarah pada efek farmakolologis, kesehatan, tetapi belum banyak penelitian ke arah biologi reproduksi tanaman. Seluruh bagian tanaman kembang sungsang mengandung senyawa aktif kolkisin 0,1–0,8% (Addink, 2002), dan pada umbinya dikatakan mengandung kolkisin 0,3% (Anonim, 2004; Acharya *et al*., 2005). Kolkisin berfungsi sebagai antimitosis yaitu menghambat terbentuknya benang gelendong dan pemisahan kromosom pada tahap anafase padawaktu pembelahan sel, sehingga

mengakibatkan jumlah kromosom berlipat tanpa adanya pembentukan dinding sel sehingga sel bersifat poliploid (Crowder, 1993 dan Cahill, 2007).

Efek kolkhisin pada tanaman dapat mengakibatkan terbentuknya tanaman poliploid. Tanaman poliploid mempunyai ciri di antaranya penampakan morfologi tanaman lebih kekar, stomata lebih besar, sel-sel lebih besar, daun lebih lebar, tanaman lebih tahan terhadap perubahan lingkungan, dan produksinya lebih tinggi (Sutrian, 1992 dan Soedjono, 2003). Pembuatan tanaman poliploid cabai merah telah dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak umbi kembang sungsang pada benih cabai merah. Penelitian Wahyuningsih dkk. (2009), menyimpulkan bahwa perendaman benih cabai merah dalam berbagai konsentrasi ekstrak umbi kembang sungsang dapat meningkatkan persentase perkecambahan polen dan produksi buah. Selain itu Ernawiati dkk. (2008), menyatakan juga dapat meningkatkan tinggi tanaman dan luas daun.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan tersebut maka untuk memperoleh kajian lebih mendalam, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan berbagai kombinasi konsentrasi dan lama perendaman benih dalam ekstrak umbi kembang sungsang karena menurut Crowder (1993) dan Suryo (1995) setiap jenis tanaman mempunyai tanggapan berbeda terhadap konsentrasi kolkisin yang diperlukan dan lama waktu perlakuan untuk mengubah komposisi kromosom.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – September 2010 di laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila.

Ekstrak umbi kembang sungsang dibuat berdasarkan metode secara fitokimia (Harborne, 1987). Konsentrasi larutan berisi ekstrak umbi kembang sungsang yang dibuat untuk perlakuan yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%. Sebanyak 60 benih cabai direndam dalam ekstrak umbi kembang sungsang pada masing-masing cawan petri dengan kombinasi konsentrasi : 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% dan lama perendaman selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Benih dikecambahkan dalam cawan petri yang dialasi kertas saring dan dibasahi aquades. Benih yang sudah berkecambah dipindahkan ke bak semaian plastik. Setelah berumur lebih kurang 2 minggu kemudian dipindahkan ke dalam pot yang berisi media tanam (campuran tanah : pupuk kandang =1:1).. Tanaman kemudian disiram pagi dan sore.

Setelah tanaman berbunga dilakukan pengamatan parameter diameter polen, persentase perkecambahan polen, dan jumlah buah. Polen diambil dari stamen bunga mekar masing-masing perlakuan. Polen diwarnai dengan safranin dan diukur diameternya dengan mikrometer okuler yang sudah ditera. Pengamatan persentase perkecambahan polen dilakukan pada polen yang dikulturkan di media kultur (Sriyati, 1995). Jumlah buah dihitung berdasarkan rerata jumlah buah yang terbentuk pada setiap tanaman yang berumur 4 bulan.

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan pola faktorial. Faktor pertama yaitu konsentrasi yang terdiri dari 5 taraf (0%, 20%, 40%, 60%, 80%) dan faktor kedua yaitu lama perendaman yang terdiri dari 3 taraf (24 jam, 48 jam, 72 jam). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali ulangan. Semua data yang diperoleh dianalisis ragam kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

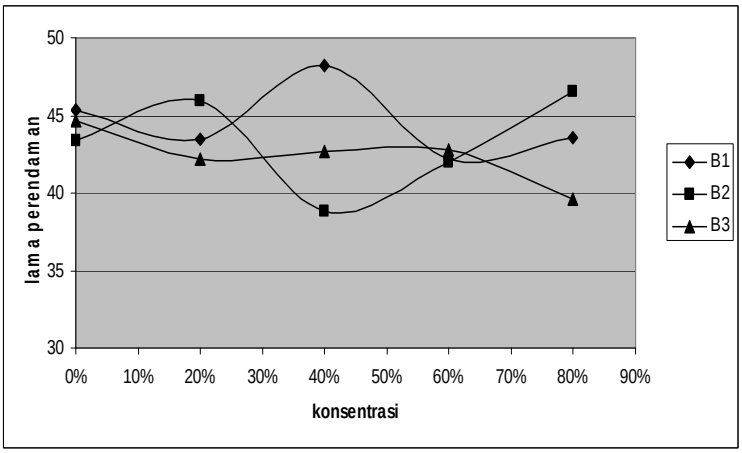
Hasil pengamatan terhadap diameter polen dapat dilihat pada tabel 1 dan Grafik 1.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman terhadap diameter polen

	Konsentrasi Ekstrak				
	A0 (0%)	A1 (20%)	A2 (40%)	A3 (60%)	A4 (80%)
B1 (24 jam)	45,35 ab	43,49 ab	**48,22 b**	42,22 ab	43,60 ab
B2 (48 jam)	43,41 ab	45,97 ab	**38,81 a**	41,99 ab	46,54 ab
B3 (72 jam)	44,68 ab	42,19 ab	42,64 ab	42,81 ab	39,56 ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5 %

Dari tabel 1 dan grafik 1 terlihat bahwa konsentrasi 40% dan lama perendaman 24 jam menghasilkan diameter polen paling besar, sehingga dapat dikatakan terbentuk polen yang bersifat poliploid. Ini sesuai dengan yang dinyatakan Tate *et al.* (2009) dan Rauf *et al*. (2006) bahwa peningkatan ploidi menyebabkan diameter polen bertambah besar. Penambahan diameter ini diakibatkan bertambahnya jumlah kromosom atau DNA inti sel dan protein-protein yang terbentuk akibat adanya lebih banyaknya gen, dan bertambahnya sitoplasma sel (Rauf *et al*., 2006 dan Haouala *et al.*, 2009).



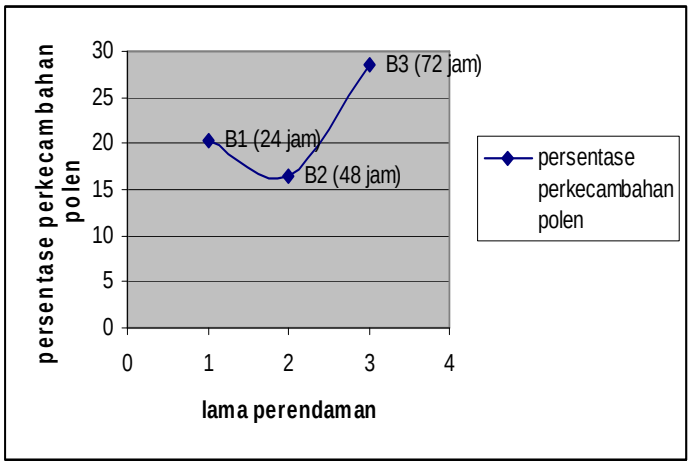
Grafik 1. Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman terhadap diameter polen

Seluruh kombinasi konsentrasi dan lama perendaman memberikan respon yang sama terhadap persentase perkecambahan polen, tetapi lama perendaman memberikan respon yang nyata. Lama perendaman 72 jam menghasilkan persentase tertinggi yaitu 28,51%. Hasil pengamatan terhadap persentase perkecambahan polen dapat dilihat pada tabel 2 dan grafik 2.

Tabel 2. Pengaruh lama perendaman terhadap persentase perkecambahan polen

Lama perendaman	Persentase perkecambahan polen
B1 (24 jam)	20,33 a
B2 (48 jam)	16,34 a
B3 (72 jam)	**28,51 b**

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5 %



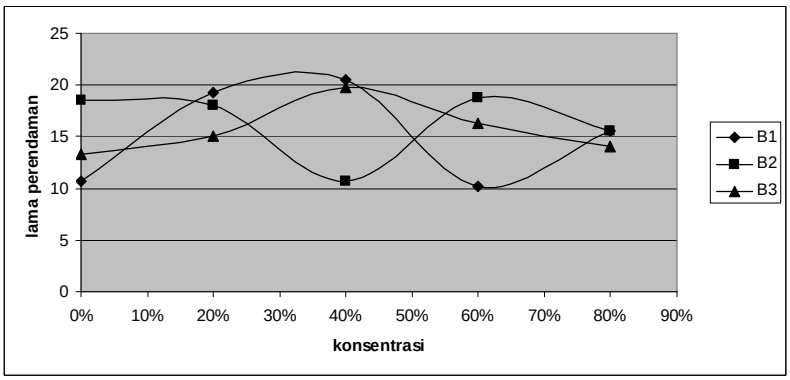
Grafik 2. Pengaruh lama perendaman terhadap persentase perkecambahan polen

Hasil pengamatan terhadap produksi buah disajikan pada tabel 3 dan Grafik 3. Apabila melihat data hasil produksi buah cabai nampak bahwa hasil buah terbanyak pada konsentrasi 40% dan lama perendaman 24 jam (A2B1), diameter polen terbesar pada konsentrasi 40% dan lama perendaman 24 jam, sedangkan persentase perkecambahan polen tertinggi pada lama perendaman 72 jam. Berdasarkan hasil tersebut berarti meskipun A2B1 persentase perkecambahan polennya bukan tertinggi tetapi dapat menghasilkan buah terbanyak. Jadi besarnya diameter polen poliploid berkaitan dengan jumlah buah yang terbentuk. Hal ini karena kolkisin pada konsentrasi-konsentrasi yang mendorong hilangnya mikrotubul-mikrotubul sel generatif dan tabung polen, tidak mempengaruhi perkecambahan polen, aliran sitoplasma, atau pertumbuhan tabung polen (Shivanna dan Johri, 1985). Selain itu juga tidak mempengaruhi kapasitas penetrasi

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman terhadap produksi buah

	A0 (0%)	A1 (20%)	A2 (40%)	A3 (60%)	A4 (80%)
B1 (24 jam)	10,75 ab	19,25 ab	**20,5 b**	**10,25 a**	15,5 ab
B2 (48 jam)	18,5 ab	18 ab	10,75 ab	18,75 ab	15,5 ab
B3 (72 jam)	13,25 ab	15 ab	19,75 ab	16,25 ab	14 ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5 %



Grafik 3. Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman terhadap produksi buah

tabung polen (Anonim. 2007). Kolkisin menghilangkan mikrotubul dari sel generatif dan tabung polen, tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan memanjang atau bentuk tabung polen, juga tidak mempengaruhi perpindahan nukleus vegetatif dan sel generatif ke dalam tabung polen. Dengan demikian sperma tetap dapat dihantarkan untuk membuahi sel telur, sehingga proses pembuahan dapat terjadi (Heslop-Harrison *et al*., 1988).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 40% dan lama perendaman 24 jam paling optimum untuk meningkatkan viabilitas polen dan menghasilkan tanaman cabai merah yang produksi buahnya terbanyak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dikti yang telah memberikan dana penelitian hibah bersaing tahun 2010 sehingga penelitian ini dapat selesai. Diucapkan terimakasih juga kepada Nining Ariani, Lies Maulani, Marghareta, Ari Astuti, Wulan, Resty, dan Tomi Amrullah atas bantuannya selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Addink, W. 2002. *Colchicine Used in Plant Breeding Work to Induce Mutations (Polyploidy).* http://biotech.icmb.utexas.edu/botany/calch.html.09/06/2006.

Anonim. 2004. *Climbing lily*. http://www.pier@hear.org/html. 24/12/2006.

Anonim. 2007. *The structural role of actin filaments and microtubules in anisotropic plant cell growth*. http://www.irbv.umontreal.ca/image/projet/ olivier050304.pdf.

Cahill,T. 2007. *Propagation-Colchicine treatment and toxic.* http://www.carnivorousplants.org/howto/Propagation/Colchicine.php.03/08/2007.

Crowder, L. V. 1993. *Genetika Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm.297-308.

Haouala, R. S. Ouerghemmi, A. Tarchoune, N. Boughanmi. 2009. Improvement of *Trigonella maritima* Delilee X. Poir. germination by polyploidization. *Pak. J. Bot.,* 41(6): 3001-3008.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan.* ITB. Bandung. 353 Hlm.

Harpenas, A. dan R. Dermawan. 2010. *Budidaya Cabai Unggul.* Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm. 14.

Heslop-Harrison, J. , Y. Heslop-Harrison, M. Cristi, A. Tiezzi, and A. Moscatelli. 1988. Cytoskeletal elements, cell shaping and movement in the angiosperm pollen tube. *Journal of Cell Science*. 91:49-60.

Rauf, S., I. A. Khan, F. A. Khan. 2006. Colchicine-Induced Tetraploidy and Changes in AlleleFrequencies in Colchicine-Treated Populations of Diploids Assessed with RAPD Markers in *Gossypium arboreum* L. *Turk. J. Biol*. 30: 93-100.

Shivanna, K.R. dan Johri, B.M. 1985. *The Angiosperm Pollen Structure and Function*. John Wiley & Sons. New York. Hlm. 143-162.

Sriyati, S. 1995. *Biologi Reproduksi Pada Leucaena leucocephala (*Lam*.)* de Wit *dan Leucaena diversifolia* (Schlecht.) Benth. Tesis Pasca Sarjana Biologi ITB. Bandung. Hlm. 20.

Suryo. 1995.*Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 254-258.

Tate, J. A., V. V. Symonds, A. N. Doust, R. J. A. Buggs, E. Mavrodiev, L. C. Majure, P. S. Soltis, and D. E. Soltis. 2009. Synthetic polyploids of *Tragopogon miscellus* and *T. mirus* (Asteraceae): 60 Years After Ownbey's discovery. *American Journal of Botany*. 96: 979-988.

Warisno dan K. Dahana. 2010. *Peluang Usaha dan Budidaya Cabai*. PT Gramedia. Jakarta. Hlm. 11-12.

PEMANFAATAN UMBI KEMBANG SUNGSANG (*Gloriosa superba* L.) DALAM MENEKAN PERKEMBANGAN JAMUR *Colletotricum capsici* PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA TANAMAN CABAI KERITING (*Capsicum annuum* L.)

Oleh : Yulianty, Eti Ernawiati, Sri Wahyuningsih
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

ABSTRAK

Penyakit antraknosa adalah penyakit yang banyak menyerang cabai, penyebab penyakit ini adalah jamur *Colletotrichum capsici* . Untuk mengendalikan penyakit ini banyak digunakan fungisida sintetik, namun penggunaan fungisida sintetik ini dikuatirkan dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Untuk mengendalikan penyakit antraknosa dapat digunakan ekstrak botani seperti ekstrak umbi kembang sungsang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan mengetahui konsentrasi serta lama perendaman ekstrak umbi kembang sungsang yang optimum untuk menekan perkembangan jamur *C. capsici*. Analisis Statistika dilakukan terhadap Diameter Bercak, Intensitas Serangan dan Jumlah Konidia. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola faktroial yang teridiri dari dua faktor yaitu faktor A (konsentrasi) terdiri atas 5 taraf konsentrasi (0, 20%, 40%, 60%, dan 80%) dan faktor B(lama perendaman) terdiri atas 3 taraf (24 jam, 48 jam, 72 jam).

Berdasarkan analisis ragam dan Uji Duncan untuk Diameter Bercak yang terkecil diperoleh dari kombinasi perlakuanA3B2 (konsentrasi 60% dengan lama perendaman 48 jam) yaitu sebesar 0,24 cm. Untuk Intensitas Serangan lama perendaman yang terbaik adalah lama perendaman 24 jam (B1)sebesar 47,92%, sedangkan untuk jumlah konidia kombinasi perlakuan yang terbaik terdapat pada A3B3 (konsentrasi 60% dengan lama perendaman 72 jam) sebesar 2,07 sel/ml (antilog 117,49 sel/ml)

Kata Kunci : *Capsicum annuum*, *Colletotrichum capsici*, Kembang sungsang.

PENDAHULUAN

Tanaman cabai atau lombok termasuk ke dalam suku Solanaceae. Tanaman yang masih sekerabat dengan cabai antara lain kentang (*Solanum tuberosum* L.), terung (*Solanum melongena* L.), leunca (*Solanum nigrum* L.), takokak (*Solanum torvum* Swartz.) dan tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). (Tarigan dan Wiryanta, 2003). Selain berguna sebagai penyedap masakan, cabai juga mengandung zat-zat gizi yang sangat diperlukan untuk kesehatan manusia. Cabai mengandung banyak gizi yang baik untuk kesehatan, mulai dari karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan mineral. Selain itu mengandung senyawa-senyawa alkaloid, seperti capsaicin, flavonoid, dan minyak esensial (Prajnanta, 2005; Warisno dan Dahana, 2010).

Antraknosa adalah penyakit terpenting yang menyerang cabai di Indonesia. Penyakit ini menyerang tanaman pada semua tahap pertumbuhan atau pada saat panen. Gejala yang ditimbulkan beupa bercak atau noda lekukan berwarna coklat dengan diameter bercak

dapat mencapai 30 mm. Penyakit ini disebabkan oleh *Colletotrichum* spp. Empat jenis Colletotrichum yang menyebabkan penyakit ini adalah *C. gloeosporioides*, C. c*apsici*, *C. coccodes* dan *C. acutatum* (Chen Baoli, 2005; Cerkauskus, 2004).

Pengendalian penyakit antraknosa banyak menggunakan fungisida sintetik. Namun penggunaannya sangat mengkhawatirkan, karena dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Sehingga diperlukan suatu upaya untuk mengatasi hal ini, yaitu salah satu alternatifnya adalah penggunaan ektrak tumbuhan yang cukup efektif dan tidak mengganggu lingkungan. Menurut Syamsuddin (2003), penggunaan minyak cengkeh dapat menghambat perkembangan jamur *Colletotrichum capsici*. Selain tanaman cengkeh, tanaman kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) juga mempunyai kandungan senyawa alkaloid yang bersifat toksik yaitu kolkisin, dan alkaloid toksik lain yaitu gloriosin (Jaeger *et. al*. ; Acharya *et. al*., 2005). Kandungan kolkisin di hampir seluruh bagian tanaman ini merupakan potensi yang besar untuk digunakan sebagai mutagen, karena senyawa ini dapat digunakan untuk menginduksi terjadinya tanaman poliploid (Addink, 2002).Tanaman poliploid umumnya mempunyai jumlah kromosom lebih banyak dibanding tanaman diploid. Tanaman kelihatan lebih kekar, baik sel-selnya maupun inti selnya. Pertambahan jumlah kromosom juga dapat meningkatkan kandungan protein dan vitamin, tekanan osmotik berkurang, pembelahan sel terhambat dan masa vegetatif lebih panjang (Crowder, 1997).

Dari uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan umbi kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) untuk menekan perkembangan jamur *Colletotrichum capsici* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai merah (*Capsicum annuum* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak umbi kembang sungsang dan menentukan konsentrasi dan lama perendaman yang efektif dalam menekan perkembangan jamur *Colletorichum capsici.*

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium otani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, pada bulai April sampai bulan Oktober 2010.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, beaker glass, cawan petri, corong, freezer, gelas ukur, gelas objek, gelas penutup, hot plate, haemositometer, Hammer Mill, inkubator, jarum ose, kapas, kertas saring, labu erlenmeyer, lampu spiritus, mistar, mikroskop, oven, jarum suntik, timbangan elektrik, tissue, dan vorteks mixer.

Bahan yang digunakan adalah 250 gr umbi kembang sungsang, benih cabai merah, alkohol 70%, kloroform, polybag, tanah, pupuk kandang. Bahan untuk pembuatan media PDA adalah kentang, aquades, agar-agar, dekstrosa.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola Faktorial. Faktor A adalah konsentrasi yang terdiri atas 5 taraf : 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Faktor B adalah lama perendaman yang terdiri atas 3 taraf : 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Ekstrak umbi kembang sungsang

Pembuatan ekstrak umbi kembang sungsang mengacu pada metode yang digunakan oleh Harborne (1987). Sebanyak 250 gr umbi kembang sungsang dibersihkan kemudian diiris tipis, dikeringkan di udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Setelah kering, umbi digiling dengan menggunakan mesin hammer mill. Umbi yang telah menjadi serbuk kemudian dimaserasi dalam aquades selama 2 x 24 jam, setelah itu disaring. Hasil saringan (larutan) tersebut selanjutnya diekstraksi dengan kloroform dalam corong pemisah, banyaknya kloroform yang digunakan adalah 1:1 dengan hasil maserasi. Caranya aialah hasil saringan tersebut dimasukkan ke dalam corong pemisah kemudian ditambahkan kloroform, dikocok sehingga larutan bercampur atau homoge, sekali-kali kran dibuka untuk mengeluarkan gas yang ada di dalam. Selanjutnya larutan tersebut didiamkan sehingga terbentuk dua fase larutan. Larutan pertama, yang berada di bagian bawah berisi senyawa yang larut dalam kloroform, dan larutan kedua yang berada di bagian atas berisi senyawa yang larut dalam air. Larutan bagian atas yang diambil sebagai larutan stok.

Pembuatan Larutan Untuk Perlakuan

Konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% diperoleh melalui pengenceran yaitu mencampur larutan stok dengan aquades sampai volume 100ml. Banyaknya volume aquades yang dicampurkan (ml) adalah 100 ml dikurangi banyaknya larutan stok yang diambil untuk diencerkan.

Perendaman Benih Dalam Ekstrak

Benih cabai merah sebanyak 20 buah pada masing-masing cawan petri direndam ektrak umbi kembang sungsang pada konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% masing-masing selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Kemudian ditumbuhkan dalam cawan, petri yang telah dialasi kertas saring dan dibasahi aquades sampai tumbuh akr sepanjang 3-5 mm. Untuk menjaga kelembaban, setiap hari ditambahkan aquades ke dalam cawan petri.

Penyemaian Benih

Bibit cabai ditanaman dalam plastik polibag yang telah berisi media tanah, kemudian dilubangi dengan kedalaman 2 cm. Selanjutnya bibit cabai yang telah tumbuh akar dimasukkan ke dalam lubang tanam, kemudian ditutup dengan media tanah. Untuk menjaga kelembaban, semaian disiram dengan air secukupnya pada pagi dan sore hari**.**

Penanaman

Sebanyak 60 pot plastik masing-masing berdiameter 25 cm, didisi denganmedia tanam (campuran tanah: pupuk kandang = 1:1). Kemudian dibuat lubang tanam dengan kedalaman 5-8 cm. Bibit yang telah tumbuh dengan 4 daun sejati siap dipindahkan ke dalam media tanam. Bibit diambil beserta media pembibitan yang melekat pada akar, agar bibit tidak stress pada saat pemindahan. Selanjutnya bibit ditanamke dalam pot plastik, masing-masing berisi satu bibit. Untuk menjaga kelembaban, tanaman disiram dengan air secukupnya pada pagi dan sore hari.

Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Pembuatan media PDA mengacu pada metode yang digunakan Ganjar dkk. (1999); Lay dan Hastowo (1994). Kentang seberat 500 r dikupas, dibersihkan dan dipotong-potong. Kemudian direbus dalam 500 ml aquades selama 2 jam, selanjutnya disaring. Ditambahkan dekstrose 20 gr dan agarbatang 15 gr ke dalam ekstrak tersebut, dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Ditambahkan aquades sampai volume larutan menjadi 1000 ml. Media yang telah siap, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, ditutup dengan kapas, dan dibungkus dengan alumunium foil. Kemudian media

disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121^{o}C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Setelah media PDA dingin dapat disimpan dalam freezer untuk penggunaan selanjutnya.

Pembuatan Biakan Murni Jamur

Buah cabai yang terkena antraknosa diambil dari pasar, kemudian langsung dimasukkan ke dalam plastik, diberi label, tanggal, dan lokasi. Di laboratorium, permukaan buah cabai disterilisasi dengan alkohol, setelah kering bagian yang sakit dan sedikit bagian yang sehat, dipotong 0,5 x 0,5 cm. Kemudian potongan cabai tersebut diletakkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media PDA. Jamur yang tumbuh dipindahkan ke media yang baru sampai ditemukan jamur yang diinginkan yaitu jamur *C. capsici.* Kemudian jamur diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27 ^{o}C.

Pembuatan Suspensi Konidia Jamur

Biakan jamur yang telah ditumbuhkan pada media PDA yang berumur 5 hari diambil sebanyak 2 ose atau lebih dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml aquades steril. Kemudian dihomogenkan dengan vorteks mixer selema beberapa menit. Suspensi jamur kemudian disaring dan dihitung jumlah konidianya dengan menggunakan haemositometer. Kepadata konidia yang digunakan adalah 1 x 10^5 sel/ml.

Inokulasi Buah Cabai Merah

Tiga buah cabai merah yang telah masak diambil dari setiap tanaman, kemudian dibersihkan dengan alkohol 70%. Buah yang telah steril ditaruh dalam bak plastik yang telah dialasi kertas tissue steril. Pada bagian tengah buah dilukai dngan jarum steril sebanyak 4 lubang dan diteteskan dengan suspensi konidia jamur sebanyak 50µl dengan menggunakan jarum suntik. Untuk menghindari kontaminasi dengan jamur lain, buah cabai yang telah diinokulasi ditutup selama 1 hari dan diamati perubahannya selama 1 minggu (Chen Baoli, 2005).

Parameter Pengamatan

Diameter bercak

Diameter bercak dihitung dengan menggunakan penggaris sebanyak 5 kali, kemudian nilai yang diperoleh dirata-rata.

Intensitas Serangan

Intensitas Serangan mengacu pada metode Sudjono dan Sudarmadi (1989) dengan rumus:

$$IS = (\Sigma(ni \times vi) / 4\ N) \times 100\%; \quad I = 0$$

Keterangan :

IS : Intensitas Serangan
ni : Banyaknya atau bagian buah cabai yang terserang pada skor ke i
vi : nilai skor ke i
N : Banyaknya bagian buah yangdiamati

Tabel 1. Nilai skor

Skor Kerusakan (v)	Tahap Kerusakan
0	Tidak ada kerusakan
1	1 – 25%
2	25 – 50%
3	50 – 75%
4	≥75

Kepadatan Konidia *Colletotrichum capsici*

Buah cabai merah yang diinokulasi dipotong pada bagian yang busuk dan sedikit bagian yang sehat, kemudian ditambahkan 5 ml aquades, dan selanjutnya divorteks selama 1 menit. Kepadatan konidia dihitung dengan menggunakan hemositometer (Kim, *et al.,* 1999).

Analisis Data

Analisis Statistika dilakukan terhadap Diameter bercak, intensitas serangan dan kepadatan konidia. Data yang diperoleh dianalisis ragam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan Uji Wilayah Berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5 %

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diameter Bercak

Diameter bercak yang terbesar terdapat pada kombinasi perlakuan A0B3 (kontrol, lama perendaman 72 jam) sebesar 0,83 cm. Sedangkan diameter bercak yang terendah terdapat pada kombinasi perlakuan A3B2 (konsentrasi 60%, lama perendaman 48 jam) yaitu sebesar 0,24 cm. Untuk data diameter bercak dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjkkan bahwa interaksi memberikan pengaruh terhadap besarnya diameter bercak dan melalui uji Duncan diperoleh nilai rata-rata menunjukkan perbedaan antar perlakuan. Diameter terbesar yang terdapat pada A0B3 menunjukkan bahwa tanpa pemberian ekstrak umbi kembang sungsang, perkembangan jamur tidak terhambat sehingga mampu menimbulkan bercak yang terbesar. Sedangkan pada kombinasi perlakuan A3B2 kemampuan jamur dalam menimbulkan bercak akan terhambat oleh pemberian kolkisin pada konsentrasi 60% dan lama perendaman selama 48 jam. Adanya kandungan kolkisin yang terdapat pada kembang sungsang mampu menghambat perkembangan jamur *Colletotrichum capsici*. Kandungan kolkisin yang terdapat pada umbi adalah 0,3 % (Anonim, 2004).

Tabel 2. Nilai rata-rata Diameter bercak pada buah cabai (*Capsicum annuum* L.) oleh koloni jamur *Colletotrichum capsici*

Konsentrasi (%)	Lama Perendaman (jam)		
	B1 (24 jam)	B2 (48 Jam)	B3 (72 jam)
A0 (0%)	0,35 ef	0,40 ef	0,83 **a**
A1 (20%)	0,40 ef	0,57 cde	0,41 def
A2 (40%)	0,45 cdef	0,41 def	0,54 cde
A3 (60%)	0,67 bcd	0,24 **f**	0,68 abc
A4 (80%)	0,52 cde	0,35 ef	0,79 ab

Keerangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Intensitas Serangan

Data intensitas serangan jamur *C. apsici* menunjukkan untuk interaksi tidak menunjukkan pengaruh terhadap besarnya intensitas serangan. Demikian pula untuk konsentrasi. Namun tidak demikian dengan lama perendaman, lama perendaman memberikan pengaruh terhadap intensitas serangan(Tabel 2).

Tabel 3. Nilai rata-rata Intensitas Serangan jamur *Colletotrrichum capsici* pada buah cabai (*Capsicum annuum* L.)

Lama Perendaman	Intensitas Serangan (%)
B1 (24 jam)	47,92 b
B2 (48 jam)	50,63 b
B3 (72 jam)	61,04 a

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Intensitas serangan terbesar terdapat pada lama perendaman selama 72 jam (B3) sebesar 61,04 %, berturut-turut diikuti oleh perendaman 48 jam (B2) sebesar 50,63%, dan lama perendaman 24 jam (B1) sebesar 47,92%. Hal ini menunjukkan ada korelasi positif antara lama perendaman dan besarnya intensitas serangan. Semakin lama perendaman semakin besar pula intensitas serangan. Dengan kata lain pemberian ekstrak kembang sungsang tidak selalu memberikan pengaruh yang positif, apabila diberikan tidak sesuai baik konsentrasi maupun lama perendamannya. Sehingga akan mengakibatkan tanaman menjadi lebih rentan terhadap serangan jamur *C. capsici*. Untuk meningkatkan serangan terhadap tanaman, jamur *C. capsici* akan mengeluarkan toksin yang dihasilkannya, yaitu Colletotrichin (Yoshida *et. al.* (2000). Demikian pula yang dikemukakan oleh Suryo (1995) bahwa pemberian konsentrasi kolkisin terlalu tinggi dan lamanya waktu perlakuan terlalu lama maka kolkisin akan memperlihatkan pengaruh yang negatif yaitu kerusakan pada sel-sel tanaman, penampilan tanaman yang jelek dan kematian pada tanaman. Dari tabel 2 terlihat lama perendaman yang efektif dalam mengahambat serangan jamur *C.capsici* adalah B1 (24 jam) atau B2 (48 jam).

Kepadatan Konidia (sel/ml)

Nilai rata-rata kepadatan konidia dapat dilihat pada Tabel 3. Rata-rata kepadatan konidia menunjukkan variasi pada berbagai kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan A2B1 dan A1B3 tidak menunjukkan perbedaan terhadap kombinasi perlakuan yang lain, kecuali dengan kombinasi perlakuan A3B3. Kepadatan konidia yang terbesar terdapat pada kombinasi A1B3 (konsentrasi 20%, lama perendaman 72 jam) sebesar 4,6 sel/ml. Sedangkan jumlah konidia yang terkecil terdapat pada kombinasi perlakuan A3B3 (konsentrasi 60% dengan lama

Tabel 4. Rata-rata kepadatan konidia jamur *Colletotrrichum capsici* pada buah cabai (*Capsicum annuum* L.)

Konsentrasi (%)	Lama Perendaman (jam)		
	B1 (24 jam)	B2 (48 Jam)	B3 (72 jam)
A0	4,51 ab	2,66 b	3,24 ab
A1	2,75 ab	4,23 ab	**4,60 a**
A2	**4,59 a**	3,04 ab	3,23 ab
A3	3,88 ab	4,09 ab	**2,07 b**
A4	3,77 ab	3,98 ab	4,28 ab

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

perendaman 72 jam) sebesar 2,07 sel/ml (antilog 117,49 sel/ml). Dengan pemberian ekstrak umbi kembangsungsang pada kombinasi perlakuan yang terbaik akan mampu menghambat pembentukan spora jamur *C. capsici*, yang ditandai dengan jumlah konidia yang paling sedikit , sedangkan pada konsentrasi dan lama perendaman yang tidak sesuai akan mengakibatkan kemampuan jamur *C. capsici* dalam pembentukan spora (konidia) akan meningkat yang ditandai dengan jumlah konidia yang semakin meningkat pula. Menurut Prusky *et. al*. (2000) dan Elliot (1994), tahap-tahap pembentukan spora

pada jamur *Colletotrichum* akan diawali dari pembentukan appresoria yang dapat mengakibatkan jamur tersebut mampu masuk atau melakukan penetrasi ke dalam jaringan tumbuhan, dan diakhiri dengan pembentukan spora (konidia).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

a. Pemberian eksrak umbi sungsang memberikan pengaruh terhadap diameter bercak, intensitas serangan, dan kepadatan konidia
b. Kombinasi perlakuan yang terbaik untuk menghambat serangan jamur *C. capsici* adalah A3B2 (konsentrasi 60% dengan lama perendaman 48 jam).
c. Kombinasi perlakuan yang terbaik untuk menghambat pembentukan konidia adalah A3B3 (konsentrasi 60% dengan lama perendaman 72 jam).

DAFTAR PUSTAKA

Acharya, D., Anshu,S.; dan Garima, S. 2005. *Gloriosa superba* : Naturally a Handsome Herb.http://www.disabled-world.com/ artman/publish/ glory. html. 4/12/2006.

Addink, W. 2002. Colchicine Used in Plant Breeding Work to Inducw Mutation (Poliploidy).http://biotech.icmb.utexas.edu/botany/calch.html. 09/06/2006

Anonim, 2004. Climbing Lily. http://www.hear.org/pier/species/gloriosa_superba.html. 12/06/2006

Cerkauskus, 2004). Antracnose. AVRDC. Taiwan

Chen Baoli, 2005. Screening Sweet Pepper For Resistance to Antracnose Caused by *Colletotrichum capsici.* http ://www.arc-avrdc.org/PDF Files/Chen Baoli (9 – N). pdf.

Crowder, L.V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Elliot, C.G. 1994. *Reproduction in Fungi*. Chapman & Hall. New York

Ganjar, I.' R.A. Samson, K.; Twell-Vermeulen., A. Oetari., Dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. ITB, Bandung. (1987).

Km, K.D., J. Oh and J. Yang. Differential Interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate With Green and Red Pepper Fruits. Phytoparasitica 27(2) : 1-10 1999).

Lay, B.W dan S. Hastowo. 1994. *Mikrobiologi*. Rajawali Pers. Jakarta

Prajnanta, F. 2005. *Agribisnis Cabai Hibrida*. Penebar Swadaya. Jakarta

Prusky, D., Ilana Kobiler, Ruth Ardi, Dalila Beno-Moalem, Nir Yakoby, and Noel T. Keen. 2000. Resistance Mechanism of Subtropical Fruits to *Colletotrichum gloeosporioides.* In : Prusky, D., Stanley Freeman, and Martin. B. Dickman. eds.

Colletotrichum : *Host Specificity Pathology, and Host-Pathogen Interaction*. The American Phytophatological Society. USA.

Sudjono, S dan Sudarmadi. 1989. *Teknik Pengamatan Hama dan Penyakit*. Pendidikan Program Diploma Satu Pengendalian Hama Terpadu. Fakultas Pertanian. UGM. Yogyakarta.

Suryo . 1995*. Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Syamsuddin. 2003. Pengendalian Penyakit Terbawa Benih (Seed Borne Diseases) Pada Tanaman Cabai (*Capscum annuum* L.) Menggunakan Agen Biokontrol dan Ekstrak Botani. Institut Pertanian Bogor.
http ://tumoutou.net/702-07134/syamsuddin.htm. 14/12/2006

Tarigan, S. dan W.Wiryanta. 2003. Bertanam Cabai Hibrida Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta.

Yoshida, S., S. Hiradate., Y. Fujii, and A. Shirata. 2000. *Colletotrichum dematium* Produces Phytotoxins in Antracnose Lesions of Mulberry Leaves*. Phytopathology*. 90 : 285 – 291.

YULIANTI 20

PENGARUH VARIASI KUAT MEDAN LISTRIK TERHADAP PERTUMBUHAN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinata* Pers.)

Rochmah[1] Agustrina dan Roniyus[2]
[1]Jurusan Biologi, [2]Jurusan Fisika FMIPA Universitas Lampung
Jl. S. Brodjonegoro No.1 Bandar Lampung 35145

ABSCTRACT

The influence of the electric field strength variation i.e. 333 V/m, 6666 V/m and 10000 V/m on growth of cocor bebek (Kalanchoe pinata Pers.) has been conducted. Each of treatment unit has repeated five times and arranged in Complete Block Design (CBD). The parameters studied are the growth parameters and carbohydrate content. Five weeks observation showed that the variation of electric field strength variation does not significantly affec the growth paramaters except for the increase rate of shoot length and leaf surface area. The treatment does not affect the carbohydrate content either. It is assumed that there is an increase in the cell volume but apparently the increase in cell volume is not related with the water content.

Key words: cocor bebek (Kalanchoe pinata Pers.), electric field.

PENDAHULUAN

Pada saat ini hampir seluruh kegiatan sehari-hari tidak terbebas dari penggunaan listrik sehingga peningkatan polusi radiasi dari berbagai sumber energi listrik tidak dapat dihindari. Di awal tahun 2000an, marak diberitakan media cetak tentang demonstrasi penolakan warga masyarakat terhadap keberadaan Saluran Udara Tegangan Ekstra Tinggi (SUTET) yang mengkhawatirkan dampak keberadaan SUTET terhadap gangguan kesehatan seperti ISPA (Infeksi Saluran Pernapasan Akut), kanker , serta gangguan psikologis lainnya terhadap masyrakat yang bertempat tinggal di sekitarnya (Pikiran Rakyat A,2003; Kompas Cyber Media A, 2003; Kompas Cyber Media B, 2003). Di lain pihak, PT. PLN menyatakan bahwa kontaminasi radiasi medan elektomagnetik, medan magnit maupun medan listrik dari SUTET tidak berbahaya karena kuat medan listrik yang dihasilkan SUTET adalah 0,25 kV/m, masih berada di bawah ambang batas yang ditentukan WHO yaitu 5 kV/m (Pikiran Rakyat B, 2003). Sementara itu hasil studi menunjukkan bahwa dampak buruk polusi radiasi dari pusat pembangkit tenaga listrik terhadap kesehatan manusia dapat ditanggulangi dengan menumbuhkan banyak tanaman di sekitarnya (Tribuana, 2000).

Medan listrik adalah garis-garis medan searah yang ditimbulkan dari muatan berbeda dari muatan positif ke muatan negatif (Halliday dan Resnick, 1999). Keberadaan medan listrik di sekitar tanaman akan mempengaruhi unsur-unsur hara atau kimia baik yang berada di dalam jaringan tanaman maupun yang berada di dalam media tanam mengingat semua unsur hara penyusun jaringan tanaman adalah molekul-molekul kimia baik yang bermuatan, positif, negatif, ataupun tak berumuatan. Berdasarkan sifat kelistrikkannya, setiap unsur atau materi yang ada di alam memiliki sifat keliatrikan dan dikelompokkan dapat dibagi menjadi unsur atau materi yang bersifat dielektrik, paraelektrik, dan feroelektrik. Unsur atau materi dielektrik jika diberi medan listrik dari

luar akan mengalami polarisasi dan menciptakan medan listrik baru yang arahnya berlawanan dengan arah medan listrik luar. Sedangkan polarisasi dan medan listrik baru yang terbentuk pada unsur atau materi paraelektrika dan ferolektrik yang diberi medan listrik dari luar mempunyai arah yang sama dengan arah medan litrik luar tersebut. Medan listrik yang tercipta pada unsur atau materi feroelektrik lebih besar daripada medan listrik yang tercipta pada unsur atau materi paraelektrik .

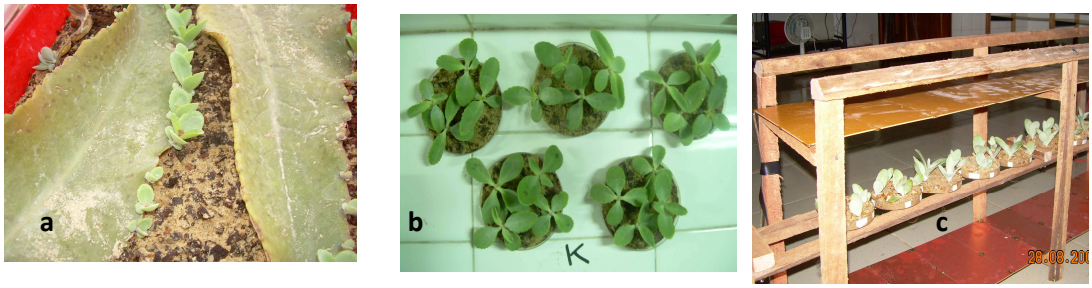
Kajian pengaruh medan listrik terhadap pertumbuhan tumbuhan pun telah banyak dikaji. Beberapa studi pada tumbuhan menunjukkan bahwa perlakuan medan listrik memberikan dampak positif terutama terhadap proses perkecambahan (Filek dkk., 2005) meskipun tidak permanen dan bersifat temporer (Kornazynski dkk., 2004 dan Carbonell dkk., 2000). Hasil penelitian Rotcharoen dkk (2004) menunjukkan bahwa posisi paparan medan listrik secara vertikal dengan kuat medan sebesar 28.5 kV/m berpengaruh terhadap pemanjangan akar serta tinggi batang benih padi daripada posisi paparan secara horizontal dan kontrol.

Dampak positif elektromagenit pada tumbuhan diperoleh pula dari hasil perlakuan medan listrik terhadap pembentukan sel hipokotil (Filek dkk., 2005) dan pembentukan senyawa bioaktif dkk., 2004 Ye dkk., 2004). Rangsangan medan listrik sebesar 50 Hz dengan kekuatan 10 V/m selama 30 menit dapat menstimulasi peningkatan akumulasi seyawa bioaktif metabolit sekunder (Ye dkk., 2004). Nechitailo dan Gordeev (2004) juga menjelaskan bahwa penggunaan medan listrik dapat meningkatkan resistensi tanaman terhadap pengaruh *microgravity* (*space flight*).

Dengan adanya fenomena dampak positif medan listrik terhadap tumbuhan ini memberikan harapan bahwa medan listrik dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan hasil dan pertumbuhan tanaman produksi. Penelitian ini merupakan dilakasakan untuk melihat dampak perlakuan kuat medan listrik terhadap pertumbuhan tanamanan yang sudah bersifat autotrof. Cocor bebek digunakan sebagai tanaman uji karena tanaman ini mudah untuk ditunaskan sehingga dapat diperoleh tunas tanaman yang berukuran dan berumur sama untuk tanaman uji, tidak memerlukan media tanam yang banyak, dan meskipun masih dalam bentuk tunas serta berukuran kecil sudah dapat berfotosintesis. Dengan demikian dapat di tanam dalam petridish untuk penelitian skala laboratorium.

METODE PENELITIAN

Peralatan pembangkit medan listrik menggunakan sumber tegangan searah yang dapat divariasi besar tegangannya diperoleh dari Laboratorium Fisika Dasar FMIPA Unila. Tanaman cocor bebek (Kalanchoe piñata Pers.) yang digunakan adalah tunas cocor bebek yang diperoleh dari hasil pembibitan (pembentukkan tunas) dari daun cocor bebek yang tua yang ditumbuhkan pada media campuran pasir dan serasah kayu (Gambar 1a). Tunas yang memiliki ukuran yang sama digunakan untuk ditanam kembali pada media yang sama dalam petridish dan diberi perlakuan medan listrik (Gambar 1c), sebagai sumber nutrisi, media tanam disiram larutan Hoagland setiap selang sehari.



Gambar 1. Sumber tegangan searah sebagai sumber medan listrik. Daun induk cocor bebek (*Kalanchoe pinata* Pers.) yang ditanam pada media tanam campuran serasah kayu dan pasir untuk pembentukan tunas atau benih cocor bebek (a), Tunas cocor bebek yang ditumbuhkan dalam petridish (b), Tunas cocor bebek yang diberi perlakuan medan listrik (c).

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan medan listrik terdiri dari: 0 V/m (sebagai kontrol), 3333 V/m; 6666 V/m, dan 10000 V/m. Masing-masing perlakuan diulang lima kali. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah laju penambahan: panjang pucuk, panjang akar, luas permukaan daun, berat kering, dan berat segar, serta kandungan karbohidrat. Pengukuran parameter dilakuan setelah tanaman diberi perlakuan 2 minngu dan diulang pada minggu ke-3, ke-4, dan ke-5.
Data yang diperoleh diuji dengan uji analisis ragam pada α = 5% dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada α = 5% untuk melihat perbedaan rata-rata antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa secara umum respon parameter pertumbuhan yang diukur tidak memberikan respon yang berbeda terhadap perlakuan medan listrik pada setiap minggu pengamatan kecuali untuk parameter laju penambahan pucuk dan luas permukaan daun. Perbedaan respon laju penambahan pucuk terhadap perlakuan medan listrik hanya terjadi pada minggu ke-5 setelah perlakuan, sedangkan penambahan luas daun menunjukkan respon yang berbeda terhadap perlakuan medan listrik setelah minggu ke-3 perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil analisis varians (α = 0,05) terhadap parameter pertumbuhan dan kandungan glukosa cocor bebek (*Kalanchoe pinata* Pers.) yang ditumbuhkan dibawah pengaruh medan listrik yang berbeda.

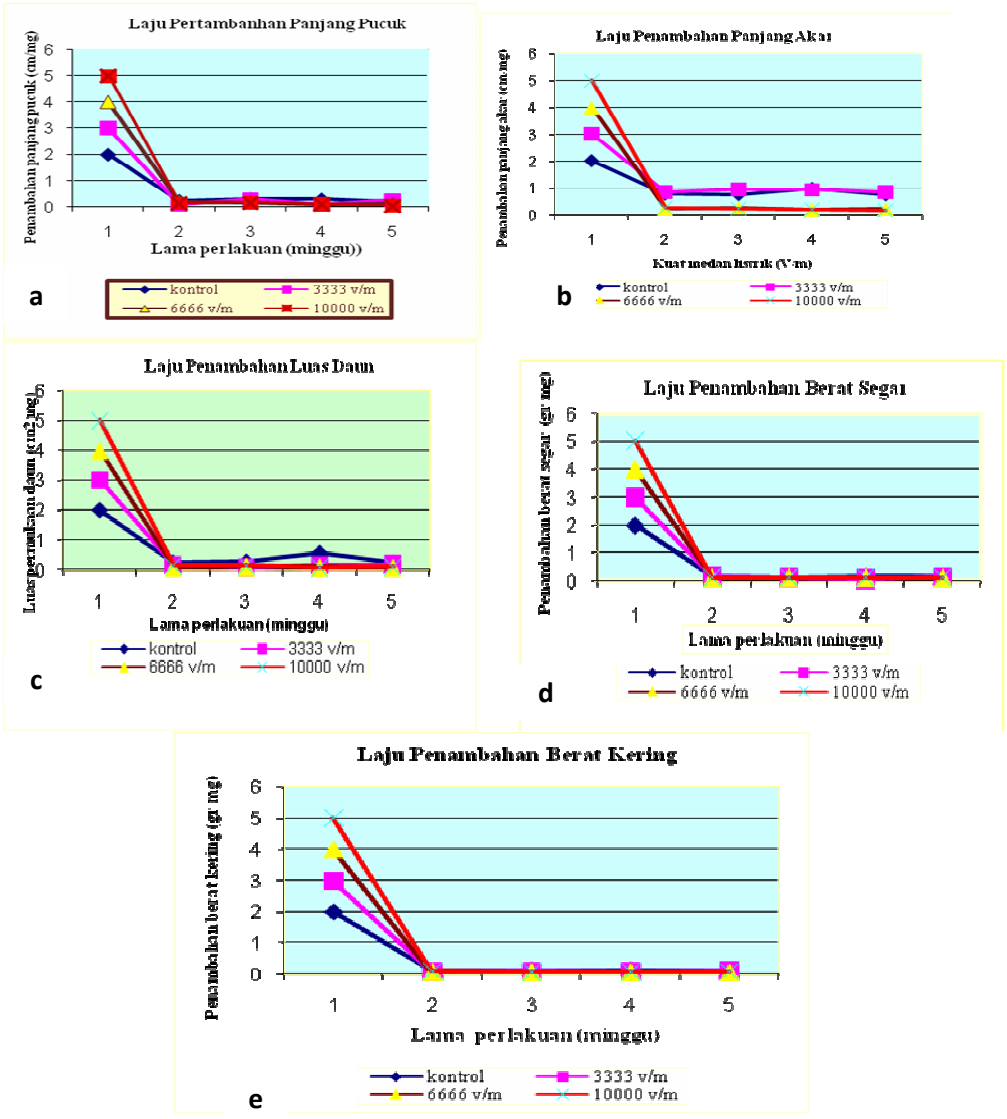
Parameter yang diukur	Pengukuran pada minggu ke-			
	2	3	4	5
Laju penambahan berat segar	tn	tn	tn	tn
Laju penambahan berat kering	tn	tn	tn	tn
Laju penambahan panjang pucuk	tn	tn	tn	*
Laju penambahan panjang akar	tn	tn	tn	tn
Laju penambahan luas daun	tn	*	tn	tn
Kandungan karbohidrat	tn	tn	tn	tn

Observasi terhadap parameter laju pertumbuhan Gambar 2 menunjukkan bahwa seluruh perlakuan medan listrik menunjukkan laju pertumbuhan yang lebih lambat dibanding kontrol, terlihat jelas pada tanaman setelah 2 minggu mendapat diberi perlakuan (Gambar 2). Perlakuan medan listrik juga meningkatkan kandungan glukosa (Gambar 3). Laju pertumbuhan kemudian menunjukkan penurunan pada minggu-minggu

selanjutnya dimana antara cocor bebek yang diberi perlakuan medan listrik dengan kontrol nampak tidak ada perbedaan.

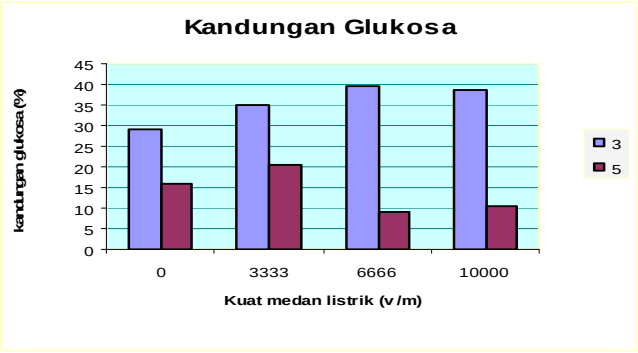
PERTUMBUHAN

Pertumbuhan suatu tanaman dapat diukur dari adanya penambahan berat maupun volume tanaman yang menunjukkan adanya netto hasil fotosintesis yang merupakan metabolisma utama di dalam jaringan tanaman. Kondisi lingkungan tanaman mulai dari ketersediaan unsur hara, air, temperatur, cahaya, sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan. Ke-empat faktor lingkungan tersebut mempengaruhi proses penyerapan unsur hara dari dalam tanah, pertukaran oksigen dan karbondioksida dari dan ke luar jaringan tanaman, sampai proses metabolisma di dalam sel-sel jaringan tanaman yang hasilnya akan terlihat pada pertumbuhannya.



Gambar 3. Grafik parameter laju pertumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinata* Pers.) yang ditumbuhkan di bawah pengaruh medan listrik yang berbeda.

Pada benih jagung, pengaruh perlakuan elektroforesis terhadap perkecambahan diketahui berhubungan dengan pengaruhnya terhadap indeks mitosis dan aktivitas enzim katalase. Indeks mitosis dan pembentukan sel poliploidi yang tinggi ditemukan pada benih benih yang lebih tua (Liviu dkk., 2005).



Gambar 3. Kandungan glukosa cocor bebek (*Kalanchoe pinata* Pers.) yang ditumbuhkan dibawah kuat medan listrik yang berbeda

Pada cocor bebek perlakuan medan listrik tidak menunjukkan perbedaan respon pada parameter pertumbuhan kecuali pada laju penambahan panjang pucuk dan luas daun masing-masing pada minggu ke-5 dan ke-3 setelah perlakuan. Pada semua parameter pertumbuhan semua perlakuan kuat medan listrik menyebabkan peningkatan laju pertumbuhan (Gambar 2) terutama untuk pada pengukuran setelah dua minggu perlakuan dengan laju pertumbuhan tertinggi diperoleh dari perlakuan medan listrik 10000 v/m. Pada penelitian sebelumnya diketahui pengaruh perlakuan medan listrik terhadap pertumbuhan cocor bebek ditentukan juga dengan arah datang medan listrik. Dari perlakuan medan listrik 6666 v/m dengan arah datang 0º, 45º, 90º, dan 180º diketahui bahwa perlakuan yang memberikan hasil laju penambahan berat kering cocor bebek yang tertingi adalah perlakuan dengan arah sudut datang 45º dan 90º. Diduga perlakuan arah sudut datang 45° menyebabkan keberadaan unsur hara dalam media tanam sehingga menjadi lebih tersedia dan mudah diserap oleh sel-sel akar dibandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan arah sudut datang 0° dan 180° unsur hara di dalam media akan tersebar merata namun pada perlakuan 0° unsur-unsur hara positif seperti NH_4^+, $H_2PO_4^+$, K, Ca^{2+}, Mg^+ , Fe^{3+}, Fe^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, dan Ni^+ akan lebih banyak diserap dibandingakan unsur hara bermuatan negatif atau netral sebaliknya pada perlakuan arah sudut datang 180°. Akibatnya keberadaan unsur hara positif dan negatif (NO_3^-, HPO_4^{2-} dan SO_4^{2-} , MoO_4^{2-}, dan Cl^-) di dalam jaringan tumbuhan tidak optimal untuk proses metabolisma. Pada perlakuan 90° unsur hara dalam media tanam diduga tidak menyebar tetapi akan terpolarisasi dimana unsur-unsur hara positif akan lebih terakumulasi di sebelah kanan sebaliknya unsur hara negatif sehingga kondisi kurang mendukung untuk terjadinya penyerapan unsur hara yang optimal (Agustrina dan Roniyus, 2007).

Seperti juga pada perlakuan arah medan listrik, perlakuan kuat medan listrik yang diberikan secara terus menerus lebih dari dua minggu menyebabkan kecenderungan penurunan laju pertumbuhan dan kandungan glukosa. Nampaknya pemberian medan listrik pada waktu yang lama, baik dengan kekuatan rendah maupun tinggi cenderung menyebabkan gangguan terhadap berbagai proses reaksi di dalam sel jaringan tumbuhan yang berakibat pada penurunan laju pertumbuhan. Pada kultur suspensi listrik *Taxus chinensis* perlakuan medan listrik 50 Hz, 10 V/m selama 30 menit pada awal pertumbuhan eksponensialnya dapat meningkatkan bioaktif metabolit sekunder sampai 30% tanpa penurunan biomasnya dan memacu n daya tahan tumbuhan dan diduga pula

merubah sifat dielekrik sel atau membrane sel (Ye dkk., 2004). Medan listrik juga terbukti dapat meningkatkan persentase perkecambahan pada benih *cucumber* yang diikuti dengan adanya penurunan konduktivitas elektrik tapi tidak pada benih yang menunjukkan adanya peningkatan konduktivitas elektrik sebagai akibat perlakuan medan listrik (Huang dan Sukprakarn, 2006). Graziana dkk. (1990) menjelaskan bahwa pada kultur sel wortel setelah 5 menit perlakuan kuat medan listrik rendah menunjukkan adanya peningkatan penyerapan ATP yang menyebabkan adanya potensial elektrik sebagai akibat reaksi terangkai pengeluaran kation, diduga natrium, yang diikuti dengan penyerapan kalsium.

Dari beberapa hasil penelitian di atas terlihat adanya kecenderungan respon positif tanaman terhadap perlakuan medan listrik bila diberikan dalam periode waktu yang pendek. Perlakuan medan listrik dengan kekuatan 500 kV/m selama 60 menit pada kecambahan *morning glory* (Isobe dkk., 1999) menyebabkan adanya polarisasi elektrik pada sistem membrannya sehingga meningkatkan akumulasi air dengan gerakan yang lebih terbatas (restricted motion water) daripada kontrol, akibatnya hidrasi cadangan makromolekul selama proses imbibisi mengakibatkan pembengkakan yang berlebihan dan menyebabkan kerusakan sistem membran serta ketidak teraturan organisasi struktur jaringan. Peningkatan kandungan air sampai batas tertentu dapat memacu pembelahan dan pertuymbuhan sel sehingga pada proses perkecambahan perlakuan medan listrik pada dengan periode tertentu umumnya meningkatkan perkecambahan dan kecepatan pertumbuhan kecambah.

Kelaian pertumbuhan sebagai akibat perlakuan medan listrik pada *Pisum sativum* umumnya terkait dengan adanya kelainan di tingkat kromosom (Brulfert dkk, 1985) dan potensial membran (Robertson dkk., 1981), yang kemudian mengakibatkan terganggunya proses mitosis (Brulfert dkk, 1985 dan Robertson dkk., 1981) dan pertumbuhan tanaman yang dapat dilihat dari perlambatan laju penambahan panjang akar.

Kandungan Glukosa

Meskipun tidak menunjukkan respon kandungan glukosa yang berbeda, namun dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa perlakuan medan listrik menyebabkan kecenderungan peningkatan kandungan karbohidrat setelah tanaman mendapat perlakuan medan listrik selama 3 minggu. Namun kandungan glukosa ini kemudian menurun pada semua perlakuan kuat medan listrik setelah 4 minggu perlakuan dan hanya kuat medan 3333 v/m yang menunjukkan kandungan glukosa lebih tinggi dari kontrol.

Hasil ini yang membuktikan bahwa pemberian kuat medan listrik lemah maupun kuat pada waktu yang lama cenderung menyebabkan gangguan terhadap berbagai proses reaksi di dalam sel jaringan tumbuhan. Hanafy dkk., (2006) membuktikan bahwa gandum yang ditanam di bawah pengaruh medan listrik 6 kV/m mengalami gangguan pertumbuhan, perubahan struktur protein, dan penurunan hasil. Medan listrik diduga menyebabkan perubahan elektro kimia komponen permukaan membran sel juga biokimia sitoplasma serta fungsi fisiologinya (Tenford dan Kaune, 1987). Kelainan kromosom sel somatis maupun generatif pada gandum yang dikenai medan listrik meningkat yang menyebabkan kelainan mitosis maupun meiosis. Seperti juga pada penelitian cocor bebek ini, perlakuan medan magnetpada gandum juga meningkatkan kandungan karbohidrat yang diduga terkait dengan adanya peningkatan klorofil namun kandungan total protein menurun. Diduga ni terkait dengan adanya perubahan pada protein membran sel.

KESIMPULAN

Kuat medan listrik tidak memberikan respon pertumbuhan maupun kandungan glukosa yang berbeda pada cocor bebek. Namun dilihat hasik observasi pertumbuhannya hasil ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya dimana perlakuan kuat medan listrik pada periode lama pemberian tertentu memberikan respon pertumbuhan yang positif, namun bila diberikan terus menerus mengakibatkan gangguan metabolisma dalam sel jaringan tanaman sehingga menghambat proses pwertumbuhannya.

DAFTAR PUSTAKA

Agustrina, R. dan Roniyus, 2007. Pengaruh Arah Sudut Datang Medan Listrik Terhadap Berat Kering, Kandungan Karbohidrat, dan Bentuk Sel Cocor Bebek (Kalanchoe pinata Pers.). Jurnal Sains dan Teknologi, FMIPA, Universitas Lampung, Vol.3 (1), Desember 2007, p. 21 – 25.

Brulfert, Annie, D.R. Morton W. Miller, Dominique Robertson, David A. Dooley, Peter Economou. 1985. A cytohistological analysis of roots whose growth is affected by a 60-Hz electric field. Bioelectromagnetics . Vol. 6, Issue 3, pages 283–291.

Carbonell, M.V., Martinez E., dan Amays J.M., 2000. Stimulation on germination in rice (Oriza sativa L.) by static magnetic field. Electro and magnetobiology., 19 (1): 121-8.

Fawzia, A.Z. 2002. Effect of Extremely Low Frequency Electric Field (ELFEF) on the Cytogenetic Picture and Isozyme Electrophoresis of Mice. CYTOLOGIA 67: 309-321.

Filek, M., Hoida M., Machackova I., dan Krekule J., 2005. The effect of electric field on callus induction with rape hypocotyles. Z Naturforssch. 60(11-12); 876-82.

Graziana A., R. Ranjeva., J. Teissiė. 1990. External electric fields stimulste the electrogenic calcium/sodium exchange in plant protoplast. Biochemistry. 29: 8313-8.

Halliday, D. dan R. Resnick. 1999. Fisika. Silaban, P. dan Erwita Sucipto (Penerjemah) Jilid 2 Edisi 3. Erlangga. Jakarta.

Hanafy, Magda S., Hanan A. Mohamed, Elham A. Abd El-Hady. 2006. Effect Of Low Frequency Electric Field On Growth Characteristics And Protein Molecular Structure Of Wheat Plant. Romanian J. Biophys., Vol. 16, No. 4, P. 253–271, Bucharest.

Huang, R., dan S. Sukprakarn, L.Phavaphutanon, S. Juntakool, dan C. Chaikul. 2006. A Comparison of Electric Field Treatments to Hydropriming on Cucumber Seed Germination Enhancement. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 40 : 559 – 565.

Isobe, S., Isida N., Koizumi M., Kano H., dan Haizewood CF. 1999. Efect electric field on physical states of cell-accosiated water in germinating morning glory seed observed by 1H-NMR. Biochim Acta. 1426(1): 17-31.

Kompas Cyber Media A, 2003, Anak-anak SD Protes Dampak SUTET, 9 Juni 2003.

Kompas Cyber Media B, 2003, Korban SUTET Mendatangi Departemen ESDM, 9 Oktober 2003.

Kornazynski, K., Pietruszewski S., Segit Z., Szwed-Urbas K., and Lacek R. 2004. Preliminary investigation of the effect of static and alternating magnetic field and
growth speed of wheat germ (in Polish). Acta Agrophysica. 3(3): 521-8.

Liviu f rt i, Marcel Avramiuc, dan Marian rî ca . 2005. The Influence of The Electromagnetic Field on Mitosis and Catalase Activity in Maize Caryopses With Different Viabilities aAnd Ages. Genetic i Biologie Molecular , TOM V, 2005, 189 – 192.

Nechitailo, G. and Gordeev, A., 2004, The Use of an Electric Field ini Increasing the Resistance of Plants to the Action of Unfavorable Space Flight Factors, *Advances in Space Research*, Vo. 34, Issue 7, pp. 1562 – 1565of an Electric Field ini Increasing the Resistance of Plants to the Action of Unfavorable.

Pikiran Rakyat A, 2003, Warga Korban SUTET Datangi DPRD, 26 Agustus 2003.

Robertson, D., Morton W. Miller, Christopher Cox, Henry T. Davis 1981. Inhibition and Recovery Of Growth Processes in Roots Of Pisum Sativum L. Exposed to 60-Hz electric fields. Bioelectromagnetics Vol. 2, Issue 4, pages 329–340, 1981.

Tenford, T.S, W.H. Kaune, Interaction Of Extremely Low Frequency Electric and Magnetic Field with Humans, Health Physics, 1987, 52 (6), 585–606.

Tribuana, N. 2000. Pengukuran medan magnit dan medan listrik di bawah SUTET 500KV. Elektro Indonesia. No. 32 Th VI.

Staselis, A., P. Duchovskis, and A. Brazaityte. 2004. Impact of electromagnetic fields on morphogenesis and physiological indices of tomato. Int. Agrophysics. 18:277-283.

Ye H, Huang L.L., Chen S.D., Zhong J.J. 2004. Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of Taxus chinensis. Biotechnol Bioeng. 2004 Dec 20;88(6):788-95.

ROCHMAH 21

PERKEMBANGAN GONAD PADA PENELURAN KEPITING BAKAU (*Scylla serrata* Forskal) DENGAN BERAT INDUK BERBEDA PADA ALIRAN PASANG SURUT TAMBAK

G. Nugroho Susanto
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
Email : gnugroho@unila.ac.id

ABSTRAK

Kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) merupakan komoditas perikanan pada habitat perairan pantai, terutama kawasan hutan mangrove. Penangkapan secara berlebihan di alam semakin menurunkan populasinya, sehingga perlu dilakukan usaha budidaya, khususnya dalam penyediaan benih kepiting. Salah satu cara melalui produksi peneluran kepiting bakau yang dipelihara dalam kurungan bambu pada aliran pasang surut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan gonad pada peneluran kepiting bakau dengan berat induk berbeda serta korelasinya terhadap tingkat kematangan gonad berdasarkan nilai *Female Maturity Index* (FMI) dan *Gonado Somatic Index* (GSI) yang dipelihara pada aliran pasang surut sekitar tambak. Lokasi penelitian pada aliran pasang surut tambak alih lahan di Desa Bandar Agung, Kecamatan Sragi Kabupaten Lampung Selatan. Hasil penelitian menunjukan perbedaan berat induk memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap pertambahan berat tubuh, panjang dan lebar karapas, lebar segmen abdomen terbesar dan lebar segmen abdomen ke-5 serta nilai FMI tetapi memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai GSI. Hasil pengamatan pada induk berat tubuh rerata 200-300 gram (X) selama 3 minggu pemeliharaan menunjukkan laju pertambahan berat (1,0345 gram/hari), panjang karapas (0,31cm), lebar karapas (0,36 cm), lebar segmen abdomen terbesar (0,37 cm), lebar segmen abdomen ke-5 (0,32 cm), nilai FMI (0,0062), nilai GSI (18,24 %), memiliki nilai koefisien korelasi yang nyata antara pertambahan berat tubuh terhadap nilai GSI. Sedangkan pada induk berat tubuh rerata 100-200 gram (Y) menunjukkan laju pertambahan berat harian (1,0135 gram/hari), panjang karapas (0,39 cm), lebar karapas (0,41 cm), lebar segmen abdomen terbesar (0,32 cm), lebar segmen abdomen ke-5 (0,25 cm), nilai FMI (0,0129), nilai GSI (8,55 %), serta memiliki nilai koefisien korelasi yang nyata antara pertambahan berat tubuh terhadap nilai FMI. Kualitas air pada aliran pasang surut masih mendukung bagi kelangsungan hidup kepiting bakau selama pemeliharaan.

Kata kunci: Perkembangan gonad, peneluran, kepiting bakau, tambak

PENDAHULUAN

Kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) merupakan biota komoditas perikanan pada habitat perairan pantai, khususnya kawasan hutan mangrove. Beberapa produk perikanan yang mempunyai nilai ekonomis penting berhubungan erat dengan ekosistem mangrove, seperti udang, kepiting dan tiram. Kerusakan yang ditimbulkan dari proses pengubahan lahan ini tidak hanya berdampak secara ekologis, tetapi juga berdampak secara sosial ekonomis pada masyarakat di kawasan tersebut. Salah satu cara perbaikan lahan tambak adalah dengan rehabilitasi secara fisik, kimia dan biologis habitat tambak untuk menciptakan kondisi yang secara biologis sesuai bagi kepiting bakau (*Scylla sp*) (Susanto, 2006; Susanto dan Murwani, 2006). Selain itu penangkapan biota perairan ini

secara tak terkendali (*overfishing*) dapat menyebabkan menurunnya jumlah populasi dan kerusakan keseimbangannya di alam (Moosa dkk., 1985; Kasry, 1996; Kanna, 2002).

Usaha penyediaan kepiting muda melalui hatchery terkendala masih tingginya angka mortalitas dari larva yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Filipina, Hawaii, Malaysia dan Indonesia, kepiting bakau dapat dipijahkan di laboratorium dengan periode inkubasi sekitar 12 hari. Namun kelulushidupan (survival) larva hasil pemijahan di laboratorium masih sangat rendah (Kasry, 1996; Kanna, 2002).

Biota akuatik ini memiliki potensi nilai ekonomi penting di pasaran dunia, karena memiliki rasa daging yang enak, terutama kepiting yang matang gonad atau sudah bertelur, dewasa dan gemuk (Kasry, 1996; Setyadi, dkk., 1997; Efrizal, dkk., 2001; Bulanin dan Rusdi, 2005). Daging kepiting mengandung 65,72% protein dan 0,88% lemak, sedangkan telur (ovarium) kepiting mengandung 88,55% protein dan 8,16% lemak (Sulaeman dan Hanafi, 1992; Efrizal dkk., 2001; Bulanin dan Rusdi, 2005). Pada akhir-akhir ini permintaan pasar dunia akan kepiting bakau terus meningkat, namun hal ini belum diimbangi dengan pasokan yang memadai secara kontinyu. Selain itu kerusakan kawasan hutan bakau yang merupakan habitat bagi kepiting bakau ini sudah sampai pada tahap yang sangat mengkawatirkan dan harus segera secara serius ditangani.

Berkaitan dengan potensi nilai ekonomis yang menjanjikan dari kepiting bakau tersebut, hal ini menarik perhatian para petambak untuk membudidayakan kepiting bakau meskipun sampai saat ini usaha tersebut belum mendapatkan perhatian dari pemerintah. Berdasarkan peluang usaha tersebut berakibat pada intensitas penangkapan kepiting di alam terus mengalami peningkatan baik yang berukuran konsumsi maupun ukuran kecil sebagai benih dalam kegiatan budidaya. Hal ini menyebabkan beberapa daerah dilaporkan telah terjadi penangkapan lebih (*over fishing*) yang berdampak pada menurunnya populasi di alam. Untuk mengimbangi laju penangkapan tersebut perlu adanya usaha kearah pembenihan terkendali.

Produksi kepiting bakau bertelur merupakan bagian dari budidaya. Salah satu cara melalui produksi peneluran kepiting bakau yang dipelihara dalam kurungan bambu pada aliran pasang surut. Produksi kepiting bakau bertelur ini sangat cocok untuk para petambak dan petani nelayan yang bermukim di wilayah yang memiliki potensi sumber daya kepiting bakau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan gonad pada peneluran kepiting bakau dengan berat induk berbeda serta korelasinya terhadap tingkat kematangan gonad berdasarkan nilai *Female Maturity Index* (FMI) dan *Gonado Somatic Index* (GSI) yang dipelihara pada aliran pasang surut sekitar tambak.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus - September 2008 pada kawasan aliran pasang surut tambak alih fungsi lahan di Dusun Kuala Jaya, Desa Bandar Agung, Kecamatan Sragi Kabupaten Lampung Selatan. Penelitian meliputi beberapa tahap, yaitu :

Penyiapan wadah pemeliharaan (kurungan bambu)

Wadah pemeliharaan untuk produksi peneluran kepiting bakau berupa kurungan bambu yang terbuat dari rangkaian bilah bambu. Lebar bilah bambu 1-2 cm dan panjang 1,5-2 m. Pembuatan kurungan bambu dilakukan dengan cara merangkai bilah-bilah bambu secara teratur dengan jarak ± 1 cm, sehingga berbentuk *kere* yang ditancapkan. Kurungan bambu ini dipasang dalam tambak yang airnya cukup dalam dan lancar

mendapat pergantian air dan terjangkau oleh pasang surut air. Tambak atau saluran yang terpilih harus mempunyai kedalaman ± 30 cm untuk mencegah kepiting keluar meninggalkan kurungan (melarikan diri). Kurungan dapat didesain dengan bentuk bujur sangkar dengan ukuran 2 m x 2 m atau disesuaikan dengan jumlah induk yang akan ditebar.

Pemilihan calon induk berkualitas

Induk kepiting bakau dapat diperoleh dari hasil penangkapan di alam atau berasal dari usaha budidaya pembesaran di tambak tradisional. Kepiting bakau yang dipilih adalah kepiting betina kosong atau bertelur belum penuh dengan berat antara 100-200 dan 200-300 gram. Calon induk dipilih yang kuat tidak akan mudah stres dan sakit. Untuk mencegah kerusakan akibat saling menyerang dan memudahkan penanganan, maka selama penanganan (sebelum ditebar) kepiting perlu diikat dengan tali rafia, kemudian kepiting direndam dalam air payau selama ± 5 menit setiap 12 jam sekali agar kondisi kepiting tetap segar.

Penebaran induk dalam kurungan bambu di tambak

Kepiting bakau betina yang ditebar adalah kepiting kosong atau bertelur belum penuh dengan berat minimal 100 gram/ekor. Untuk sistem kurungan, kepiting ditebar dengan kepadatan 10 ekor untuk tiap kurungan dan tidak dicampur dengan kepiting jantan. Sebelum ditebar, setiap kepiting diukur panjang dan lebar karapas, serta berat tubuhnya, kemudian diamati kelengkapan anggota tubuh (alat gerak) dan diberi tanda penomoran (*marker*) dengan cat pada bagian punggung untuk membedakan individu yang ditebar.

Pemeliharaan induk selama produksi peneluran

Calon induk yang dipelihara dalam tambak harus dikontrol dengan baik. Pakan diberikan dengan jumlah dan frekuensi yang tepat untuk mencegah terjadinya saling mangsa (kanibalisme). Pakan diberikan dua kali sehari, pagi dan sore *ad libitum*, berupa sejenis kepiting liar (wideng) dengan pemberian pakan sebesar 5-10 % dari berat tubuh total.

Pengamatan tingkat kematangan gonad (TKG) dan pengukuran parameter biologi serta kualitas air selama pemeliharaan

Induk kepiting yang matang telur dapat diketahui dengan cara mengamati sela-sela persambungan antara abdomen dan kaparasnya pada bagian belakang. Jika muncul warna oranye atau agak kemerahan, maka calon induk kepiting tersebut sudah menunjukkan kematangan telur.

Parameter yang digunakan meliputi parameter biologi kepiting bakau (berat tubuh, panjang dan lebar karapas) dan parameter kualitas air (salinitas, suhu, pH, oksigen terlarut, CO_2 bebas, kedalaman, dan kecerahan).

Laju pertambahan berat harian kepiting bakau dapat dihitung dengan menggunakan rumus Effendi (2002), yaitu:

$$K = \frac{Ln\ W_t - Ln\ W_0}{t}$$

Keterangan :

K = laju pertambahan berat harian (gram/hari)
W_t = berat rata-rata kepiting bakau akhir penelitian (gram)
W_0 = berat rata-rata kepiting bakau awal penelitian (gram)
t = waktu penelitian (hari)

Pertambahan lebar karapas kepiting bakau dapat dihitung dengan menggunakan rumus Sulaeman dan Hanafi (1992), yaitu:

$$LK = LK_t - LK_0$$

Keterangan :
LK = pertambahan lebar karapas (cm)
LK_t = lebar rata-rata karapas pada akhir penelitian (cm)
LK_0 = lebar rata-rata karapas pada awal penelitian (cm)

Pertambahan panjang karapas kepiting bakau dapat dihitung dengan menggunakan rumus Sulaeman dan Hanafi (1992), yaitu:

$$PK = PK_t - PK_0$$

Keterangan :
PK = pertambahan panjang karapas (cm)
PK_t = panjang rata-rata karapas pada akhir penelitian (cm)
PK_0= panjang rata-rata karapas pada awal penelitian (cm)

Pengukuran GSI dan FMI
Tingkat kematangan gonad (TKG) diukur dengan menghitung nilai GSI dan FMI.
Gonado Somatic Index (GSI) (Effendi, 2002)

$$GSI = \frac{\text{Berat Telur Basah}}{\text{Berat Tubuh}} \times 100\ \%$$

Female Maturity Index (FMI) (Poovachiranon, 1991)

$$FMI = \frac{\text{Lebar dari Bagian Terpanjang Segmen Abdomen Kelima}}{\text{Bagian Terlebar dari Thoracic Sternum Diantara Kaki Kelima}}$$

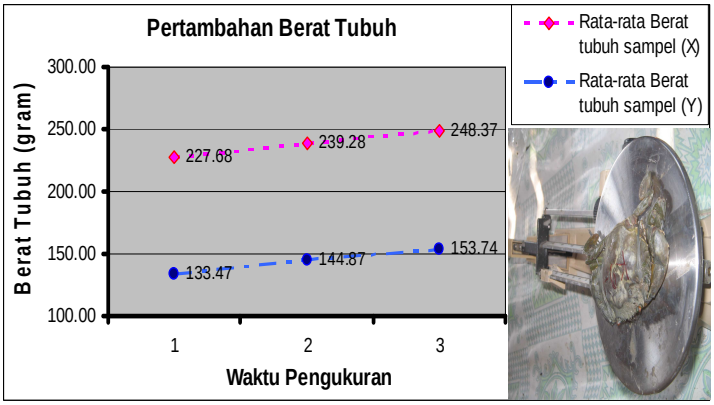
Parameter kualitas air yang mendukung untuk media peneluran kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal)
Parameter kualitas air yang harus diperhatikan untuk peneluran kepiting bakau adalah salinitas, suhu, pH, oksigen terlarut, CO2 bebas, kedalaman dan kecerahan (Soim, 1994).

Rancangan Percobaan dan Analisis Data
Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah RAL dengan 10 kali ulangan individu sub sampling untuk setiap perlakuan. Perlakuan berupa perbedaan berat tubuh kepiting pada awal penebaran dengan membandingkan laju pertumbuhan dan tingkat kematangan gonad, serta korelasinya terhadap nilai Female Maturity Index (FMI) dan Gonado Somatic Index (GSI) pada peneluran kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) yang dipelihara dalam kurungan bambu. Untuk analisis korelasi menggunakan korelasi Pearson. Uji T dan korelasi Pearson menggunakan program SPSS.
Metode yang digunakan dalam pengamatan tingkat kematangan gonad dilakukan secara deskriptif, sedangkan hasil pengukuran tingkat kematangan gonad yang berupa nilai GSI dan FMI dibandingkan dengan parameter yang lain. Data pertambahan berat, pertambahan panjang dan lebar karapas akan dianalisis ragam. Jika hasil analisis ragam (Anara) menunjukkan perbedaan yang nyata antara perlakuan, maka akan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT pada taraf α = 5 % (Hanafiah, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

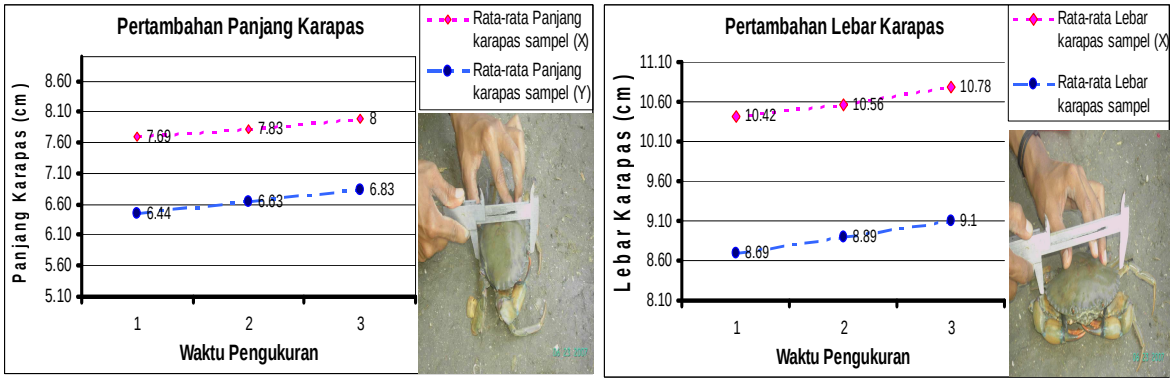
Pertumbuhan Kepiting Bakau

Hasil pengukuran berat tubuh terdapat perbedaan pertambahan berat tubuh antara kurungan bambu X (berat tubuh 200-300 gram) dan kurungan bambu Y (berat tubuh 100-200 gram) dapat dilihat pada Grafik 1.



Grafik 1. Pertambahan berat tubuh kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) selama 3 minggu dalam kurungan bambu X (berat kepiting 200-300 gram) dan Y (berat kepiting 100-200 gram)

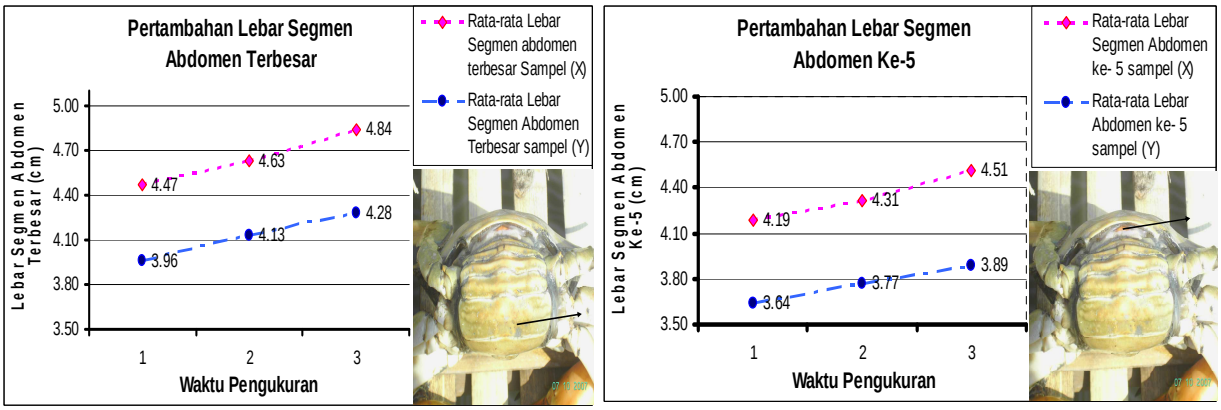
Meskipun memperlihatkan adanya pertambahan berat tubuh, tetapi setelah dianalisis uji T ternyata perbedaan berat tubuh pada awal penebaran antara perlakuan (X) dan (Y) tidak berbeda nyata terhadap pertambahan berat tubuh (ά > 0.05). Rata-rata pertambahan berat tubuh kepiting bakau tertinggi terdapat pada X yaitu sebesar 20,69 gram dibandingkan dengan pertambahan berat tubuh yang terdapat pada Y sebesar 20,27 gram selama 3 minggu pemeliharaan. Sedangkan pertambahan panjang karapas memperlihatkan adanya perbedaan pertambahan panjang karapas antara perlakuan (X) dan (Y), seperti yang terlihat pada Grafik 2.



Grafik 2. Pertambahan panjang dan lebar karapas kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) selama 3 minggu dalam kurungan bambu X (berat kepiting 200-300 gram) dan Y (berat kepiting 100-200 gram)

Rata-rata pertambahan panjang dan lebar karapas kepiting bakau tertinggi pada Y sebesar 0,39 cm dan 0,41cm, dibandingkan pada X sebesar 0,31cm dan 0,36 cm. Tingginya nilai rata-rata pertambahan panjang dan lebar karapas disebabkan perbedaan ruang gerak dalam kurungan pemeliharaan. Pertumbuhan hewan yang dipelihara dapat

dipengaruhi oleh luas tidaknya ruang gerak. Apabila ruang gerak kecil dengan padat penebaran tinggi akan menyebabkan terjadinya persaingan sesama individu untuk memperebutkan ruang gerak dan makan, sehingga dapat mempengaruhi pertambahan panjang dan lebar karapas dari kepiting bakau yang dipelihara. Menurut Locwood (1967) hewan Crustacea akan mengalami pertumbuhan pada saat terjadi pergantian kulit (*molting*). Proses *molting* dapat berpengaruh terhadap pertambahan panjang dan lebar karapas karena terjadi perubahan bentuk karapas. Perubahan terjadi pada tingkat kecembungan bagian punggung sehingga mempengaruhi perubahan ukuran panjang dan lebar karapas.



Grafik 3. Pertambahan lebar segmen abdomen terbesar dan lebar segmen abdomen ke-5 kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) selama 3 minggu dalam kurungan bambu X (berat kepiting 200-300 gram) dan Y (berat kepiting 100-200 gram).

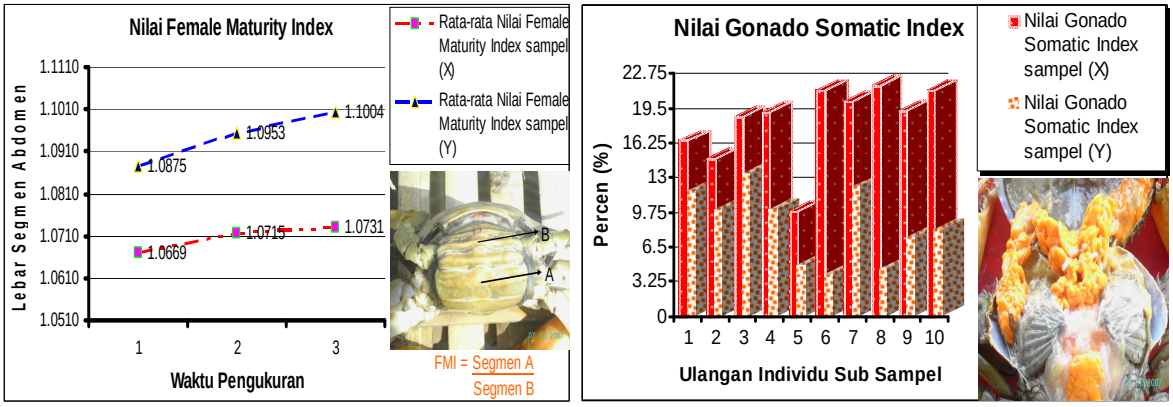
Arriola (1940) menyatakan bahwa kulit kepiting yang keras dan kaku akan bertambah panjang dan lebar apabila melewat proses pergantian kulit (*molting*). Dari hasil pengukuran lebar segmen abdomen terbesar dan lebar segmen abdomen ke 5 memperlihatkan adanya perbedaan pertambahan antara perlakuan (X) dan perlakuan (Y), seperti yang terlihat pada Grafik 3.

Pada grafik terlihat rata-rata pertambahan lebar segmen abdomen terbesar dan lebar segmen abdomen ke-5 tertinggi terdapat pada X sebesar 0,37 cm dan 0,32 cm dibanding dengan pada Y sebesar 0,32 cm dan 0,25 cm. Tingginya nilai ini karena kepiting memasuki tahap perkembangan kematangan telur (gonad). Merujuk pada tingkat kematangan gonad jika menjelang akhir tingkat kematangannya, segmen abdomen terbesar dan lebar segmen abdomen ke- 5 akan ikut meningkat (Quin and Kojis, 1987).

Nilai Female Maturity Index (FMI) dan Gonado Somatic Index (GSI)

Dari hasil pengukuran FMI dan GSI diperoleh adanya perbedaan antara X dan Y seperti terlihat pada Grafik 4. Nilai FMI yang tertinggi terdapat pada Y sebesar 0,0129 dibandingkan X 0,0062. Tingginya nilai FMI karena pertambahan lebar segmen abdomen ke-5 lebih rendah dibanding pertambahan lebar segmen abdomen terbesar. Sedangkan nilai GSI tertinggi terdapat pada X sebesar 18,24 % dibanding Y yang hanya 8,55 %. Berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran selama penelitian terlihat bahwa perbedaan berat tubuh awal penebaran mempengaruhi perkembangan telur dalam abdomen dan tingkat kematangan gonadnya. Quin and Kojis (1987) menyatakan bahwa tingkat kematangan gonad dapat dilihat dari perubahan warna gonad. Menurut Effendi (2002) tanda utama untuk membedakan kematangan gonad berdasarkan berat gonad. Hal ini berhubungan dengan ukuran dan berat tubuh keseluruhan atau tanpa berat gonad. Selain itu tinggi rendahnya kematangan gonad dapat dipengaruhi oleh faktor

makanan dan lingkungan. Perbandingan antara berat gonad dengan berat tubuh, menurut Nicolsky (1969) dalam Effendi (2002) dinamakan "koefisien kematangan" yang dinyatakan dalam persen. Sedangkan Johnson (1971) dalam Effendi (2002) menyebut perbandingan tersebut sebagai "index of maturity", namun banyak peneliti menamakan "Gonado Somatic Index".



Grafik 4. Nilai Female Maturity Index (FMI) dan Gonado Somatic Index (GSI) pada kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) selama 3 minggu dalam kurungan bambu X (berat kepiting 200-300 gram) dan Y (berat kepiting 100-200 gram)

Korelasi Perbedaan Berat Tubuh Awal Penebaran Terhadap Laju Pertumbuhan dan Tingkat Kematangan Gonad

Berdasarkan hasil pengukuran selama penelitian menunjukkan bahwa perbedaan berat tubuh kepiting bakau mempengaruhi nilai koefisien korelasi laju pertambahan berat tubuh, lebar segmen abdomen terbesar, lebar segmen abdomen ke-5, serta laju perkembangan telur dalam abdomen dan tingkat kematangan gonad yang berhubungan dengan nilai FMI dan nilai GSI (Tabel 1). Nilai koefisien korelasi antara panjang dan lebar karapas, lebar karapas dan lebar

Tabel 1. Nilai koefisien korelasi Pearson perbedaan berat tubuh awal terhadap laju pertumbuhan dan tingkat kematangan gonad pada peneluran kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal)

		Berat Tubuh (gram)	Panjang Karapas (cm)	Lebar Karapas (cm)	Lebar Segmen Abdomen Terbesar (cm)	Lebar Segmen Abdomen Ke-5 (cm)	Female Maturity Index	Gonado Somatic Index (%)
Berat Tubuh (gram)	Pearson Correlation							
	Sig. (2-tailed)							
	N							
Panjang Karapas (cm)	Pearson Correlation	0.992						
	Sig. (2-tailed)	0.080						
	N	3						
Lebar Karapas	Pearson Correlation	0.981	**0.997(*)**					

(cm)	Sig. (2-tailed)	0.126	0.046					
	N	3	3					
Lebar Segmen Abdomen Terbesar (cm)	Pearson Correlation	0.989	**1.000(*)**	**0.999 (*)**				
	Sig. (2-tailed)	0.094	0.014	0.032				
	N	3	3	3				
Lebar Segmen Abdomen Ke- 5 (cm)	Pearson Correlation	0.977	0.996	**1.000 (*)**	**0.998(*)**			
	Sig. (2-tailed)	0.136	0.056	0.010	0.042			
	N	3	3	3	3			
Female Maturity Index	Pearson Correlation	0.980	0.947	0.921	0.939	0.915		
	Sig. (2-tailed)	0.129	0.209	0.255	0.223	0.265		
	N	3	3	3	3	3		
Gonado Somatic Index (%)	Pearson Correlation	**0.680 (*)**	0.787	0.799	0.517	0.499	0.181	
	Sig. (2-tailed)	0.030	0.007	0.006	0.126	0.142	0.617	
	N	3	10	10	10	10	10	

Keterangan : (**) Korelasi nyata pada taraf 0.01
(*) Korelasi nyata pada taraf 0.05

segmen abdomen terbesar, lebar karapas dan lebar segmen abdomen ke-5 relatif tinggi dengan nilai 0,997; 0,999; 0,998. Sulaiman (2003) menyatakan nilai 0,7- 1,0 baik yang bernilai positif maupun negatif memiliki nilai koedisien korelasi tinggi. Hal ini berarti bahwa bertambahnya lebar karapas akan mempengaruhi pertambahan panjang karapas, lebar segmen abdomen tebesar dan lebar segmen abdomen ke-5 kepiting bakau.

Parameter Kualitas Air Media Peneluran Kepiting Bakau.

Hasil pengukuran parameter kualitas air menunjukkan masih mendukung media pemeliharaan bagi produksi peneluran kepiting bakau, seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran parameter kualitas air pada aliran pasang surut tempat peneluran kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal)

Parameter Kualitas Air	Satuan	Nilai Pengukuran Kualitas Air		Batas Nilai Toleransi (Soim, 1994)
		Rerata	Kisaran Nilai Terukur	
Suhu	^{0}C	30,00	29 – 31	23 – 32
Salinitas	‰	17,33	11,00 – 24,00	15 – 30
pH	-	7,55	7,31 – 7,84	7,2 – 7,8
Oksigen terlarut (DO)	ppm	7,96	7,42 – 8,65	5,71 – 10,22
Karbondioksida bebas	ppm	4,21	3,72 – 4,79	< 5
Kedalaman	cm	32,48	29,23 – 35,07	30 – 79
Kecerahan	cm	21,44	18,20 – 25,14	44 – 75

Menurut Soim (1994) dan Kanna (2002) kualitas air yang penting untuk kehidupan kepiting bakau adalah suhu, salinitas dan pH. Suhu 23-32^{0}C tanpa ada perubahan yang

cukup berarti, salinitas 15 ‰ -30 ‰, dan pH 7,2 – 7,8. Oksigen terlarut (DO) antara 7,42- 8,65 ppm (rerata 7,96ppm) masih berada pada batas toleransi kehidupan kepiting bakau. Wahyuni dan Ismail (1987) menyatakan kandungan kadar oksigen terlarut 5,71 – 10,22 ppm. Sedangkan menurut Effendi (2003), kadar oksigen terlarut untuk organisme akuatik > 5 ppm. Hasil pengukuran karbondioksida terlarut 3,72 – 4,79 ppm (rerata 4,21 ppm) dan keadaan ini masih baik untuk mendukung kehidupan kepiting bakau. Hal ini sesuai pendapat Effendi (2003), bahwa perairan untuk usaha perikanan sebaiknya mempunyai kandungan karbondioksida bebas < 5 ppm. Kedalaman air aliran pasang surut berkisar antara 29,23-35,07 cm (rerata 32,48 cm). Keadaan ini masih baik bagi produksi peneluran kepiting bakau yang dipelihara dalam kurungan Bambu pada aliran pasang surut tambak.

KESIMPULAN

1. Perbedaan berat tubuh induk kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal) memberikan pengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan dan nilai Female Maturity Index (FMI), tetapi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai Gonado Somatic Index (GSI).
2. Hasil pengukuran kualitas air menunjukkan aliran pasang surut tambak masih baik untuk menunjang kelangsungan hidup kepiting bakau (*Scylla serrata* Forskal).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada DP2M Dikti Depdiknas atas dukungan dana untuk pelaksanaan penelitian melalui program hibah Penelitian Fundamental Tahun 2008-2009.

DAFTAR PUSTAKA

Arriola, F. J. 1940. A Primary Study of The Life History of *Scylla serrata* (Forskal). Philip. J. Sci. pp. 437 – 456.

Bulanin, U. dan R. Rusdi. 2005. Pengaruh Frekuensi Pemberian Pakan Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Kepiting Bakau (*Scylla serrata* Forskal) di Laguna Gasan Gadang. Jurnal Penelitian Mangrove dan Pesisir, 5 (1) : 5-12.

Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air : Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Kanisius. Yogyakarta. 258 hlm.

Effendi, M. I. 2002. Biologi Perikanan.Yayasan Pustaka Nusantara.Yogyakarta 163 hlm.

Efrizal, Nurman dan Novriansyah. 2001. Luas Ruang Gerak Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Kepiting Bakau, *Scylla serrata* Forskal, Pada Keramba Bambu Sistem Sekat. Jurnal Penelitian Mangrove dan Pesisir 5 (1): 13 – 21.

Hanafiah, K.A.2000. Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta, hal 93-115.

Kanna, I. 2002. Budidaya Kepiting Bakau: Pembenihan dan Pembesaran. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 80 hlm.

Kasry, A. 1996. Budidaya Kepiting Bakau dan Biologi Ringkas. PT Bhrata Niaga Media. 93 hlm.

Locwood, A. P. M. 1967. Aspect of the Physiology of Crustacea. W H Freeman and Comp. San Fransisco.

Moosa, M. K., I. Aswandy, dan A. Kasry. 1985. Kepiting Bakau, *Scylla serrata* (Forskal, 1775) dari Perairan Indonesia. LON - LIPI, Jakarta. 18 pp.

Poovachiranon, S. 1991. Biological Studies of The Mud Crab *Scylla serrata* (Forskal) of The Mangrove Ecosystem in The Andaman Sea. Report of the Mud Crab Culture and Trade Held at Swat, Thailand, November 1991, hlm 49-57.

Quin, N. J and Kojis, B. L. 1987. Reproduction Biology of *Scylla spp*. (Crustacean : Portunidae) in the Labu estuary in Papua New Guinea.Bull. of Mar. Sci. 42(2) : 34-241.

Setyadi, I., A. Priyono, dan T. Sutarmat. 1997. Kandungan Asam Lemak Dalam Rotifera Untuk Mendukung Kelangsungan Hidup Kepiting Bakau (*Scylla serrata*). Prosiding II. Seminar Nasional Biologi XV. pp. 709 – 711.

Soim, A. 1994. Pembesaran Kepiting. Penebar Swadaya. Jakarta.

Sulaiman, W.2003. Statistik Non Parametrik : Contoh Kasus dan Pemecahannya dengan SPSS. ANDI Yogyakarta. Yogyakarta.

Sulaeman dan Hanafi, A. 1992. Pemotongan Tangkai Mata Terhadap Kematangan Gonad dan Pertumbuhan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*). Jurnal Penelitian Budidaya Pantai. 8 (4).

Susanto, G. N. 2006. Adaptasi Fisiologi Kepiting Bakau (*Scylla* sp.) Pada pemeliharaan di Tambak Alih Lahan Kawasan Pantai Timur Lampung. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Buku Ke-2. Lembaga Penelitian Universitas Lampung, Bandar Lampung. hlm. 551 – 560.

Susanto, G. N. dan Murwani, S. 2006. Analisis Secara Ekologis Tambak Alih Lahan Pada Kawasan Potensial Untuk Habitat Kepiting Bakau (*Scylla sp*). Prosiding Seminar Nasional Limnologi, Pusat Penelitian Limnologi – LIPI, 5 September 2006, Jakarta, p. 284-292.

Susanto, G. N. 2008. Peneluran Kepiting Bakau (*Scylla sp*.) Dalam Kurungan Bambu di Tambak Berdasarkan Pengamatan Tingkat Kematangan Gonad. Seminar Hasil-hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat dalam Dies Natalis Unila ke-42.

Wahyuni, E. dan Ismail, W. 1987. Beberapa Kondisi Lingkungan Perairan Kepiting Bakau (*Scylla serrata* Forskal) di Perairan Tanjung Pasir, Tanggerang. Jurnal Penelitian Perikanan Laut, No. 38: 59 – 68. NUGROHO 22

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH TOMAT (*Solanum lycopersicum*) TERHADAP KELAINAN STRUKTUR MIKROANATOMI HEPAR EMBRIO AKIBAT PEMBERIAN ETANOL PADA INDUK TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Rodiani[1], Suryadi[2], Harijadi[3]
[1]Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
[2,3]Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Etanol yang dikonsumsi saat kehamilan menyebabkan kelainan pertumbuhan embrio, efek tersebut berkaitan dengan stress oksidatif dari etanol. Ekstrak buah tomat dapat mengurangi stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak etanol buah tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap kelainan struktur mikroanatomi hepar embrio akibat pemberian etanol pada induk tikus (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini digunakan 25 ekor tikus hamil yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok dengan 5 ekor tikus hamil. Kelompok kontrol normal yang diberikan aquades dan kelompok kontrol negatif yang diberikan etanol 20% sebanyak 5 ml/oral. Kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan dosis pemberian yaitu kelompok perlakuan yang diberikan etanol 20% + ekstrak tomat 2 mg/kgBB, etanol 20% + ekstrak tomat 5 mg/kgBB dan pemberian etanol 20% + ekstrak tomat 15 mg/kgBB. Pemberian dilakukan per oral setiap hari selama masa organogenesis berlangsung. Pengamatan dilakukan pada hari ke-20 kehamilan dengan cara bedah caesar. Pengamatan meliputi kelainan struktur mikroanatomi hepar embrio. Data kelainan struktur mikroanatomi hepar embrio dianalisis dengan Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.
Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian etanol dapat menyebabkan nekrosis hepar. Tetapi, efek dari etanol dapat dikurangi dengan ekstrak buah tomat.

Kata kunci: *Solanum lycopersicum,* Etanol, Kelainan Hepar.

PENDAHULUAN

Wanita hamil yang mengkonsumsi etanol sama halnya dengan janin yang dikandung juga mengkonsumsi etanol. Etanol secara bebas tercampur dengan cairan tubuh melalui difusi. Etanol kemudian didistribusikan secara cepat ke dalam darah. Etanol secara cepat ditransportasikan ke janin, dan didistribusikan ke dalam sel dan jaringan dan masuk ke dalam cairan sekitar lingkungan janin. Etanol menyebabkan pengurangan nutrisi dan oksigen pada janin akibat perubahan fungsi plasenta. Etanol juga menghasilkan produk metabolisme yang bersifat toksik yaitu asetaldehide. Asetaldehide selanjutnya dirubah menjadi asam asetat oleh enzim asetaldehide dehidrogenase. Perubahan-perubahan mekanisme matabolisme etanol ini terjadi pada organ hepar. Asetaldehid memicu pembentukan oksigen bebas, stres oksidatif dan peroksidasi lipid (Boggan,2003).

Penelitian-penelitian epidemiologi di negara Barat menunjukkan banyak wanita hamil mengkonsumsi etanol. Penelitian di Denmark oleh Albertsen *et al.,* 2004 menunjukkan 1880 wanita dari 40.892 yang mengkonsumsi etanol 4-7 gelas minum/minggu, mengalami kelahiran anak preterm (kurang bulan). Sisanya yang mengkonsumsi etanol kurang dari 4 gelas/minggu tidak mengalami risiko melahirkan preterm. Mengkonsumsi

etanol juga dapat berakibat abortus spontan seperti yang dilaporkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Henriksen *et al.,* 2004, bahwa dari 186 kehamilan, 131 lahir selamat sedangkan 55 aborsi spontan. Menurut Damgaard *et al.,* 2006, ada hubungan antara *intake* alkohol yang teratur selama kehamilan dengan meningkatnya risiko kriptorkismus kongenital pada bayi laki-laki yang mekanisme ini belum diketahui pasti penyebabnya.

Zat yang dapat melawan stres oksidatif adalah antioksidan. Antioksidan dapat melawan peroksidasi membran fosfolipid yang disebabkan oleh stres oksidatif. Menurut Cuppert (1997) *cit.* Widjaya (2003) antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah daripada substrat yang dapat dioksidasi. Metabolit oksigen reaktif pada stres oksidatif yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan aktivitas enzim, menyebabkan mutasi dan menimbulkan kerusakan membran. Peroksidasi lipid merupakan konsekuensi biologis yang penting dari kerusakan seluler oksidatif (Pedro,2002). Hasil dari peroksidasi lipid berupa malondialdehid, 9-hidroksi-nonenal, etana dan lain-lain merupakan petanda biologis stres oksidatif (Harjano, 2004).

Salah satu antioksidan yang banyak dijumpai di Indonesia adalah buah tomat. Buah tomat (*Solanum licopersicum*) mengandung suatu zat yang dinamakan likopen, yaitu antioksidan alami turunan karotenoid. Senyawa ini termasuk antioksidan berdaya kerja tinggi yaitu 2 kali lipat dibanding beta karoten dan sangat efektif melawan radikal bebas.

Likopen pada buah tomat memiliki struktur kimia bentuk siklik, memiliki 11 cincin rangkap terkonjugasi. Senyawa ini memiliki peranan penting dalam menyingkirkan singlet oksigen (O_2^-) dan menangkap radikal peroksil. Menurut Garcia *et al*., 2001 *cit.* Arifin, 2006), kenaikan serum likopen dalam tubuh merupakan faktor determinan untuk mengurangi resiko kematian akibat penyakit kanker dan penyakit jantung koroner. Aktifitas biologis likopen dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif dengan cara menstimulasi kerja enzim antioksidan primer seperti SOD, GPx dan katalase. Likopen juga dilaporkan dapat menekan proliferasi sel kanker prostat dan usus manusia (Arifin,2007). Melihat kemampuan buah tomat yang mengandung antioksidan seperti likopen yang demikian kuat dalam melawan radikal bebas, maka diperlukan penelitian apakah buah tomat mempunyai kemampuan dalam mengurangi kerusakan akibat efek etanol terhadap embrio.

METODE PENELITIAN

Hewan coba dibiasakan dalam kandang selama 5 hari (sejak kehamilan hari 1) Sebelum penelitian dimulai, hewan percobaan disiapkan dan diperiksa siklus estrusnya dengan cara membuat preparat apus vagina. Setelah mendapatkan *Rattus norvegicus* yang memiliki siklus estrus yang teratur/reguler sebanyak 25 ekor, kemudian tikus dibuat hamil dahulu baru dilakukan pembagian secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok ada 5 ekor. Tikus betina yang berada pada stadium estrus dikandangkan bersama-sama dengan tikus jantan untuk dikawinkan. Tiap satu kelompok tikus betina kedalamnya dimasukkan dua tikus jantan. Pencampuran dilakukan pada sore hari antara jam 16.00-17.00 WIB (jam 4-5 sore) waktu ini yang disukai tikus, kemudian pagi harinya dilihat apakah ada sumbat vagina (*vaginal plug*) atau sperma di dalam vagina. Apabila pada pagi harinya ditemukan sumbat vagina, maka pada hari itu tikus dinyatakan kehamilan hari ke nol. Berat badan hewan coba adalah parameter yang diukur

Pembuatan ekstrak etanol tomat (*Solanum lycopersicum*)

Buah tomat didapat dari petani di dusun Grabah, Muntilan. Keunggulan tanaman ini buahnya besar dan warnanya merah, banyak, tidak musiman, cepat tumbuh, tidak

membutuhkan banyak air, sehingga mudah dikembangkan. Proses pembuatan ekstrak tomat ini menggunakan prosedur pembuatan ekstrak etanolik 70%. Buah tomat dikeringkan dalam almari pengering, dan dibuat serbuk dengan menggunakan blender atau mesin penyerbuk. Setelah itu dilakukan maserasi, sebanyak 50 gram serbuk kering buah tomat dalam tabung erlemeyer ditambah 500 ml penyari etanol, kemudian didiamkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Fase penyari yang diperoleh ditampung dan dipekatkan dengan evaporator, sehingga diperoleh ekstrak bahan uji.

Pembuatan dan pemberian larutan etanol

a. Pada pembuatan larutan etanol dibutuhkan pelarut air sebanyak : 20 ml etanol+80 ml akuades
b. Konsentrasi etanol 20% (v/v), setiap tikus diberi 5 ml larutan etanol (sesuai dengan kapasitas maksimal lambung tikus normal 100 gram)
c. Larutan etanol diberikan per oral sebanyak 5 ml/hari pada tikus di kelompok kontrol negatif, kelompok coba I, II dan III.

Penentuan larutan etanol ini berdasarkan penelitian yang dilakukan Wentzel *et. al.,* 2006, yang menentukan dosis etanol dengan konsentrasi 20% yang dapat menginduksi malformasi kongenital pada tikus hamil jenis yang sama. Diharapkan pada penelitian ini, dosis tersebut dapat menimbulkan stress oksidatif yang sekiranya dapat menimbulkan kelainan organ hepar.

Penentuan dosis ekstrak etanol buah tomat

Kelompok hewan coba II akan diberikan ekstrak etanol tomat dengan dosis yang sama dengan dosis efektif sebagai antioksidan yaitu sebesar 5 mg/kg BB/oral/hari pada penelitian yang dilakukan Jamshidzadeh *et. al.,* 2008. Hal ini bertujuan untuk melihat adanya pengaruh dosis terhadap efek stress oksidatif yang ditimbulkan oleh etanol. Pada kelompok coba I dan III merujuk standar pengobatan herbal ASEAN, digunakan dosis paling rendah yaitu 1/3 dosis dan dosis paling tinggi 3 kali dosis (Anonymous,2007).

Untuk kelompok coba I : 1/3 x 5 mg/kg BB = 2 mg/kg BB
Untuk kelompok coba II : 5 mg/kg BB
Untuk kelompok coba III : 3 x 5 mg/kg BB = 15 mg/kg BB

Ekstrak etanol tomat diberikan dalam bentuk cairan sebanyak 2 ml/200 gram per oral pada tiap tikus di kelompok coba I,II dan III. Pertimbangan pemberian dengan volume 2 ml/200 gram merupakan kemudahan dalam mengkonversi ke BB tiap harinya yang bertambah sesuai umur kehamilan.

Tabel 1. Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok	Akuades	Etanol 20%	Ekstrak tomat 2 mg/kg BB	Ekstrak tomat 5 mg/kg BB	Ekstrak tomat 15 mg/kg BB
Kontrol normal	V	-	-	-	-
Kontrol negatif	-	V	-	-	-
Coba I	-	V	V	-	-
Coba II	-	V	-	V	-
Coba III	-	V	-	-	V

Pemberian etanol dan ekstrak etanol buah tomat

Pada kelompok coba I, II dan III, etanol diberikan secara per oral dengan sonde. Perlakuan diberikan secara oral dengan gavage langsung ke lambung, berturut-turut, dimulai hari kehamilan ke 6 sampai dengan hari ke 15 pada waktu itu merupakan fase organogenesis *Rattus norvegicus* (Manson,1989). Pemberian pada pagi hari, pertama

ekstrak etanol buah tomat, kemudian selang 2 jam dilakukan pemberian larutan etanol. Hal ini dimaksudkan agar etanol mencapai puncaknya dalam darah dengan cepat (1-2 jam) jika perut dalam keadaan kosong.

Pembagian kelompok
Setiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Dua puluh lima ekor tikus hamil dikelompokkan ke dalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dapat dilihat di Tabel 1. Sediaan ekstrak etanol buah tomat dan etanol diberikan per oral menurut dosis di kelompok masing-masing dan semua tikus mendapat standar pemeliharaan dan ransum basal yang sama.

Pengambilan Data
Pada hari ke 20 hamil semua hewan coba *Rattus norvegicus* dikorbankan dengan metode dekapitasi yang sebelumnya sudah ditidurkan dengan Ether. Setelah hewan tidak bergerak segera dilakukan pembedahan bagian uterus untuk mengeluarkan embrio dari uterus. Uterus diambil dengan cara dipotong pada daerah pangkal pertemuan kedua salurannya, kemudian uterus disiangi dari jaringan penggantung uterus dan lemak yang menempel, ovarium ikut diambil. Uterus dimasukkan ke dalam cawan petri yang diberi larutan garam fisiologis secukupnya, kemudian disiangi dengan lebih teliti. Setelah bersih segera diletakkan diatas kertas hisap untuk menghilangkan lelebihan cairan garam fisiologis dan segera dilakukan pengamatan struktur mikroanatomi hepar.
Histologi hepar

Hepar diambil dari masing-masing embrio, dibuat preparat histologi. Kemudian preparat difiksasi dengan larutan formalin 10% selama 24 jam. Sampel hepar tersebut dipreparasi dengan metode parrafin, diwarnai dengan menggunakan pewarnaan *Erlich's Hematoxylin-Eosin.* Dilakukan pengamatan adanya nekrosis pada hepar embrio tikus dan diberi penilaian mengikuti metode Mitchel, sebagai berikut :

+	: kerusakan sel hepar 0 - 5 %
++	: kerusakan sel hepar 6 - 25 %
+++	: kerusakan sel hepar 26 - 50 %
++++	: kerusakan sel hepar > 50 %

HASIL DAN PEMBAHASAN

Strukur mikroanatomi hepar embrio
Efek toksik obat-obatan, sering terlihat dalam jaringan terutama hepar. Hal ini disebabkan karena hepar merupakan organ pertama yang dicapai oleh obat-obatan dan zat-zat lain yang diabsorbsi usus melalui vena porta, dan merupakan tempat utama metabolisme dan detoksikasi obat. Pada pemeriksaan mikroskopik, efek toksik obat-obatan tamapk berupa degenerasi sel bersama-sama dengan pembentukan vakuola besar, penimbunan lemak dan nekrosis (Lisdiana,1997).

Hasil pengamatan secara mikroskopik terhadap struktur hepar embrio kelompok kontrol menunjukkan bahwa hepar terdiri dari lobulus-lobulus dengan vena sentralis terletak di pusat setiap lobulus. Hepatosit tidak tersusun radier seperti pada struktur hepar dewasa. Sinusoid tersebar difus dan utuh. Sitoplasma homogen. Inti terletak di tengah dengan granula kromatin tersebar merata.

Pengamatan mikroskopik pada hepar embrio pada kelompok etanol 20% dengan kelompok coba I, II dan III terlihat adanya kerusakan pada hepatosit. Kerusakan tersebut berupa nekrosis, sitoplasma tidak lagi homogen, batas sel menjadi renggang

dan sinusoid mengalami pelebaran. Nampaknya kerusakan sel-sel hepar sudah menjurus pada kematian sel, yang ditunjukkan oleh nekrosis.

Nekrosis adalah kematian jaringan lokal yang secara morfologik dikenal oleh destruksi inti sel. Jones dan Hunts (1983) *cit.* Lisdiana (1997) mengatakan bahwa nekrosis adalah kematian sel atau jaringan yang masih mempunyai hubungan dengan tubuh yang hidup. Secara mikroskopik nekrosis dapat dilihat dari adanya perubahan dalam inti berupa piknosis yaitu pengerutan inti sehingga tampak lebih kecil dan gelap, karioreksis yaitu pecahnya inti menjadi sejumlah fragmen dan kariolisis yaitu pelarutan kromatin dan inti secara bertingkat menghilang.

Hasil pengamatan terhadap sel hepar embrio yang mengalami nekrosis dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2 menunjukkan adanya penurunan derajat luas nekrosis seiring dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak buah tomat terhadap pengaruh etanol 20%. Pada kelompok kontrol derajat luas nekrosis berkisar antara 0-5 %. Pada kelompok etanol 20%, derajat luas nekrosis berkisar >50%. Pada kelompok III dan IV derajat luas nekrosis berkisar antara 26-50%. Pada kelompok V derajat luas nekrosis berkisar antara 6-25%.

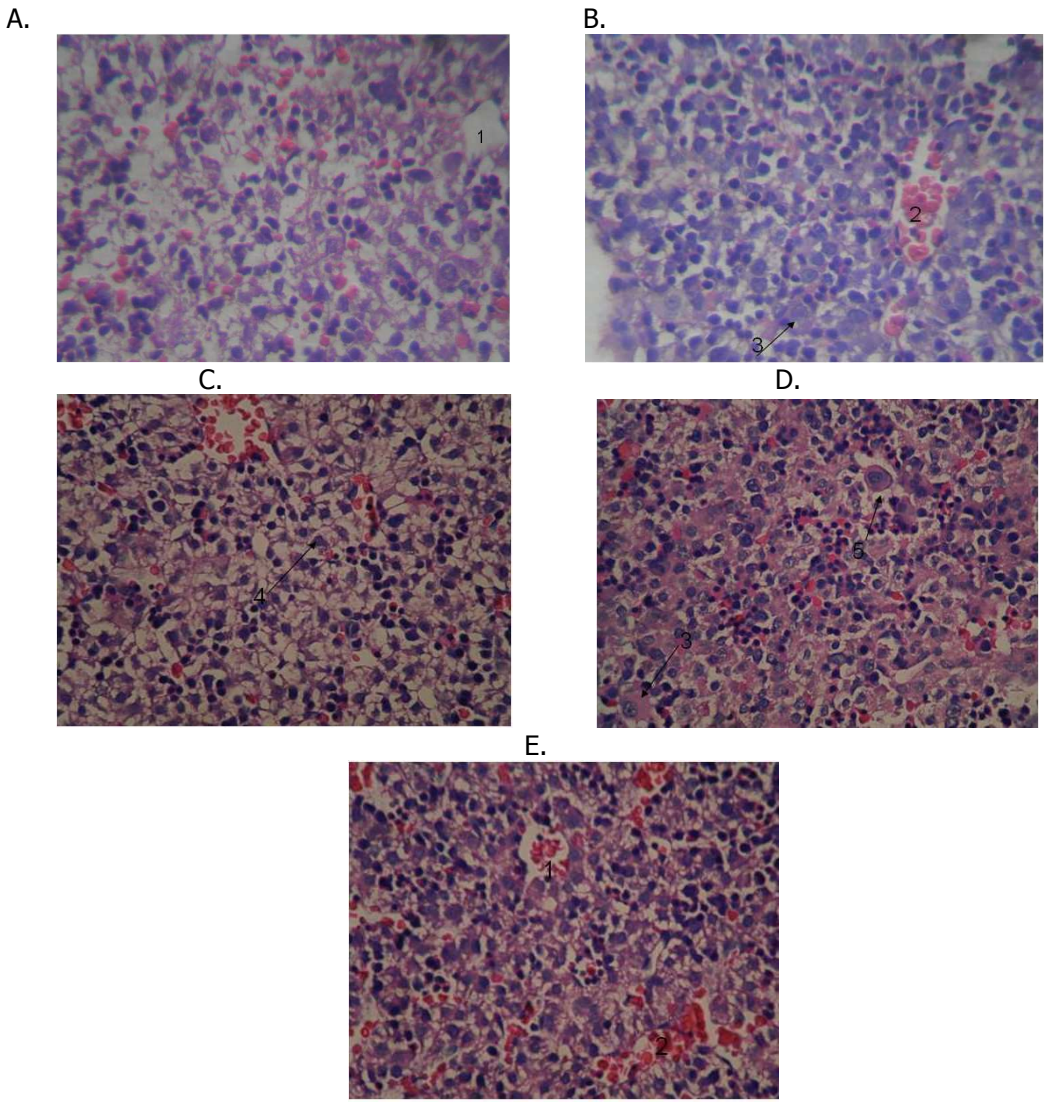
Analisis statistik dengan Kruskal Wallis menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p<0,05$) antara derajat nekrosis hepar embrio kelompok aquades dengan kelompok etanol 20% dan kelompok etanol 20% yang diberikan ekstrak tomat. Uji lanjutan antara kelompok perlakuan dengan uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok aquades dengan kelompok etanol 20% tanpa pemberian ekstrak buah tomat serta kelompok etanol 20% yang diberikan ekstrak buah tomat baik 2 mg/kg BB, 5 mg/kg BB dan 15 mg/kg BB .

Tabel 2. Derajat luas nekrosis hepar embrio setelah perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah embrio	Derajat Luas Nekrosis			
			+	++	+++	++++
I	Aquades	40	40	0	0	0
II	Etanol 20%	45	0	0	6	39
III	II+ET 2	41	6	17	17	1
IV	II+ET 5	48	9	19	19	1
V	II+ET 15	54	24	22	7	1

Kelompok etanol 20% tanpa pemberian ekstrak buah tomat dengan kelompok yang diberikan ekstrak buah tomat baik dosis 2mg/kg BB, 5 mg/kg BB dan 15 mg/kg BB menunjukkkan adanya perbedaan bermakna. Pada kelompok dosis ekstrak buah tomat 2 mg/kg BB dengan dosis 5 mg/kg BB tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p>0,05$), tetapi dengan dosis ekstrak buah tomat 15 mg/kg BB menunjukkan perbedaaan yang bermakna. Kelompok dosis ekstrak buah tomat 5 mg/kg BB dengan dosis 15 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$).

Berdasarkan analisa di atas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak tomat mempengaruhi pengurangan nekrosis hepar embrio akibat pemberian etanol pada induk. Peningkatan dosis ekstrak buah tomat menunjukkan pengaruh yang semakin baik terhadap pengurangan nekrosis hepar embrio.



Gambar 1. Gambaran mikroanatomi hepar embrio tikus (perbesaran 100 X)
A = Kontrol; B = Etanol 20%;
C = Etanol 20% + Ekstrak buah tomat 2mg/kg BB;
D = Etanol 20% + Ekstrak buah tomat 5 mg/kg BB;
E = Etanol 20% + Ekstrak buah tomat 15 mg/kg BB

Keterangan :
1. Vena sentralis
2. Sel-sel eritrosit di dalam sinusoid (pelebaran sinusoid)
3. Sel nekrosis
4. Sel normal
5. Sel yang mengalami pembengkakan

Kerusakan hepatosit diduga karena kekurangan oksigen yang diakibatkan oleh konsumsi etanol. Etanol dioksidasi menjadi asetaldehid yang bersifat toksik. Asetaldehid berinteraksi dengan lipid memicu terjadinya peroksidasi lipid. Proses ini merusak membran seluler dan subseluler dan menghasilkan radikal bebas. Lebih jauh, semua metabolit ini memerlukan oksigen yang banyak, sehingga mengkontribusi ke arah hipoksia centrilobular dari hepar. Kurangnya pasokan oksigen akan mempengaruhi metabolisme energi di dalam sel sehingga dapat menimbulkan gangguan-gangguan

seluler seperti pembengkakan sel, degenerasi lemak dan nekrosis. Seperti diketahui oksigen sangat penting bagi berlangsungnya reaksi-reaksi seluler sehingga dengan terganggunya pasokan oksigen maka reaksi-reaksi seluler tidak dapat berjalan sebagaimana mestinya.

Pada penelitian ini terlihat bahwa sel-sel hepar embrio yang masih merupakan organ hematopoetik mengalami nekrosis lebih banyak pada daerah yang dekat dengan vena sentralis dibanding sel-sel pada daerah perifer lobulus hepar.
Antioksidan yang diberikan yaitu ekstrak buah tomat yang mengandung likopen dan beta karoten dapat mengikat radikal bebas dan mengurangi terjadinya peroksidasi lipid serta tidak meningkatkan kebutuhan akan oksigen sehingga hipoksia seluler dapat dihindar (Fickert,2000). Keadaan ini juga diperkuat oleh Jamshidzadeh *et al.,* 2008 bahwa pemberian ekstrak buah tomat yang mengandung likopen secara simultan dapat mengurangi kerusakan jaringan dan stres oksidatif yang menginduksi toksisitas pada berbagai organ tikus yaitu pada organ hepar. Sehingga dengan pemberian ekstrak buah tomat dapat mengurangi kerusakan jaringan hepar embrio akibat pemberian etanol pada induk tikus.
Hasil pengamatan struktur mikroanatomi hepar embrio tercantum pada Gambar 1.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah : Pemberian ekstrak buah tomat dapat mengurangi kerusakan hepar berupa nekrosis yang diakibatkan oleh pemberian etanol pada induk tikus.

DAFTAR PUSTAKA

Boggan, B. 2003. *Alcohol, Chemistry and You : Maternal Drinking and Child Development*. Kennesaw State University.

Albertsen, K., Andersen, A.N., Olsen, J. & Gronbaek, M. 2004. Alcohol Consumption during Pregnancy and the Risk of Preterm Delivery. *Am J Epidemiol*. 159 (2) : 155-161.

Henriksen, T. B., Hjollund, N. H., Jensen, T. K., Bonde, J. P., Andersson, A., Kolstad, H., Ernst, E., Giwercman, A., Skakkebaek, N. E. & Olsen, J. 2004. Alcohol Consumption at the Time of Conception and Spontaneous Abortion. *Am J Epidemiol.* 160 (7) : 661-7.

Damgaard, I. N., Jensen, T. K., Peterson, J. H., Skakkebaek, N. E., Toppari, J. & Main, K. M. 2007. Cryptorchidism and Maternal Alcohol Consumption during Pregnancy. *Environ Health Perspect*. 115 (2) : 272-277.

Widjaya, C. H. 2003. Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh. *Healthy Choice.* Edisi IV.

Pedro, G., Fernando, F., Angela, C. & Encarnacion, L. F. 2002. Malondialdehyde : A Possible Marker of Ageing. *Gerontology.* (48) : 209-14.

Harjanto. 2004. Recovery From Oxidative Stress in Physical Exercise. *Jurnal Kedokteran Yarsi.* 12 (3) : 81-87.

Arifin, Z. 2006. *Kemampuan Buah Tomat Dibanding Kombinasi Vitamin C Bioflavonoid sebagai Antioksidan : Kajian Pada Fragilitas Eritrosit Setelah Latihan Aerobik High Impact*. Tesis, Program Pascasarjana, UGM, Yogyakarta, Tidak dipublikasikan.

Wentzel, P., Rydberg, U. & Eriksson, U. J. 2008. Antioxidative Treatment Diminishes Ethanol-Induced Congenital Malformations in the Rat. *Alcohol Clin Exp Res.* 30 (10) : 1752-60.

Jamshidzadeh, A., Baghban, M., Azarpira, N., Bardbori, A. M. & Niknahad, H. 2008. Effects of Tomato Extract on Oxidative Stress Induced Toxicity in Different Organs of Rats. *Food Chem Toxicol.* 42 (12) : 3612-15.

Anonymous. 2006. *Standard of ASEAN Herbal Medicine.* 2nd Ed. Jakarta : ASEAN Countries.

Manson, J. M. & Kang, Y. J. 1989. *Test methods for Assessing Female and Developmental Toxicology, Principles and Methods of Toxicology.* 2th Ed. Raven Press Ltd., New York.

Lisdiana, 1997. *Morfologi, Pertumbuhan Skeleton, Struktur Mikroanatomi Hepar Fetus Setelah Pemberian PCT Pada Induk Tikus.* Tesis, Program Pascasarjana, UGM, Yogyakarta, Tidak dipublikasikan.

Fickert, P. & Zatloukal, P. 2000. Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease. *Handbook of Alcoholism.* (10) : 317-22.

Zima, T., Fialova, L., Mestek, O., Janebova, M., Crkovska, J., Malbohan, I., Stipek, S., Mikulikova, L. & Popov, P. 2001. Oxidative Stress, Metabolism of Ethanol and Alcohol-Related Diseases. *J Biomed Sci.* (8) : 59-70.

Kumar, V., Cotran, R. S. & Robbins, C. T. 2005. *Basic Pathology.* 6th Ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia.

RODIANI 23

KADAR RIFAMPISIN DALAM SERUM PENDERITA TUBERKULOSIS PARU PADA PEMBERIAN TIGA DAN EMPAT TABLET OBAT ANTITUBERKULOSIS KOMBINASI DOSIS TETAP

Dwi Indria Anggraini[1], Ratih Puspita[2]
[1]Program Studi Ilmu Pendidikan Dokter Universitas Lampung
[2]Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret
dwiindriaanggraini_dr@yahoo.com

ABSTRAK

Rifampisin merupakan obat antituberkulosis (OAT) utama yang dipakai pada pengobatan tuberkulosis. Perbedaan dosis obat dapat mempengaruhi kadar obat dalam darah dan mempengaruhi keberhasilan terapi. Belum diketahui perbedaaan kadar obat rifampisin pada pengobatan tuberkulosis menggunakan antituberkulosis kombinasi dosis tetap (OAT-KDT). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar rifampisin dalam serum penderita tuberkulosis paru dewasa pada pemberian tiga dan empat tablet obat antituberkulosis kombinasi dosis tetap. Penelitian dilaksanakan menggunakan desain *cross sectional* dengan subyek 31 orang. Kriteria inklusi penelitian yaitu penderita TB dewasa, kasus baru dengan BTA positif. Subyek dikeluarkan jika memiliki gangguan fungsi hati, gangguan ginjal, diabetes, dan tidak memiliki pengawas minum obat. Pengukuran kadar rifampisin diketahui dengan menggunakan metode HPLC. Subyek diberikan tiga dan empat tablet OAT-KDT dan diikuti pengobatannya hingga selesai tahap intensif dan dilakukan monitoring keteraturan minum obat. Analisis data menggunakan analisis deskritif dan uji T tidak berpasangan. Hasil yang diperoleh menunjukkan rata-rata kadar obat rifampisin dalam serum subyek yaitu 4,12 μg/ml. Kelompok subjek penelitian yang menggunakan tiga tablet OAT-KDT 77,4% dan empat tablet OAT-KDT 22,6%. Rata-rata kadar rifampisin pada kelompok yang menggunakan tiga tablet OAT-KDT yaitu 3,60±0,36 μg/ml dan empat tablet OAT-KDT dan 5,89±1,51 μg/ml ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil diatas disimpulkan terdapat perbedaan kadar rifampisin pada kelompok subyek yang mendapat tiga dan empat tablet obat antituberkulosis kombinasi dosis tetap.

Katakunci: kadar rifampisin, tuberkulosis paru, obat antituberkulosis kombinasi dosis tetap.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang disebabkan kuman *Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis)*. Meskipun telah ditemukan obat-obatan yang poten untuk mengeradikasi kuman *M. tuberculosis*, namun pengobatan TB masih dianggap belum optimal karena angka kejadian TB dan angka kematian akibat TB yang masih tinggi. Badan Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan terdapat 8,8 juta kasus baru dengan tingkat kematian 1,6 juta penduduk pada tahun 2005 dan hampir 95% kasus TB terjadi pada negara berkembang (WHO, 2007).

Kejadian TB dan kematian akibat TB masih cukup tinggi. Pada tahun 2007 diperkirakan terdapat 9,27 juta kasus baru tuberkulosis di dunia, sehingga insidensinya mencapai sekitar 140 kasus per 100.000 penduduk (WHO, 2009). Selain itu, tingkat beban sakit yang masih tinggi angka kematian akibat TB juga masih tinggi. Hampir setiap hari terdapat 8000 penderita TB yang meninggal di seluruh dunia atau sekitar 2- 3 juta

kematian setiap tahunnya (Aditama, 2006). Biaya untuk menanggulangi TB juga cukup besar yaitu mencapai 2, 9 triliun dolar Amerika di seluruh dunia (WHO, 2007).

Tuberkulosis di Indonesia juga merupakan masalah kesehatan utama karena Indonesia merupakan negara dengan kasus TB terbanyak ketiga di dunia setelah India dan Cina. Jumlah pasien TB di Indonesia diperkirakan sekitar 10% dari total jumlah pasien TB di dunia (Depkes, 2007; WHO, 2007). Pada tahun 2004 terdapat 539.000 kasus baru per tahun dan terjadi kematian 101.000 orang akibat TB di Indonesia (Depkes, 2007).

Pengobatan TB bertujuan untuk mengatasi gejala-gejala klinis dan komplikasi yang mungkin terjadi, mengeradikasi kuman *M. tuberculosis* sehingga dapat mencegah penularan TB. Prinsip dasar pengobatan TB minimal pemberian dua macam obat antituberkulosis (OAT) dan diberikan dalam waktu lama yaitu dalam jangka 6 hingga 12 bulan (WHO, 2003) dengan regimen pengobatan terdiri atas fase awal dan fase lanjutan (Depkes, 2007). Saat ini pengobatan TB telah menggunakan obat antituberkulosis-kombinasi dosis tetap (OAT-KDT) yang diterapkan di pusat pelayanan kesehatan di Indonesia sesuai dengan program penatalaksanaan TB nasional (Depkes, 2007). Regimen terapi terdiri dari beberapa variasi dosis sesuai batasan berat badan penderita yang terdiri dari penggunaan 2 tablet, 3 tablet, 4 tablet, dan 5 tablet OAT-KDT pada pengobatan TB kategori 1 (Depkes, 2008).

Obat lini pertama TB saat ini adalah rifampisin, isoniazid, pirazinamid, etambutol dan streptomisin. Sedangkan obat TB lain *(second line)* digunakan jika terjadi *multidrug resistence* (MDR) yaitu paraaminosalisilat (PAS), viomisin, sikloserin, etionamid, kanamisin, dan kapriomisin (Depkes, 2007; Rahajo, 2005).

Rifampisin sebagai salah satu OAT utama memiliki peran penting dalam keberhasilan pengobatan TB. Penelitian yang dilakukan Ruslami (2007) membuktikan bahwa kadar rifampisin dalam darah dipengaruhi oleh dosis obat yang diberikan. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya variasi konsentrasi OAT yaitu berat badan, jenis kelamin, usia, kehamilan, penyakit gangguan fungsi hati kronis, penyakit *immunocompromised*, infeksi HIV, riwayat pengobatan OAT sebelumnya, bentuk sediaan obat dan dosis obat, (Peloquin, 2002; Roy *et al.*, 1996; Kwara *et al.*, 2008; Ray *et al.,* 2003, McIlleron *et al.,* 2006).

Perbedaan jumlah tablet atau dosis yang diberikan pada penderita TB yang menjalani pengobatan TB dengan OAT-KDT diduga mempengaruhi kadar rifampisin dan keberhsilan terapi TB. Pada penelitian ini ditelaah mengnai pengaruh perbedaan dosis atau jumlah tablet OAT-KDT yang diberikan pada pengobatan TB dengan OAT-KDT terhadap kadar rifampisin dalam serum penderita TB paru dewasa di Yogyakarta.

BAHAN DAN METODE

Subyek Penelitian

Subyek penelitian berjumlah 31 orang yaitu penderita TB paru dewasa di Kota Yogyakarta yang diperoleh dari Puskesmas Kota Yogyakarta dan Balai Pengobatan Penyakit Patu Kota Yogyakarta pada periode Agustus 2009 sampai Januari 2010.

Kriteria inklusi subyek yaitu: penderita TB paru dewasa usia lebih dari 18 tahun, penderita TB paru BTA positif, TB kasus baru atau belum pernah menjalani pengobatan TB, subyek mendapat pengobatan TB kategori 1, dan bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani pernyataan kesediaan mengikuti penelitian (*informed consent*).

Sedangkan kriteria eksklusi subyek yaitu: menderita diabetes melitus, gangguan fungsi hati, tidak dapat berkomunikasi dengan baik, tidak memiliki pengawas minum obat.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk penetapan kadar rifampisin dalam serum dalam penelitian ini adalah: Darah vena penderita yang diambil dari vena cubiti sebanyak 3 ml, asam askorbat, *buffer potasium dyhidrogen phospate* 10 mM, dan asetonitril. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: *dissposible spuit* 5 cc; *Vacuintaner* 6 ml; Alcohol swab; *Eppendorf tube* 1,5 ml, HPLC (Knauer, software Chrombate 3.1.4) dengan detektor PDA *spectra system UV 6000 LP*, model pompa *smartline pump 1000*, model injektor *smartline autosampler 3800*, dan komputer *Wearness p.4.3 M*. Fase diam yaitu kolom Novapak® C18 (150 x 3,9 mm, 3 μm) *Waters*; dan kuesioner yang berisi identitas penderita, riwayat penyakit penderita, dan riwayat merokok.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan kelaikan etik dari komisi etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan FK UGM, dan ijin memperoleh sampel dari Kepala Dinas Kesehatan Kota Yogyakarta dan Kepala BP4 Kota Yogyakarta.

Pengambilan darah subyek dilakukan di Puskesmas Kota Yogyakarta atau BP4 unit Minggiran atau Kotagede setelah subyek menandatangani lembar persetujuan penelitian. Pengambilan dilakukan sebanyak dua kali, pertama saat sebelum minum OAT (hari ke-0) dan kedua saat pengobatan TB fase intensif selesai, yaitu tepatnya dua jam sesudah minum OAT pada hari ke-56 pengobatan.

Darah subyek diambil dari *vena mediana cubiti* sebanyak 3 cc, kemudian darah dimasukkan ke dalam *ice box* (suhu 4^0C) untuk segera dipindahkan ke laboratorium (LLPT UGM), lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Serum diambil, dimasukkan pada *eppendorf tube* 1,5 ml, lalu disimpan pada suhu -80^0C hingga dianalisis kadarnya dengan waktu penyimpanan maksimal 30 hari.

Pemeriksaan kadar konsentrasi rifampisin dalam serum menggunakan metode presipitasi protein dan high-performance liquid chromatography (HPLC) Waters, kolom C18 dengan deteksi sinar ultraviolet. Langkah preparasi awal dengan menyiapkan 100 µl acetonitrile ditambah dengan 10 µl asam ascorbat (20 mg/ml) lalu dicampur dengan sampel penderita sebanyak 200 µl. Pencampuran dengan menggunakan vortex selama 20 detik selanjutnya disentrifus selama 5 menit. Supernatan ditambahkan *buffer potasium dyhidrogen phospate* 10 mM, ulangi prosedur dengan vortex dan sentrifus. Fase bergerak adalah 10mM potasium *dyhidrogen phospate* dan *acetonitrile* (62%-38% [vol/vol]). Aliran distel dengan kecepatan 1ml/min dan panjang gelombang 334 nm. Dihasilkan supernatan jernih, ambil 100 µl larutan lalu injeksikan ke HPLC. Kurva kalibrasi rifampisin ditentukan dengan *plotting* hubungan konsentrasi terhadap area puncak obat (Ruslami *et al.*, 2007).

Analisis Data

Analisis data hasil penelitian dilakukan menggunakan program *SPSS version 17*. Deskripsi variabel penelitian dilakukan dengan analisis deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan narasi. Untuk menganalisis perbedaan kadar rifampisin pada dua kelompok (3 tablet OAT-KDT dan 4 tablet OAT-KDT) maka dilakukan uji T tidak berpasangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Karakteristik Subyek

Rerata usia subyek penelitian yaitu 44,2 tahun dengan rentang usia 21 tahun dan maksimum 71 tahun. Subyek berjenis kelamin laki-laki adalah 77,4% dan perempuan 22,6%. Rerata indeks masa tubuh (IMT) subyek dalam penelitian ini tergolong rendah, yaitu 18,4. Rendahnya nilai IMT tersebut juga sesuai dengan gambaran bahwa lebih dari separuh subyek memiliki status gizi kurang (58,1%). Sekitar dua pertiga subyek adalah perokok (64,5%).

Pemberian OAT pada penelitian ini dalam bentuk kombinasi dosis tetap (OAT-KDT) dengan dosis obat setiap tabletnya mengandung 150 mg rifampisin, 75 mg isoniazid, 400 mg pirazinamid, dan 275 mg etambutol. Sebagian besar subyek (77,4%) memperoleh terapi 3 tablet OAT-KDT dan sisanya (22,6%) memperoleh terapi 4 tablet OAT-KDT. Tidak ada subyek yang mendapat 2 tablet OAT-KDT atau 5 tablet OAT-KDT.

Kadar Rifampisin dalam Serum

Tidak ditemukan kadar obat rifampisin dalam serum pada 31 subyek penelitian ini sebelum intervensi pengobatan dimulai. Pada pengobatan hari ke-56 dilakukan pengukuran kadar obat rifampisin dalam serum setelah dua jam meminum OAT-KDT. Berdasarkan pengukuran tersebut diperoleh kadar rerata pada 31 subyek adalah 4,12 μg/ml dengan kadar rifampisin paling rendah adalah 0,49 μg/ml dan kadar INH tertinggi 14,43 μg/ml.

Dari 31 subyek diketahui sebagian besar (77,4%) memperoleh tiga tablet OAT-KDT yang mengandung 450 mg rifampisin, dan 22,6% memperoleh empat tablet OAT-KDT yang mengandung 600 mg rifampisin. Rerata kadar rifampisin pada subyek yang memperoleh 450 mg lebih rendah daripada rerata kadar pada individu yang memperoleh 600 mg (3,60±0,36 μg/ml *vs.* 5,89±1,51 μg/ml). Subyek yang memiliki kadar rifampisin paling tinggi (14,43 μg/ml) termasuk dalam kelompok subyek yang mendapat INH 600 mg. Pada kelompok rifampisin 450 mg tidak ditemukan data dengan nilai ekstrim. Tidak demikian halnya dengan kelompok yang mendapat 600 mg, terlihat ada satu data yang terletak sangat jauh dari garis yang merupakan data dengan nilai ekstrim tinggi.

Rerata kadar rifampisin dalam serum pada kelompok yang mendapat empat tablet OAT-KDT (rifampisin 600 mg) lebih tinggi dibandingkan rerata kadar rifampisin pada kelompok yang mendapat tiga tablet OAT-KDT (rifampisin 450 mg), yaitu 5,89±1,51 μg/ml *vs.* 3,60±0,36 μg/ml. Dan perbedaan ini bermakna secara statistik (p=0,03).

PEMBAHASAN

Rerata kadar rifampisin dalam serum setelah dua jam meminum OAT-KDT pada adalah 4,12 μg/ml dengan kadar terendah 0,49 μg/ml dan kadar tertinggi 14,43 μg/ml. Pada penelitian ini, terdapat perbedaan rerata kadar rifampisin dalam serum antara kelompok yang mendapat rifampisin 450 mg (3 tablet OAT-KDT) maupun yang mendapat rifampisin 600 mg (4 tablet OAT-KDT) (uji T tidak berpasangan, p=0,03). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa dosis rifampisin mempengaruhi kadar rifampisin (Ruslami, 2008).

Jika ditinjau berdasarkan kadar hambat minimal untuk *M. tuberculosis* adalah sekitar 0,1-0,2 μg/mL (Istiantoro dan Setiabudy, 2007), maka kadar rifampisin minimal yang

didapatkan dari penelitian ini (0,49 µg/mL) berada di atas kadar hambat minimal rifampisin. Namun demikian, perlu dilakukan pengkajian lanjutan terhadap keberhasilan pengobatan tuberkulosis mengingat kadar minimal rifampisin dalam serum subyek tidak terlalu jauh melampaui kadar hambat minimal rifampisin terhadap *M. tuberculosis*.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan kadar rifampisin dalam serum penderita tuberkulosis paru pada pemberian tiga dan empat tablet obat antituberkulosis kombinasi dosis tetap.

DAFTAR PUSTAKA

Chambler, H. F. 2006. Antimycobacterial drugs. In: B .G. Katzung (Ed). *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th edition. Mc.Graw Hill Companies Inc., Boston.

Depkes RI. 2007. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*. Edisi 2, cetakan pertama. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Istiantoro, Y.H. dan Setiabudy R. 2007. Tuberkulostatik dan leprostatik. Dalam *Farmakologi dan terapi*. eds. S.G. Gunawan, R. Setiabudy dan Nafrialdi. hal.613-637. Bagian farmakologi, fakultas kedokteran universitas Indonesia, Jakarta.

McIlleron, H., Wash, P., Burger, A., Norman, J., Folb, P. I., Smith, P. 2006. Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50 (4): 1170-7.

Peloquin, C.A. 2002. Therapeutic Drug Monitoring in the treatment of tuberculosis. *Drugs*. 62 (15): 2169-83.

Peloquin, C. A. 2008. Tuberculosis. In: J. T. Dipiro, M. Brown., A. Halk, K. G. Edmonson, and P. J. Boyle (Eds). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Seventh edition. Mc.Graw Hill Companies Inc., New York.

Petri, W. A. 2006. Chemotherapy of tuberculosis, Mycobacterium avium complex disease, and leprosy. In: L. Brunton, J. Lazo, and K. L. Parker (Eds). *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basic of Therapeutics*. 11th edition. pp. 1203-23. Mc.Graw Hill Companies Inc., New York.

Rahajoe, N.N., Basir, D., Makmuri, M.S., Kartasasmita, C.B. 2005. *Pedoman nasional tuberkulosis anak.* UKK Pulmonologi PP IDAI, Jakarta.

Rajana, R. 2008. *Faktor-faktor risiko gagal konversi dahak penderita TB setelah pengobatan dengan strategi Directly Observed Treatment Short-Course (DOTS) tahap intensif di Kabupaten Halmahera Tengah tahun 2008.* (Tesis). Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Raviglione, M. C. dan O'Brien, R. J. 2008. Tuberculosis. In: A. S. Fauci, D. L. Kasper, D. L. Longo, E. Braunwald, S. L. Hauser., J. L. Lameson, J. Loscalzo (Eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th edition. pp.1006-20. Mc.Graw Hill Companies Inc., New York.

Ray, J., Gardiner, I., Marriot, D. 2002. Managing antituberculosis drug therapy by therapeutic drug monitoring of rifampicin and isoniazid. *Int. Med. Journal.* 33: 229-34.

Ruslami,R.,Nijland, H.M.J., Alisjahbana, B., Parwati,I., Van Crevel, R., Aarnoutse, R.E.2007. Pharmacokinetics and tolerability of a higher rifampicin dose versus the standard dose in pulmonary tuberculosis patients. Antimicobial agents and chemotherapy. 51(7):2546-2251.

Tappero, J.W., Bradford, W.Z., Agerton, T. B., Hopewell, P., Reingold, A.L., Lockman, S., Oyewo, A., Talbot, E.A., Kenyon, T.A., Moeti, T.L., Moffat, H.J., Peloquin, C.A. 2005. Serum concentration of anti mycobacterial drugs in patients with pulmonary tuberculosis in Botswana. *Clin. Inf. Dis.* 41: 461-9.

World Health Organization. 2009. *World Health Organization Report 2009 Global Tuberculosis Control Epidemiology, Strategy, Financing*. World Health Organization, Geneva.

DWI INDRIANI 24

KERACUNAN PESTISIDA DAN FAKTOR YANG MEMPENGARUHINYA PADA PETANI PADI DI DESA RJ BANDAR LAMPUNG

Fitria Saftarina
Bagian Kedokteran Okupasi, Program Studi Pendidikan Dokter,
Universitas Lampung, Lampung

ABSTRAK

Pestisida merupakan bahan beracun yang digunakan untuk meningkatkan produktivitas hasil pertanian. Namun penggunaannya harus bijaksana agar tidak menimbulkan dampak bagi kesehatan. Tujuan penelitian adalah mengetahui angka kejadian keracunan pestisida dan faktor yang mempengaruhinya pada petani padi di Desa RJ Bandar Lampung. Penelitian ini merupakan studi analitik-korelatif dengan desain cross sectional. Pengumpulan data menggunakan kuesioner, pengukuran status gizi dan pemeriksaan serum cholinesterase terhadap 50 orang petani di Desa RJ Bandar Lampung. Variabel yang digunakan adalah umur, status gizi, banyak jenis pestisida, merokok, dan arah penyemprotan. Analisis statistik menggunakan uji Chi-square dengan tingkat kemaknaan (α=0,05).
Hasil penelitian menunjukkan proporsi keracunan pestisida sebesar 32%. Analisis data menggunakan uji Chi-square menunjukkan status gizi kurang (p=0,003), merokok (p=0,002) secara statistik berhubungan terhadap terjadinya keracunan pestisida. Sedangkan umur (p=0,855), banyak jenis pestisida (p=0,643),dan arah penyemprotan (p=0,172) tidak berhubungan terhadap terjadinya keracunan pestisida.

Kata Kunci: keracunan pestisida, petani padi.

PENDAHULUAN

Pestisida merupakan racun untuk memberantas hama yang menjadi target sasarannya sehingga mampu meningkatkan hasil produksi pertanian dan perkebunan. Di sisi lain, pestisida memberikan dampak bagi kesehatan terutama petani yang mengalami kontak langsung dengan pestisida.Risiko kontak langsung dengan pestisida dapat mengakibatkan keracunan akut dan kronis. Gejala keracunan akut seperti: sakit kepala, mual, muntah, iritasi kulit dan kebutaan. Pada keracunan kronis tidak selalu mudah dideteksi karena efeknya tidak segera dirasakan, walaupun akhirnya menimbulkan gangguan kesehatan (Djojosumarto, 2000)

Data keracunan pestisida di Indonesia sulit didapatkan. Hal ini dikarenakan banyak kasus yang tidak dilaporkan. Penelitian yang dilakukan oleh Sarjoko, terhadap petani hortikultura di Kabupaten Sleman, didapatkan sebanyak 33% terjadi keracunan pestisida (Sarjoko. 2006). Faktor yang mempengaruhi adalah tingkat pendidikan, lama menyemprot, frekuensi penyemprotan dan status gizi .Penelitian yang dilakukan oleh Marsaulina terhadap petani hortikultura di Kabupaten Simalungun menyatakan 72,9% terjadi keracunan pestisida (3. Marsaulina. 2007) Hal ini disebabkan oleh status gizi yang tidak baik, dosis yang tidak sesuai dengan anjuran, dan tidak memakai alat pelindung diri. Penelitian yang dilakukan oleh Suwastika terhadap petani jeruk di kabupaten Timor Tengah Selatan sebanyak 29,2% mengalami keracunan, hasil penelitiannya didapatkan

terdapat hubungan bermakna antara penggunaan alat pelindung diri, jumlah pohon jeruk dan mencuci tangan dengan terjadinya keracunan pada petani (Suwastika, I. 2009**)**.

Desa RJ memiliki lahan sawah terluas di Bandar Lampung. Di daerah ini petani sangat menggantungkan hasil pertaniannya pada penggunaan pestisida. Selama ini pemeriksaan *cholinesterase* belum pernah dilaksanakan. Sehubungan dengan penelitian terdahulu dan kondisi yang ada dilapangan, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang hubungan karakteristik pemaparan pestisida terhadap terjadinya keracunan di Desa RJ Bandar Lampung.

METODOLOGI

Rancangan penelitian ini adalah studi analitik dengan desain *cross sectional*. Populasi dalam penelitian ini adalah petani padi di Desa RJ Bandar lampung yang terdiri dari 317 orang petani. Pengambilan sampel dilakukan dengan kriteria inklusi sebagai berikut: (1) masa kerja > 1 tahun ; (2) umur 20-54 tahun ; dan (3) kontak terakhir dengan pestisida tidak lebih dari 4 minggu. Adapun kriteria ekslusi adalah: (1) menderita hipertensi, diabetes mellitus, dan glaukoma; (2) mengkonsumsi obat-obatan seperti; prostigmin dan fisostigmin. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan ekslusi sebanyak 50 orang.

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan yaitu serum *cholinesterase*. Penetapan keracunan dilakukan menurut ketentuan *Clinical Laboratory* dari E.Merck, Jerman yaitu 3,0 – 8,0 U/ml (Darmstadt, 1990).
. Hasil pemeriksaan dibawah atau diatas angka tersebut berarti keracunan. Pengukuran status gizi dengan menggunakan Indeks Massa Tubuh (IMT). Variabel umur, banyak pestisida yang digunakan, arah penyemprotan dan merokok setelah penyemprotan hasil wawancara dengan kuesioner terstruktur. Variabel bebas penelitian ini meliputi: umur , status gizi, banyak pestisida yang digunakan, merokok setelah penyemprotan, arah penyemprotan. Adapun variabel terikat adalah keracunan pestisida.

Data yang dikumpulkan kemudian diolah secara deskriptif dan analitik dengan menggunakan uji *chi-square* dengan tingkat kemaknaan (α = 0,05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian
Analisis Univariat
Analisis univariat dapat dilihat dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Keracunan Pestisida di Desa RJ Bandar Lampung

Keracunan Pestisida	N	%
Normal	34	68
Keracunan	16	32
Jumlah	**50**	**100**

Tabel 2. Karakteristik Subyek Penelitian di Desa RJ Bandar Lampung

Karakteristik Responden	Jumlah (n)	Prosentase (%)
Umur		
20-24	2	4

25-29	2	4
30-34	4	8
35-39	7	14
40-44	12	28
45-49	7	14
50-55	16	32
Jumlah	**50**	**100**
Status gizi		
Normal	12	24
Tidak normal	38	76
Jumlah	**50**	**100**
Banyak Pestisida yang Digunakan		
1 macam	8	16
≥ 2 macam	42	84
Jumlah	**50**	**100**
Merokok selama penyemprotan		
Ya	25	50
Tidak	25	50
Jumlah	**50**	**100**
Arah Penyemprotan		
Searah angin	40	80
Berlawanan arah angin	10	20
Jumlah	**50**	**100**

Analisis Bivariat

Analisis bivariat berguna untuk mengetahui kemaknaan hubungan antara karakteristik pemaparan dengan keracunan pestisida. Untuk uji kemaknaaan dilakukan *chi-square*. Hasil bivariat secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Distribusi Proporsi Faktor- faktor yang Mempengaruhi Terjadinya Keracunan Pestisida di Desa RJ Bandar Lampung

	Keracunan		Tidak Keracunan		
Variabel	**N**	**%**	**N**	**%**	**Chi-square**
Umur					
20-24	0	0	2	4	
25-29	1	2	1	2	
30-34	2	4	2	4	
35-39	2	4	5	10	
40-44	4	8	8	16	
45-49	3	6	4	8	
50-54	4	8	12	24	
Jumlah	**16**	**32**	**34**	**68**	**0,172**
Status Gizi					
Normal	8	16	4	8	

Tidak normal	8	16	30	60	
Jumlah	**16**	**32**	**34**	**68**	**0,003***
Banyak Pestisida yang Digunakan					
1 macam	2	4	6	12	
≥ 2 macam	14	28	28	56	
Jumlah	**16**	**32**	**34**	**68**	**0,643**
Arah Penyemprotan					
Searah angin	11	22	29	58	
Berlawanan arah angin	5	10	5	10	
Jumlah	**16**	**32**	**34**	**68**	**0,855**
Merokok setelah penyemprotan					
Ya	13	26	12	24	
Tidak	3	6	22	44	
Jumlah	**16**	**32**	**34**	**68**	**0,002***

* = Signifikan

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan serum *cholineseterase* dari 50 subyek penelitian, yang mengalami keracunan sebanyak 16 orang (32%) sedangkan yang normal sebanyak 34 orang (68%). Hasil ini menunjukkan, bahwa kejadian keracunan masih rendah dibandingkan dengan penelitian Nasruddin yang meneliti 198 orang petani di Sukoharjo. Hasil penelitiannya menunjukkan, yang mengalami keracunan sebanyak 94 orang (47,5%) dan 104 orang (52,5%) normal (6. Nasruddin, 2001). Selanjutnya, keracunan pestisida bagi tenaga kerja pertanian pengguna pestisida sebagai refleksi dari status kesehatan yang kurang baik. Hal ini berhubungan dengan empat faktor, antara lain: (1) faktor kependudukan; (2) faktor pelayanan kesehatan; (3) faktor perilaku; dan (4) faktor lingkungan (.Suwarni, A. 1997).

Hubungan umur dengan keracunan

Berdasarkan uji Chi-Square menunjukkan tidak ada hubungan antara umur dengan terjadinya keracunan. Penelitian ini sama dengan yang dilakukan oleh Safi, *et.al.*(2005) pada petani di Jalur Gaza, tidak ada hubungan umur petani dengan terjadinya keracunan (Safi *et al.*, 2005). Hal ini disebabkan paparan pestisida yang diperoleh masih dalam batas normal.

Status Gizi

Berdasarkan uji Chi-square menunjukkan ada hubungan antara status gizi terhadap keracunan pestisida (p=0,003). Variabel ini masuk kedalam analisis multivariat dengan hasil (p=0,019). Hal ini menunjukkan petani yang menderita keracunan pestisida kemungkinan besar mempunyai status gizi tidak baik. Hal ini dapat dijelaskan bahwa konsumsi makanan pada petani tidak memenuhi syarat gizi yang baik, karena kemampuan belanja untuk mendapatkan kebutuhan sehari-hari kurang. Selain hal tersebut, petani mempunyai aktivitas yang banyak mengeluarkan kalori seperti mencangkul, memberi pupuk dan menyemprot serta berkumpul di malam hari (Marsaulina, 2007).

Dari hasil wawancara dengan subyek penelitian yang memiliki gizi kurang, kemampuan mereka kurang untuk membeli bahan makanan terutama yang mengandung protein. Dalam 1 pekan, mereka sekitar 5 hari, mereka mengkonsumsi protein nabati, ikan dan telur sekitar 1-2 hari dan daging hanya mereka konsumsi pada waktu-waktu tertentu saja.

Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Achmadi, yang menyatakan bahwa tingkat gizi yang diukur dengan berat badan dan tinggi badan mempunyai hubungan dengan kadar rata-rata *cholinesterase*, dimana petani yang mempunyai tingkat gizi baik cenderung memiliki kadar *cholinesterase* lebih tinggi (Achmadi, 1991).

Hubungan antara banyak jenis pestisida dengan keracunan

Proporsi penggunaan pestisida ≥ 2 macam yang mengalami keracunan (Tabel 4) lebih tinggi sebesar 14 orang (87,5%). Berdasarkan hasil uji statisitik dengan *chi-square*, menunjukkan bahwa tidak ada hubungan (p>0,05) bermakna antara banyak jenis pestisida yang digunakan dengan keracunan. Hasil penelitian ini sama berbeda dengan penelitian terdahulu yang menyatakan ada hubungan bermakna antara banyak jenis pestisida yang digunakan dengan kejadian keracunan (Suwarni, 1997). Hal ini dapat dipahami bahwa, pestisida yang digunakan pada penelitian ini adalah golongan organofosfat yang mudah diuraikan oleh tubuh. Petani yang terpapar lebih dari pestisida, akan segera diuraikan oleh tubuh.

Arah Penyemprotan Terhadap Arah Angin

Tindakan subyek penelitian dalam menyemprot perlu memperhatikan arah angin. Tindakan melawan arah angin pada saat penyemprotan dengan pestisida akan menyebabkan petani lebih mudah terjadi keracunan[1].Penyemprotan yang tidak sesuai dengan arah angin memberikan paparan yang lebih besar. Dari hasil penelitian, tidak terdapat hubungan antara arah penyemprotan dengan terjadinya keracunan. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Nasruddin, terhadap petani sayur di Kabupaten Magelang Jawa Tengah (Nasruddin 200). Hasil penelitian ini berbeda dengan teori, perlu dikaji lebih lanjut dengan mengukur laju kecepatan angin dan memperhatikan waktu penyemprotan.

5. Merokok Setelah Penyemprotan

Pada penelitian perilaku merokok saat dan setelah penyemprotan berimbang dengan yang tidak merokok. Berdasarkan kuesioner,sebanyak 50% masih memiliki perilaku merokok. Dari hasil uji statistik, didapatkan hubungan bermakna antara merokok setelah penyemprotan dengan terjadinya keracunan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mishra (2006), terhadap pekerja yang terpapar organofosfat sebanyak 76,09% merokok dan perilaku merokok mempengaruhi kadar cholinesterase tubuh yang merupakan indikator keracunan () Mishra, 2006). Perilaku merokok saat dan setelah menyemprot meningkatkan risiko keracunan pestisida. Perilaku ini memiliki hubungan signifikan terhadap penurunan aktivitas *cholinesterase* darah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Angka keracunan pestisida di Desa RJ sebesar 32%.
2. Berdasarkan uji statistik umur, banyak jenis pestisida dan arah penyemprotan tidak memiliki hubungan yang bermakna dengan keracunan pestisida pada petani padi.
3. Berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan ada 2 faktor yang berhubungan secara bermakna status gizi dan merokok setelah penyemprotan.

Saran

1. Perlu dibentuk komisi pengawasan pestisida dengan melibatkan semua instansi yang terkait, sehingga pelaksanaan pengawasan, pembinaan dan upaya pencegahan terhadap penyimpangan penggunaan pestisida dapat dikendalikan.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan *cholinesterase* berkala, agar dapat dideteksi pengaruh pestisida terhadap kesehatan

DAFTAR PUSTAKA

Djojosumarto, P., 2000. Tehnik Aplikasi Pestisida Pertanian. Kanisius, Yogyakarta.

Sarjoko. 2006. *Faktor-faktor risiko terjadinya keracunan pestisida pada petani hortikultura di Kabupaten Sleman*. Tesis, Program Pasca sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Marsaulina. 2007. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Keracunan Pestisida pada Petani Hortikultura di Kecamatan Jorlang Hataran Kabupaten Simalungun Tahun 2005. *Media Litbang Kesehatan* XVII(1), hal 18-2.

Suwastika, I. 2009. *Faktor Lingkungan, Hygiene Perorangan, Perilaku Penggunaan Pestisida dan Tingkat Keracunan pada Petani Jeruk di Kabupaten Timor Tengah Selatan*. Tesis, Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Darmstadt. 1990. *Textbook Clinical Laboratory*. E. Merck, Germany.

Nasruddin. 2001. *Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Terjadinya Keracunan Pestisida pada Petani Sayuran di Kabupaten Magelang – Jawa Tengah*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

.Suwarni, A. 1997. *Pemaparan dan Tingkat Keracunan Pestisida pada Petani Cabe dan Bawang Merah di Kabupaten Brebes Jawa Tengah*. Tesis, Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Safi, M.J., Mourad, A.T., Yassin, M.M. 2005. *Hematological Biomarkers in Farm Workers Exposed to OP Pesticides in The Gaza Strip*. Arch Environmental & Occupational Helath, Vol. 60, No.5: 235-241.

Achmadi, U.F. 1991. Upaya Kesehatan Kerja Sektor Informal di Indonesia. Departemen Kesehatan R.I., Jakarta.

Mishra, A.G. 2006. *The Effect of Tobacco Consumption on Blood Cholinesterase Levels among Workers Exposed to OP Pesticides*. Toxicology and Industrial Health Journal (22): 399-403.

FITRIA 25

EFEKTIVITAS BIOLARVASIDA EKSTRAK BIJI LABU MERAH *(Cucurbita moschata)* TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*

Betta Kurniawan
PS Pendidikan Dokter FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung, 35148
Email: betta.pspd@gmail.com

ABSTRAK

Demam berdarah dengue merupakan (DBD) merupakan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh virus dengue dengan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama. Upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah DBD adalah dengan pengendalian vektornya. Tanaman bisa menjadi sumber alternatif sebagai bahan pengendali vektor nyamuk tersebut. Labu merah (Cucurbita moschata) mengandung bahan aktif flavonoid, cucurbitasin, alkaloid, saponin dan lain-lain. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak biji labu merah terhadap larva *Aedes aegypti*. Penelitian ini merupakan penelitian ekspriment laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap design. Sampel penelitian adalah larva *Aedes aegypti* instar III yang didapat dari hasil kolonisasi, untuk tiap perlakuan digunakan 25 larva *Aedes aegypti*. Uji Larvasida dilakukan dengan menggunakan 5 (lima) variasi konsentrasi dengan 4 (empat) kali ulangan, analisa data dengan anova. Hasil uji larvasida ekstrak etanol biji labu merah terhadap larva *Aedes aegypti* setelah 24 dan 48 jam pengamatan memberikan efek larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Konsentrasi ekstrak tertinggi yang menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* pada pengamatan 24 jam sebesar 28,0% pada dosis perlakuan 10%. Pada pengamatan 48 jam meningkat menjadi 32,0% pada konsentrasi tertinggi dengan konsentrasi 10%. Kesimpulan ekstrak biji labu merah (Cucurbita moschata) berefek larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, Cucurbita moschata, larvasida.

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) merupakan salah satu jenis penyakit menular akut yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat saat ini. Hal ini disebabkan penyakit tersebut penyebarannya sangat cepat dan sering menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) sehingga menimbulkan angka kesakitan dan kematian yang tinggi. Menurut data dari Dinas Kesehatan Propinsi Lampung dalam Profil Kesehatan Provinsi Lampung tahun 2007 jumlah penderita demam berdarah dengue (DBD) tahun 2007 sebanyak 4.470 kasus dengan 24 kematian.

Usaha pencegahan yang selama ini dilakukan lebih mengarah pada pengendalian vektor penyebarnya yaitu *Aedes aegypti* sedangkan usaha pencegahan melalui vaksin belum efektif (Ishak, 2005). Pengendalian vektor dapat dilakukan melalui pengendalian lingkungan ataupun secara kimia. Pengendalian lingkungan antara lain yaitu dengan menjaga tempat penyimpanan air bersih terbebas dari larva nyamuk *Aedes aegypti* dan membuang atau mengubur barang barang yang dapat menampung air hujan (Moehammadi, 2005).

Pengunaan insektisida kimia memang memberikan hasil yang efektif dan optimal, namun banyak dampak negatif yang di timbulkan baik terhadap organisme hidup maupun lingkungan sekitar. Menurut WHO dalam Yasril (2006) kurang lebih dari 20.000 orang

mati pertahun akibat keracunan pestisida dan apabila terpapar dalam jangka waktu yang lama, penggunaan pestisida dapat menimbulkan kanker, kecacatan tubuh, dan kemandulan. Selain hal tersebut, insektisida kimia dapat juga menimbulkan gangguan keseimbangan lingkungan hidup yaitu : kematian musuh alami dari organisme pengganggu, kematian organism yang menguntungkan, dan adanya penurunan kualitas dan keseimbangan lingkungan akibat adanya residu serta timbulnya resistensi pada hewan sasaran. Dengan banyaknya dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia telah memunculkan penelitian baru dalam pengendalian vektor yang lebih aman, sederhana dan berwawasan lingkungan

Pengendalian mengunakan insektisida hayati (nabati) merupakan salah satu alternatif dalam pengendalian vektor yang berwawasan lingkungan. Insektisida hayati berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) yang toksik terhadap serangga namun mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relative aman bagi manusia, selain itu insektisida nabati juga bersifat selektif (Moehammadi, 2005). Pemilihan tanaman yang berpotensi sebagai bioinsektisida dilakukan berdasarkan pada kandungan bahan metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman yang berperan dalam pertahanan tanaman tersebut antara lain meliputi tanin, saponin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa kimia pertahanan tumbuhan merupakan metabolit sekunder atau alelokimia yang di hasilkan pada jaringan tumbuhan, dan dapat bersifat toksik, menurunkan kemampuan serangga dalam mencernakan makanan (Siregar, 2005). Biji labu merah mengandung unsur flavonoid, saponin dan cucurbitasin yang diduga memiliki aktifitas biolarvasida.

Usaha pencegahan yang selama ini dilakukan lebih mengarah pada pengendalian vektor penyebarnya yaitu *Aedes aegypti* sedangkan usaha pencegahan melalui vaksin belum efektif (Ishak, 2005). Pengendalian vektor dapat dilakukan melalui pengendalian lingkungan ataupun secara kimia. Pengendalian lingkungan antara lain yaitu dengan menjaga tempat penyimpanan air bersih terbebas dari larva nyamuk *Aedes aegypti* dan membuang atau mengubur barang barang yang dapat menampung air hujan (Moehammadi, 2005).

Pengunaan insektisida kimia memang memberikan hasil yang efektif dan optimal, namun banyak dampak negatif yang di timbulkan baik terhadap organisme hidup maupun lingkungan sekitar. Menurut WHO dalam Yasril (2006) kurang lebih dari 20.000 orang mati pertahun akibat keracunan pestisida dan apabila terpapar dalam jangka waktu yang lama, penggunaan pestisida dapat menimbulkan kanker, kecacatan tubuh, dan kemandulan. Selain hal tersebut, insektisida kimia dapat juga menimbulkan gangguan keseimbangan lingkungan hidup yaitu : kematian musuh alami dari organisme pengganggu, kematian organism yang menguntungkan, dan adanya penurunan kualitas dan keseimbangan lingkungan akibat adanya residu serta timbulnya resistensi pada hewan sasaran. Dengan banyaknya dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia telah memunculkan penelitian baru dalam pengendalian vektor yang lebih aman, sederhana dan berwawasan lingkungan

Pengendalian mengunakan insektisida hayati (nabati) merupakan salah satu alternatif dalam pengendalian vektor yang berwawasan lingkungan. Insektisida hayati berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) yang toksik terhadap serangga namun mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relative aman bagi manusia, selain itu insektisida nabati juga bersifat selektif (Moehammadi, 2005). Pemilihan tanaman yang berpotensi sebagai bioinsektisida dilakukan berdasarkan pada kandungan bahan metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman yang berperan dalam pertahanan tanaman tersebut antara lain meliputi tanin, saponin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa kimia pertahanan tumbuhan

merupakan metabolit sekunder atau alelokimia yang di hasilkan pada jaringan tumbuhan, dan dapat bersifat toksik, menurunkan kemampuan serangga dalam mencernakan makanan (Siregar, 2005). Biji labu merah mengandung unsur flavonoid, saponin dan cucurbitasin yang diduga memiliki aktifitas biolarvasida.

Unsur flavonoid dan saponin telah terbukti memiliki efek biolarvasida pada penelitian pada ekstrak kulit jeruk terhadap larva *Aedes aegypti* (Indah 2008). Pada penelitian tersebut, kadar 1,2 gram ekstrak kulit jeruk dapat membunuh 100% larva setelah 72 jam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas biolarvasida ekstrak biji labu merah terhadap larva *Aedes aegypti*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok).

Tempat dan Waktu Penelitian

Ekstraksi dan tumbuhan dan uji efikasi terhadap larva *Aedes aegypti* dilakukan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi UNSRI dan Laboratorium Stasiun Lapangan Pengendali Vector (SLPV) Dinas Kesehatan Baturaja. Penelitian berlangsung dari bulan November 2009 – Desember 2009

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* yang berasal dari telur yang dipesan dari SLPV Baturaja. Sedangkan sampel adalah larva *Aedes aegypti* adalah larva yang berasal dari telur dan pada fase instar III dan bukan berasal dari kolonisasi maupun larva bebas. Menurut WHO (2005) besar sampel (n) untuk penelitian laboratorium pada larvasida nyamuk adalah 25 ekor pada setiap kelompok perlakuan.

Jumlah ulangan

Ditentukan dengan mengunakan rumus Fedeerer : (t-1) (n-1) $\geq$ 15, dimana n= jumlah ulangan, t = jumlah perlakuan. Apabila terdapat 7 kelompok perlakuan maka jumlah ulangan adalah 4.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi yaitu : blender, timbangan kertas saring, soklet, labu Erlenmeyer, gelas ukur 250 ml, pemanas listrik, evaporator.
Alat yang digunakan untuk proses ekstraknasi yaitu : corong pemisah, 3 buah botol gelas 1 liter, rotary evaporator, timbangan, penangas air.
Alat yang digunakan untuk proses uji efikasi larva, pipet untuk memindahkan larva. timbangan digital, gelas percobaan sebagai wadah larva.

Bahan

Biji labu merah yang telah dikeringkan, methanol 1 liter, etil asetat 1 liter, N heksana 1 liter, air 200 ml, abate.

Cara Kerja

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan soklet dengan cara sebagai berikut : sebanyak 200 gram biji labu merah yang telah dikeringkan digiling halus dengan menggunakan

blender. Selanjutnya dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam soklet. Setelah itu dilarutkan dengan pelarut methanol sebanyak 1 liter dan dipanaskan di atas pemanas listrik selama 3 x 6 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga hasil akhirnya akan diperoleh 200 ml ekstrak.

Uji efikasi sebagai larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*

Menurut WHO (2005) pengujian larvasida nyamuk di laboratorium dilakukan dengan menggunakan 4-5 derajat konsentrasi. Berdasarkan hal tersebut maka masing – masing ekstrak biji labu merah diuji dengan beberapa tingkatan konsentrasi, yaitu : 0 (kontrol negatif), 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10% untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang paling optimal dalam membunuh larva (Kurnijasanti, Rachmah, et all, 2000).

Untuk setiap ekstrak tumbuhan yang diuji disediakan gelas percobaan. Setiap gelas percobaan diberi larva *Aedes aegypti* 25 ekor dan air 10 ml. selanjutnya pada gelas percobaan diberi perlakuan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 0 (kontrol negatif), 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10%. Terdapat 5 gelas yang diberikan perlakuan dan 1 gelas tanpa perlakuan sebagai kontrol. Pengujian konsentrasi ini dilakukan dengan 4 kali ulangan. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap mortalitas larva dilakukan pada 24 dan 48 jam setelah ekstrak biji labu merah kontak dengan larva (WHO, 2005)

Perbandingan Efikasi Ekstrak Biji Labu Merah Dengan Abate

Disediakan 1 gelas percobaan berisi 25 ekor larva *A. aegypti* dan air 10 ml. Selanjutnya dimasukkan abate sebanyak 0,001 (sesuai dosis yang dianjurkan pada kemasan) pada 1 gelas dan 1 gelas tanpa abate sebagai kontrol. Pengujian ini dilakukan dengan 4 kali ulangan.

Variabel Penelitian

Variabel independent adalah kelompok perlakuan dengan beberapa tingkatan dosis, yaitu : kontrol negatif (aqua), perlakuan dengan dosis 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10%, dan kontrol positif dengan abate Sedangkan variabel dependent yaitu jumlah kematian larva *Aedes aegypti*

Analisa data

Data yang dipergunakan adalah kematian larva *Aedes aegypti* 24 jam dan 48 jam setelah perlakuan. Hasil yang diperoleh dihitung rata-rata kematian pada 24 jam dan 48 jam setelah perlakuan. Selanjutnya dilakukan analisis varians (anova) dan korelasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

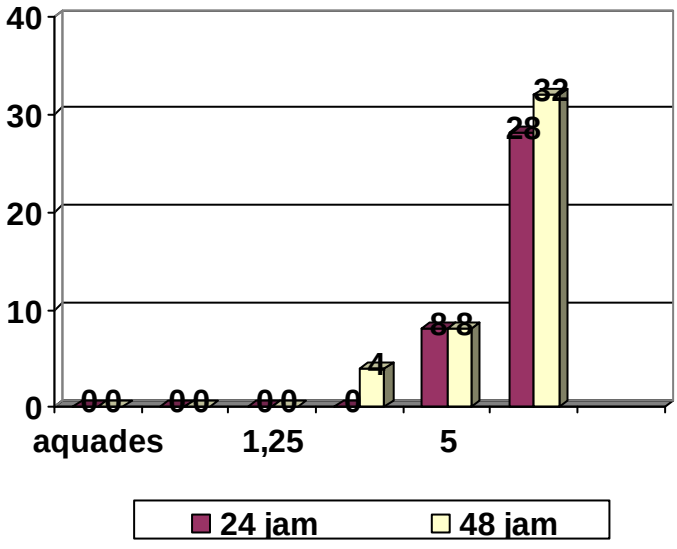
Ekstrak biji labu merah yang diberikan kepada larva *Aedes aegypti* setelah 24 dan 48 jam pengamatan memberikan efek larvasida terhadap larva *Aedes aegypti.* Konsentrasi ekstrak tertinggi yang menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* pada pengamatan 24 jam sebesar 28,0% pada dosis perlakuan 10% dan 0,0% pada aquades, konsentrasi 0,625%, 1,25% dan 2,5%. Pada pengamatan 48 jam meningkat menjadi 32,0% pada konsentrasi tertinggi dan 0,0% pada aquades, konsentrasi 0,625% dan 1,25%. Hal ini dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* setelah pengamatan 24 jam dan 48 jam setelah pemberian ekstrak biji labu merah. n = populasi larva uji setiap perlakuan

NO	Perlakuan persen/10 ml	Ulangan	Mortalitas larva Pada pengamatan (jam)				
			N	24	%	48	%
1	0,625	4	25	0	0,0	0	0,0
2	1,25	4	25	0	0,0	0	0,0
3	2,5	4	25	0	0,0	1	4,0
4	5	4	25	2	8,0	2	8,0
5	10	4	25	7	28,0	8	32,0
6	Aqua	4	25	0	0,0	0	0,0
7	Abate 1%	4	25	0	100,0	0	100,0

Pada pengamatan 24 jam ke pengamatan 48 jam terjadi peningkatan mortalitas larva uji yang rendah seperti yang tampak pada Gambar 1. Peningkatan mortalitas larva uji dari pengamatan 24 jam ke pengamatan 48 jam pada aquades, konsentrasi 0,625% dan1,25% adalah 0% sedangkan pada konsentrasi 2,5%, 5 % dan 10% pada pengamatan 24 jam ke pengamatan 48 jam sebesar 4%. Hal ini sesuai dengan pendapat Kurnijasanti (2000) bahwa pengamatan larva uji setelah 24 jam tidak terjadi peningkatan mortalitas yang berarti.

Dengan menggunakan uji statistik Anova didapatkan nilai p value = 0,000 dengan rata-rata mortalitas 0,00 pada aquades (kontrol negatif), konsentrasi 0,625% dan 1,25%. Pada konsentrasi 2,5% rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 0,25 dengan standar deviasi 0,50 sedangkan pada dosis 5% rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 1,50 dengan standar deviasi 1,00 dan pada dosis 10% rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 7,00 dengan standar deviasi 1,41. Hal ini dapat dilihat pada tabel di bawah ini.



Gambar 1. Mortalitas larva *Aedes aegypti* pada pengamatan 24 dan 48 jam

Pada pengamatan 48 jam didapatkan nilai p value 0,000 dengan rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* pada aquades, konsentrasi 0,625% dan konsentrasi 1,25% adalah 0,00 dengan standar deviasi 0,00. Pada konsentrasi 2,5% rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 1,00 dengan standar deviasi 0,82 sedangkan pada dosis 5% rata-

rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 1,75 dengan standar deviasi 0,96 dan pada dosis 10% rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah 8,25 dengan standar deviasi 0,96 seperti pada Tabel 3.

Tabel.2. Distribusi rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* menurut tingkat Konsentrasi perlakuan pada pengamatan 24 jam

Konsentrasi (persen)	Mean	Standar Deviasi	95% CI	p Value
Aquades	0,00	0,00	0,00 - 0,00	0,000
0,625	0,00	0,00	0,00 - 0,00	
1,250	0,00	0,00	0,00 - 0,00	
2,50	0,25	0,50	-0,55 – 1,05	
5	1,50	1,00	-0,09 – 3,09	
10	7,00	1,41	4,75 - 9,25	
Abate	25,00	0,00	25,00-25,00	

Tabel. 3. Distribusi rata-rata mortalitas larva *Aedes aegypti* menurut tingkat konsentrasi perlakuan pada pengamatan 48 jam

Konsentrasi (persen)	Mean	Standar Deviasi	95% CI	p Value
aquades	0,00	0,00	0,00 – 0,00	0,000
0,625	0,00	0,00	0,00 – 0,00	
1,25	0,00	0,00	0,00 – 0,00	
2,50	1,00	0,82	-0,29 – 2,29	
5	1,75	0,96	0,22 – 3,27	
10	8,25	0,96	6,72 – 9,77	
Abate	25,00	0,00	25,00 – 25,00	

Pada uji statistik Anova pada pengamatan 24 jam didapatkan nilai signifikan p value sebesar 0,000 pada alpha 5% sehingga dapat disimpulkan ada perbedaan mortalitas larva *Aedes aegypti* diantara 5 konsentrasi perlakuan. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test dengan Multiple Comparison Bonferroni untuk mengetahui kebermaknaan hubungan antar kelompok perlakuan sebagaimana terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji post hoc oneway anova pada pengamatan 24 jam ekstrak biji labu merah

DOSIS (I/J)	AQUA	0,625	1,25	2,5	5	10	ABATE
AQUA	X	1,000	1,000	1,000	0,110	0,000*	0,000*
0,625	1,000	X	1,000	1,000	0,110	0,000*	0,000*
1,25	1,000	1,000	X	1,000	0,110	0,000*	0,000)
2,5	1,000	1,000	1,000	X	0,355	0,000*	0,000*
5	0,110	0,110	0,110	0,355	X	0,000*	0,000*
10	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	X	0,000*
ABATE	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	X

Pada tabel 4 konsentrasi 10% dan abate berbeda secara bermakna dengan aquades dan perlakuan yang lain yaitu sig. = 0,000. Sedangkan pada pengamatan 48 jam (tabel 5) konsentrasi 5% berbeda secara bermakna dengan aquades (sig. = 0,010), konsentrasi 0,625% (sig. = 0,010), konsentrasi 1,25% (sig. = 0,010), konsentrasi 10% (sig. = 0,000) dan abate (sig. = 0,000) tetapi dengan konsentrasi 2,5% tidak terdapat

perbedaan (sig. = 1,000). Sedangkan konsentrasi 10% dan abate memiliki perbedaan bermakna dengan semua perlakuan (sig. = 0,000).

Tabel 5. Uji post hoc oneway anova pada pengamatan 48 jam ekstrak biji labu merah

DOSIS (I/J)	AQUA	0,625	1,25	2,5	5	10	ABATE
AQUA	X	1,000	1,000	0,581	0,010*	0,000*	0,000*
0,625	1,000	X	1,000	0,581	0,010*	0,000*	0,000*
1,25	1,000	1,000	X	0,581	0,010*	0,000*	0,000)
2,5	0,581	0,581	0,581	X	1,000	0,000*	0,000*
5	0,010*	0,010*	0,010*	1,000	X	0,000*	0,000*
10	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	X	0,000*
ABATE	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	X

Rata-rata jumlah larva uji yang mati meningkat setelah diberi perlakuan ekstrak biji labu merah. Peningkatan bermakna secara statistik terjadi pada konsentrasi 10% pada pengamatan 24 jam. Dibandingkan dengan kelompok kontrol, maka kelompok perlakuan dengan ekstrak biji labu merah terdapat jumlah kematian secara kuantitas. Rata-rata jumlah larva uji yang mati dengan dosis 10% pada pengamatan 24 jam sebesar 28% dan pengamatan 48 jam sebesar 32%, sedangkan kelompok kontrol larva uji yang mati 0% dengan waktu pengamatan 24 atau 48 jam. Penelitian ini sejalan dengan pendapat Kurnijasanti (2000) bahwa tingkat mortalitas larva uji karena pemberian ekstrak biji labu merah setelah pengamatan 24 jam tidak berarti dan peningkatan tesebut secara statistik terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 10%.

Penelitian lain yang menggunakan ekstrak tumbuhan dengan kandungan yang sama dengan biji labu merah yang berperan sebagai insektisida juga dibuktikan oleh Swastika, KI (2007) yang menguji efikasi minyak atsiri daun legundi sebagai larvasida dan hasil penelitiannya menyebabkan mortalitas pada larva menunjukkan nilai LC_{50} terletak pada konsentrasi 139,83 ppm. Hasil penelitian Yasril (2006) yang menguji ekstrak biji sirsak terhadap larva *Aedes aegypti* nilai LC_{50} terletak pada konsentrasi 503,230 ppm setelah pengamatan 12 jam. Penelitian ini sama dengan penelitian Silfiyanti (2006) bahwa ekstrak pare dapat dimanfaatkan sebagai insektisida. Karena terdapat alkaloid yang pahit yaitu momordicin. Kandungan lain pare diantaranya saponin, flavonoid, dan triterpenoid, yang mempunyai daya racun, dapat menghambat sistem respirasi, mempengaruhi sistem saraf, menyebabkan kehilangan koordinasi dan dapat berfungsi sebagai penolak serangga. Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam pare yang diduga berfungsi sebagai larvisida adalah alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan minyak lemak.

Siregar, SE (2005) membuktikan insektisida nabati yang mengandung senyawa flavonoid, terpenoid pada daun lengkuas mempunyai efek larvasida terhadap *Aedes aegypti* sebesar 100% pada konsentrasi 1,86% dengan waktu pengamatan 16 jam. Hasil ini sejalan dengan pengujian efikasi ekstrak biji labu merah yang diujikan pada larva *Aedes aegypti.*

Berdasarkan beberapa penelitian di atas dapat disimpukan bahwa ekstrak tumbuhan yang mengandung bahan saponin dan flavonoid memiliki aktifitas biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti.*

SIMPULAN

Ekstrak biji labu merah mempunyai efek biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dengan ekstrak etil asetat yang paling tinggi daya larvasidanya terhadap larva *Aedes aegypti*.

DAFTAR PUSTAKA

Kurnijasanti, Rachmah, et all. 2000. Daya Larvasidal dan Masa Kerja Ekstrak Biji Labu Merah *(Cucurbita moschata)* Terhadap Larva *Aedes Aegypti.* Jurnal Penelitian Medika Eksakta Vol 1 No 3 2000 : 198 – 205.

Moehammadi Noer, 2005. Potensi Biolarvasida Ekstrak Herba *Ageratum conizoides* dan Daun *Saccopetalum horsfielddii* Terhadap Larva *Aedes aegypti* Fakultas MIPA Universitas Airlangga.

Silfiyanti, 2006. Pengaruh Ekstrak daun pare (*Momordica charantia*) dalam menghambat pertumbuhan larva *Aedes aegypti*. LIPI

Siregar, S.E. 2005. Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Lengkuas *(Lactuca indica* L*)*, Toksisitas dan Pengaruh Sub Letalnya Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Ae. aegpti*. Laporan Hasil Penelitian Dosen Muda. FMIPA USU.

Yasril, 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Biji Sirsak *(Annona Muricata.Linn)* Terhadap Larva *Aedes Aegypti* Deskripsi Dokumen Perpustakaan Pusat Universitas Indonesia. http//www.digilib.ui.edu.opac/themes/libri2/ detail.jsp? id=73033=lokal Perpustakaan Pusat Universitas Indonesia

BETA 26

INDUKSI EMBRIO SOMATIK EKSPLAN *LEAFLET* DARI KECAMBAH BENIH UMUR 9 HARI PADA DUA VARIETAS KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.) SECARA *IN VITRO*

Akari Edy
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandarlampung
akariedy@yahoo.com

ABSTRAK

Penerapan metode rekayasa genetika memerlukan eksplan yang mampu membentuk embrio somatik secara efisien sebagai target transformasi genetik. Salah satu hal penting yang mempengaruhi kompetensi eksplan dalam membentuk embrio somatik adalah umur kecambah benih sebagai sumber eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui induksi embrio somatik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari pada dua varietas kacang tanah. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Gedung Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung pada bulan Januari sampai Juni 2010. Percobaan pada setiap varietas menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diterapkan pada setiap varietas adalah eksplan *leaflet* dari benih dengan umur kecambah 0 dan 9 hari. Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA pada taraf nyata 5 %. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji dengan BNT pada taraf 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pada varietas Sima dan Bison, rata-rata jumlah embrio somatik dari eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari sama dengan yang tidak dikecambahkan (umur 0 hari). Sedangkan persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* varietas Sima yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan (0 hari). Sedangkan untuk varietas Bison, persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan (0 hari).

Key words: leaflet, embrio somatik, kacang tanah, umur kecambah

PENDAHULUAN

Kacang tanah merupakan tanaman pangan yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Kacang tanah dikenal sebagai tanaman yang kaya protein dan lemak. Setiap 100 gram kacang tanah mentah mengandung 687 kalori, 9,2 gram protein, 71,2 gram lemak, dan 14,6 gram karbohidrat (Suprapto, 2004). Kacang tanah dapat langsung digunakan sebagai bahan pangan atau diproses menjadi minyak serta pakan ternak. Selain itu, daun dan bungkilnya dapat dijadikan pupuk. Sampai saat ini kebutuhan kacang tanah secara nasional belum dapat dipenuhi dari produksi dalam negeri. Selama periode 2005-2007 kualitas konsumsi pangan penduduk mengalami peningkatan dari 79,1 % pada tahun 2005, menjadi 82,8 % pada tahun 2007. Peningkatan skor mutu pangan tersebut disebabkan adanya peningkatan kualitas konsumsi pangan, terutama pada kelompok pangan hewani, kacang-kacangan serta sayur dan buah (Susenas, 2007). Data BPS pada tahun 2007, menunjukkan produksi kacang tanah tahun 2006 sebesar 838.000 ton/thn dan mengalami penurunan pada tahun 2007 menjadi 813.000 ton/ha. Sedangkan untuk

luas panen juga menurun, tahun 2006 seluas 581.000 ha dan tahun 2007 menjadi 502.000 ha (BPS, 2007)

Peningkatan konsumsi pangan kacang tanah, tidak diimbangi dengan produksi yang dihasilkan. Rendahnya produksi nasional kacang tanah, disamping pertanaman areal yang terbatas, diakibatkan juga oleh adanya serangan penyakit. Agar produksi kacang tanah dapat ditingkatkan, salah satunya dengan mengembangkan varietas yang resisten antara lain melalui metode rekayasa genetika. Salah satu teknologi yang mendukung adalah teknik kultur jaringan.

Perbanyakan *in vitro* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan organogenesis dan embriogenesis. Embrio somatik merupakan proses terbentuknya embrio tanpa melalui fusi sel gamet tetapi hanya berkembang dari sel somatik. Untuk keperluan tranformasi genetik, regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik lebih dianjurkan karena tanaman yang diperoleh berasal dari satu sel somatik sehingga peluang diperolehnya transforman lebih tinggi. Keberhasilan regenerasi melalui embrio somatik dipengaruhi oleh jenis eksplan, ukuran eksplan, dan genotipe (Zuyasna *et al*, 2005). Selain itu, genotipe juga sangat mempengaruhi regenerasi kacang tanah secara *in vitro*. Menurut Pierik (1987) setiap genotipe tanaman akan memberikan respon pertumbuhan *in vitro* yang berbeda. Oleh karena itu, pemilihan genotipe merupakan faktor terpenting yang harus diperhatikan (Ritchie dan Hodges, 1993). Disamping itu, umur kecambah sumber eksplan berpengaruh terhadap pembentukan embrio somatik pada kacang tanah. Peningkatan jumlah embrio somatik akibat peningkatan konsentrasi TDZ dalam media induksi. Namun demikian, respon terhadap TDZ akan berkurang jika eskplan diisolasi dari kecambah umur tertentu. Kecambah yang umurnya lebih tua dari 21 hari telah kehilangan kemampuan untuk diinduksi membentuk embrio somatik oleh TDZ (Murthy *et al*., 1995). Persentase pembentukan kalus embriogenik relatif lebih tinggi pada umur kecambah 3 dan 6 hari dibandingkan dengan umur kecambah 0 hari (Edy, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi induksi embrio somatik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari pada varietas Sima dan Bison.

METODE PENELITIAN

Tempat. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi (Kultur Jaringan), Fakultas Pertanian, Universitas lampung dari bulan Januari sampai dengan Juni 2010.

Bahan dan Alat. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah varietas kacang tanah Sima dan Bison yang diperoleh dari Balai penelitian kacang-kacangan dan umbi-umbian Malang. Bahan-bahan kimia yang dibutuhkan untuk pembuatan media adalah garam-garam anorganik media MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang terkandung dalam komposisi media terdiri dari unsur makro dan mikro sedangkan zat organik yang biasa ditambahkan dalam medium adalah gula, mioinositol, dan ZPT (Pikloram). Selain itu dibutuhkan agar-agar (sebagai bahan pemadat media), aquades, KOH, HCl, *Tween* 20, Bayclin, dan detergen. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), autoklaf, gelas ukur, labu takar, bunsen, labu Erlenmeyer, spatula, botol kultur, plastik, aluminium foil, kertas tisu, penggaris, cawan petri, timbangan elektrik, timbangan analitik, shaker, pH meter, *scalpel* dan kamera digital.

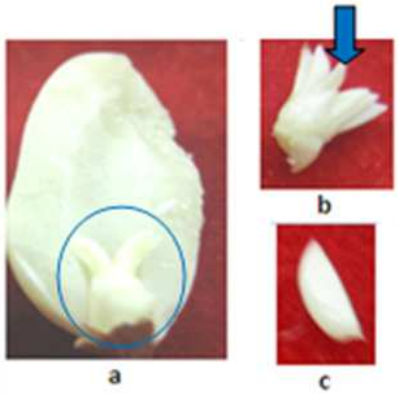
Media Tanam. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog, 1962), sukrosa 30 g/l, agar 6,0 g/l dan zat pengatur tumbuh Pikloram 16 µM. Pengaturan pH medium menjadi 5,8 dilakukan dengan menggunakan 1N HCl dan 1 N

KOH sebelum agar ditambahkan. Pemanasan dilakukan hingga media mendidih sampai terus diaduk merata, lalu dituangkan kedalam botol-botol kultur sebanyak 40 ml per botol. Botol-botol yang berisi media ditutup rapat dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121 ^{0}C dengan tekanan 15 kg/cm^2.

Sterilisasi dan Pengecambahan Benih Sumber Eksplan. Sterilisasi dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* yaitu benih direndam dan dikocok dalam larutan yang berisi aquades 150 ml, bayclin 50 ml dan ditambah 10 tetes *tween* selama 30 menit, setelah itu dibilas sebanyak 3 kali menggunakan air steril. Benih yang telah steril ditanam dalam media MS 0 (Media MS tanpa zat pengatur tumbuh) sebanyak 5 benih per botol kultur kemudian diletakan dalam ruang gelap untuk dikecambahkan selama 9 hari.

Penanaman eksplan. Bagian benih yang digunakan sebagai eksplan adalah *leaflet* dari benih tidak dikecambahkan dan yang dikecambahkan selama 9 hari untuk varietas Sima dan Bison (Gambar 1). Penanaman *leaflet* di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* secara aseptik. Eksplan ditanam pada botol-botol kultur yang telah berisi media MS + picloram16 µM sebanyak 5 *leaflet* per botol, lalu diletakkan di atas rak-rak dalam ruang kultur gelap dengan suhu antara 23-25 ^{0}C. Subkultur dilakukan empat minggu sekali pada media yang sama sehingga membentuk kalus embrionik, dan diletakkan kembali dalam ruang kultur gelap dengan suhu antara 23-25 ^{0}C.

Rancangan dan Pengamatan. Percobaan menggunakan varietas Sima dan Bison. Setiap varietas menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diterapkan pada setiap varietas adalah umur kecambah benih sumber eksplan (0 dan 9 hari). Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 eksplan yang dikulturkan dalam 1 botol kultur. Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA pada taraf nyata 5 %. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka pengujian dilakukan dengan BNT pada taraf 5 %. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-12. Variabel yang diamati adalah rata-rata jumlah embrio somatik yang terbentuk pada setiap eksplan dan persentase kalus embriogenik yang terbentuk



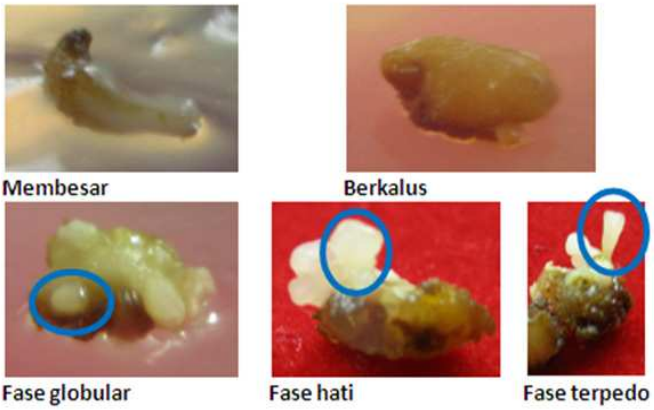
Gambar 1. Bagian benih Benih kacang tanah. (a) bagian endosperm dan embrio (lingkaran); (B) poros embrio (tanda panah bagian *leaflet*); dan (C) bagian *leaflet* (digunakan sebagai eksplan)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tipe Perkembangan Kultur. Umur 2 minggu setelah tanam (mst), semua eksplan mengalami pembesaran pada pangkal *leaflet,* dan terbentuk kalus pada umur 4 mst. Kalus embriogenik terbentuk setelah umur 6 mst dan akan terbentuk embrio somatik dengan berbagai tahap (globular, hati, dan torpedo) (Gambar 2). Bentuk morfologi embrio somatik yang dihasilkan varietas Sima dan Bison berbeda. Pada varietas Sima

embrio somatik yang terbentuk kecil-kecil dan bergerombol lebat. Sedangkan pada varietas Bison, embrio somatik yang terbentuk besar dan jarang. \

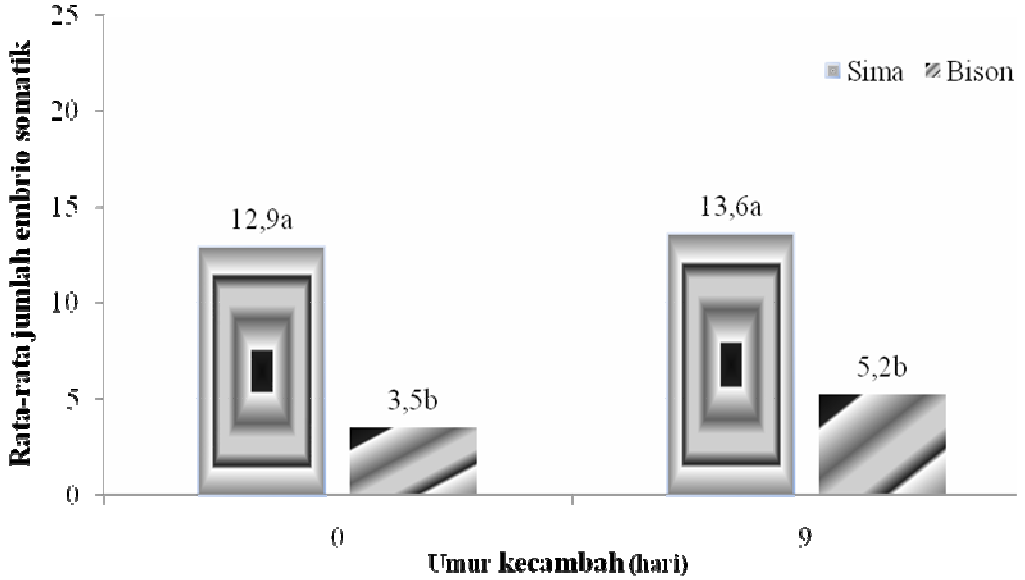
Rata-rata jumlah embrio somatik ekplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari sama dengan yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 0 hari. Hal ini berlaku pada varietas Sima dan Bison (Gambar 3). Hal ini menunjukkan perkecambahan sumber eksplan selama 9 hari akan menghasilkan kompetensi eksplan untuk membentuk embrio somatik yang sama dengan jika tidak dikecambahkan (umur 0 hari). Sedangkan (Edy, 2009), perkecambahan benih sumber eksplan pada varietas Sima selama 3 hari akan meningkatkan kompetensi eksplan (rata-rata jumlah embrio somatik yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan).



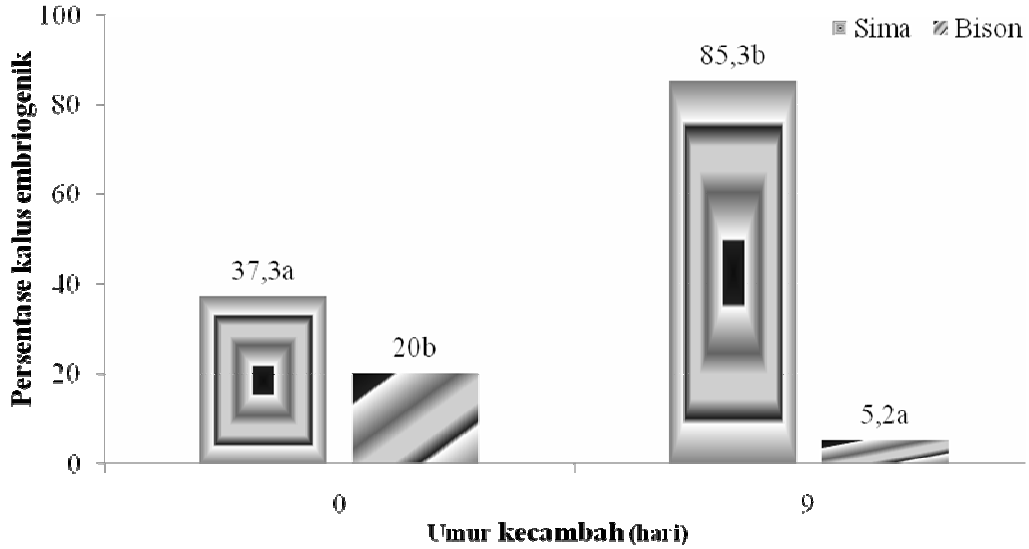
Gambar 2. Tipe perkembangan kultur dari eksplan *leaflet* kacang tanah.

Persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* varietas Sima yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan (0 hari). Sedangkan untuk varietas Bison, persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan (0 hari). Perkecambahan benih sumber eksplan varietas Sima selama 9 hari akan meningkatkan kompetensi eksplan untuk membentuk kalus embriogenik, sedangkan pada varietas Bison tidak (Gambar 4). Sedangkan menurut (Edy, 2009), perkecambahan benih selama 3 dan 6 hari pada varietas Sima dan Bison akan meningkatkan kompetensi eksplan untuk membentuk kalus embriogenik.

Perkecambahan dimaksudkan untuk memperbesar ukuran eksplan *leaflet*. Proses perkecambahan akan memperbesar ukuran *leaflet*. Bagian *leaflet* akan lebih mudah diisolasi dari benih yang sudah dikecambahkan (Edy, 2009). Ukuran eksplan juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan. Eksplan yang berukuran besar kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya lebih cepat dibandingkan eksplan yang berukuran kecil (Yusnita, 2003). Perkecambahan benih akan mempengaruhi potensi embriogenesis eksplan. Proses perkecambahan merupakan pengaktifan kembali aktifitas poros embrio yang terhenti. Perkecambahan diawali dengan penyerapan air dari lingkungan sekitar benih sumber eksplan (media perkecambahan). Perubahan level auksin sitokinin endogen karena perkecambahan berperan dalam mempengaruhi kompetensi eksplan untuk membentuk embrio somatik.



Gambar 3. Rata-rata jumlah embrio somatik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 0 dan 9 hari pada varietas Sima dan Bison. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perla kuan yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut uji BNT 5 %.



Gambar 4. Persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 0 dan 9 hari pada varietas Sima dan Bison. Pengamatan dilakukan saat kultur berumur 12 minggu setelah tanam. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut uji BNT 5 %.

Varietas Sima dan Bison menunjukkan hasil yang berbeda dalam menginduksi embrio somatik dan pada bentuk morfologinya, dimana embrio somatik dari varietas Sima jumlahnya banyak dan berukuran kecil sedangkan varietas Bison jumlahnya sedikit dan berukuran lebih besar. Penelitian Sellars *et al*., (1990) yang menyatakan bahwa kacang tanah cv.NC-7, Virginia, McRan, Valencia, Comet dan Spanish juga mempunyai daya

regenerasi embrio somatik yang berbeda antar varietas. Menurut Zuyasna *et al*., (2005) mengindikasikan bahwa sifat daya regenerasi embrio somatik dari eksplan *leaflet* dikendalikan oleh gen inti. Hal ini memperkuat dugaan bahwa kemampuan pembentukan embrio somatik dikendalikan oleh faktor genetik.

KESIMPULAN

Pada varietas Sima dan Bison, rata-rata jumlah embrio somatik dari eksplan *leaflet* yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari sama dengan yang tidak dikecambahkan. Persentase kalus embriogenik eksplan *leaflet* varietas Sima yang diisolasi dari benih dengan umur kecambah 9 hari lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan (0 hari). Sedangkan untuk varietas Bison lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Tanaman Pangan. 2007. Produksi, Luas Panen, dan Palawija di Indonesia. Jakarta.

Edy, A. 2009. *Pengaruh umur kecambah sumber eksplan leaflet terhadap induksi embrio somatik kacang tanah secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional SN-SMAP 2009*. Uniresitas Lampung. Bandar Lampung.

Murashige, T and Skoog , F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Phsyologia Plantarum* 15:473-497.

Murthy B.N.S., Susan, J., and Praveen, K.S. 1995. Thidiazuron-induced somatic embryogenesis in intact seedling of peanut (*Arachis hypogaea*): Endogenous growth regulator levels and significance of cotyledons. *Physiologia. Plantarum* 94:268-267.

Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higer Plants.* Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. 343 pp.

Ritchie, S.W. dan T. Hodges. 1993. *Transenic Plants, Engineering and Utilization.* Academic Press, Inc. pp 147-178.

Sellars, R.M., G.M. Sothwarf, dan G.C. Philips. 1990. *Adventitious somatic embryogenesis from kultured immature zigotik of peanut and soybean*. *Crop Science*. PP 30: 408-414.

Suprapto. H.S. 2004. *Bertanam Kacang Tanah*. Cetakan XXII. Penebar Swadaya. Jakarta. 33 hlm.

Susenas. 2007. *Gambaran Situasi Konsumsi Pangan Penduduk Tahun 2007*. Jakarta

Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan. Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien.* Agromedia Pustaka. Jakarta. 105 hlm.

Zuyasna, H. Aswidinnor dan Sudarsono. 2005. *Studi genetik daya regenerasi embrio somatik dari eksplan uaun embrio kacang tanah (Arachis hypogea L.)*. *J. Agrista* IX(1):105-117.

CONDITION FACTOR DAN GONAD SOMATIC INDEX IKAN NILA (Oreochromis niloticus Linn) PADA OLAHAN AIR LIMBAH RSUD ABDUL MOELOEK

Nuning Nurcahyani, Tugiyono, dan G Nugroho S
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
Jl. S Brojonegoro No 1 Bandar Lampung E-mail: nuning@unila.ac.id.

ABSTRAK

Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek mempunyai aktivitas cukup tinggi terkait dengan fungsinya melayani masyarakat di bidang kesehatan, sehingga menjadi penyumbang limbah yang potensial sebagai distributor penyakit apabila tidak dikelola dengan tepat.

Efek toksikologis dari suatu pencemar dalam lingkungan dapat diketahui dengan menguji spesies yang hidup di lingkungan tersebut. Pada suatu ekosistem perairan ikan merupakan organisme yang terkena paparan pencemar cukup lama. Oleh karena itu pengawasan mutu air limbah dilakukan dengan cara memasukkan ikan nila (*O. niloticus* Linn) dalam beberapa akuarium berisi air limbah dengan berbagai konsentrasi yang digunakan sebagai bioindikator pencemaran.

Penelitian ini bertujuan untuk, mengetahui indeks fisiologi yang meliputi C*ondition Factor* dan *Gonad Somatic Index* ikan nila yang hidup dalam bak penampungan air hasil olahan air limbah Rumah Sakit Abdul Moeloek. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah indeks fisiologi ikan nila yang diolah dengan analisis ragam satu arah dan diuji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil pada taraf kepercayaan 5%.

Hasil penelitian menunjukkan nilai indeks fisiologi ikan nila untuk *Condition Factor* adalah kurang dari 1,7. Nilai pada bak kontrol 1,592, perlakuan 10% 1,592, perlakuan 20% 1,468, perlakuan 30% 1,585, dan perlakuan 40 % 1,557. Nilai *Gonad Somatic Index* pada bak kontrol 1,538, perlakuan 10% 1,340, perlakuan 20% 1,172, perlakuan 30% 0,990, dan perlakuan 40 % 0,827.

Kata kunci: Ikan nila, *Oreochromis niloticus* Linn, bioindikator, IPAL rumah sakit, C*ondition Factor, Gonad Somatic Index*

PENDAHULUAN

Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek adalah rumah sakit pemerintah yang mempunyai aktivitas cukup tinggi terkait dengan fungsinya melayani masyarakat luas di bidang kesehatan sehingga rumah sakit ini merupakan penyumbang limbah yang potensial menjadi distributor penyakit apabila tidak dikelola dengan tepat.

Pengelolaan air limbah rumah sakit merupakan bagian yang sangat penting dalam upaya penyehatan lingkungan rumah sakit yang mempunyai tujuan melindungi masyarakat dari bahaya pencemaran lingkungan. Air limbah yang tidak ditangani secara benar akan mengakibatkan dampak negatif khususnya bagi kesehatan. Oleh sebab itu rumah sakit diharapkan mempunyai sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah yang menghasilkan

olahan air limbah yang tidak menimbulkan pencemaran setelah dibuang ke lingkungan (Rahmawati, dkk, 2005)

Setiap rumah sakit diharuskan mengolah air limbah yang dihasilkan sehingga memenuhi persyaratan standar yang berlaku. Sistem pengolahan air limbah yang dilakukan oleh RSUD Abdul Moeloek adalah dengan menggunakan sistem *anaerobic filter.* Proses pengolahan limbah yang dilakukan dengan sistem tersebut belum dapat dipastikan menghasilkan olahan air limbah yang bebas dari bahan pancemar dan tidak berbahaya bagi lingkungan. Salah satu cara untuk memastikan adanya perubahan kualitas lingkungan akibat buangan air limbah rumah sakit adalah dengan monitoring menggunakan organisme hidup.

Ikan adalah organisme yang hidup pada badan air yang sering dijadikan tempat pembuangan air limbah rumah sakit. Ikan nila (*Oreochromis niloticus* Linn) adalah sejenis ikan konsumsi air tawar dan kini menjadi ikan peliharaan yang populer di kolam-kolam air tawar dan di beberapa waduk di Indonesia karena sangat mudah berbiak. Ikan ini termasuk pemakan segala (omnivora), pemakan plankton sampai aneka tumbuhan sehingga diperkirakan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali gulma air.

Sistem metabolisme ikan tentu akan terganggu apabila hidup dalam lingkungan yang tercemar. Salah satu gangguan tersebut ditunjukkan dengan pertumbuhan yang tidak normal. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan diantaranya ialah jumlah dan ukuran makanan yang tersedia dan kualitas air. Salah satu derivat penting pertumbuhan adalah faktor kondisi (*Condition Factor)* yang dapat menunjukkan keadaan dari ikan dilihat dari segi kapasitas fisik untuk keberlangsungan hidup dan reproduksinya (Effendie, 2002).

Condition Factor (CF) merupakan indikator fisiologis yang efektif untuk mengetahui pengaruh pakan atau nutrisi melalui pengukuran sederhana terhadap berat tubuh ikan. Indikator fisiologis yang lain adalah nilai *Gonad Somatic Index* (GSI) yang menunjukkan perbandingan berat gonad dan berat tubuh. Pada lingkungan yang buruk akibat pencemaran dan penurunan kualitas perairan organisme dapat mengalami keterlambatan kematangan gonad.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Indeks fisiologi yang meliputi *Condition Factor* dan *Gonad Somatic Index* ikan nila yang hidup dalam bak penampungan air hasil olahan air limbah rumah sakit.
Dengan diadakannya pengujian indeks fisiologi ikan yang dipelihara dalam bak penampungan hasil olahan limbah rumah sakit Abdul Moeloek diharapkan memberikan informasi mengenai kualitas air hasil olahan air limbah, sehingga memacu dilakukannya pengolahan air limbah yang lebih baik

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2008 di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA Unila. Selama penelitian digunakan ikan nila (*O. niloticus* Linn) berusia 60 hari, dengan ukuran panjang total tubuh antara 9-11 cm. Selanjutnya ikan diaklimatisasi. selama 7 hari dengan menempatkan ikan tersebut di akuarium berkapasitas 15,8 L berisi air sumur.

Berdasarkan hasil uji LC_{50}-96 jam diperoleh nilai konsentrasi limbah 40% sebagai stok limbah (Kesuma, 2008). Pada pengujian ini nilai konsentrasi tersebut (stok air limbah) diencerkan kembali menjadi larutan-larutan air limbah dengan konsentrasi 10%, 20%,

30%, dan 40% sebagai konsentrasi perlakuan Hewan uji sebanyak 10 ekor ikan ditempatkan pada akuarium dengan perlakuan sebagai berikut :

1. Akuarium 1, berisi 10 L air sumur sebagai kontrol
2. Akuarium 2, berisi 10 L air perlakuan dengan konsentrasi 10 %
3. Akaurium 3, berisi 10 L air perlakuan dengan konsentrasi 20%
4. Akuarium 3. berisi 10 L air perlakuan dengan konsentrasi 30%
5. Akuarium 4, berisi 10 L air perlakuan dengan konsentrasi 40%

Ikan dipelihara selama 25 hari dengan diberi pakan 2 kali sehari. Setiap hari dilakukan sifonisasi dan pergantian air sebanyak 20% dari tiap-tiap akuarium, serta dilakukan pengukuran DO, pH, suhu, dan dihitung jumlah ikan yang mati

Setelah 25 hari, ikan yang masih hidup dihitung dan diambil dari untuk dilakukan pengukuran indeks fisiologi. Ikan diukur panjang tubuhnya dari ujung kepala sampai ujung *pinnae caudalis* dalam posisi normal dengan menggunakan penggaris (cm). Setelah diukur, ikan ditimbang berat tubuh dan berat gonadnya (gr). Dari data yang diperoleh, selanjutnya dilakukan penghitungan Indeks Fisiologi dengan menggunakan rumus:

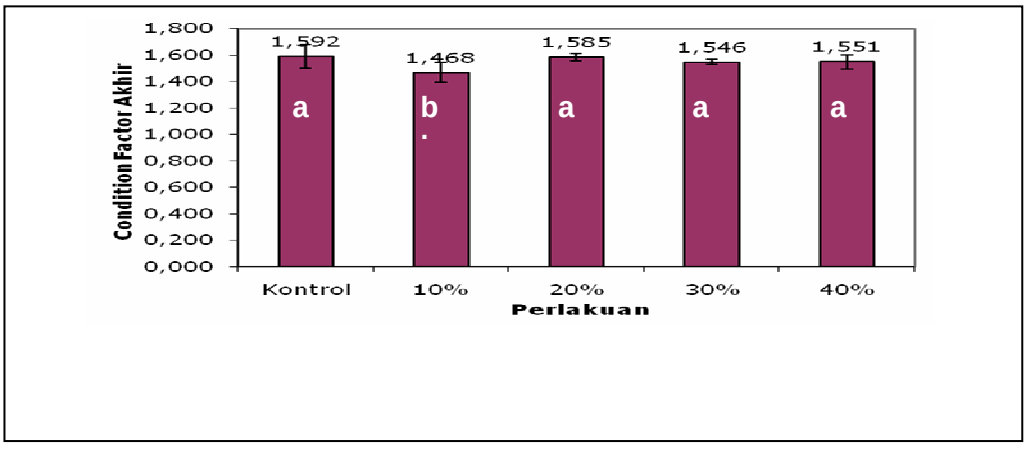
- Condition Factor (CF) $= \frac{Berat\ tubuh}{(Panjang\ total)^3} X\ 100$

- Gonad Somatic Index (GSI) $= \frac{Berat\ gonad}{Berat\ tubuh} X\ 100$

Data indeks fisiologi diolah dengan analisis ragam satu arah dan diuji lanjut menggunakan Beda Nyata Terkecil pada taraf kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan indeks fisiologi yang meliputi *Condition Factor* dan *Gonad Somatic Indeks* menunjukkan adanya perbedaan pada setiap perlakuan. Hasil perhitungan nilai *Condition Factor* disajikan pada Gambar 1.



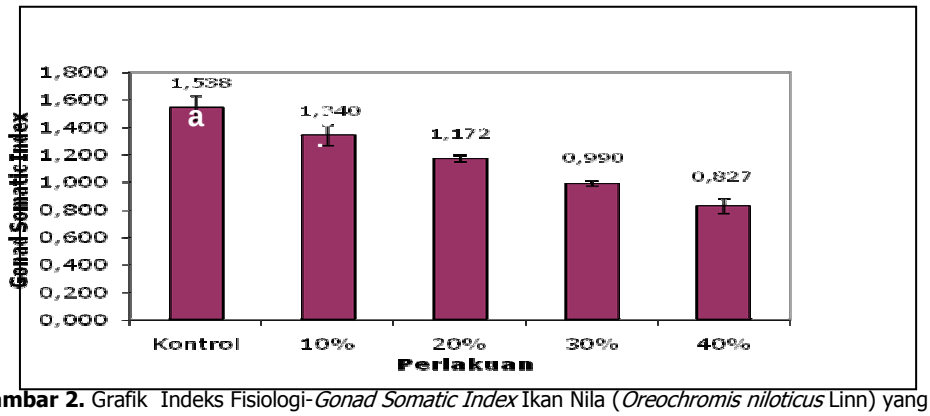
Gambar 1. Grafik Indeks Fisiologi-*Condition Factor* Akhir Ikan Nila *Oreochromis niloticus* Linn) yang dipelihara pada air hasil olahan air limbah RSUDAM

Keterangan : Huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada taraf (α)=0,05

Indeks fisiologi penting untuk diketahui karena berhubungan dengan pertumbuhan ikan itu sendiri dan faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Oleh karena itu Indeks fisiologi merupakan salah satu indikator yang dapat menggambarkan kualitas kehidupan biota akuatik di suatu perairan (Tugiyono, 2001). Salah satu derivat penting dari pertumbuhan ialah faktor kondisi. Faktor kondisi menunjukkan keadaan baik dari ikan dilihat dari segi kapasitas fisik untuk survival maupun reproduksinya (Effendie, 2002).

Menurut Tugiyono dkk (2007) jika nilai *Condition Factor* kurang dari atau sama dengan 1,7 berarti ikan dalam lingkungan yang kurang baik sehingga menandakan bahwa kondisi kesehatan ikan tidak memenuhi syarat dan habitat dari ikan tersebut mengalami gangguan atau tekanan lingkungan.

Setelah 25 hari perlakuan nilai *Condition Factor* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan 10% terhadap kontrol, 20%, 30%, dan 40%. Hal ini menandakan ikan mengalami tekanan lingkungan yang buruk karena pada bak-bak perlakuan dapat kita ketahui bahwa kelompok bak uji dengan perlakuan 10% memiliki nilai TSS yang tertinggi. Hal ini tentunya menyebabkan ikan mengalami tekanan lingkungan.
Hasil analisis ragam dan uji lanjut pada perhitungan indeks fisiologi nilai *Gonad Somatik Index* yang merupakan gambaran kematangan organ reproduksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Indeks Fisiologi-*Gonad Somatic Index* Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn) yang dipelihara pada air hasil olahan air limbah RSUDAM

Keterangan : Huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata antar perlakuan pada taraf (α)=0,05

Nilai GSI menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol dan masing-masing perlakuan. Untuk kontrol mempunyai nilai GSI 1,538, konsentrasi 10% sebesar 1,340, konsentrasi 20% sebesar 1, 172, konsentrasi 30% sebesar 0,990 dan konsentrasi 40% sebesar 0,827. Semakin tinggi konsentrasi perlakuan semakin rendah nilai GSI ikan. Semakin rendahnya nilai GSI mengindikasikan bahwa organisme tersebut mengalami keterlambatan kematangan gonad atau gonad belum matang (Webb, 2000).

Dasar yang dipakai untuk menentukan tingkat kematangan gonad dengan cara morfologi ialah bentuk, ukuran panjang, berat, warna dan perkembangan isi gonad yang dapat dilihat. Perkembangan gonad ikan betina lebih banyak diperhatikan daripada ikan jantan karena perkembangan diameter telur yang terdapat dalam gonad lebih mudah dilihat daripada sperma yang terdapat di dalam testis (Anonim, 2007).

Perkembangan gonad ikan dipengaruhi kondisi lingkungan (eksternal) seperti hujan, habitat, oksigen terlarut, daya hantar listrik, cahaya, suhu, waktu dan lain-lain. Menurut Effendie (2002) faktor utama yang mempengaruhi kematangan gonad ikan pada daerah yang mempunyai empat musim antara lain ialah suhu dan makanan, tetapi untuk ikan di

daerah tropik faktor suhu perubahannya tidak terlalu besar sehingga gonad dapat lebih cepat masak. Pengaruh internal yang dapat mempengaruhi kematangan gonad adalah gen dan hormon.

Dilihat dari hasil rata-rata pengukuran kadar oksigen terlarut yaitu pada kontrol sebesar 5,884 mg/liter dan konsentrasi 30% sebesar 5,325 mg/liter yang masih di atas kadar oksigen terlarut minimum yaitu 5 mg/liter, menurut Sastrawijaya (2000) masih layak untuk kelangsungan hidup biota air. Namun untuk konsentrasi 10% (4,584 mg/liter), konsentrasi 20% (4,568 mg/liter), dan konsentrasi 40% (4,735 mg/liter) lebih rendah dibandingkan kontrol dan konsentrasi 30%, ini di bawah batas minimum yang ditentukan. Diduga ini disebabkan banyaknya beban pencemar dalam air sehingga dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan anorganik pun semakin banyak yang menyebabkan makin berkurangnya kadar oksigen terlarut dalam air (Effendie, 2003).

Selama 25 hari, suhu tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara satu perlakuan dengan perlakuan yang lainnya. Untuk kontrol suhu rata-rata 26,5^{o}C, konsentrasi 10% (26,5^{o}C), konsentrasi 20% (26,4 ^{o}C), konsentrasi 30% (26,5 ^{o}C), dan konsentrasi 40% (26,5 ^{o}C). Hal ini dikarenakan penelitian dilakukan dalam ruangan yang suhunya konstan, tidak terkena matahari secara langsung, sehingga tidak terjadi perubahan suhu yang signifikan setiap harinya. Rata-rata suhu dari semua perlakuan tidak melebihi batas maksimum baku mutu limbah cair bagi kegatan rumah sakit yaitu sebesar 30 ^{o}C (Peraturan Gubernur No 17 Tahun 2006).

Menurur Effendie (2003), perubahan keasaman pada air limbah, baik ke arah alkali (pH) naik maupun ke arah asam (pH turun), akan mengganggu kehidupan ikan dan hewan air lainnya. Hasil perhitungan pH pada tiap bak perlakuan adalah pada kontrol pH 7,244, konsentrasi 10% pH 7,331, konsentrasi 20% pH 7,376, konsentrasi 30% pH 7,387 dan konsentrasi 40% pH 7,397. Dari semua perlakuan pH masih sesuai dengan baku mutu limbah cair bagi kegiatan rumah sakit yaitu sebesar 6-9 (Peraturan Gubernur No 17 Tahun 2006).

Pengukuran TSS merupakan salah satu parameter untuk mengetahui kualitas suatu perairan. TSS terdiri dari lumpur dan pasir halus serta jasad renik. Bahan-bahan tersuspensi dan terlarut yang tinggi menyebabkan kekeruhan yang akan menghambat penetrasi cahaya matahari dan mengakibatkan terganggunya proses fotosintesis pada perairan (Effendie, 2003). Dari hasil analisis Total Suspended Solid (TSS) terlihat bahwa pada kontrol nilai TSS adalah 98 mg/L, konsentrasi 10% TSS 248 mg/L, konsentrasi 20% TSS 192 mg/L, konsentrasi 30% TSS 222 mg/L dan konsentrasi 40% TSS 139 mg/L. Hasil ini melewati nilai baku mutu limbah cair bagi kegiatan rumah sakit yaitu 100 mg/liter (Peraturan Gubernur No 17 tahun 2006).

Hasil pengukuran BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) dari tiap perlakuan menunjukkan nilai pada kontrol 11 mg/l, konsentrasi 10% sebesar 20 mg/l, 20% sebesar 23 mg/l, 30% sebesar 35 mg/l, dan 40% sebesar 19 mg/l. Nilai BOD pada konsentrasi 30% melebihi ketentuan baku mutu limbah, namun pada perlakuan lain nilai BOD masih sesuai dengan baku mutu limbah cair bagi kegiatan rumah sakit yaitu 30 mg/l (Peraturan Gubernur No 17 Tahun 2006).

Ikan dan organisme akuatik lain membutuhkan oksigen terlarut dalam jumlah cukup. Keberadaan zat toksik yang berlebihan dalam suatu perairan mempengaruhi sistem respirasi organisme akuatik. Apabila oksigen terlarut rendah dan terdapat zat toksik pada perairan, ikan akan mengalami tekanan lingkungan yang cukup tinggi. Tekanan lingkungan yang terjadi menyebabkan menurunnya nilai *Condition Factor* ikan (Tugiyono, 2001).

KESIMPULAN

Air hasil olahan air limbah RSUD Abdul Moeloek menurunkan nilai Indeks Fisiologi yaitu *Condition Factor* dan *Gonad Somatic Index* dari ikan nila

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami berikan kepada Desnalitha Diah, S.Si. yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh Program Hibah Kompetisi (PHK) A2 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung tahun 2008.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1990. *Pedoman Sanitasi Rumah Sakit di Indonesia*. Departemen Kesehatan. Jakarta.

Anonim. 2007. Pemeriksaan Gonad Ikan. Jurnal Kesehatan Hewan. http://jlcome.blogspot.com/2007/05/pemeriksaan-gonad-ikan.html. Dikses pada tanggal, 20 Agustus 2008. 14:30 WIB.

Connell dan Miller. 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Penerjemah: Yanti Kostoer. UI Press. Jakarta.

Effendie, M.I. 2002. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.

Effendie, H. 2003. *Telaah Kualitas Air.* Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Kesuma, A. J. 2008. *Bioindikator Efektifitas Pengolahan Air Limbah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek Dengan Penentuan Lethal Concentration $_{50}$ 96 Jam) Pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus L)*. Skripsi Sarjana. Jurusan Biologi. FMIPA. Universitas Lampung.

Peraturan Gubernur No 17 Tahun 2006 Tentang Baku Mutu Limbah Bagi Usaha atau Kegiatan Di Provinsi Lampung.

Rahmawati, A.A. dan R. Azizah. 2005. *Perbedaan Kadar BOD, COD, TSS, dan MPN Coliform Pada Air Limbah, Sebelum dan Sesudah Pengolahan di RSUD Nganjuk.* Jurnal Kesehatan Lingkungan. Unair. Surabaya.

Sastrawijaya. A. T. 1991. *Pencemaran Lingkungan*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.

Tugiyono. 2001. *Metabolic Enzimes and Mixed-Function Oxygenase (MFO) System in Pink Snapper (Pagrus auratus)*: *Biochemical and Biological Relationship*. Thesis. School of Enviromental Biology. Curtin University of Technology.

Tugiyono, N. Nurcahyani dan R. Supriyanto. 2007. *Biomarker sebagai Biomonitoring Efektifitas Pengolahan Limbah Cair Industri; Respon dini pada Tingkatan Molekuler terhadap Kualitas Lingkungan.* Laporan Akhir Penelitian Fundamental. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Webb, D. 2001. *Use of Native Fish as Biological Indikators of Environmental Health in the Swan-Canning River System*. School of Environmental Biology. Curtin University of Technology. NUNING 28

RESPON PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI BUNGA GLADIOL (*Gladiolus hybridus* L) TERHADAP PEMBELAHAN CORM

Tri Dewi Andalasari
Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
email: tridewiandalasari@ymail.com

ABSTRAK

Bunga gladiol (*Gladiolus hybridus* L), merupakan salah satu komoditi hortikultura penghasil bunga potong yang banyak digemari dan cukup terkenal sehingga berpotensi untuk dikembangkan secara komersial. Kendala utama dalam pengembangan bunga gladiol adalah pada kegiatan perbanyakan tanaman, karena subang gladiol memiliki masa dormansi dan produksi subang yang sedikit. Pembelahan corm merupakan salah satu usaha untuk mempersingkat masa dormansi, menghemat kebutuhan bibit dan juga dapat meningkatkan jumlah corm bibit untuk pertanaman berikutnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pembelahan corm terhadap pertumbuhan dan produksi (bunga dan corm) pada kultivar lokal (Cangkurileung) dan kultivar hybrid (Priscilla). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembelahan corm tidak menyebabkan penurunan produksi bunga (diameter floret, panjang tangkai bunga dan panjang rangkaian floret) tetapi cenderung menurunkan ukuran corm baru jika dibandingkan dengan penggunaan corm utuh.

Key word: corm belah , gladiol

PENDAHULUAN

Bunga gladiol termasuk genus gladiolus, memiliki banyak kultivar dengan beragam warna, bentuk dan ukuran bunga (Wilfret, 1992). Kultivar lokal dan kultivar hibrida memiliki perbedaan yang sangat menonjol dari warna dan ukuiran bunga. Kultivar lokal yang digunakan adalah kultivar Cangkurileung memiliki ciri warna dasar bunga merah muda, warna lidah ungu kemerahan, bentuk petal polos, bentuk floret segi tiga dan memiliki tunas aktif 3-4 per corm (Rukmana, 2000). Kultivar hibrida yang digunakan adalah priscilla memiliki ciri warna dasar putih kombinasi merah muda, warna lidah putih dan kuning di tengah, bentuk petal berkerut, bentuk floret segi tiga dan memiliki mata tunas aktif 1-2 tunas per corm (Herlina, 1991).

Menurut Rukmana (2000) bunga gladiol yang banyak digemari adalah yang berwarna pink, merah, kuning dan berukuran besar. Di pasar domestik permintaan bunga potong gladiol cenderung meningkat dari tahun ke tahun terutama untuk memenuhi konsimen di kota-kota besar seperti Jakarta Surabaya, Bandung, Medan, Semarang dan Denpasar,

Menurut Direktorat Jenderal Hortikultura 2003-2007, gladiol termasuk dalam urutan ke 4 dalam produksi bunga potong yaitu sebesar 11.271.385 tangkai pada tahun 2007 meningkat dari tahun 2006 sebesar 11.195.483 tangkai. Di Indonesia terdapat lebih dari 50 varietas yang berpotensi untuk dikembangkan (Herlina , 1991). Diantara yang sudah dilepas oleh menteri pertanian pada tahun 2003 yaitu Ungu, Kaifa dan Clara merupakan tipe eksibisi moderen yang baru Perbedaaan sangat menonjol pada ketiga varietas terdapat pada jumlah floret dan panjang tangkai bunga. Varietas ungu memiliki jumlah floret 11-14 kuntum dengan panjang tangkai $\pm$ 75 cm, Varietas Kaifa memiliki jumlah floret 8-16 kuntum dengan panjang tangkai $\pm$ 80 cm, Sedangkan Varietas Clara memiliki

jumlah floret 7-16 kuntum dengan panjang tangkai ± 85 cm (Balai Penelitian Tanaman Hias: Varietas Unggul 2003).

Menurut Badan Pusat Statistika permintaan bunga potong khususnya bunga potong gladiol mencapai 127.200 tangkai per minggu. Proyeksi Departemen Pertanian (2002) permintaan bunga potong akan meningkat 15-20 % per tahun.

Seiring dengan peningkatan permintaan bunga potong gladiol, program pengembangan kultivar-kultivar baru perlu didukung upaya pelestariannya. Perbanyakan gladiol dapat dilakukan dengan cara generatif dengan biji dan vegetatif dengan corm (subang/umbi), anak corm (kormel), corm belah dan kultur jaringan.

Pembelahan corm sebagai bibit dapat mendorong kecepatan tumbuh tunas, mekar bunga dan meningkatkan jumlah corm bibit berikutnya (Soejono , 1989). Selain pembelahan corm, pemberian karbid 15g/kg corm juga dapat mempercepat masa dormansi (Tri Dewi Andalasari, 2004). Corm yang bertunas lebih dari satu sangat menguntungkan bila digunakan sebagai bahan perbanyakan tanaman dengan cara pembelahan corm.

Tanaman gladiol akan tumbuh baik jika ditanam pada tanah yang berstruktur gembur subur, banyak mengandung bahan organik sesuai dengan hasil penelitian Yuli A dkk 2010, dengan menggunakan pupuk kandang dan sekam dengan perbandingan 2: 1.

Menurut Rukmana (2000), kebutuhan bibit gladiol per satuan luas lahan ditentukan oleh jarak tanam dan jenis bibit. Jika menggunakan corm utuh, per hektar diperkukan bibit sebanyak 200.000 corm utuh setara dengan 4 ton. Jika menggunakan corm belah dua hanya dibutuhkan 100.000 corm setara dengan 2 ton.

Pembelahan corm selain bertujuan untuk menghemat penggunaan bbit, juga dapat mempercepat munculnya tunas. Pembelahan corm akan menghilangkan dominasi salah satu tunas. Pembelahan corm dilakukan pada corm yang berdiameter lebih dari 4 cm dengan dibelah menjadi dua atau tiga bagian (Herlina dkk, 1993)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pembelahan corm terhadap pertumbuhan dan produksi (bunga dan corm) pada kultivar lokal (Cangkurileung) dan kultivar hybrid (Priscilla).

METODE PENELITIAN

Percobaan dilakukan di Kelurahan Gunung Terang Kecamatan Tanjungkarang Barat Bandar Lampung.

Perlakuan disusun secara faktorial (2x2). Faktor pertama adalah kulivar gladiol, terdiri dari Cangkurileung / lokal (K1) dan Priscilla /hibrid (K2). Faktor kedua adalah Corm utuh (C1) dan corm belah (C2). Perlakuan diterapkan pada petak percobaan dalam rancangan kelompok teracak sempurna dengan lima ulangan. Analisis data menggunakan analisis ragam, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5 %.

Pembelahan corm dilakukan dengan membagi corm menjadi dua bagian yang sama. Untuk mempercepat muncul tunas corm gladiol diberi karbid dengan dosis 15 g/kg corm . Sebelum ditanam corm diberi perlakuan fungisida untuk mencegah serangan jamur. Media tanam terdiri dari campuran tanah: pukan: sekam dengan perbandingan 1:1:1 . Corm ditanam dalam polybag berukuran 40x50 cm dengan kedalaman 5 cm dari permukaan tanah.

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, pemupukan dan pengendalian hama penyakit dan gulma. Pemupukan diberikan sebanyak 3 kali masing-masing 5g/polibag pada saat awal tanam, masa pembungaan , dan setelah panen.

Variabel pengamatan meliputi, jumlah floret/tangkai, diameter floret, panjang tangkai bunga, panjnag rangkaian floret, berat corm/polibag, diamter corm, jumlah corm/polibag, dan berat berangkasan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil percobaan diketahui bahwa kultivar Priscilla yang merupakan kultivar hibrid memiliki keunggulan pada produksi bunga yaitu pada jumlah floret, panjang tangkai, dan panjang rangkaian bunga dibandingkan dengan kultivar lokal yaitu Cangkurileung.

Dari Tabel 1 dapat dilihat panjang rangkaian floret kedua cultivar tidak berbeda secara nyata, tetapi jumlah floret pada kultivar Priscilla lebih banyak dibandingkan cultivar Cangkurileung, secara keseluruhan bunga Priscilla memiliki rangkaian bunga yang lebih rapat sehingga akan meanmbah keindahan bunga.

Pembelahan corm ternyata tidak menghasilkan perbedaan yang nyata pada jumlah floret, panjang tangkai dan panjang rangkaian (Tabel 1). Dal ini diduga karena corm awal yang digunakan sebagai bahan tanam pada Priscilla berukuran cukup besar berdiameter 4,5-7,0 cm, sehingga meskipun corm dibelah persediaan cadangan makanan sudah mencukupi untuk pertumbuhan dan produksi bunga. Hal yang sama terjadi pada kultivar White Goddes semakin besar ukuran corm yang digunakan sebagai bibit akan meningkatkan jumlah floret dan bobot corm (Tri Dewi Andalasari, 2005).

Tabel 1. Pengaruh pembelahan corm dan kultivar terhadap jumlah floret, panjang tangkai, panjang rangkaian,

Perlakuan	Jumlah floret	Panjang tangkai	Panjang rangkaian
Cangkurileung	7,95 b	30,04 b	66,52 a
Priscilla	9,61 a	41,47 a	66,08 a
Corm utuh	8,61 a	37,06 a	68,63 a
Corm belah	8,95 a	36,45 a	63,97 a
BNJ (0,05)	0,95	3,08	5,39

Tabel 2. Pengaruh pembelahan corm dan kultivar terhadap bobot corm, diameter corm, jumlah corm, bobot berangkasan.

Perlakuan	Bobot corm	Dimeter corm	Jumlah corm	Bobot berangkasan
Cangkurileung	55,88 a	4,80 a	1,31 a	12,93 a
Priscilla	46,40 b	5,31 a	1,11 b	9,88 b
Corm utuh	57,38 a	5,12 a	1,32 a	12,72 a
Corm belah	44,90 b	4,49 a	1,10 b	10,09 b
BNJ (0,05)	8,13	0,77	0,14	2,28

Hasil pengamatan terhadap corm menunjukkan bahwa kultivar Cangkurileung memiliki bobot corm dan jumlah corm yang lebih banyak dibandingkan dengan kultivar Priscilla tetapi kultivar Priscilla memiliki diameter corm yang lebih besar. Jumlah corm yang lebih banyak dapat meningkatkan bobot total corm tetapi pada umumnya akan menurunkan diamter/ukuran corm (Tabel 2) sejalan dengan penelitian (Tri Dewi Andalasari , 2010), semakin meningkat jumlah corm akan menurunkan ukuran /diameter corm.

Perbedaan pertumbuhan terjadi pada penggunaan corm utuh, pada kultivar Cangkurileung bobot berangkasan lebih tinggi jika dibandingkan dengan Priscilla. Hal ini diduga cadangan makanan yang terdapat pada corm Cangkurileung lebih dominan ditujukan untuk pertumbuhan organ vegetatif (tinggi tanaman dan jumlah daun) yang ditunjukkan dengan bobot kering berangkasan. Selain itu banyaknya tunas yang terbentuk akan meningkatkan jumlah daun yang pada akhirnya akan meningkatkan bobot berangkasan. Secara genetik Kultivar Cangkurileung mudah membentuk tunas lebih dari satu tunas per corm. Meningkatnya jumlah tunas akan meningkatkan jumlah corm berikutnya sehingga secara total akan meningkatkan bobot corm panen (Tabel 2.)

Pembelahan corm secara nyata akan berpengaruh negatif terhadap produksi corm yaitu menurunkan jumlah corm, diameter corm dan bobot corm. Pada Kultivar Priscilla semakin kecil ukuran corm yang digunakan sebagai bibit akan menurunkan bobot corm berikutnya (Tri Dewi Andalasari, 2005).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan.

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan pertumbuhan antara kultivar Priscilla dan Cangkurileung terhadap respon pembelahan corm.
2. Pembelahan corm untuk corm dengan diameter besar tidak berpengaruh terhadap produksi bunga.
3. Pembelahan corm berpengaruh menurunkan produksi corm selanjutnya.

Saran.

Disarankan untuk melakukan penelitian pembelahan corm pada berbagai ukuran corm dan berbagai kultivar lain, sehingga pengaruh pembelahan corm pada kultivar yang lain dapat diketahui, begitu juga akan diketahui pengaruh pembelahan corm pada berbagai ukuran corm bibit.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pusat Statistika. 2003. *Statistika Tanaman Obat-obatan dan Hias*. Katalog BPS 5220. Jakarta.35 hlm.

Balai Penelitian Tanaman Hias. 2003. Varietas Unggul. http://www. kpel. or.id /TTG P/komoditi/Gladiol. Diakses tanggal 2 April 2006

Daftar Keputusan Menteri Pertanian. 2003. http://www.dokumen.deptan . go.id./doc/BDD2. Diakses tanggal 7 Maret 2006.

Departemen Pertanian. 2002. *Gladiol*. http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/ gladiol. Diakses tanggal 3 Febuari 2006.

Herlina, D. 1991. *Gladiol*. Penebar Swadaya. Jakarta. 118 hlm.

Herlina, S. Pratikno, dan S. Wuryaningsih. 1993. "Pengaruh Acethylene, Karbid, Ethylene terhadap Pertumbuhan dan Pembungaan Gladiol Kultivar Dr. Mansoer." Bul. Penel. Tan. Hias I(1): 19-26.

Rukmana, R. 2000. *Gladiol.* Kanisius. Yogyakarta. 55 hlm.

Soejono, S. 1989. "Pemberian Air Kelapa, GA3 dan Grenzit pada Umbi *Gladiolus hybridus* Cipanas, 28 Agustus. Pp 234-238.L yang Dibelah." Proseding Seminar Tanaman Hias. Balithort Lembang.

Tri Dewi Andalasari. 2005. "Pengaruh Ukuran Umbi Pada Pertumbuhan dan Produksi Dua Varietas Gladiol." Menuju Produk Hortikultura Indonesia Berkualitas. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB. Bogor. halm 257-264.

Tri Dewi Andalasari, Kushendarto, Febrianti. 2004. "Pengaruh Pemberian Kalsium Karbid terhadap Pematahan Dormansi corm dan Pertumbuhan dua Kultivar Gladiol." Jurnal Penelitian Pertanian Terapan. Edisi Khusus Vol IV a No 2. Mei 2004.

Tri Dewi Andalasari, Bayu Indrastuti, dan Paul B Timotiwu. 2010. "Pematahan Dormansi Dua Kultivar Gladiol (*Gladiolus hybridus* L) dengan Karbid dan Benziladenin (BA)." Proseding Seminar Nasional Teknologi Tepat Guna Agroindustri Polinela 2010. Politeknik Negeri Lampung. hal 378-383.

Wilfret, G. J. 1992. Gladiolus in; Introduction to Flariculture. Larson R A (ed.) Acad. Press. Inc. London. pp. 81-165.

Yuli Astuti, Tri Dewi Andalasari, Koshendarto. 2010. "Respon Tiga Varietas Gladiol (*Gladiolus hybridus* L) terhadap Jenis Bahan Organik." Proseding Seminar Nasional Teknologi Tepat Guna Agroindustri Polinela 2010. Politeknik Negeri Lampung. hal 372-276

TRI DEWI 29

EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK AIR BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP VAKUOLISASI SEL HATI PADA MODEL TIKUS HEPATITIS

Asep Sukohar, M.Kes
Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

ABSTRAK

Hati berperan penting dalam mempertahankan homeostasis dan sangat dibutuhkan untuk berlangsungnya fungsi fisiologik organ lain. Perubahan morfologi hati akan berdampak pada perubahan fungsi, dan dapat muncul sebagai manifestasi kliniknya. Hepatitis merupakan gangguan serius yang menimbulkan inflamasi sel hati dan disebabkan oleh virus, kimia, dan toksin dll. Reaksi yang terjadi berupa stres oksidatif, kondisi dominannya radikal bebas terhadap antioksidan. Secara tradisional kopi digunakan sebagai minuman sehari-hari dan pada akhir-akhir ini dikenal sebagai antioksidan karena mengandung flavonoid (asam klorogenat). Tujuan penelitian ini adalah menentukan efek hepatoprotektif/antioksidan kopi yang tumbuh Pesawaran Lampung, terhadap gambaran kerusakan sel hepatosit pada tikus model hepatitis yang diinduksi dengan CCL_4.

Telah dilakukan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan 15 ekor tikus jantan yang terbagi dalam 3 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif, kelompok 2 adalah kontrol positif sebagai model hepatitis, kelompok 3 merupakan kelompok perlakuan, yaitu model hepatitis yang mendapat ekstrak air biji kopi robusta 25 mg/kgBB selama 7 hari dan mendapat induksi CCl_4. Pengamatan dilakukan 48 jam setelah induksi CCl_4, untuk menilai efek protektif efek antioksidan kopi robusta terhadap gambaran degenerasi sel hati. Hasilnya dianalisis dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Independent T Test.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air biji kopi robusta dapat mencegah kerusakan gambaran degenerasi sel hati dari 58.4 ± 7.09 menjadi 34.4 ± 5.85 %, hasil ini berbeda secara bermakna ($p \leq 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol positif maupun kontrol negatif.

Kesimpulan penelitian ini bahwa ekstrak air biji kopi robusta berpotensi mencegah gangguan fungsi hati dengan efek sebagai antioksidan pada tikus model hepatitis.

Kata kunci: Kopi, Gambaran Degenerasi Sel Hati

PENDAHULUAN

Latar Belakang Penelitian

Dewasa ini dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas (*free radical*) dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Tampaknya, oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Molekul ini sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena memberikan energi pada proses metabolisme dan respirasi, namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan kondisi degeratif, seperti *aging,* atritis, kanker dan lain-lain (Diplock, 1991).

Para ahli biokimia menyebutkan bahwa radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya ketika komponen

makanan diubah bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, sering kali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya, hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Ozygen Species* (ROS) (Halliwell , 1991).

Secara biokimia, proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi. Sementara, proses penangkapan elektron disebut reduksi. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor.
Sering kali pengertian oksidan dan radikal bebas dianggap sama karena keduanya memiliki kemiripan sifat. Kedua jenis senyawa ini juga memiliki aktivitas yang sama dan memberikan akibat yang hampir sama, meskipun melalui proses yang berbeda. Sebagai contoh, dampak reaksi H_2O_2 (sebagai oksidan) dan radikal bebas hidroksil (OH) terhadap glutation (GSH) (Chen dkk.,1991).

(a) $H_2O_2 + GSH \rightarrow GSSG + H_2O$
(b) $OH\cdot + GSH \rightarrow H_2O + GS^{\cdot}$
Radikal glutation
(c) $GS^{\cdot} + GS^{\cdot} \rightarrow GSSG$

Reaksi (a) dan (b) tampaknya sama atau mirip, tetapi perlu dipahami bahwa hal tersebut sebenarnya berbeda. Dalam ilmu kimia, pengertian oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron, misalnya ion ferri (Fe^{+++}).

$$Fe^{+++} + e^{-} \rightarrow Fe^{++}$$

Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Sebagai dampak kerja radikal bebas tersebut, akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya. Namun, bila dua senyawa radikal bertemu, elektron-elektron yang tidak berpasangan dari kedua senyawa tersebut akan bergabung dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Sebaliknya, bila senyawa radikal bebas bertemu dengan senyawa bukan radikal bebas, akan terjadi 3 kemungkinan.

1. Radikal bebas akan memberikan elektron yang tidak berpasangan (reduktor) kepada senyawa bukan radikal bebas.
2. Radikal bebas menerima elektron (oksidator) dari senyawa bukan radikal bebas.
3. Radikal bebas bergabung dengan senyawa bukan radikal bebas (Halliwell, et.al., 1992).

Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar malondialdehid (MDA) dalam plasma menurut pendapat Zakaria, *et.al* pada tahun 2000 dan Winarsi, *et.al* pada tahun 2003

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai dilaporkan dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan juga disebut-sebut dapat meningkatkan status imunologis dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Oleh sebab itu, kecukupan asupan antioksidan secara optimal diperlukan pada semua kelompok umur (Sichel dkk., 1991). Antioksidan merupakan senyawa pemberi

elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan terhambat.
Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif (Soeatmaji, 1998). Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat melalui 3 cara berikut.

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
3. Memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal.

Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya superoksida dis-mutase atau SOD, katalase, dan glutation peroksidase), vitamin (misalnya vitamin E, C, A dan β-karoten), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin dan lain-lain. Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung pada adanya ion logam. Aktivitas SOD bergantung pada logam Fe, Cu, Zn dan Mn. Enzim katalase bergantung pada Fe (besi), dan enzim glutation peroksidase bergantung pada Se (Selenium). Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru (Handelman dan Pryror, 1998). Dengan pemahaman yang benar tentang antioksidan dan radikal bebas, diharapkan setiap orang dapat berbalik untuk mengonsumsi produk alami yang kaya akan antioksidan, seperti sayuran dan buah-buahan. Obat tradisional merupakan mitra terhadap pengobatan modern yang telah kita kenal sekarang. Menyimak GBHN 1993/1998, Undang-undang Kesehatan No 23/1992 ataupun Sistem Kesehatan Nasional, pemerintah mendukung pengobatan tradisional (Sujatno, 2005).

Peran oksigen aktif dan radikal bebas terhadap kerusakan jaringan pada tubuh manusia telah diketahui menempati porsi yang sangat besar, diamana keadaan ini nantinya dapat memicu timbulnya berbagai jenis penyakit terminal di dalam tubuh. Suatu senyawa radikal bebas dapat menyerang asam lemak tak jenuh pada biomembran hingga menyebabkan membran lemak mengalami peroksidasi dan dapat menurunkan fluiditas membran, tingkat aktivitas enzim dan reseptor, serta kerusakan protein membran yang akhirnya mengarah pada inaktivasi sel. Radikal bebas menyerang DNA dan menyebabkan mutasi yang mengarah kanker (Lisdawati, 2006 dan Setiawan dan Suhartono, 2005).

Radikal bebas dapat terjadi akibat adanya proses oksidasi pada senyawa oksigen yang berada pada kondisi stabil (*ground level)* kemudian berubah menjadi senyawa aktif/ tidak stabil (*superokside* atau *hydroperoixide*). Senyawa oksigen aktif atau radikal bebas ini nantinya dapat merusak jaringan lain untuk memperoleh energi agar dapat mencapai kondisi stabil. Berbagai faktor fisika dan kimia dapat menjadi pemicu keadaan tersebut, semisal: kehadiran logam-logam berat, asam lemak tak jenuh, pemanasan yang berlebihan ataupun bahan pewarna, pengawet dan cahaya dari sinar radiasi (Lisdawati, 2006; Bagiada dan Mahasucipta , 2005).

Oksigen aktif dalam bentuk superoksida dan radikal bebas pada dasarnya merupakan produk sampingan yang normal dari proses metabolism tubuh. Keadaan ini menjadi tidak normal bila terdapat dalam jumlah berlebihan yang akan memicu kehadiran sejumlah

senyawa kimia lain yang bersifat karsinogenik. Berbagai penelitian terhadap kerusakan DNA polimerisasi manusia juga menunjukan adanya hubungan yang signifikan antara radikal-radikal bebas dengan tingkat kerusakan molekul DNA. Jumlah kerusakan berkurang dengan penambahan logam pengkhelat, yang mengindikasikan bahwa kerusakan yang terjadi disebabkan oleh peroksida ataupun hidroksil. Oleh karena itu penelitian terhadap berbagai senyawa yang dapat mengatasi kehadiran oksigen aktif dan radikal bebas menjadi semakin penting untuk dilakukan (Bagiada A dan Mahasucipta A. 2005 dan Widowati dkk., 2004).

Senyawa antioksidan dapat berupa senyawa alam maupun senyawa sintetik. Pada saat ini senyawa antioksidan sintesis sudah mulai di tinggalkan karena sifat karsinogenik dan antioksidan yang berasal dari alam mulai memegang peranan penting. Senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alam banyak di temukan pada kulit buah pada tanaman. Berbagai golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang di kenal sebagai sumber "*radical scavenger"* adalah golongan senyawa fenol, seperti: flavonol, flavonon, falvon, fenil propanoid, antrakuinon, ataupun lignan; senyawa-senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan antra-kuinon (Lisdawati, 2006; Bagiada dan Mahasucipta, 2005; dan Widowati dkk., 2004).
Selain buah-buahan dan sayuran, baru-baru ini kopi juga disebut-sebut mengandung senyawa antioksidan. Kenyataan ini di buktikan oleh bangsa Amerika yang mengkonsumsi kopi sebagai sumber antioksidan lebih banyak dibandingkan dengan sumber lainnya. *Joe Vinson* seorang ahli kimia dari Amerika, mengatakan bahwa kopi yang berkafein maupun yang tidak berkafein memiliki kadar antioksidan yang sama (12 Winarsi, 2007). Hepatitis adalah suatu proses peradangan difus pada jaringan hati. Hepatitis dapat disebabkan oleh virus, obat-obatan, proses otoimun atau penyebab lain yang tidak diketahui. Dalam penatalaksanaan suatu penyakit termasuk hepatitis penting diketahui mengenai patogenesanya (Ghany dan Hoofnagle, 2005). Saat ini berkembang model hepatitis pada binatang percobaan untuk mengetahui patogenenesis hepatitis termasuk evaluasi obat-obat yang berkasiat hepatoprotektor. Salah satu model yang banyak dikerjakan adalah dengan menggunakan zat hepatotoksik seperti karbon tetraklorida (CCL4), parasetamol, tioasetamid, alkohol, D-galaktosamin. Lipopolisakarida juga sering digunakan untuk menimbulkan respon peradangan pada hati. Kerusakan hati dan efek perbaikan oleh obat selain dinilai dari perubahan histopatologis, juga dinilai dengan mengukur enzim transaminase, serta marka dari kerusakan akibat radikal bebas seperti malondialdehid (MDA) (Czaja, 1997).

Kopi berasal dari bahasa Latin, *coffea,* anggota keluarga *Rubiaceae.* Sampai dengan saat ini masih banyak pertentangan di antara para ahli mengenai pengklasifikasian tanaman ini karena banyaknya ragam dari tanaman ini. Kopi pertama kali ditemukan oleh ahli botani dari Swedia, Carolus Linnaeus, pada abad ketujuh belas sehingga akhirnya tersebar ke seluruh dunia dan menjadi salah satu minuman favorit sepanjang zaman. Konon, bangsa Arab adalah yang pertama kali menjadikan kopi sebagai minuman mereka dan karena itulah kopi pernah dikenal oleh bangsa Eropa sebagai Anggur Arab (Sunnara R. 2008). Ada sekitar 25 jenis kopi, tapi hanya dua jenis kopi yang terkenal hingga saat ini, yaitu kopi *arabika* dan kopi *canephora* atau *robusta.* Jenis Arabika mendominasi 70% produksi kopi dari seluruh dunia. Kopi Arabika juga sering disebut sebagai kopi Brazil, tempat asalnya. Sedangkan kopi Robusta banyak dihasilkan dari daerah Afrika Barat dan Tengah, Asia Tenggara, dan sebagian besar wilayah Amerika Selatan. Di Brazil, kopi robusta dikenal sebagai *Conillon* (Sunnara R. 2008).

Hasil penelitian ilmiah menunjukkan bahwa satu sajian kopi mengandung antioksidan sebanyak hampir empat kali lipat dibandingkan dengan satu sajian teh hijau. Dalam secangkir kopi mengandung banyak antioksidan '*polyphenol*' yang kekuatannya tidak menurun dengan penambahan '*creamer*' atau tanpa kafeinnya. Hal ini terjadi karena

adanya efek perlindungan dari antioksidan dan para pakar percaya kopi dapat mencegah, menunda, atau membatasi sejumlah penyakit degeneratif seperti kanker, katarak, dan penyakit dalam sistem saraf (Czaja, 1997; Martin , 2008; dan Vinson, 2005).

Secangkir kopi mengandung sekitar 100 mg kafein yang akan memperbaiki fungsi koordinasi psikomotorik, tetapi dosis yang lebih tinggi dapat berpengaruh terhadap denyut jantung dan frekuensi pernafasan. Sebagaian besar dokter dan peneliti setuju bahwa minum kopi sebanyak 3-4 cangkir sehari aman bagi wanita hamil karena tidak berakibat buruk terhadap kehamilan, kelahiran, termasuk cacat kelahiran, prematur lahir, dan pertumbuhan janin. Seorang ahli dari *Harvard University* pernah melakukan penelitian terhadap 12 ribu wanita yang mengalami kegagalan pada masa awal kehamilan mereka, ternyata tidak berhasil menemukan hubungan antara konsumsi kopi dengan hal itu (Czaja, 1997; Martin , 2008; Santoso, 2008; Daglia dkk., 2009; Castillo dkk., 2009; Richelle dkk., 2001; Yanagimoto dkk., 2004; Yoshida dkk., 2008; dan Vinson, 2005). Lampung merupakan salahsatu penghasil kopi terbesar diindonesia, tingginya minat masyarakat dalam konsumsi kopi serta memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi, maka peneliti mencari efek farmakodinamik dari kopi yang bisa mengangkat nilai ekonomisnya dan dengan demikian maka tarap kesejahteraan petani (khususnya dilampung) meningkat.

Uji pendahuluan telah dilakukan terhadap berbagai dosis ekstrak kopi: 0,25 gram, 0,50 gram dan 1 gram dan diantara ke-3 dosis tersebut maka dosis 0,25 gram menunjukan efek antioksidan yang baik. Pada dosis 1 gram didapatkan 2 ekor tikus galur wistar mati. Pada uji penelitian selanjutnya maka digunakan dosis 0,25 mg yang di bagi menjadi 3 kelompok. Bercermin dari hal tersebut di atas maka peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian tentang efek antioksidan ekstrak kopi robusta terhadap model kerusakan sel hati yang diinduksi CCl_4 (model hepatitis) dengan parameter MDA, gambaran histopatologi hati tikus, dan SGPT.

METODE PENELITIAN

Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar (berumur 12 minggu), berat badan antara 200 – 250 gram yang diperoleh dari (laboratorium) Pusat Antar Universitas (PAU) ITB Bandung. Sebelum penelitian dimulai, hewan coba diadaptasikan dengan suasana laboratorium selama 1 minggu.

Kriteria inklusi hewan uji adalah: tikus yang digunakan sehat, berumur 12 minggu, berat badan awal 200-250 gram, dan memiliki kadar SGPT pada awal penelitian dalam batas normal. Hewan uji dibiarkan beradaptasi dengan suasanan laboratorium selama 1 minggu. Kriteris eksklusi meliputi: penurunan berat badan hewan uji >10% pada masa adaptasi selama 1 minggu, dan terlihat sakit atau berperilaku aneh selama masa adaptasi. Selama pengamatan hewan uji diberi makanan berupa pelet dan minuman berupa air.

Bahan Penelitian

1. Ekstrak kopi robusta
2. Biji kopi robusta diambil dari perkebunan kopi Pesawaran Lampung dengan umur pohon sekitar 8 tahun. Biji kopi robusta tersebut kemudian diolah menjadi ekstrak menggunakan pelarut air di Pusat Penelitian Antar Universitas (PAU) Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung (ITB).
3. Karbon tetraklorida (CCl_4) dalam paraffin cair 10%
4. Aquabides

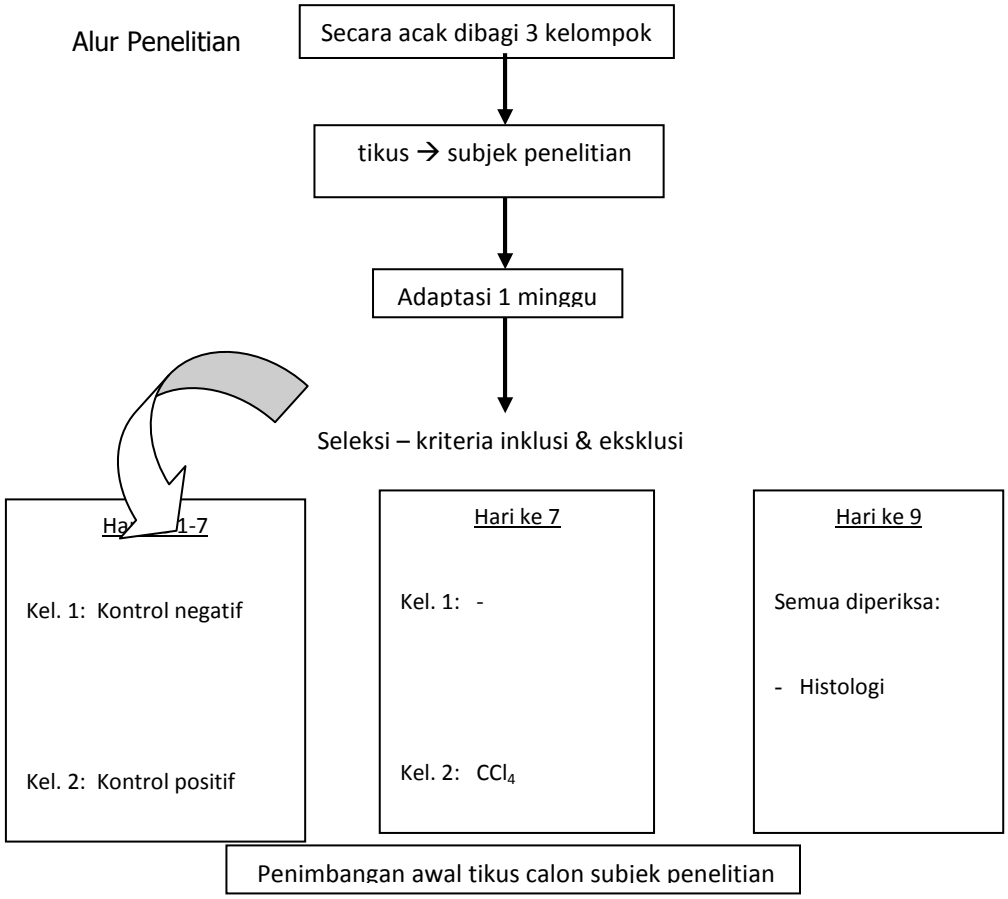
5. Formalin buffer 10%
6. Makanan standar tikus berupa campuran pelet dan gabah
7. Es

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Klinik RS Dr. Hasan Sadikin Bandung pada bulan Desember 2008 – Juli 2009.
dengan rancangan acak lengkap. Hewan coba adalah tikus jantan galur wistar yang diinduksi hepatotoksisitas dengan menggunakan karbon tetraklorida. Pembengkakan sel (*cloudy swelling*) pembentukan gelembung sitoplasma (vakuola), dan nekrosis akan tampak pada hati tikus 1 sampai 3 hari setelah injeksi CCl_4 secara subkutan. Dosis CCl_4 yang digunakan 1 ml (10% dalam parafin cair).

Variabel teridiri dari:
Variabel bebas (*Independent*) dari penelitian ini adalah dosis ekstrak air kopi robusta. Dosis ekstrak biji kopi yang diberikan adalah 25 mg ekstrak kering kopi/tikus/hari per oral.

Variabel tidak bebas (*dependent*) dari penelitian ini adalah gambaran histopatologis hati hewan coba. Pengukuran terhadap variabel tidak bebas dilakukan dengan pengamatan histopatologi hati menggunakan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dan diperiksa dengan mikrofotografi olympus dan dengan pembesaran 400x



Gambar 1. Skema Alur penelitian

Teknik Analisis Statistik
Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (Kolmogorov-Smirmov) dan homogenitas (Levene). Jika varian data berdistribusi normal serta homogen, maka dilanjutkan dengan analisis varian dan jika Annova bermakna maka dilanjutkan dengan uji t test. Hipotesis dianggap bermakna bila $p \leq 0,05$. Analisis dilakukan dengan menggunakan program *SPSS dor Windows* versi 13.

Aspek Etik Penelitian
Dampak etik pada penelitian ini adalah ketidaknyamanan akibat perlakuan dan tindakan pada penelitian ini. Untuk mengatasi dampak perlakuan sudah dilakukan proses adaptasi selama 1 minggu. Untuk mengatasi dampak negatif tindakan penelitian ini dilakukan dengan pendekatan 3R (reduction, refinement, dan replacement) yaitu jumlah sampel seminimal mungkin (dihitung berdasarkan formula), dipilih tikus yang dianggap kurang perasa dan cocok untuk desain penelitian ini, serta menggunakan metode yang kurang invasif (tidak membuka rongga tubuh). Pada akhir penelitian korban dikorbankan dibawah pengaruh anestesi.

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan menggunakan 15 ekor tikus galur wistar yang terbagi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok 5 ekor tikus galur wistar: kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan.
Penelitian berlangsung selama 9 hari dengan menggunakan dosis ekstrak air biji kopi robusta 25 mg dan pemeriksaan Histopatologi dilakukan di RS Abdoel Moeloek Lampung.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian membuktikan efek antioksidan kopi robusta dapat mencegah kerusakan sel hati tikus galur wistar dengan menilai proses degenerasi sel hati tikus dalam bentuk persen, serta dibandingkan antara ke-3 kelompok penelitian ini. Ternyata tikus yang mendapatkan ekstrak air biji kopi robusta menujukan persentase lebih kecil jika dibandingkan dengan ke-2 kelompok lainya. Hasil penelitian tersebut dijelaskan pada keterangan dibawah ini.

Efek Pemberian Ekstrak Air Biji Kopi Robusta Terhadap Degenerasi Sel Hati Tikus Model Induksi CCL_4.
CCl_4 menyebabkan stres oksidatif dengan akibat terjadinya peroksidasi lipid. Perubahan histologi spesifik akibat CCl4 adalah adanya nekrosis sentrilobuler, degenerasi lemak, apoptosis sel dan vakuolisasi. Antioksidan dapat berefek hepatoprotektif dengan mengikat radikal bebas yang dihasilkan dari CCl_4.

Pada pemeriksaan histopatologi tidak tampak adanya nekrosis sentrilobuler maupun apoptosis, hanya ditemukan vakuolisasi yang merupakan awal proses perlemakan.

Untuk mengetahui efek ekstrak air kopi terhadap morfologi hati tikus model induksi CCL_4 maka pemeriksaan histopatologi terhadap kerusakan sel hepatosit dilakukan dengan cara menilai luas daerah (dalam %) yang mengalami kerusakan. Untuk mengukur luasnya vakuolisasi sel hepatosit digunakan metode "kisi-kisi".

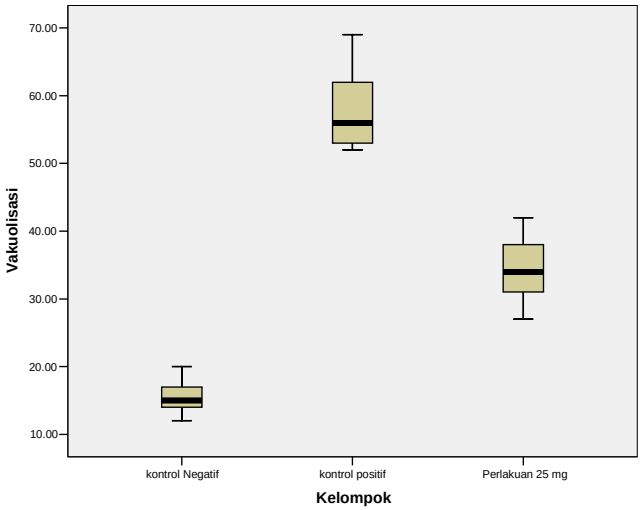
Dari setiap tikus diambil 1 preparat yang terdiri dari 4-5 sayatan, tiap sayatan preparat diambil 2 sayatan secara acak. Dari setiap sayatan diambil 2 lapang pandang perisentral secara acak. Berikut tabel 4.3 yang memperlihatkan luas kerusakan sel hepatosit tiap kelompok dan antar kelompok :

Tabel 1. Presentasi Rata-rata Terjadinya Degenerasi Sel Hati antara ke-3 Kelompok

Nilai rata-rata Degenerasi sel hati pada ke-3 kelompok					
	Kelompok 3 (n=5)	**Kelompok 2 (n=5)**	**Kelompok 1 (n=5)**		
Nilai Vakuolisasi (%)	**Rata-rata (%) SD**	**Rata-rata (%) SD**	**Rata-rata (%) SD**	**F**	**P**
Nilai rata-rata Vakuolisasi	34.4 (5.86)	58.4 (7.09)	15.6 (3.05)	0.67	0,00

Keterangan : Kelompok 1: Kontrol negatif
Kelompok 2: Kontrol positif
Kelompok 3: Mendapat Ektrak Air Kopi 25 mg + CCL_4
P* Berdasarkan uji t

Untuk lebih jelasnya rata-rata prosentase terjadinya vakuolisasi antar kelompok disajikan dalam Grafik dibawah 2.

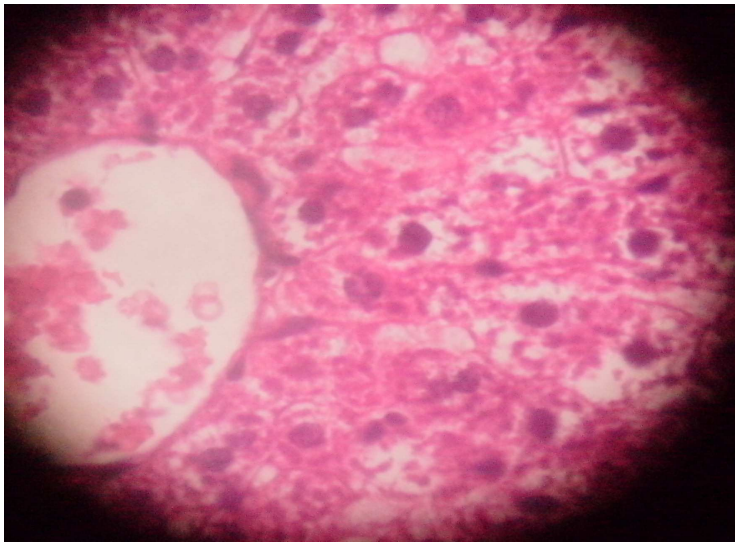


Gambar 2. Grafik Presentasi Rata-rata Terjadinya Kerusakan Morfologi Hati

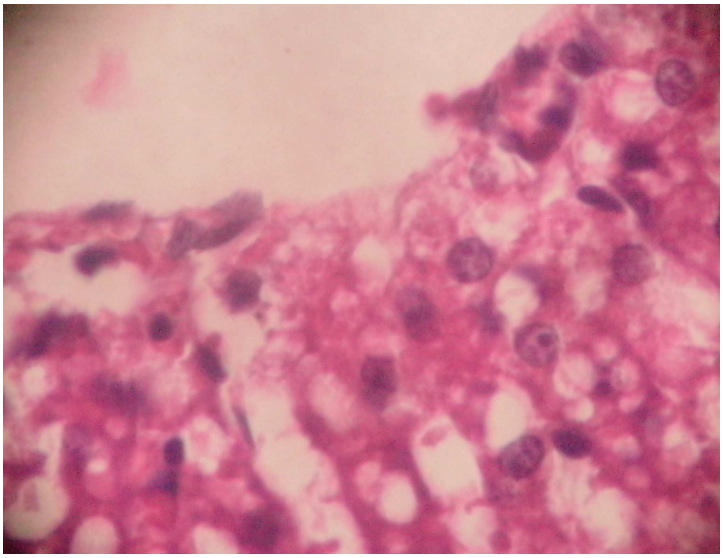
Pada tabel 1 terlihat bahwa terjadi perubahan morfologi pada kelompok 2 dengan 3, terlihat rata-rata terjadinya vakuolisasi masing-masing sebanyak 58,4% dan 34,4%. Pada kelompok 1 vakuolisasi hanya terjadi pada 15,6%. Vakuolisasi terbanyak pada kelompok 2 (58,4%).

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji statistik Independent t test dengan hasil berupa grafik *boxplot* seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.
Pada grafik 1 tampak kelompok 1, 2 dan 3 dengan p=0,00, terdapat perbedaan bermakna secara statistik dan presentase terjadinya vakuolisasi lebih berat terdapat pada kelompok 2 dan 3, artinya bahwa CCl_4 menyebabkan timbulnya vakuolisasi terbanyak pada kelompok 2 diikuti oleh kelompok 3. Pengamatan ini menunjukan bahwa kopi dapat menghambat terjadinya perubahan morfologi berupa vakuolisasi sel hati.

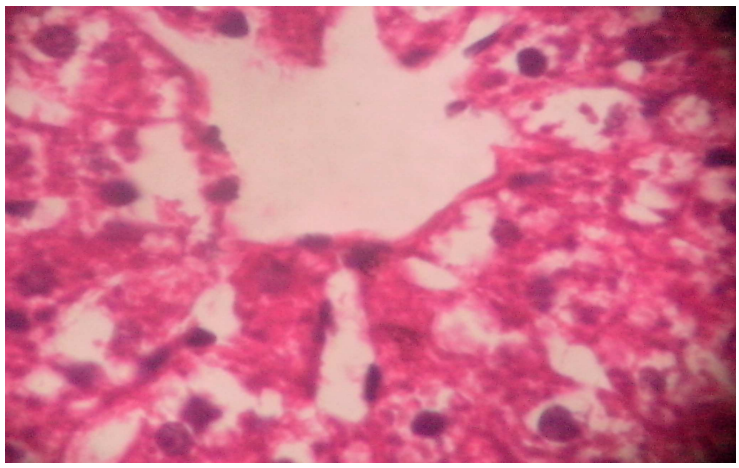
Kerusakan morfologi yang terjadi pada kelompok 2 dan 3 adalah reaksi awal degenerasi yang ditandai dengan timbulnya vakuolisasi sitoplasma namun membran plasma dan inti masih utuh. Tidak ditemukan adanya nekrosis hati pada semua kelompok.



Gambar 3. Histologi hati tikus pada kelompok 1 (HE-400X)



Gambar 4. Histologi hati tikus pada kelompok 2 (HE-400X)



Gambar 5. Histologi hati tikus pada kelompok 3 (HE-400X)

DAFTAR PUSTAKA

Diplock,A.T. 1991. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: on Overview. The American Journal of Clinical Nutrition. 53 : 314-321.

Halliwell, B. 1991. Gutteridge. Free *Radical in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press.

Chen, Y., Zheng R., Jia Z., dan Ju Y. 1991. *Flavonoids as Superoxide Scavengers and Antioxidant*. dalam: *Free Radical Biology and Medicine*. Pp. 9 : 19-21.

Sichel,G., C. corsaro, M. Scalia, a.J. Dibilio, dan R. Bonomo. 1991. In Vitro Scavenger Activity of Some Flavonoids and Melanins Against O2. Free Radical Biology and Medicine. Pp. 11: 1-8.

Soeatmaji, D.W. 1998. Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. Medica. 5 (24): 318-325.

Handelman, Garry J., dan Pryror, Willam A. 1998. *Evaluation of Antioxidant Status in Human*. Dalam papas, Andreas m (editor). Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health. Florida : CRC Press LLC. Pp. 47-48.

Sujatno M. 2005. Pengembangan dan Promosi Obat Tradisional serta Pengobatan Alternatif Komplementer Indonesia. Bandung .Konas OTI.

Lisdawati V, Kardono L. 2006. Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan kulit Biji Mahkota Dewa. Media Litbang Kesehatan XVI. Jakarta. 4 : 1-14.

Setiawan B dan Suhartono E. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. Jakarta : Majalah Kedokteran Indonesia . 55 (5) : 86-91.

Bagiada A dan Mahasucipta A. 2005. Peran Antioksidan untuk Mencegah Beberapa Kelainan Jaringan Tubuh. Jakarta. Majalah Kedokteran Indonesia . 55 (6) : 86-91.

Widowati L, Sadikin M, dan Wahjoedi B. 2004. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Klabet (Trigonella Foenum-Graecum L.): Pengukuran Glutation Tikus Diabetes. Media Litbang Kesehatan XVI. 4 : 7-13.

Winarsi H. 2007. Antioksidan kopi. Dalam: Antioksidan Alami dan Radikal bebas. Yogyakarta. Pp. 204-219.

Ghany M dan Hoofnagle JH. 2005. Approach to teh pastient with liver disease. In Harrison's principles of Internal medicine. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editor. 16th edition. Volume 2 McGraw-Hill Medical Publishing Division. International edistion. Pp. 282:1808.

Czaja MD. 1997. Role of Kupffer cells and cytokies in the pathogenesis of toxin induced and reperfusion in injury. Hepatologi. Pp. 211-218.

Sunnara R. 2008. Inside a cup of Coffee. Melalui http://rachmatsunnara. multiply.com [02-01-2008]. Internet.

Martin P. Sunnara R. 2008. Coffee and Antioxidants. At the World Coffe Conference in London. Melalui http://www.positevelycoffe.org. [19-11-2008]. Internet.

Santoso AW. 2008. Pengaruh Ekstrak Air The Hijau (Camellia Sinensis var. Assamica) Dalam Mencegah Kerusakan Hati Akibat Induksi Dengan CCl4 Pada Tikus Jantan Galur Wistar (Tesis). Bandung: Universitas Padjajaran.

Daglia M, Racchi M, Papetti A. 2009. In vitro and ex vivo antihydroxyl radical activity of green and roasted coffee. J Agric Food Chem. 24;52(6):1700-4.

Castillo MD, Ames JM, Gordon MH. 2009. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. J Agric Food Chem. 19;50(13):3698-703.

Richelle M, Tavazzi I, Offord E. 2001. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. J Agric Food Chem. 49(7):3438-42.

Yanagimoto K, Ochi H, Lee KG, Shibamoto T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *J Agric Food Chem.* 11;52(3):592-6.

Yoshida Y, Hayakawa M, dan Niki E. 2008. Evaluation of the Antioxidant Effects of Coffee and Its Components Using the Biomarkers Hydroxyoctadecadienoic Feb 57 (12): 691-7.

Vinson J. 2005. Coffee is number one source of antioxidants. Melalui : http://www.physorg.com. [08-04-2009]. Internet 2005 August 29.

Asep 30

EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK METANOL DAN KLOROFORM UMBI RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP SEL VERO

Susianti[1], Rina Susilowati[2], Mae Sri Hartati Wahyuningsih[3]
[1]Bagian Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Lampung,[2]Bagian Histologi dan Biologi Sel, [3]Bagian Farmasi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada,
Email: susiantiglb@yahoo.com

ABSTRAK

Dari berbagai tumbuhan yang telah diteliti banyak diantaranya memiliki efek kemoterapi (antikanker) yang cukup potensial. Namun demikian selektivitas tumbuhan obat tersebut pada sel kanker juga merupakan hal yang penting diperhatikan. Hal tersebut dikarenakan obat-obat antikanker yang telah digunakan saat ini belum selektif pada sel-sel normal. Umbi rumput teki diketahui memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukemia dan kanker serviks. Namun mengenai efek sitotoksiknya pada sel normal masih perlu diteliti. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak metanol dan kloroform umbi rumput teki (*C. rotundus* L.) terhadap sel Vero (sel normal dari kera hijau Afrika).
Uji sitotoksik dilakukan pada sel Vero yang diberi ekstrak metanol dan kloroform umbi rumput teki (*C. rotundus* L.*)* sebagai bahan uji. Doksorubisin digunakan sebagai kontrol. Masing-masing sumuran pada *microplate* diisi suspensi sel Vero sebanyak 2 x 10^4 sel yang terlarut pada media kultur M199, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya sel diinkubasi dengan ekstrak metanol dan kloroform umbi rumput teki dengan 8 seri dosis (3,9-500 µg/ml) dan doksorubisin (dosis 0,488-62,5 µg/ml), masing-masing dosis triplikat. Setelah diinkubasi selama 24 jam lalu dilakukan *MTT assay*. Hasilnya dibaca dengan ELISA reader. Dari uji sitotoksik ini diperoleh persentase penghambatan sel, dan dapat dihitung IC_{50} dengan analisis probit.
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi rumput teki memiliki efek sitotoksik lemah (IC_{50} > 100 µg/ml) dan efek sitotoksik sedang (IC_{50} 50 - 100 µg/ml) pada sel Vero. Dengan demikian disimpulkan eksrak metanol dan kloroform umbi rumput teki (*C. rotundus* L.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel Vero.

Kata kunci: efek sitotoksik, rumput teki, *Cyperus rotundus* L., sel Vero

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit mematikan yang membutuhkan perhatian dan penanganan yang serius. Hal itu dikarenakan tingginya angka kematian akibat kanker. Berdasarkan data dari IARC *(International Agency for Research on Cancer)* pada tahun 2002, dari seluruh penduduk dunia terdapat 6,7 juta kematian akibat kanker, 10,9 juta kasus baru penderita kanker, dan 24,6 juta orang yang sedang menderita kanker selama kurun waktu tiga tahun penelitian (Parkin *et al.*, 2005). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, prevalensi kanker di Indonesia adalah 4,3 per 1000 penduduk, dan kanker merupakan penyebab kematian ketujuh (5,7%) setelah stroke, TB, hipertensi, cedera, perinatal, dan diabetes melitus (Pusat Komunikasi Publik, Sekretariat Jenderal Departemen Kesehatan, 2009).

Masalah utama dalam penanggulangan kanker adalah besarnya biaya perawatan dan pelayanan yang lama. Hal ini tidak hanya menimbulkan kerugian ekonomi (*economic loss*) bagi penderita tetapi juga bagi keluarga dan pemerintah (Pusat Komunikasi Publik, Setjen Depkes, 2008). Saat ini, pengobatan kanker pada umumnya dilakukan dengan

tiga cara, yaitu pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi (Thurston, 2007). Ketiga cara pengobatan tersebut membutuhkan dana yang tidak sedikit, sehingga perlu dikembangkan pengobatan alternatif yang lebih murah.

Salah satu usaha yang dapat dilakukan dalam mengatasi mahalnya pengobatan kanker adalah dengan mengembangkan bahan alam sebagai obat antikanker. Penggunaan obat dari bahan alam (obat herbal) ternyata cukup luas di masyarakat. Selain dianggap tidak memiliki efek samping yang merugikan, dari aspek ekonomi obat herbal dianggap cukup murah dibandingkan dengan obat modern (Dwiprahasto, 2009). Di samping itu, Indonesia juga terkenal kaya dengan keanekaragaman hayatinya. Dari 30.000 spesies tumbuhan yang ada di Indonesia, sekitar 940 spesies diketahui merupakan tumbuhan berkhasiat obat (Wahyuningsih, 2009).

Dari berbagai tumbuhan yang telah diteliti baik *in vitro* maupun *in vivo* banyak diantaranya memiliki efek kemopreventif maupun kemoterapi (antikanker) yang cukup potensial (Galati dan O'Brien, 2004). Namun demikian selektivitas tumbuhan obat tersebut pada sel kanker juga merupakan hal yang penting diperhatikan. Hal tersebut dikarenakan obat-obat antikanker yang telah digunakan saat ini belum selektif pada sel-sel normal. Obat yang tidak selektif akan mengakibatkan banyak efek samping.

Salah satu tanaman obat yang cukup potensial untuk dikembangkan sebagai antikanker adalah rumput teki (*C. rotundus* L.). Tanaman ini cukup menarik untuk dikembangkan karena murah dan mudah didapat. Rumput teki merupakan rumput liar yang tersebar di berbagai tempat di daerah tropis, termasuk Indonesia. Para petani bahkan sering mengeluh sulitnya memberantas rumput teki yang menjadi gulma bagi tanaman. Jika memang umbi rumput teki dapat dikembangkan sebagai agen antikanker, tentunya nilai guna dan ekonominya akan tinggi dan tidak lagi dianggap sebagai gulma pengganggu tanaman. Akar dan umbi dari tanaman ini telah lama digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit seperti diare, inflamasi, kemerahan pada kulit, perdarahan, sebagai anti mikroba, antihelmintik, antiemetik, antipiretik dan antidiabetik (Pal dan Duta, 2006). Pada umumnya yang digunakan sebagai obat adalah bagian umbinya yang telah dibersihkan dari serabut yang melekat. Dalam keadaan segar umbi dimemarkan dan dibubuhkan ke dalam minuman sebagai obat kencing batu. Air rebusan umbi umumnya digunakan sebagai pengatur haid, menyembuhkan keputihan, juga bersifat penenang, antispasmodik, melunakkan feses, dan mempercepat pembekuan darah pada luka yang baru (Sudarsono *et al.*, 1996) serta dapat juga digunakan sebagai kosmetik (Anonim, 2000).

Beberapa penelitian telah memperlihatkan potensi rumput teki sebagai agen antikanker. Sayed *et al.* (2007) membuktikan bahwa glikosida steroid dari batang rumput teki memiliki efek sitotoksik terhadap sel limfoma mencit (L5178)y. Sementara itu Kilani *et al.* (2008a dan 2008b) telah melakukan penelitian dengan cara menguji ekstrak umbi rumput teki maupun minyak esensial umbi rumput teki pada sel leukemia (L1210), hasilnya menunjukkan adanya efek sitotoksik.

Selain pada sel leukemia, umbi rumput teki juga telah dibuktikan memiliki efek sitotoksik pada sel kanker serviks dengan cara menginduksi apoptosis (Susianti, 2009). Namun demikian selektivitasnya masih perlu diteliti lagi, dengan cara diujikan pada sel normal. Sel normal yang sering digunakan untuk melihat selektivitas suatu senyawa dalam uji sitotoksik adalah sel Vero. Sel Vero merupakan sel yang berasal dari epitel kera hijau Afrika. Morfologinya mirip fibroblas dan dapat tumbuh secara kontinyu di dalam kultur sehingga menghasilkan populasi yang padat. Sel ini sering juga digunakan dalam studi replikasi virus dan cukup mudah dibiakkan (Doyle dan Griffiths, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak metanol dan kloroform umbi rumput teki (*C. rotundus* L.) terhadap sel Vero. Ekstrak metanol digunakan untuk mewakili zat yang bersifat polar, sedangkan ekstrak kloroform untuk mewakili zat yang bersifat non polar yang dikandung umbi rumput teki.

METODE PENELITIAN

Uji sitotoksik dalam penelitian ini menggunakan metode *MTT assay. MTT assay* merupakan pemeriksaan kolorimetri yang sensitif, kuantitatif, reliabel, digunakan untuk mengukur viabilitas, proliferasi dan aktivitas sel. MTT *assay* berdasarkan pada kemampuan enzim dehidrogenase mitokondria yang ada di dalam sel untuk mengubah MTT yang berwarna kuning dan larut air menjadi *formazan* yang berwarna biru tua dan tidak larut air. Kemampuan sel untuk mengubah MTT tersebut merupakan indikasi aktivitas dan integritas mitokondria, yang merupakan parameter viabilitas sel. Pemeriksaan ini memiliki akurasi yang tinggi meskipun sampel yang diukur dalam jumlah besar dan terdiri dari banyak sumuran. Pengukurannya dilakukan dengan menggunakan ELISA *(Enzyme-linked immunosorbent assay) reader* (Castell dan Gomez-Lechon, 1997; Doyle dan Griffiths, 1998).

Efek sitotoksik adalah kemampuan bahan uji untuk menghasilkan penghambatan pada sel HeLa, SiHa dan Vero yang dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50 %* (IC_{50}). IC_{50} adalah konsentrasi bahan uji yang menghasilkan penghambatan jumlah sel sebanyak 50%, dengan satuan µg/ml.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	M_1	M_1	M_1	K_1	K_1	K_1	D_1	D_1	D_1	P_1	P_1	P_1
B	M_2	M_2	M_2	K_2	K_2	K_2	D_2	D_2	D_2	P_2	P_2	P_2
C	M_3	M_3	M_3	K_3	K_3	K_3	D_3	D_3	D_3	P_3	P_3	P_3
D	M_4	M_4	M_4	K_4	K_4	K_4	D_4	D_4	D_4	MD	MD	MD
E	M_5	M_5	M_5	K_5	K_5	K_5	D_5	D_5	D_5	MD	MD	MD
F	M_6	M_6	M_6	K_6	K_6	K_6	D_6	D_6	D_6	MD	MD	MD
G	M_7	M_7	M_7	K_7	K_7	K_7	D_7	D_7	D_7	S	S	S
H	M_8	M_8	M_8	K_8	K_8	K_8	D_8	D_8	D_8	S	S	S

Gambar 1. Skema pengisian mikrokultur untuk uji sitotoksik

Keterangan :
M_1-M_8: Media + Sel Vero + ekstrak metanol umbi rumput teki
(dosis 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,9 µg/ml).
K_1-K_8 : Media+ Sel Vero + ekstrak kloroform umbi rumput teki
(dosis 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,9 µg/ml).
D_1-D_8 : Media + Sel Vero + doksorubisin
(dosis 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,9; 1,95; 0,975; 0,488 µg/ml).
S : Kontrol sel (Media + Sel Vero)
MD : Kontrol media
P_1-P_3 : Kontrol pelarut (Media + Sel Vero + DMSO dosis 1; 0,5; 0,25%)

Uji sitotoksik dilakukan menggunakan *microplate* 96 sumuran. Jumlah sumuran dibagi menjadi 8 baris (A, B, C, D, E, F, G, H). Tiap baris terdapat 12 kolom (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Skema pengisian mikrokultur dapat dilihat pada Gambar 1.

Masing-masing sumuran pada *microplate* diisi suspensi sel Vero sebanyak 2 x 10^4 sel yang terlarut pada media kultur M199 sebanyak 100 µl yang mengandung FBS 0,5%.

Sel kemudian diinkubasi (starvasi) selama 24 jam di dalam inkubator CO_2 5% pada suhu 37^{o}C. Setelah diinkubasi, media pada setiap sumuran dibuang, lalu diganti dengan media baru yang mengandung FBS 10% dan diberi perlakuan sesuai dengan skema pada gambar 1. Mikrokultur tersebut kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO_2 5 % pada suhu 37^{o}C. Setelah itu media dibuang, lalu setiap sumuran ditambah dengan 100 µl media baru dan 10 µl reagen MTT, kemudian diinkubasi selama 4 jam dalam inkubator CO_2 5 % pada suhu 37^{o}C. Setelah itu, ditambahkan 100µl *sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10% dalam HCl 0,01%. Kemudian *microplate* digoyang pada suhu kamar selama 5 menit, lalu dibungkus dengan aluminium foil, dan diinkubasi pada suhu kamar selama semalam. *Microplate* tersebut kemudian dibaca absorbansinya menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Persentase penghambatan sel diperoleh dengan rumus:

$$\frac{(A-B) - (C-B)}{(A-B)} \times 100\%$$

Keterangan:
A= Rata-rata absorbansi media + sel
B= Rata-rata absorbansi media
C= Rata-rata absorbansi media + sel + bahan uji

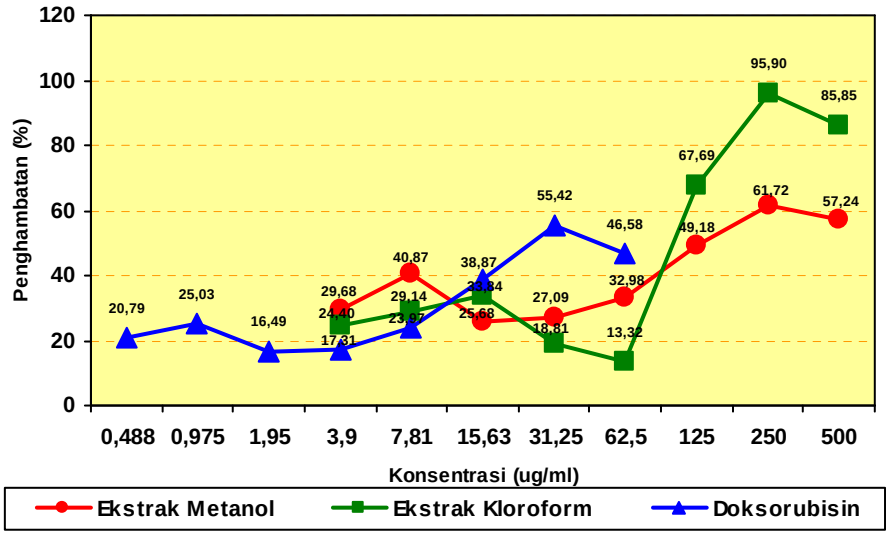
Persentase penghambatan dari masing-masing bahan uji akan dikonversikan ke dalam bentuk kurva dosis-responsi menggunakan analisis probit, lalu diperoleh IC_{50} dari masing-masing bahan uji. Perbedaan IC_{50} diantara masing-masing kelompok perlakuan diuji secara statistik dengan menggunakan uji Anova (*analisis of variance)* dengan *Confidence Interval* (CI) 95 %. Jika tidak memenuhi syarat Anova maka akan diuji dengan Kruskal-Wallis. Selanjutnya dilakukan analisis *Post Hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa penghambatan yang paling besar dari ekstrak umbi rumput teki disebabkan oleh ekstrak kloroform. Pada dosis tertinggi (500 µg/ml) persentase penghambatan yang ditimbulkan sebesar 85,85 %. Sedangkan pada dosis terendah (3,9 µg/ml) persentase penghambatannya 24,40 %. Doksorubisin menyebabkan penghambatan yang lebih besar dibanding kloroform. Pada dosis 62,5 µg/ml doksorubisin menyebabkan penghambatan sebesar 46,58 % dan pada dosis 0,488 µg/ml menyebabkan penghambatan sebesar 20,79 %. Sementara itu ekstrak metanol menyebabkan penghambatan yang kecil, yaitu 57,24 % pada dosis 500 µg/ml, dan 29,68 % pada dosis 3,9 µg/ml.

Tabel 1. Persentase Penghambatan dan IC_{50} Bahan Uji pada Sel Vero setelah perlakuan selama 24 jam

BAHAN UJI	Konsentrasi (mg/ ml)	Penghambatan Rata-rata ± SD	IC50 (µg/ml) Rata-rata ± SD
Ekstrak Metanol	500,00	57,24 ± 1,08	190,26 ± 17,50
	250,00	61,72 ± 6,19	
	125,00	49,18 ± 6,48	
	62,50	32,98 ± 5,88	
	31,25	27,09 ± 2,72	
	15,63	25,68 ± 8,70	
	7,81	40,87 ± 18,55	
	3,90	29,68 ± 3,27	
Ekstrak Kloroform	500,00	85,85 ± 1,26	61,63 ± 14,28
	250,00	95,90 ± 0,81	
	125,00	67,69 ± 5,35	
	62,50	13,32 ± 1,61	
	31,25	18,81 ± 5,73	
	15,63	33,84 ± 4,54	
	7,81	29,14 ± 4,54	
	3,90	24,40 ± 13,34	
Doksorubisin	62,50	46,58 ± 8,93	76,15 ±16,75
	31,25	55,42 ± 2,58	
	15,63	38,87 ± 11,86	
	7,81	23,97 ± 5,64	
	3,90	17,31 ± 9,77	
	1,95	16,49 ± 10,02	
	0,98	25,03 ± 13,76	
	0,49	20,79 ± 19,46	



Gambar 2. Grafik persentase penghambatan bahan uji pada sel Vero setelah perlakuan selama 24 jam

Dari tabel 1 juga dapat dilihat IC_{50} dari masing-masing bahan uji. Ekstrak kloroform memiliki IC_{50} yang paling kecil di antara ketiganya, yaitu 61,63 µg/ml. Ekstrak metanol memiliki IC_{50} yang lebih besar yaitu 190,26 µg/ml, sementara itu doksorubisin memiliki IC_{50} 76,15 µg/ml. Perbandingan IC_{50} ketiga bahan uji tersebut dapat dilihat pada gambar 2. Karena tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji Anova, maka dilakukan uji statistik menggunakan Kruskal-Wallis dengan CI 95%. Hasilnya menunjukkan tidak adanya perbedaan antara ketiga perlakuan, dengan nilai p = 0,051 (>0,05).

Berdasarkan standar dari NCI *(National Cancer Institute)* Amerika Serikat suatu ekstrak dikatakan memiliki efek sitotoksik kuat jika memiliki *Inhibition concentration* 50% (IC_{50}) $\leq$ 50 µg/ml (Mans *et al*., 2000). Jika suatu senyawa memiliki $IC_{50} \geq 100$ µg/ml maka senyawa tersebut dikatakan memiliki efek sitotoksik yang lemah. Sedangkan jika memiliki $IC_{50} > 400$ µg/ml maka senyawa tersebut dianggap tidak toksik (Mathabe *et al*., 2008). Uji sitotoksik pada sel Vero memperlihatkan bahwa ekstrak metanol memiliki efek sitotoksik lemah, sedangkan ekstrak kloroform dan doksorubisin memiliki efek sitotoksik sedang pada sel Vero. Perbedaan ini dikarenakan senyawa yang terkandung di dalamnya berbeda. Ekstrak kloroform mengandung senyawa yang bersifat semipolar sampai non polar, sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa yang bersifat polar sampai semipolar. Oleh karena itu perlu diteliti lebih jauh kandungan masing-masing ekstrak tersebut.

Dengan selektifitas yang sangat kurang, maka ekstrak kloroform umbi rumput teki tidak dapat langsung digunakan sebagai agen kemoterapi. Mengingat banyaknya senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak, maka masih dimungkinkan untuk terus menggali bahkan mengisolasi senyawa aktif yang memiliki efek sitotoksik serta selektivitas yang tinggi dalam ekstrak tersebut.

Meskipun IC_{50} ekstrak kloroform jauh lebih rendah dibandingkan doksorubisin yang selama ini telah digunakan sebagai obat kanker namun tidak menutup kemungkinan bahwa ekstrak ini lebih baik dari obat yang ada. Karena ada banyak pertimbangan untuk menentukan keefektifan suatu agen kemoterapi. Menurut Galati dan O'Brien (2004), keefektifan maupun akseptabilitas dari agen kemoterapi harus memenuhi syarat-syarat tertentu, diantaranya tidak memiliki efek toksik pada sel yang normal dan sehat, efektif untuk berbagai jenis kanker, dapat dikonsumsi secara oral, diketahui mekanisme kerjanya, harganya murah dan dapat diterima oleh masyarakat luas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Eksrak metanol dan kloroform umbi rumput teki (*C. rotundus* L.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel Vero, sehingga tidak dianjurkan untuk langsung digunakan sebagai obat herbal. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mencari atau mengisolasi senyawa aktif yang terkandung di dalamnya yang memiliki efek sitotoksik yang kuat pada sel kanker dan selektivitas yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I).* Jilid 1. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.

Castell, J.V., dan Gomez-Lechon, M.J., 1997. *In Vitro Methods in Pharmaceutical Research*. Sandiego: Academic Press, pp: 43.

Doyle, A., dan Griffiths, J.B., 1998. *Cell and Tissue Culture, Laboratory Prosedures in Biotechnology*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

Dwiprahasto, I., 2009. *Pertimbangan Ilmiah Penggunaan Herbal Medicine dalam Praktek.* Makalah dalam Seminar Aplikasi Herbal dalam Praktek Kedokteran. FK UGM, Yogyakarta, Tanggal 11 Januari 2009.

Galati, G., dan O'Brien, P.J., 2004. Potential toxicity of flavonoids and others dietary phenolics: Significance for the chemopreventive and anticancer properties. *Free Radic Biol Med*. 37 (3): 287 – 303.

Kilani, S., Ben Sghaier, M., Limem, I., Bouhlel, I., Boubaker, J., Bhouri, W., Skandrani, I., Neffatti, A., Ammarb, R.B., Dijoux-Franca, M.G., Ghedira, K., dan Chekir-Ghedira, L., 2008a. *In vitro* evaluation of antibacterial, antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of *Cyperus rotundus. Bioresour Technol.* 99: 9004–9008.

Kilani, S., Ledauphin, J., Bouhlel, I., Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Skandrani, I., Mosrati, R., Ghedira, K., Barillier, D., dan Chekir-Ghedira, L., 2008b. Comparative study of *Cyperus rotundus* essential oil by a modified GC/MS analysis method. Evaluation of its antioxidant, cytotoxic, and apoptotic effects. *Chem Biodivers*. 5 (5):729-42.

Mans, D.R.A., Da Rocha, A.B., Schwartsmann, G., 2000. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *Oncologist.* 5:185- 198.

Mathabe, M.C., Hussein, A.A., Nikolova, R.V., Basson, A.E., Meyer, J.J.M., dan Lall, N., 2008. Antibacterial activities and cytotoxicity of terpenoids isolated from Spirostachys Africana*. J Ethnopharmacol*. 116 :194–197.

Pal, D.K., dan Dutta, S., 2006. Evaluation of the antioxidant activity of the roots and Rhizomes of *Cyperus rotundus* L. *Indian J Pharm Sci*. 68:256-258.

Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., dan Pisani, P., 2005. Global cancer statistic, 2002. *CA Cancer J Clin.* 55: 74-108.

Pusat Komunikasi Publik, Sekretariat Jenderal Departemen Kesehatan, 2009. *Aktivitas Fisik dan Diet Seimbang Mencegah Kanker* http://www.depkes.go.id. diakses 25 Juni 2009.

Sayed, H.M., Mohamed, M.H., Farag, S.F., Mohamed, G.A., dan Proksch, P., 2007. A new steroid glycoside and furochromones from *Cyperus rotundus* L. Nat Prod Res. 21(4):343-350.

Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., Dradjad, M., Wibowo, S., dan Ngatidjan, 1996. *Tumbuhan Obat.* Yogyakarta: Pusat Penelitian Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada (PPOT-UGM), pp: 72-76.

Susianti, 2009. Selektivitas Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus Rotundus* L.) Terhadap Sel Hela Dan Siha Serta Pengaruhnya Terhadap Apoptosis. Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hal 67.

Thurston, D., E., 2007. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group.

Wahyuningsih, M.S.H., 2009. *Langkah-langkah Penelitian Herbal Medicine.* Makalah dalam Seminar Aplikasi Herbal dalam Praktek Kedokteran. FK UGM, Yogyakarta, Tanggal 11 Januari 2009.

SUSIANTI 31

SELECTION FOR ANTHESIS-SILKING INTERVAL ON MAIZE INBRED-LINE POPULATIONS TO MAINTAIN THEIR EXISTENCE

Saiful Hikam and Paul B. Timotiwu
Department of Crop Sciences, College of Agriculture, University of Lampung
No.1 Sumantri Brojonegoro Blvd. Bandar Lampung. 35144
Email: s_hikam@yahoo.com and paul.timotiwu@gmail.com

ABSTRACT

Maize (Zea mays L.) is a monoecious-cross species. Cross pollination is ensured due to separated position of male and female flowers although both are on one plant, and the male flowers mature prior to the female ones (protandry). The period between male and female flower maturity (ASI; anthesis-silking interval) could be lengthy so as the pollens were already shed-off before the female silks emerged. The study intended to evaluate the greatness of ASI variability on 11 inbred pedigrees, and the effect of ASI onto other generative traits which were: ear length, kernel-biomass accumulation rate, effective kernel-fill period, 100-kernel weight, kernel weight.ear^{-1}, and kernel yield. The study was done from January-October 2010 in 2 stages: (1) a seed multiplication work by grouping inbred pedigrees in a polybag planting of 5 plants. pedigree^{-1}; (2) the continuation of testing the ASI-effect in field. The field study employed a randomized complete-block design with three replicates. The results indicated that: (1) Selection for ASI could be accomplished effectively in parental- and inbred progeny lines; (2) Mean values for ASI, ear length, kernel-biomass accumulation rate, effective kernel-filling period, 100-kernel weight, kernel weight.ear^{-1}, and kernel yield were consistent between parental- and inbred progeny lines and satisfy the value of interest for each trait; and (3) inbred-lines having traits below critical value should employ heterosis when used as parents in a hybrid or synthetic cultivar production.

Keywords: maize, anthesis-silking interval, heterosis

INTRODUCTION

Inbred lines of maize populations are deemed important in breeding programs of hybrids and synthetics. Along the way of selfing, the lines are selected to accumulate traits of interest as near homozygous after 6 – 9 generation of selfing (Fehr, 1987). The near-homozygous lines, or inbreds, recombine as hybrids or synthetics that would accumulate the traits of interest. However, selfing to near homozygous will also reveal degenerative traits so far concealed in hybrid combination. The revealing of degenerative traits weakens the plants known as inbreeding depression (Hikam, 2004). The plants may reduce height and leaf size, increase susceptibility to insects and diseases, grow small ear or branch the ear, prolong time interval between pollen shed and silk emergence, barren the pollen or ear or both, and eventually reduce kernel yield.

The nature of maize species is cross-pollinated plant. Although the morphology of the plant is monoecious, the separation of its male and female inflorescences permits the plant to favor cross pollination (Aldrich, et al., 1986). Favoring cross- over self pollination is due to the protandry in maize, in which pollens shed 4 – 10 days before silks emerge.

Inbred progeny in maize is developed through self pollination to approach near homozygous at S9 generation (F= 0.002; Hallauer and Miranda, 1981). The realized inbreeding depression at S9 results in, among others, a barren ear which may be due to a prolonged time interval between pollen shed and silk emergence, or ASI (anthesis-silking interval; Hikam, 2004). On his ten inbred lines, Hikam observed that there was ASI of 0 – 20 days started from the pollens shed by flag panicle. Most anthers shattered at day 10 which made it almost impossible to self the ear beyond d 10. The failure to

self-pollinate the ear terminated the generation of inbred line. The barren ear may be responsible for a loss of five inbred lines in 2010.

Based on the previous study, the purpose of this study was to select for individual plants expressing ASI < 7 d in each inbred lines. By shortening the ASI the failure in selfing could be reduced insofar as the generation of the inbred line could be maintained.

MATERIALS AND METHOD

The study was accomplished in the Polinela Research Station, Bandar Lampung (elevation 80 m asl, red-yellow podsolic soils with poor fertility) from January – October 2010. The study was done in two stages: (1) a seed multiplication work by grouping inbred pedigrees in a polybag planting of 5 plants.pedigree^{-1}. The stage 1 was from January – April 2010; (2) the continuation of testing the ASI-effect in field. The stage 2 was from Mei – August 2010.

In polybag work and field study ears were self pollinated. Pollen shed was determined when 1/3 of flag panicle had shattered its anthers, whereas silk emergence was determined when the ear had emerge its silk of 1 cm of length. At silk emergence, 2 cm of ear top was cut to speed up and ensure the uniformity of emergence. At that time the male and female inflorescences were covered with paper bag as to prevent pollination by stray pollens. The time interval between pollen shed and silk emergence was maintained insofar as not to exceed 7 d.

The ear was selfed 24 h after cutting. Kernel were sampled at d 10, d 20, and harvest to determine the kernel-biomass accumulation rate (KBAR mg.kernel^{-1}.day^{-1}) and the effective kernel-filling period (EKFP day) following Poneleit and Egli (1979). From the polybag work, the selected ears were harvested separated by lines following pedigree method. The ears of each lines were shelled and bulked to make bulk-pedigree of 11 inbred lines. The inbred lines were field-tested employing a randomized complete-block design with three replicates (Steel and Torrie, 1981).

RESULTS AND DISCUSSION

Polybag Work

Polybag work indicated a substantial amount of individual plants failed to pollinate due to prolonged ASI at S8 generation (data not shown). Data in Table 1 showed the average value of generative traits for ten inbred lines as compared to their value of interest.

The average value for each trait in general satisfied the value of interest although not completely. Each inbred had one or two traits having values lower than the value of interest except line UL2.03 consistently lower than the value of interest. The average values for ASI complied with the value of interest indicating that the selection was accomplished successfully.

Lower value for a trait as compared with the value of interest indicated an inbreeding depression. For an inbred of maize cultivar inbreeding depression observed as a result of successive selfing for 6 – 9 generations (Hikam, 2004; Sudrajat and Hikam, 2008). The inbreeding depression makes it difficult to evaluate the effectiveness of an inbred to be used as a parent in a hybridization or a synthetic breeding program (Fehr, 1987). However, a hybrid or a synthetic maize developed by crossing the inbred parents demonstrate trait values much greater than those of the inbreds confirming the action of heterosis (Sudrajat and Hikam, 2008).

Table 2. Mean values of generative traits for parental inbred lines as compared to their values of interest.

Inbred Line	ASI (d)	Ear length (cm)	KBAR (mg.k^{-1}.d^{-1})	EKFP (d)	100-kernel weight (g)	Kernel wt. ear^{-1} (g)
UL1.02	4.00	10.80	8.39	28.55	19.33-	53.76
UL1.04	5.60	14.05	10.60	28.28	28.67	100.43
UL1.05	3.67	9.70-	11.34	25.14-	21.55-	51.75
UL1.06	5.40	16.22	8.75	23.07-	22.48	39.93
UL2.02	3.00	8.60-	10.75	24.70-	27.10	40.98
UL2.03	4.50	8.72-	7.90-	24.04-	18.77-	26.41-
UL2.07	5.20	13.00	6.90-	24.62-	21.97-	37.49
UL3.01	6.33	14.90	9.50	28.08	27.50	41.30
UL3.03	1.67	15.35	10.13	26.98	21.35-	92.87
UL4.01	3.60	12.06	8.23	25.06-	25.42	24.84-
UL4.03	3.25	8.48-	7.75-	28.75	26.00	29.76
Value of interest	<7	>12	>9	28 – 35	25 – 30	>30

Note: ASI: anthesis-silking interval; KBAR: kernel biomass accumulation rate; EKFP: effective kernel filling period. The (-) sign indicated that value was significantly lower than its value of interest based on Student's t test.

Field Study

Mean-square analysis

A summary of mean-square values for observed traits and their level of significance is presented in Table 2. The data in Table 2 indicate that EKFP, kernel weight.ear-1, and kernel yield differed significantly.

Table 2. The summary of mean-square values for the observed traits.

Source of variation	df	ASI	Ear length	KBAR	EKFP	100-kernel weight	Kernel wt.ear-1	Kernel yield
Replicate	2	1.73	18.63	0.14	0.48	4.05	661.6	48607
Inbred	10	8.93	30.98	7.78	16.25*	45.87	1720.0**	126370**
Error	20	5.56	16.92	4.46	6.58	24.66	365.7	26868
Total	32							
CV		16.13	34.36	23.21	9.82	20.91	37.82	37.82

Note: ASI: anthesis-silking interval; KBAR: kernel biomass accumulation rate; EKFP: effective kernel filling period. *: P< 0.05; **: P< 0.01

2.2. Mean values analysis as compared to the values of interest.

The mean values of generative traits measured on the inbred progeny lines indicated that the traits were consistent with those of the parental inbred lines; and in compliance with their value of interest (Table 3).

Data in Table 3 indicates that the ASI values were maintained <7 d. However, the KBAR and EKFP values vary substantially among inbred lines. The variability may be beneficial in a hybridization or synthetic breeding program employing additive gene effect and heterosis (Sudrajat and Hikam, 2008). The single-cross hybrid and synthetic progenies they developed by utilizing these inbred lines yielded kernels of > 70 q.ha^{-1}.

Table 3. Mean values of generative traits for inbred progeny lines as compared to their values of interest.

Inbred Line	ASI (d)	Ear length (cm)	KBAR ($mg.k^{-1}.d^{-1}$)	EKFP (d)	100-kernel wt (g)	Kernel wt. ear^{-1} (g)	Kernel yield ($g.m^{-2}$)
UL1.02	4.00	11.47	7.47-	29.48	19.33-	57.82	495.57
UL1.04	5.33	15.10	9.90	28.53	27.23	91.96	788.23
UL1.05	3.67	10.87-	8.17	30.30	20.60-	56.43	483.66
UL1.06	6.00	16.50	9.04	23.08-	22.27-	40.52	347.29
UL2.02	3.33	8.60-	10.72	24.63-	31.40	40.98	351.29
UL2.03	4.00	9.53-	7.45-	24.04-	18.70-	26.41-	226.40
UL2.07	5.00	14.03	7.07-	24.62-	26.13	37.49	321.31
UL3.01	7.00	14.90	5.57-	27.50	27.50	41.30	354.03
UL3.03	1.67	16.80	10.63	26.40-	23.93	91.27	782.34
UL4.01	2.00	15.00	8.77	27.23	26.17	21.75-	186.40-
UL4.03	2.00	7.93-	7.33-	27.27	22.57-	29.29	251.09
Value of interest	<7	>12	>9	28 – 35	25 – 30	>30	>250

Note: ASI: anthesis-silking interval; KBAR: kernel biomass accumulation rate; EKFP: effective kernel filling period. The (-) sign indicated that value was significantly lower than its value of interest based on Student's t test.

Correlated Trait Analysis

Traits directly affect kernel yield were analyzed with Pearson's correlation (Table 4). Only the correlation between ear length and 100-kernel weight, and kernel weight.ear-1 and kernel yield are significant ($P< 0.05$). ASI tended to have negative effect to ear length, KBAR, EKFP, and 100-kernel weight.

Table 4. Pearson's simple correlation for generative traits.

Trait	ASI	Ear length	KBAR	EKFP	100-kernel weight	Kernel $wt.ear^{-1}$	Kernel yield
ASI	1.000	-0.099	-0.011	-0.185	-0.125	0.115	0.115
Ear length			0.065	0.086	0.394*	0.301	0.301
KBAR				-0.249	-0.067	0.407	0.407
EKFP					0.162	0.231	0.231
100-kernel weight						0.021	0.021
Kernel $wt.ear^{-1}$							1.000*

* significant for $P< 0.05$.

Genetic variation and broad-sense heritability analysis

Genetic variation (σ^2g) is an important predictor for the extent of genetic variability in an inbred population. The greater the genetic variation, the more important the population in a breeding program. Broad-sense heritability (h^2BS), similarly, is an important predictor for the effectiveness of inheritance a trait from parents to their offspring (Hallauer and Miranda, 1981).

Data in Table 5 indicates the presence of genetic variation and heritability for the generative traits ($P< 0.05$ and $P< 0.01$) except for ASI and KBAR. The absence of genetic variation and heritability for ASI indicates that ASI for all inbred lines realizes the selection value of < 7 d; whereas for KBAR indicates that KBAR realizes the selection value of > 9 $mg.k^{-1}.d^{-1}$. Crossing parents having KBAR of 9 $mg.k^{-1}.d^{-1}$ and EKFP of 30 d resulted in F1-hybrid cultivars yielded kernels of 50 – 60 $q.ha^{-1}$ (Hikam, 2008).

Table 5. Genetic variation (σ^2g) and broad-sense heritability (h^2BS) for generative traits

Peubah	$\sigma^2g \pm$ GB	h2BS ± GB (%)
ASI	1.12 ± 1.34	10.42 ± 12.40
Ear length	4.69 ± 4.55*	12.80 ± 12.41*
KBAR	1.10 ± 1.15	11.93 ± 12.41
EKFP	3.22 ± 2.30*	17.46 ± 12.51*
100-kernel weight	7.07 ± 6.72*	13.07 ± 12.42*
Kernel weight.ear^{-1}	1720 ± 65.70**	24.51 ± 12.86*
Kernel yield	33167.33 ± 17407.50*	24.51 ± 12.86*

* and **: σ2g and h2BS having variability at P< 0.05 and P< 0.01, respectively.

The absence of genetic variation and heritability for ASI and KBAR also indicates that the ASI and KBAR are passed from the parents to their progenies following additive gene actions or general combining ability (Simmonds, 1981).

CONCLUSIONS

Conclusions derived from this study are:
(1) Selection for ASI could be accomplished effectively in parental- and inbred progeny lines.
(2) Mean values for ASI, ear length, kernel-biomass accumulation rate, effective kernel-filling period, 100-kernel weight, kernel weight.ear^{-1}, and kernel yield were consistent between parental- and inbred progeny lines and satisfy the value of interest for each trait.
(3) Inbred-lines having traits below the value of interest should employ heterosis when used as parents in a hybrid or synthetic production.

LIST OF REFERENCES

Aldrich, S.R., W.O. Scott, and R.G. Hoeft. 1986. *Modern Corn Production*. Third Edition. A&L Publication, Inc. Champaign. Illinois. USA.

Cox, W.J., J.H. Cherney, D.J.R. Cherney, and W.D. Pardee. 1994. Forage quality and harvest index of corn hybrids under different growing conditions. *Agron. J.* 86:277 – 282.

Fehr, W.R. 1987. *Principles of Cultivar Development. Volume I. Theory and Technique*. Macmillan Publ. Co. New York. NY.

Hallauer, A.R., and J.B. Miranda Fo. 1986. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Second printing. Iowa State Univ. Press. Ames, IO.

Hikam, S. 2004. Evaluasi 12 lini inbred generasi S7.8 untuk karakteristik laju akumulasi biomasa dan periode pengisian biji efektif. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Hikam, S. 2008. Pemuliaan jagung unggul seri Lampung tipe Sintetik Srikandi (LA-gasal) dan Hibrid-F1 (LA-genap). Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Poneleit, C.G., and D.B. Egli. 1979. Kernel growth rate and duration in maize as affected by plant density and genotype. *Crop Sci.* 19:385 – 388.

Simmonds, N.W. 1981. *Principles of Crop Improvement*. Longman Group. Suffolk. England.

Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1981. *Principles and Procedures of Statistics. A. Biometrical Approach*. Second edition. McGraw-Hill Book Co. New York. NY.

Sudrajat, D., and S. Hikam. 2008 The utilization of genetic component and heritability of physiological trait in female inbred parents in developing hybrid and synthetic maize varieties. Proceeding for the 10th Asian Regional Maize Workshop CIMMYT – ICERI. Makassar. 20 – 23 October 2008.

POTENSI GALAKTOMANAN DARI *Aspergillus niger* ISOLAT TANAH HUMUS

[1)]Husniati, [2)]Dian Hapsari dan [1)]Eva Oktarina
[1)]Baristand Industri Bandar Lampung (husniati.eni@gmail.com)
[2)]FMIPA, Universitas Lampung

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi galaktomanan yang terdapat di dalam dinding sel *Aspergillus niger*. Penelitian ini telah dilakukan dalam skala laboratorium. Galaktomanan adalah senyawa jenis polisakarida non-serat yang terdiri atas struktur manosa dengan rantai samping galaktosa yang saling berikatan linier β (1,4) dan cabang α (1,6). Manfaat dalam bidang industri, galaktomanan berfungsi sebagai pengemulsi dan penstabil. Proses isolasi *Aspergillus niger* dilakukan dengan metode pengenceran tanah humus menggunakan media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*), sedangkan proses isolasi galaktomanan menggunakan metode ekstraksi dengan NaOH dan presipitasi menggunakan isopropil alkohol (IPA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa potensi galaktomanan di dalam dinding sel *Aspergillus niger* berkisar antara 3,09-5,93 % (b/b). Galaktomanan yang dihasilkan memiliki nilai viskositas maksimum pada konsentrasi 7% suhu 80^{o}C yaitu sebesar 0.9237 m^{2}/s.

Kata kunci : Galaktomanan, *Aspergillus niger*, viskositas, ekstraksi, presipitasi

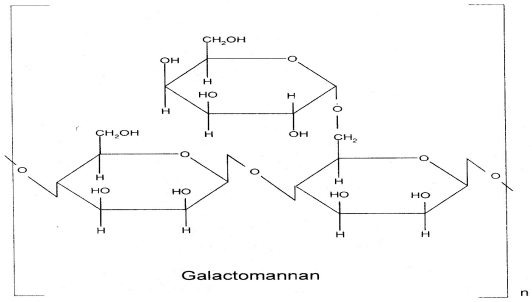
ABSTRACT

The research is accomplished to know the potential of galactomannan in *Aspergillus niger* cell wall. The research is done on laboratory scale. Galactomannan is non fiber polysaccharides, that contain mannose with galactose side chain, linear linked β (1,4) and branched α (1,6). Galactomanan used as emulsifier and stabilizer in industry. *Aspergillus niger* is isolated from humus soils by dilution method. The dilution is platted on medium PDA (Potato Dextrose Agar). Galactomannan is isolated by extraction method with NaOH and precipitated with Isopropyl alcohol (IPA). Result of the research showed that *Aspergillus niger* cell wall potentially produce galactomannan 3,09-5,93 % of its weight. The maximum viscosity of galactomannan 0.9237 m^{2}/s, is produced under the following conditions: concentration 7% and temperature at 80˚C.

Keywords : Galactomannan, *Aspergillus niger,* viscosity, extraction, precipitation

PENDAHULUAN

Galaktomanan merupakan kelompok polisakarida dari mannan yang mengandung galaktosa lebih dari 5% (Aspinal dalam Srivatava and Kapoor, 2005). Secara umum, galaktomanan memiliki rantai utama ikatan □̃1,4 D-manopiranosa (man) dan menempel D-galaktopiranosa (gal) pada ikatan □-1,6 (Srivatava and Kapoor, 2005; Ganter *et.al.*, 2001; Cerquira *et.al.*, 2009). Galaktomanan telah dimanfaatkan untuk berbagai macam bentuk konsumsi manusia, berkaitan dengan struktur kimia dan perbedaan dari rasio man/gal yang menentukan sifat fungsionalnya maka galaktomanan memiliki sifat-sifat penting dan dimanfaatkan sebagai pengikat air, pengental, penggel, pengemulsi, pesuspensi, dan lain-lan. Dari berbagai karakter tersebut, maka pengembangan galaktomanan bermanfaat untuk industri kertas, tekstil, petroleum, farmasi, pangan, kosmetik, bahan peledak, dll. (Kapoor, 2005; Changming and Bingshou, 1998; Cerquira *et.al.*, 2009). Pada Gambar 1 ditunjukkan struktur molekul senyawa galaktomanan.



Gambar 1. Struktur molekul senyawa Galaktomanan (Sharma, 2005)/

Galaktomanan dapat diperoleh dari hasil ekstraksi biji fenugreek *Trigonellafoenum graecum* yang merupakan anggota famili Leguminoceae. Kandungan galaktomanan dalam biji fenugreek ini sebanyak 25-30%. Galaktomanan juga terdapat pada ampas kelapa sebanyak 20%. Ekstraksi galaktomanan dari ampas kelapa menggunakan pelarut metanol telah dilaporkan oleh Zultiniar (2005) sementara Cerquira *et.al*. (2009) telah melaporkan ekstraksi, purifikasi, dan karakterisasi galaktomanan dari sumber biji-bijian spesies Leguminosae. Bardalaye *et. al*. (1977) telah melaporkan karakterisasi struktur kimia galaktomanan dari dinding sel *Aspergillus niger* terdiri dari sejumlah *equimolar* galaktosa dan manosa ditambah 12-14% glukosa.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi galaktomanan dari *Aspergillus niger indiginous* Indonesia yang sebelumnya telah diisolasi dari tanah humus di perkampungan mahasiswa Universitas Lampung (Unila). *Aspergillus niger* termasuk kelompok GRAS (*generally recognized as safe*) maka galaktomanan yang diperoleh berupa kajian rendemen maupun viskositasnya menarik untuk dimanfaatkan lebih lanjut bagi pengembangan industri pangan, tekstil, maupun kosmetik mengingat tidak toksik.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aspergillus niger* dari tanah humus. Sampel tanah humus yang digunakan, diperoleh dari tempat sampah wilayah perkampungan mahasiswa Universitas Lampung Bandar Lampung, PDA (*Potato Dextrose Agar*), akuades, $NaBH_4$, asam asetat, NaOH, IPA (isopropil alkohol).

Perlengkapan alat yang digunakan adalah cawan petri, jarum ose, mikro pipet, pompa vakum, penangas air (*water bath*), autoclave, laminar air flow, inkubator, oven, membran selofan, pH meter, Turbidimeter senfugasi *,* fortex, mikroskop, pompa vakum, Cannon-Fenske Opaque Viskometer tipe NVS210, dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia.

Prosedur

Perbanyakan *Aspergillus niger* dalam media PDA

Isolat *Aspergillus niger* dipindahkan ke dalam media PDA untuk perbanyakan sel. Media PDA disiapkan dari 3,9 gram PDA yang dilarutkan dalam 100 ml akuades, selanjutnya media dipanaskan dan disterilkan dengan autoclave pada suhu 121^{o}C, tekanan 1 atm selama 30 menit. Media PDA steril dituangkan ke cawan petri sebanyak 20 mL, setelah media ini padat *Aspergillus niger* isolat tanah humus ditanam menggunakan jarum ose dengan metode tusuk, media lalu diinkubasi pada suhu 37 ^{o}C selama 5 hari.

Isolasi Galaktomanan dari dinding sel *Aspergillu niger* (modifikasi Bardalaye *et. al*., 1977)

Hasil biakan *Aspergillus niger* pada media PDA sebanyak 100 gram (berat basah) diekstraksi dengan air mendidih sebanyak 250 mL. Suspensi disaring menggunakan pompa vakum, dan residu dicuci berulang kali dengan air mendidih hingga bebas *nigeran*. Hilangnya nigeran dibuktikan oleh kurangnya kekeruhan pada filtrate dingin. Residu bebas *nigeran* disuspensi dalam 50 mL akuades dan 50 mg $NaBH_4$, kemudian penambahan ke dua $NaBH_4$ sebanyak 50 mg. Campuran diinkubasi selama semalam pada suhu ruang. Kelebihan $NaBH_4$ dihilangkan dengan penambahan asam asetat dingin setetes demi setetes hingga mencapai pH 5. Residu dipisahkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada 4 ^oC selama 20 menit, kemudian dicuci dengan air dan disuspensikan ke dalam 100 mL air dan 100 mL NaOH 2N. Proses ekstraksi berlangsung di autoclave selama 3 jam tanpa tekanan, kemudian larutan didinginkan dan filtrat dipisahkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada 4 ^oC selama 20 menit. Proses pengendapan galaktomannan dilakukan dengan penambahan isopropil alkohol (IPA) sebanyak 3 kali volume pada campuran sebelumnya. Didiamkan semalam pada suhu kamar dan endapannya dipisahkan dengan sentrifugasi 8000 rpm selama 3 menit, kemudian dicuci dengan menambahkan asam asetat dingin 1N hingga pH netral selanjutnya filtrat didialisis menggunakan membran selofan dalam pelarut aquades selama 24 jam pada suhu 4 ^oC dan filtrat dikeringkan menggunakan oven selama semalam pada suhu 50 ^oC.

Pengamatan

Menghitung rendemen

Rendemen merupakan proporsi berat galaktomanan kering yang dihasilkan terhadap berat bahan (dinding sel *Aspergilus niger*) segar yang digunakan dan persen rendemen dihitung sesuai dengan formulasi berikut.

$$\%\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat kering galaktomanan (g)} \times 100\%}{\text{Berat dinding sel } \textit{Aspergilus niger}\text{) segar (g)}}$$

Penentuan viskositas

Prosedur penentuan viskositas berdasarkan pengukuran waktu yang dibutuhkan sampel untuk mengalir di bawah pengaruh gravitasi melalui glass capillary viscometer terkalibrasi (ASTM). Sampel disiapkan pada konsentrasi 7 % b/b dalam aquades. Penentuan viskositas sampel dalam aquades pada suhu (^oC) berturut-turut 30, 40, 50, 80, 100. Alat yang digunakan adalah Cannon-Fenske Opaque Viskometer tipe NVS210 pada suhu viscometer bath 30 ^oC. Konstanta viscometer sampel dari alat adalah : □ (density), □kinematic viscosity), dan diperoleh □(dynamic viscosity) dalam satuan m^3/s.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen galaktomanan *Aspergillus niger* dari isolat tanah humus

Aspergilus niger merupakan fungi dari filum *ascomycetes* yang berfilamen, mempunyai hifa bersepta, dan dapat ditemukan melimpah di alam. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, dan telah digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan pembuatan beberapa enzim seperti amilase, pektinase, amiloglukosidase dan selulase. *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada suhu 35° - 37°C (optimum) dan derajat keasaman pada pH 4,5 - 8,5 serta memerlukan oksigen yang cukup (aeorobik). *Aspergillus niger* dalam pertumbuhannya berhubungan langsung dengan zat makanan yang terdapat dalam substrat, molekul sederhana yang terdapat di sekeliling hifa dapat langsung diserap sedangkan molekul

yang lebih kompleks harus dipecah dahulu sebelum diserap ke dalam sel, dengan menghasilkan beberapa enzim extraseluler. Bahan organik dari substrat digunakan oleh *Aspergillus niger* untuk aktivitas transport molekul, pemeliharaan struktur sel dan mobilitas sel (Anonim, 2010).

Pada sejumlah tanaman berbiji, galaktomanan ada di endosperma terutama kelompok Leguminosae (Cerqueira *et.al.*, 2009). Galaktomanan dari kelompok fungi oleh Bardalaye *et. al.*, (1977) melaporkan isolasi galaktomanan dari dinding sel *Aspergillus niger* yang dipanen setelah 4-5 hari. Rendemen yang diperoleh 0,65 g dalam 100 g berat sel basah.

Aspergillus niger mengambil unsur hara sebagai makanannya dengan proses absorpsi. Agar pertumbuhanya optimal, fungi ini membutuhkan karbohidrat, nitrogen, organik, dan vitamin (Lay, 1994). Untuk pertumbuhannya, fungi dan mikroorganisme lain membutuhkan media. Pada umumnya media pertumbuhan fungi terdiri dari persentase gula (4%) lebih tinggi dari bakteri dan pH (3,8-5,6) lebih tinggi dari bakteri. Media yang umum digunakan untuk pertumbuhan fungi antara lain PDA (*Potato Dextrose Agar*), agar, SDA (*Saburaud Dextrose Agar*), *malt yeast* agar, *potato carrot* agar, *oatmeal* agar dan lain sebagainya (Ginanjar dkk, 1999). Waktu panen miselia pada 5 hari berkaitan dengan fase pertumbuhan optimal pada kisaran 4-5 hari dan diharapkan pada usia panen tersebut galaktomanan maksimal terbentuk sebagai komponen dinding sel yang memiliki korelasi dengan tingkat pertumbuhan sel optimal.

Tabel 1 menunjukkan rendemen (dalam % b/b) galaktomanan yang diperoleh terdapat pada dinding sel *Aspergilus niger indiginous* Indonesia isolat dari tanah humus di perkampungan mahasiswa Universitas Lampung (Unila). Dengan perlakuan yang sama pada *batch* berbeda diperoleh rendemen (W1, W2, dan W3) dalam kisaran 3,09-5,93 % (b/b).

Tabel 1. Rendemen galaktomanan dalam dinding sel *Aspergilus niger* isolat tanah humus

Penentuan	Berat bahan basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen % b/b
W1	150,20	8,9	5,93
W2	355,6	14,22	3,99
W3	85,32	2,64	3,09

Beberapa penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya, bahwa penerapan metode ekstraksi pada prinsipnya adalah suatu teknik separasi atau pemisahan yang mengeksploitasi perbedaan sifat kelarutan dari masing-masing komponen campuran terhadap jenis pelarut tertentu. Proses ekstraksi awal menggunakan air mendidih berfungsi untuk memisahkan seluruh komponen media dari sel maupun pembebasan dinding sel dari nigeran, pigmen warna hitam dari spora yang ada di konidia *Aspergillus niger*. Proses ekstraksi berikutnya menggunakan NaOH untuk memperoleh polisakarida galaktomanan yang terlarut pada kondisi basa. Pengunaan $NaBH_4$ bertujuan untuk memproteksi rantai polisakarida dari degradasi selama penggunaan alkali, selain itu $NaBH_4$ dapat mereduksi senyawa yang memiliki ikatan C=O atau N=O. Proses pemisahan polisakarida ini berikutnya menggunakan pelarut isopropil alkohol, galaktomanan mengendap dan selanjutnya dilakukan proses pencucian dengan pelarut ini sebanyak tiga kali bertujuan untuk melarutkan pengotor. Wootton *et al.* (1993), menyatakan bahwa IPA (isopropil alkohol) adalah pelarut organik yang lebih efisien dari pada pelarut

lain seperti etanol, benzen, heksan selain itu memiliki pertimbangan aman untuk digunakan dalam proses pengendapan sehingga cocok dikembangkan untuk industri pangan.

Analisis viskositas

Galaktomanan merupakan karbohidrat yang kelarutannya ditentukan dari stuktur molekul atau sumber/asal galaktomanan itu diperoleh. Tingkat kelarutan makin tinggi dalam air ditemukan
pada struktur galaktomanan yang tersubstitusi oleh galaktosa sehingga memberikan rasio manosa/galaktosa 1:1 (Ganter et.al., 2001). Demikian sebaliknya bila tingkat substitusi galaktosa pada rantai manosa makin berkurang membuat makin tinggi ketidaklarutan senyawa ini di dalam air.

Galaktomanan hasil penelitian ini termasuk sulit larut dalam air pada suhu kamar, keterlarutan galaktomanan meningkat dengan suhu dan menghasilkan suspensi koloid relatif lebih kental/*viscos*. Fenomena tersebut terjadi karena pemutusan secara termal dari ikatan hidrogen inter-molekul sehingga air dapat berpenetrasi di antara rantai menjadikan molekul terhidrasi.

Tabel 2 menyajikan nilai viskositas galaktomanan cenderung meningkatkan viskositas hingga mencapai maksimum pada suhu 80 ^{o}C kemudian di atas suhu 80 ^{o}C viskositas menurun pada suhu 100 ^{o}C.

Tabel 2. Nilai viskositas galaktomanan dalam berbagai suhu

No	Suhu (^{o}C)	Viskositas (m^2/s)
1	30	0,098
2	40	0,6570
3	50	0,7572
4	80	0,9237
5	100	0,3577

KESIMPULAN

Isolasi *Aspergillus niger* dari tanah humus perkampungan mahasiswa Unila memiliki potensi galaktomanan pada dinding selnya dan diperoleh rendemen berkisar antara 3,09-5,93 % (b/b). Galaktomanan yang dihasilkan memiliki nilai viskositas maksimum pada konsentrasi 7% suhu 80^{o}C yaitu sebesar 0.9237 m^2/s.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2010. *Aspergillus niger*, http://en.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger. Diunduh pada tanggal 20 Juli 2010 pukul 10.39 WIB.

Aspinall, G.O. 1959. *Adv. Carbohydr. Chem.* 14, p.429

ASTM D445

Bardalaye, P.C. and John Nordin, H. 1977. Chemical Structure Of The Galactomannan from The Cell Wall Of Aspergillus Niger. University Of Massachvsetts. Mossachvsetts, USA. p.2584-2591.

Cerquira, M.A., Pinheiro, A. C., Souza, B. W. S., Lima, A. M. P., Ribeiro, C., Miranda, C., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., Coimbra, M. A., Goncalves, M. P., Vicente, A. 2009. Carbohydrate Polymer, 75, 408-414.

Changming, D. and Bingshou, T. 1998. Studies On Preparation and Emulsifing Properties Of Guar Galactomannan ester Of Palmitic Acid. Wuhan University. China.

Ganter, J. L. M. S., Sabbi, J. C., and Reed, W. F. 2001. Real-Time Monitoring of Enzymatic Hydrolysis of Galactomannans, *Biopolymer*, Vol. 59, 226-242.

Ginanjar, I., Samson, R. A., Twceel-Vermeulen, K.V.D., Oetari, A. dan Santoso, I. 1999. Pengantar Kapang Tropik Umum. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Lay, B.W. dan S. Hastoyo. 1994. *Mikrobiologi*. Rajawali Press. Jakarta.

Sharma, B. R., Dhuldhoya, N. C., Merchant, S. U.. and Merchant, U. C. 2005. Hydroxypropyl Galactomannan A New Entrant in Paint Industry. Rajasthan. India.

Srivatava, M. and Kapoor, V. P. 2005. Seed Galactomannan : An Overview. *Verlag Helvetica Acta AG*, Vol. 2, p.295-316.

Wootton A, Luker-Brown M, Westcott R, Cheetham P., 1993. The extraction of a glucomannan polysaccharide from konjac corms (elephant yam, *Amorphophallus rivierii*). *Journal of Sci Food Agric*., 61:429-33.

Zultiniar, Gaffur, D., dan Casoni, S. M. 2005. Ekstraksi Galaktomanan Dari Ampas Kelapa. Universitas Riau. Pekanbaru.

STUDI PENDAHULUAN PERENGKAHAN MINYAK KELAPA DENGAN METODE ELEKTROKIMIA (*ELECTROLYTIC CRACKING*)

Wasinton Simanjuntak, Kamisah D. Pandiangan, dan Irwan Ginting Suka
Jurusan Kimia FMIPA Unila

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi awal tentang perengkahan minyak kelapa dengan metode elektrokimia, sebagai langkah awal dalam gagasan pengembangan metode perengkahan elektrokimia untuk pengolahan minyak nabati menjadi bahan bakar cair (liquid fuel) generasi kedua. Dalam penelitian ini, kajian difoukskan pada pengaruh empat variabel elektrokimia, meliputi jumlah elektroda, susunan elektroda, potensial dan waktu kontak terhadap tingkat perengkahan yang mampu dicapai, dengan parameter ukur viskositas kinematis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak kelapa pada prinsipnya dapat direngkah dengan proses elektrokimia, seperti tercermin dari penurunan viskositas yang mampu dicapai, dan dipengaruhi oleh ke empat variabel elektrokimia yang diteliti. Meskipun demikian, penelitian belum mampu menghasilkan olahan dengan viskositas yang setara dengan biodiesel sesuai dengan standar baku yang berlaku.

Kata Kunci: minyak kelapa, perengkahan, elektrokimia, viskositas.

PENDAHULUAN

Dalam ranah energi terbarukan yang terus dikembangkan dewasa ini, bahan bakar berbasis minyak nabati merupakan salah satu fokus utama. Minyak nabati, yang dapat diperoleh dari beragam tanaman, pada dasarnya sudah bersifat bahan bakar. Sifat ini dimiliki karena komponen utama minyak nabati merupakan gliserida asam lemak yang secara alami termasuk dalam golongan senyawa organik yang mudah terbakar. Masalah utama pemanfaatannya adalah viskositas (kekentalan) yang sangat tinggi sehingga menimbulkan kendala bila digunakan sebagai bahan bakar penggerak mesin. Untuk mengatasi kendala praktis tersebut, upaya yang dilakukan pada hakekatnya adalah mengurangi viskositas sehingga hambatan terhadap kerja mesin dapat diperkecil. Secara prinsip, upaya pengurangan viskositas yang diterapkan adalah pemecahan molekul minyak nabati menjadi molekul yang lebih sederhana (kecil).

Pada tahap awal, pemecahan molekul minyak nabati dikembangkan melalui reaksi transesterifikasi, dan produk bahan bakar yang dihasilkan secara umum dikenal sebagai biodiesel, yang dikenal juga dengan nama *liquid fuel* generasi pertama. Transesterifikasi pada prinsipnya adalah reaksi pengubahan suatu ester menjadi ester lain, dan untuk minyak nabati dimanfaatkan untuk mengubah molekul trigliserida menjadi alkil ester yang lebih kecil dan mempunyai rantai lurus dengan menanfaatkan alkohol sebagai donor gugus alkil untuk menggantikan rantai gliserida (Schuchardt *et al*., 1998; Al-Widyan and Al-Shyoukh, 2002). Dalam prakteknya, reaksi transesterifikasi mutlak memerlukan katalis, karena kedua reaktan diketahui merupakan senyawa yang tidak reaktif. Katalis yang paling umum digunakan adalah asam kuat terutama asam sulfat dan asam klorida (Al-Widyan and Al-Shyoukh, 2002). Kelemahan katalis asam adalah waktu reaksi yang relatif lama dan kesulitan pemisahan katalis dari produk (Schuarddt *et al*., 1998). Di samping itu, reaksi harus dilangsungkan tanpa air karena adanya air akan meningkatkan pembentukan asam karboksilat sehingga mengurangi rendemen reaksi. Selain asam,

katalis basa juga telah digunakan dan diketahui mampu meningkatkan laju reaksi lebih baik dibanding dengan asam. Kendalanya adalah penggunaan katalis ini diikuti dengan pembentukan air hasil reaksi guggus hidroksida (dari basa) dan alkohol. Pembentukan air ini akan mengakibatkan terjadinya reaksi hidrolisis ester yang sudah terbentuk, menghasilkan sabun. Reaksi penyabunan ini bukan hanya mengurangi rendemen reaksi tetapi juga memacu pembentukan emulsi sehingga menyulitkan pemisahan gliserol (Freedman, *et al.,* 1986*).*

Kelemahan reaksi transesterifikasi yang dipaparkan di atas merupakan pendorong pengembangan perengkahan non-kimiawi, dan produk yang dihasilkan secara umum dikenal sebagai *liquid fuel* generasi kedua. Untuk tujuan tersebut, metode yang hingga dewasa ini masih terus dikembangkan adalah perengkahan secara termokimia, yang dikenal juga dengan istilah *pyrolysis* (Fortes and Baugh, 1999; Lima *et al*., 2004). Pyrolysis pada hakekatnya adalah pemecahan senyawa organik berukuran besar melalui perlakuan termal. Dalam aplikasinya terhadap minyak nabati, perengkahan termal ini umumnya dilakukan dengan bantuan katalis, sehingga dikenal juga sebagai perengkahan katalitik. Permasalahan utama yang masih dihadapi dalam penerapan teknik ini adalah suhu yang realtif tinggi, berkisar antara200-600 ^{o}C, tergantung jenis minyak nabati yang diolah (Vitolo *et al*., 2001; Twaiq *et al*., 2003). Selain mengakibatkan tingginya biaya energi, perlakuan dengan suhu demikian tinggi diketahui mengarah pada pembentukan produk yang beragam, meliputi gas, cair, dan padatan, dengan kisaran zat cair (*liquid fuel*) antara 50-60% (Vitolo *et al*., 2001; Twaiq *et al*., 2003; Twaiq *et al*., 2004). Hal ini menunjukkan bahwa berpijak pada *liquid fuel* sebagai target utama, metode pyrolysis masih terkendala efisiensi pemanfaatan bahan baku. Kelemahan di atas menunjukkan bahwa pengembangan metode yang lebih efisien, dalam artian biaya produksi yang lebih rendah dan efisiensi penggunaan bahan baku masih merupakan tantnagan yang dihadapi hingga dewasa ini.

Dalam upaya pengembangan metode perengkahan yang lebih baik dibanding dengan perengkahan termal, dalam penelitian ini digagas pengembangan metode perengkahan elektrolitik. Metode ini digagas karena proses elektrokimia telah diterapkan sejak lama terhadap berbagai senyawa organik untuk beragam tujuan, yang salah satunya adalah untuk degradasi senyawa organik. Salah satu penerapannya adalah penanganan polutan organik, dengan dua ruang lingkup besar, yakni degradasi total atau demineralisasi dan degradasi parsial (Grim *et al*., 1998). Metode ini telah dimanfaatkan untuk degradasi sederetan senyawa fenol tersubsitusi pada posisi para dengan subsituent yang beragam meliputi, gugus -OH, -NH_2, -NO_2, -COOH, dan halogen (Szpyrkowicz *et al*., 2001., Torres *et al*., 2003). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa degradasi parsil maupun degradasi total dapat dicapai tergantung pada besarnya potensial yang diterapkan, dimana hingga potensial 10 volt proses utama adalah degradasi parsil, sementara penggunaan potensial yang lebih besar mengarah pada degradasi total. Metode ini juga telah diterapkan untuk degradasi parsil senyawa zat warna yang terdapat dalam limbah industri tekstil (Naumczyk *et al*., 1996; Carneiro *et al*., 2003), yang dimaksudkan untuk mengurangi kestabilan zat warna dalam limbah sehingga lebih mudah diolah lanjut. Metode elektrokimia untuk degradasi parsil dalam upaya meningkatkan biodegradabilitas polutan organik yang terdapat dalam beberapa jenis limbah cair industri juga telah dilteliti oleh Ribordy *et al*. (1997), dengan hasil peningkatan biodegrdabiliti polutan yang cukup signifikan setelah perlakuan dengan elektrokimia.

Beberapa contoh aplikasi yang dipaparkan di atas menunjukkan bahwa perlakuan elektrokimia dapat dimanfaatkan untuk merengkah molekul besar, dengan tingkat perengkahan yang dapat dikendalikan melalui penerapan variabel elektrokimia secara tepat. Variabel utama yang diketahui paling berpengaruh adalah elektroda, meliputi jenis, jumlah dan susunan elektroda, potensial (Szpyrkowicz *et al*., 2001) serta waktu kontak (Grim *et al*., 1998).

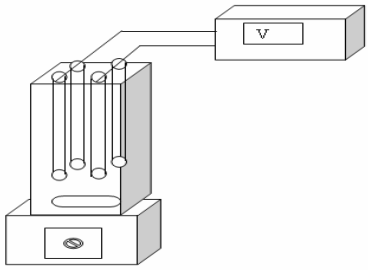
Keberhasilan yang dirujuk di atas mengindikasikan bahwa perengkahan minyak nabati menjadi molekul yang lebih kecil juga dapat dicapai dengan metode elektrokimia. Selain itu, metode elektrokimia juga memiliki sejumlah keunggulan praktis dibanding dengan metode termal. Proses elektrokimia dapat dilangsungkan pada suhu kamar, sehingga akan berdampak pada penghematan biaya energi yang sangat signifikan. Proses elektrokimia dapat dikendalikan, baik laju proses dan jenis produk yang dihasilkan, melalui penerapan variabel secara tepat, sehingga sehingga efisiensi waktu dan perolehan target dapat ditingkatkan. Keunggulan mendasar lainnya adalah kesederhanaan metode elektrokimia, baik dalam hal perangkat maupun cara kerja. Keunggulan ini membuat metode elektrokimia sangat potensil untuk dikembangkan menjadi teknologi tepat guna yang dapat dimanfaatkan masyarakat luas. Dengan demikian, realisasi metode ini akan sangat mendukung program mandiri energi yang menjadi salah satu tujuan strategis pembangunan nasional dalam bidang energi.

Atas dasar di atas, dalam penelitian ini dipelajari perengkahan minyak kelapa dengan metode elektrokimia, dengan menitik beratkan pada pengaruh sejumah variabel elektrokimia terhadap terjadinya perengkahan, yang ditunjukkan dari penurunan viskositas minyak kelapa setelah perlakuan.

METODE PENELITIAN

Perangkat Percobaan

Perangkat percobaan yang akan digunakan dalam penelitian ini secara skematis disajikan dalam Gambar 1 di bawah ini



Gambar 1. Rangkaian perangkat percobaan yang akan digunakan dalam penelitian.

Perangkat percobaan terdiri dari sebuah wadah kaca dengan ukuran panjang dan lebar masing-masing 10 cm dan tinggi 20 cm. Wadah ini digunakan sebagai tempat sampel untuk percobaan. Wadah ditempatkan di atas sebuah pengaduk magnetik, agar selam percobaan sampel dapat diaduk secara kontinu untuk mencegah pengendapan sampel pada elektroda dan untuk memastikan sampel mempunyai waktu kontak yang sama dengan elektroda. Pada bagian atas wadah ditempatkan elektroda, sesuai dengan jumlah yang diinginkan, dan elektroda dihubungkan dengan catu daya agar percobaan dapat dilakukan dengan potensial yang berbeda.

Percobaan dan Analisis

Dalam penelitian ini akan dilakukan serangkaian percobaan untuk mempelajari pengaruh empat variabel elektrokimia, yakni jumlah elektroda, susunan elektroda, potensial, dan waktu kontak. Untuk mempelajari pengaruh jumlah elektroda, dalam penelitian ini percobaan akan dilakukan dengan menggunakan jumlah elektroda yang berbeda, yakni 1, 2, dan 3 pasang. Untuk penggunaan 2 dan 3 pasang elektroda, percobaan akan dilakukan dengan susunan monopolar dan dipolar, yang dimaksudkan untuk mempelajari pengaruh susunan elektroda. Pengaruh potensial akan dipelajari dengan melakukan percobaan pada potensial yang berbeda, yakni 4, 6, 8, 10, dan 14 volt, dan pengaruh

waktu akan dipelajari dengan melakukan percobaan dengan waktu kontak yang berbeda, yakni 30, 60, 90, dan 120 menit. Untuk percobaan, sejumlah tertentu (1,8 L) sampel dimasukkan ke dalam perangkat percobaan. Elektroda selanjutnya dirangkai dan dihubungkan dengan catu daya. Potensial catu daya selanjutnya diatur sesuai dengan yang diinginkan, lalu pengaduk magnet dihidupkan.

Percobaan pertama akan dilakukan menggunakan 1 pasang elektroda dengan potensial tetap sebesar 4 volt. Percobaan dilangsunkan selama 120 menit dan pada setiap rentang waktu 30 menit, sejumlah tertentu sampel diambil untuk analisis viskositas sebagai. Parameter ukur ini digunakan sebagai parameter ukur utama, karena penurunan viskositas merupakan petunjuk paling mudah terjadinya perengkahan minyak nabati (sampel). Penelitian yang sama selanjutnya dilakukan dengan penggunaan 2 dan 3 pasang elektroda, dengan susunan monopolar dan dipolar. Untuk mengevaluasi unjuk kerja metode, viskositas produk hasil perlakuan ditentukan, yang sekaligus berfungsi untuk melihat apakah perlakuan mampu menghasilkan bahan bakar cair dengan viskositas yang setara dengan biodiesel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan dengan satu pasang elektroda.

Percobaan dengan satu pasang elektroda dilakukan dengan potensial yang berbeda, yakni 4, 6, 8, 10, dan 14 volt. Masing-masing percobaan dengan potensial di atas dilakukan dengan mengambil contoh sampel dalam selang waktu yang berbeda, yakni, 30, 60, 90, dan 120 menit. Viskositas sample selanjutnya diukur untuk melihat apakah viskositas sampel mengalami perubahan akibat perlakuan. Hasil yang diperoleh dirangkum dalam Tabel 1 di bawah ini. Data percobaan yang disajikan dalam Tabel 1 menunjukkan dengan jelas bahwa dalam rentang potensial dan waktu kontak yang diterapkan, tidak ada perubahan visoksitas yang berarti. Hasil ini megindikasikan bahwa perlakuan elektrokimia yang diterapak belum mampu merengkah molekul minyak kelapa yang dteliti.

Tabel 1. Rangkuman hasil percobaan dengan satu pasang elektroda. Viskositas kinematik awal sampel = 27, 9117 (mm^2/S) 40°C

Potensial (volt)	Viskositas **(**mm^2/S, 40°C**)** dengan waktu kontak (menit)			
	30	60	90	120
4	27,9117	27,9118	27,9116	27,9118
6	27,9118	27,9117	27,9115	27,9116
8	27,9118	27,9116	27,9114	27,9112
10	27,9117	27,9117	27,9116	27,9114
14	27,9117	27,9118	27,9118	27,9117

Hasil percobaan dengan dua pasang elektroda.

Percobaan dengan dua pasang elektroda dilakukan dengan potensial dan waktu kontak yang sama dengan yang digunakan menggunakan satu pasang elektroda. Namun demikian, percobaan dengan dua pasang elektroda ini dilakukan dengan dua

sistim/susunan elektroda, yakni sistim monopolar dan dipolar. Hasil yang diperoleh dari percobaan dengan sistim monopolar disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rangkuman hasil percobaan dengan 2 pasang elektroda (monopolar). Viskositas awal sampel = 28,942 (mm^2/S) 40°C

Potensial (volt)	Viskositas (**mm^2/S, 40°C**) dengan waktu kontak (menit)			
	30	60	90	120
4	28,353	28,299	28,110	27,887
6	28,201	28,190	27,913	27,778
8	28,160	28,009	27,708	27,653
10	27,987	27,883	27,617	27,599
14	27,419	27,398	27,267	27,074

Berbeda dengan hasil percobaan dengan satu pasang elektroda, data percobaan dengan dua pasang elektroda dengan susunan monopolar (Tabel 2) menunjukkan adanya kecenderungan penurunan viskositas sample. Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan jumlah elektroda mempunyai kemampuan untuk meningkatkan daya rengkah proses elektrokimia yang berlangsung. Dari data juga terlihat bahwa kecenderungan penurunan mengikuti kenaikan nilai potensial yang diterapkan, demikian juga dengan waktu kontak. Penurunan terbesar, yakni sekitar 6,5%, dihasilkan dari perlakuan dengan potensial 14 volt dan waktu kontak 120 menit. Meskipun demikian, viskositas hasil olahan masih jauh dari nilai viskositas untuk biodiesel, yakni sekitar 2,3-6,0 mm^2/S.

Percobaan dengan dua pasang elektroda juga dilakukan dengan susunan elektroda secara dipolar, dengan hasil percobaan yang disajikan dalam Tabel 3. Seperti halnya dengan percobaan dengan susunan monopolar, hasil percobaan dengan susunan dipolar juga menunjukkan pola kecenderungan penurunan viskositas yang sama. Kecenderungan penurunan mengikuti kenaikan nilai potensial dan waktu kontak yang diterapkan cukup jelas ditunjukkan oleh data. Terlepas dari kesamaan pola, hasil percobaan juga menunjukkan bahwa sistim elektroda dipolar relatif lebih efektif dibanding dengan susunan monopolar untuk potensial dan waktu kontak yang sama.

Tabel 3. Rangkuman hasil percobaan dengan 2 pasang elektroda (dipolar). Viskositas awal sampel = 28,942 (mm^2/S) 40°C

Potensial (volt)	Viskositas (**mm^2/S, 40°C**) dengan waktu kontak (menit)			
	30	60	90	120
4	28,791	28,435	28,186	27,825
6	28,720	28,398	28,039	27,709
8	28,815	28,221	27,972	27,564
10	27,864	27,533	27,091	26,899
14	27,425	27,302	26,912	26,501

Sama halnya dengan hasil percobaan dengan sistim monopolar, penurunan viskositas terbesar juga dihasilkan dari percobaan dengan potensial 14 volt dan waktu kontak 120 menit. Untuk percobaan ini, persen penurunan viskositas yang mampu dicapai adalah

8,43%. Hasil ini relatif lebih baik dari capaian dengan susunan elektroda secara monopolar, yakni 6,5%.

Hasil percobaan dengan 3 pasang elektroda.
Percobaan dengan tiga pasang elektroda juga telah dilakukan dengan susunan elektroda monopolar dan dipolar, seperti halnya yang diterapkan dengan percobaan dua pasang elektroda. Percobaan juga dilakukan dengan potensial dan waktu kontak sama dengan percobaan sebelumnya. Hasil yang diperoleh dari percobaan dengan sistim monopolar disajikan dalam Tabel 4

Tabel 4. Rangkuman hasil percobaan dengan 3 pasang elektroda (monopolar). Viskositas awal sampel = 28,942 (mm^2/S) 40°C

Potensial (volt)	Viskositas **(**mm^2/S, 40°C**)** dengan waktu kontak (menit)			
	30	60	90	120
4	27,987	27,433	27,001	26,807
6	27,531	27,103	26,609	26,159
8	26,912	26,443	26,009	25,721
10	26,731	26,247	25,889	25,497
14	25,817	25,325	24,908	24,601

Secara garis besar, dapat dilihat bahwa penurunan viskositas sampel hasil olahan memiliki pola yang sama dengan data yang dihasilkan dari percobaan dengan dua pasang elektroda, baik monopolar maupun dipolar. Data percobaan juga menunjukan bahwa penambahan jumlah elektroda mempunyai pengaruh yang cukup signifikan, tercermin dari persen penurunan viskositas yang relatif lebih besar dibanding dengan peresn penurunan yang mampu dicapai dengan dua pasang elektroda. Untuk percobaan dengan tiga pasang elektroda ini, mampu dicapai penurunan viskositas sebesar 15%, yakni dari percobaan dengan potensial 14 volt dan waktu kontak 120 menit.

Tabel 5. Rangkuman hasil percobaan dengan 3 pasang elektroda (dipolar). Viskositas awal sampel = 28,942 (mm^2/S) 40°C

Potensial (volt)	Viskositas **(**mm^2/S, 40°C**)** dengan waktu kontak (menit)			
	30	60	90	120
4	27,663	27,079	26,887	26,367
6	26,504	26,198	25,533	25,009
8	26,021	25,473	24,987	24,333
10	25,411	25,006	24,356	23,608
14	24,297	23,699	23,118	22,864

Data percobaan dengan menggunakan susunan elektroda secara dipolar disajikan dalam Tabel 5. Dibanding dengan hasil percobaan menggunakan susunan elektroda secara monopolar, hasil percobaan dalam Tabel 5 menunjukkan bahwa susunan elektroda secara dipolar memiliki efektifitas yang lebih baik, dan mampu menghasilkan penurunan viskositas hingga 21%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil percobaan yang sudah dilaksanakan, dapat ditarik sejumlah kesimpulan sebagai berikut:

1. Minyak kelapa pada prinsipnya dapat direngkah dengan proses elektrokimia, seperti tercermin dari penurunan viskositas yang mampu dicapai.
2. Data percobaan menunjukkan bahwa ke empat variabel elektrokimia yang diteliti berpengaruh terhadap efektifitas perengkahan yang berlansung.
3. Data percobaan menunjukkan bahwa perengkahan dengan rentang nilai potensial dan waktu kontak belum mampu menghasilkan hasil olahan dengan viskositas yang setara dengan biodiesel sesuai dengan standar baku yang berlaku.
4. Dari rangkaian percobaan yang sudah dilakukan terlihat bahwa perlakuan dengan tiga pasang elektroda dengan susuan dipolar merupakan sistim dengan unjuk kerja paling menjanjikan.

Saran

Dari hasil penelitian seperti dicantumkan dalam kesimpulan di atas dapat dilihat bahwa metode perengkahan elektro kimia berpeluang untuk dikembangkan lebih lanjut hingga liquid fuel yang dihasilkan memenuhi kriteria untuk dimanfaatkan sebagai bahan bakar praktis. Namun demikian, hasil yang sudah dicapai menunjukkan bahwa masih penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan metode perengkahan secara elektrokimia ini masih sangat diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Widyan M. I., and Al-Shyoukh (2002). Experimental evaluation of the transesterification of waste palm oil into biodiesel, *Bioresource Technology*, **85**, 28-35.

Fortesa, I.C.P, and Baugh, P.J.(1999). Study of Analytical On-line Pyrolysis of Oils from Macauba Fruit (*Acrocomia sclerocarpa* M) via GC/MS, *Journal of Brazilian Chemical Society*, **10**, 6, 469-477.

Freedman, B., Pryde, E. H., Mounts, T. L. 1986. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *JAOCS*, **61,** 1638-1643.

Grim. J., Bessaravop, D., and Sanderson, R. (1998). Review of electro-assisted methods for water purification, *Desalination*, **115**, 285-294.

Lima, D.G.,Valerio, C.D,. Ribeiro, E.B., Carvalho, D. A., Érika C.V. (2004). Diesel-like fuel obtained by pyrolysis of vegetable oils, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **71**, 987–996

Naumczyk, J., Szpyrkowicz, L., and Grandi, F-Z. (1996). Electrochemical treatment of textile wastewater, *Water Science and Technology*, **34**, 17-24.

Ribordy, P., Pulgarin, C., Kiwi, J., and Peringer, P. (1997). Electrochemical versus photochemical pretreatment of industrial wastewaters, *Water Science and Technology*, **35**, 293-302.

Schuchardt, U., Serchel, R., Vargas, R.M. 1998. Trasnesterification of vegetable oils: A review, *Sos. Bras. Quimica*, **9**, 199-210.

Szpyrkowicz, L., Juzzolino, C., Daniele, S., and De Faveri, M.D. (2001). Electrochemical destruction of thiourea dioxide in an undivided parallel plate electrodes batch reactor, *Catalysis Today*, **66,** 519–527.

Torres, R.A., Torres, W., Peringer, P., and Pulgarin, C. (2003). Electrochemical degradation of p-substituted phenols of industrial interest on Pt electrodes. Attempt of a structure .reactivity relationship assessment, *Chemosphere*, **50**, 97-104.

Twaiq, F. A., Mohamed, A. R., and Bhatia, S. (2003) Liquid hydrocarbon fuels from palm oil by catalytic cracking over aluminosilicate mesoporous catalysts with various Si/Al ratios, *Microporous and Mesoporous Materials,* **64,** 95–107

Twaiq, F. A., Mohamed, A. R., and Bhatia, S. (2004). Performance of composite catalysts in palm oil cracking for the production of liquid fuels and chemicals *Fuel Processing Technology,* **85**, 1283– 1300

Vitolo, S., Bresci, B., Seggiani, M., and Gallo, M. G. (2001) Catalytic upgrading of pyrolytic oils over HZSM-5 zeolite: behaviour of the catalyst when used in repeated upgrading regenerating cycles, *Fuel,* **80**, 17-26

ISOLASI DAN PEMURNIAN PARSIAL ENZIM PROTEASE DARI *Actinomycetes* ISOLAT LUMPUR HUTAN BAKAU

Dian Herasari dan Riki Eriyanti Andini
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung
Jl. S. Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung
e-mail :dehayan@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan pemurnian enzim proteae yang diisolasi dari *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau. Produksi enzim protease dari *actinomycetes* dilakukan pada beberapa variasi pH dan waktu inkubasi. Proses pemurnian enzim dilakukan secara bertingkat dari ekstrak kasar, pemurnian dengan amonium sulfat, dan dialisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *acinomycetes* menghasilkan enzim protease dengan aktivitas tertinggi pada waktu inkubasi 120 jam pada pH 7. Proses pemurnian enzim dengan pengendapan menggunakan garam amonium sulfat dan dialisis meningkatkan aktivitas spesifik dari 1,386 U/mg untuk ekstrak kasar enzim menjadi 8,44 U/mg untuk fraksi amonium sulfat dengan tingkat kemurnian 6,08 kali. Enzim lipase hasil pemurnian memiliki aktivitas optimum pada pH 7, temperatur 50°C, dan waktu inkubasi 60 menit.

Kata kunci: isolasi, pemurnian, protease, *actinomycetes*

PENDAHULUAN

Kekayaan laut yang dimiliki oleh Indonesia cukup berlimpah termasuk di dalamnya hutan mangrove disepanjang garis pantai kepulauan Indonesia. Hutan mangrove yang berisi tanaman bakau ini berfungsi menjaga daratan dari gerusan ombak serta sebagai tempat hidup dan berkembang biaknya biota laur. Salah satu ekosistem hutan bakau yang cukup menarik dan dapat menjadi salah satu sumber daya lingkungan bakau adalah daratan terbuka/hamparan lumpur yang berada antara batas hutan sebenarnya dengan laut. Lumpur ini mengandung sejumlah bahan organik, dengan sumber karbon yang menghasilkan bentuk-bentuk yang kompleks (seperti metabolit sekunder dan beberapa enzim). Bahan organik tersebut digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon dan nitrogen. Salah satu mikroorganisme yang terdapat di dlingkungan hutan bakau ini adalah *actinomycetes.*

Actinomycetes merupakan mikroorganisme dengan metabolisme yang unik dan kemampuan fisiologis dalam menghasilkan produk alami (Salas, 2009). *Actinomycetes* juga berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder, enzim selulase, enzim protease, dan enzim kitinase (Margarvey *et al*, 2004; Suryanto dan Yurnaliza, 2005; Rifaat *et al*, 2007)

Protease merupakan salah satu enzim yang berperan dalam reaksi biokimia yang terjadi pada organisme hidup. Enzim ini dapat dihasilkan secara intraseluler dan ekstraseluler baik oleh tumbuhan, hewan, maupun mikroba. Enzim protease berperan dalam menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino sehingga dapat digunakan sebagai sumber nutrisi, berperan dalam regulasi, proses metabolisme, dan proses biologi lainnya (Enggel, 2002). Protease merupakan kelompok tiga besar enzim-enzim yang digunakan dalam dunia industri, diperkirakan mencapai 60% dari total penjualan enzim industrial dunia. Protease terutama banyak digunakan pada industri farmasetik, industri

tekstil, industri makanan, industri kulit, dan industri pengolahan limbah. Enzim protease dapat diproduksi dari berbagai mikroorganisme, diantaranya adalah *actinomycetes* (Alina, 2003).

Pada penelitian ini *Actinomycetes* yang digunakan di dapatkan dari isolat lumpur hutan bakau yang berada di Pantai Ringgung Teluk Lampung (Guntari, 2009). Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat namun kebutuhan ini masih tergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap impor tersebut perlu ada usaha untuk memproduksi enzim protease dari mikroorganisme. Selain itu, untuk melakukan peningkatan produksi enzim oleh mikroorganisme dapat dilakukan dengan memanipulasi kondisi lingkungan. Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Basuki, 1997).

Dalam penelitian ini, dilakukan pemurnian parsial enzim protease, diuji aktivitasnya serta ditentukan karakternya. Sehingga diketahui kondisi optimum kerja enzim protease dari *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomassa dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microplate reader* Hospitex Diagnostix, *orbital shaker* Wiggen Hauser/OS150, *autoclave* Kleinfeld-Germany/HV-L25, *centrifuge* Hitachi/CF-46RX, laminar air flow ESCO/AVC4A1, w*ater Bath* Wiggen Hauser, jarum ose, pinset, mikropipet, *magnetic stirer,* timbangan, penangas air, lemari pendingin, kertas saring, termometer, cawan petri, dan peralatan gelas lainnya.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah a*ctinomycetes* isolat lokal yang telah diisolasi dari lumpur hutan bakau Pantai Ringgung, Perairan Teluk Lampung, sebagai sumber enzim, *mineral salt medium* (0,6% NaCl; 0,01% $CaCl_2$; 0,01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1% KH_2PO_4), gelatin, susu skim, air laut steril, kasein, TCA, tirosin, $(NH_4)_2SO_4$, kantung selofan, buffer pospat pH 7, Na_2CO_3, $CuSO_4.5H_2O$, Na-K Tartarat, Reagen *Folin Ciocalteau*, larutan BSA.

Uji Proteolitik Isolat *Actinomycetes.*

Kemampuan isolat *actinomycetes* dalam mendegradasi protein diuji dengan cara menumbuhkan isolat *actinomycetes* dalam *Mineral Salt Medium* yang mengandung 10% gelatin. Kecairan gelatin pada suhu 4^oC setelah waktu inkubasi tertentu menjadi indikator adanya aktivitas proteolitik dari isolat.

Penentuan Kondisi Optimum Pertumbuhan *Actinomycetes.*

Penentuan kondisi optimum pertumbuhan *actinomycetes* dilakukan dengan menumbuhkan biakan *actinomycetes* pada media *Mineral Salt Medium* yang mengandung 2% susu skim. Kondisi pertumbuhan yang diamati meliputi pH (dengan variasi pH 6, 6.5, 7, 7.5 dan 8) dan waktu inkubasi (dengan variasi waktu inkubasi 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, dan 240 jam). Pengukuran jumlah sel dilakukan dengan metode OD_{600}.

Produksi Enzim.

Produksi enzim protease dilakukan cara menanamkan biakan inokulum *actinomycetes* pada media fermentasi. Diinkubasi selama waktu inkubasi pada pH optimum dan suhu

ruang. Setelah itu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Filtrat hasil sentrifugasi disebut ekstrak kasar enzim. Ekstrak kasar tersebut kemudian dipisahkan dari endapannya kemudian ditentukan volume, kadar protein dengan Metode Lowry dan diuji aktivitas enzim protease dengan Metode Kunitz termodifikasi.

Fraksinasi dan Dialisis.
roses pemurnian sampel ekstrak kasar enzim protease diawali dengan fraksinasi bertingkat menggunakan garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan (0-20%), (20-40%), (40-60%), (60-80%) dan (80-100%). Fraksinasi dengan ammonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan ammonium sulfat sedikit demi sedikit pada larutan ekstrak kasar enzim sambil diaduk dengan pengaduk magnet. Pengadukan diusakan sedemikian rupa sehingga tidak menimbulkan busa selama kurang lebih 20 menit. Setiap endapan protein enzim yang didapat dipisahkan dari filtratnya dengan menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, kemudian dilarutkan dalam buffer pospat pH 7 dengan konsentrasi 0,1 M. Endapan enzim hasil fraksinasi bertingkat yang telah dilarutkan dalam buffer dimasukkan ke dalam kantung selofan, kemudian didialisis menggunakan buffer pospat pH 7 0,1 M selama ± 30 jam pada suhu 4^{o}C. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas enzim protease dengan Metode Kunitz termodifikasi. Fraksi yang memberikan aktivitas tertinggi ditentukan kadar proteinnya dengan Metode Lowry dan digunakan untuk penentuan karakterisasi enzim.

Karakterisasi Enzim
Penentuan temperatur optimum. Untuk mengetahui suhu optimum dari enzim yang telah diisolasi dilakukan pengukuran aktivitas enzim dengan menggunakan variasi suhu inkubasi enzim (30, 40, 50, 60, 70 dan 80) ºC.

Penentuan pH optimum.
Untuk mengetahui pH optimum dari enzim yang telah diisolasi dilakukan pengukuran aktivitas enzim dengan variasi nilai pH (6; 6,5; 7; 7,5; dan 8).

Penentuan waktu inkubasi optimum.
Untuk mengetahui suhu optimum dari enzim yang telah diisolasi dilakukan pengukuran aktivitas enzim dengan menggunakan variasi waktu inkubasi (30, 40, 50, 60, 70 dan 80) menit.

Uji Aktivitas Enzim Protease.
Pengukuran aktivitas enzim protease dilakukan dengan Medote *Kunitz* termodifikasi (Anson, M.L., 1938). Prosedur pengujian adalah sebagai berikut: 5 ml kasein dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan1 ml larutan enzim. Kemudian diinkubasi pada suhu 37ºC selama 10 menit. Setelah itu dimasukkan 5mL larutan TCA 110 mM, lalu diinkubasi pada suhu 37ºC selama 30 menit menit, tabung reaksi dikeluarkan lalu disaring dan didapatkan filtratnya. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 5 mL reagen Na_2CO_3 dan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteau*. Kemudian larutan diaduk dan diinkubasi pada suhu 37ºC selama 30 menit dan setelah itu didiamkan pada suhu kamar hingga dingin. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan penyaringan atau sentrifugasi. Absorbansi filtrat diukur pada panjang gelombang 660 nm. Kontrol dibuat dengan menambahkan enzim setelah di inkubasi selama 10 menit pada suhu 37ºC. Aktifitas enzim dihitung berdasarkan jumlah asam amino (peptida sederhana) yang terbentuk dengan menggunakan kurva standar tirosin dengan konsetnrasi 0 – 0,5 M. Aktivitas 1 unit enzim ditetapkan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menguraikan 1µg tirosin dari kasein di dalam 1 ml volume reaksi per menit .

Penentuan Kadar Protein.
Sebanyak 0,1 ml larutan enzim ditambahkan 0,9 ml aquades direaksikan dengan 5 ml larutan C. Larutan didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteau* sebanyak 0,5 ml. Larutan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Warna yang terbentuk dibaca serapannya pada panjang gelombang 600 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi protein ditentukan dengan menggunakan kurva standar Bovine Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 0 – 200 ppm.

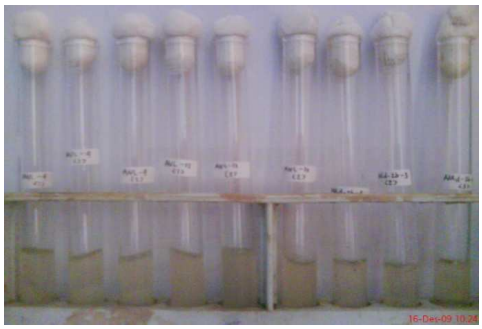
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *Actinomycetes* Penghasil Enzim Protease
Dari penelitian terdahulu (Guntari, 2009) didapatkan 3 isolat *actinomycetes* dengan pertumbuhan yang baik. Pertumbuhan ketiga isolat dalam media ISP-2 disajikan dalam Gambar 1.

ANL-4 ANL-12 ANLd-2b-3

Gambar 1. Pertumbuhan actinomycetes isolat lumpur hutan bakau

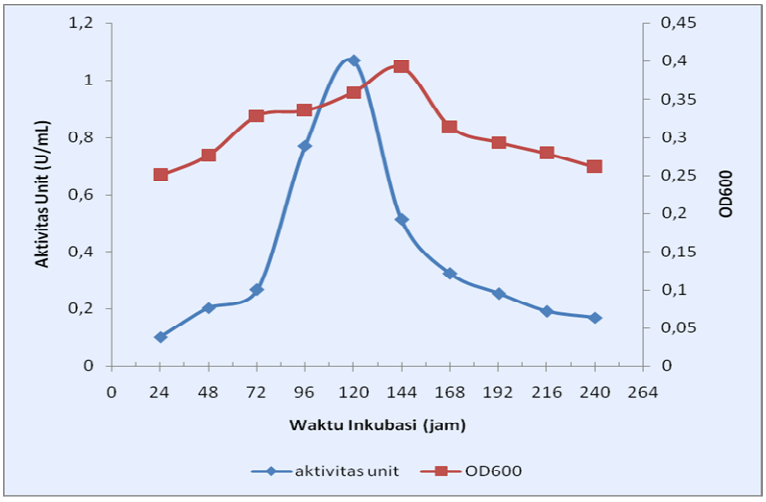
Pengujian aktivitas proteolitik terhadap 3 isolat *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada *Mineral Salt Medium* yang mengandung gelatin 10%, seperti terlihat pada Gambar 2. Dari ketiga isolat yang digunakan, isolat ANLd-2b-3 merupakan isolat *actinomycetes* dengan aktivitas protease yang baik. Ini dapat dilihat dengan mencairnya media gelatin pada suhu 4^{o}C setelah waktu inkubasi 480 jam. Kecairan media gelatin ini disebabkan karena gelatin dalam media telah terhidrolisis menjadi peptida atau asam-asam amino penyusunnya akibat aktivitas protease yang dihasilkan oleh *actinomycetes*. Sedangkan kedua isolat lainnya tetap padat pada suhu 4ºC.



Gambar 2. Pertumbuhan Isolat *Actinomycetes* dalam Media Gelatin

pH dan Waktu Inkubasi Optimum Pertumbuhan *Actinomycetes*
Untuk produksi enzim yang optimal, yaitu enzim dengan aktivitas tertinggi, perlu dilakukan penentuan kondisi optimum pertumbuhan *actinomycetes.* Penentuan kondisi optimum yang dilakukan pada penelitian ini meliputi variasi waktu inkubasi dan pH.

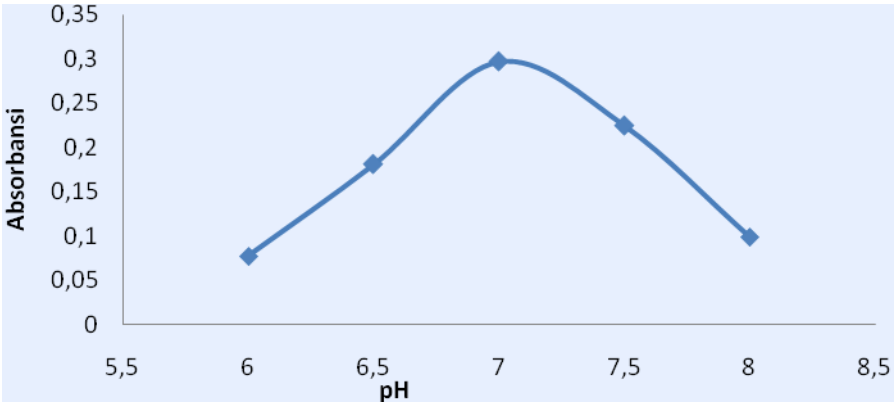
Penentuan waktu inkubasi optimum pertumbuhan *actinomycetes* dalam menghasilkan enzim protease dilakukan dengan menentukan kurva pertumbuhan *actinomycetes* disertai pengujian aktivitas enzim protease pada tiap-tiap waktu (Gambar 3).



Gambar 3. Kurva hubungan antara jumlah sel (OD_{600}) dan Aktivitas Unit (U/mL) enzim protease dengan waktu inkubasi pertumbuhan *Actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau

Dari gambar terlihat bahwa, fase eksponensial pertumbuhan actinomycetes tercapai pada waktu inkubasi 144 jam, sementara produksi protease dengan aktivitas tertinggi terjadi pada waktu inkubasi 120 jam. Dengan merujuk pada kurva pertumbuhan *actinomycetes*, produksi protease dengan aktivitas tertinggi terjadi sebelum fase eksponensial pertumbuhan atau pada akhir fase adaptasi. Hal ini terjadi karena *actinomycetes* memerlukan nutrien bagi pertumbuhannya. Nutrien ini dapat diperoleh dari media yang disediakan. Dengan komposisi media yang terdiri dari *mineral salt* dan susu skim, *actinomycetes* akan berusaha secara optimal sejak awal memanfaatkan nutrien yang ada. Adanya susu skim dalam media menginduksi produksi enzim protease dari *actinomycetes* untuk mendapatkan kebutuhan nutriennya melalui degradasi (hidrolisis) susu skim.

Penentuan pH optimum dilakukan sebagai salah satu parameter kondisi optimum pertumbuhan *actinomycetes* dalam memproduksi enzim protease. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH optimum pertumbuhan *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau untuk memproduksi enzim protease adalah pada pH 7. Kurva hubungan pertumbuhan jumlah sel *actinomycetes* pada variasi pH dapat dilihat pada Gambar 4.



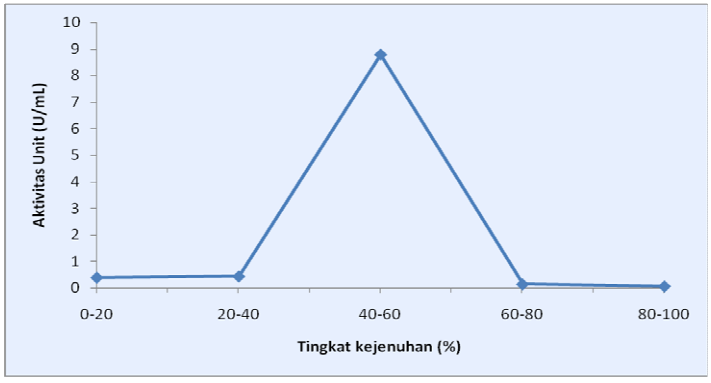
Gambar 4. Kurva Hubungan pH dengan pertumbuhan *actinomycetes*

Produksi dan Fraksinasi Enzim Protease dari *Actinomycetes*

Produksi enzim protease dari *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau diawali dengan penanaman *actinomycetes* dalam media fermentasi yang terdiri dari *Mineral Salt Medium* yang mengandung 2% susu skim pada temperatur ruang, pH 7, dan waktu inkubasi 120 jam. Penanaman *actinomycetes* pada media fermentasi menggunakan kondisi optimum dilakukan untuk memperoleh enzim protease dengan jumlah yang cukup besar.

Enzim protease dari *actinomycetes* adalah enzim ekstraseluler, artinya enzim ini dihasilkan di dalam sel dan bekerja di luar sel. Setelah inkubasi dalam media fermentasi, enzim protease dipisahkan dari konstituen seluler dengan menggunakan alat sentrifuga dengan kecepatan 3500 rpm, 30 menit, dan suhu 4^{o}C sehingga didapatkan ekstrak kasar enzim protease. Dari proses ini diperoleh ekstrak kasar enzim sebanyak 450 ml dengan aktifitas unit 1,0018 U/mL dan aktivitas spesifik 1,386 U/mg.

Setelah didapat ekstrak kasar dilanjutkan dengan proses pemurnian enzim secara fraksinasi bertingkat menggunakan garam ammonium sulfat dilanjutkan dengan dialisis. Pengujian aktivitas enzim protease terhadap endapan tiap fraksi ammonium sulfat memperlihatkan bahwa aktivitas protease tertinggi terdapat pada endapan fraksi ke-3 (40 – 60)% jenuh, seperti disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Kurva aktivitas protease setelah fraksinasi ammonium sulfat dan dialisis

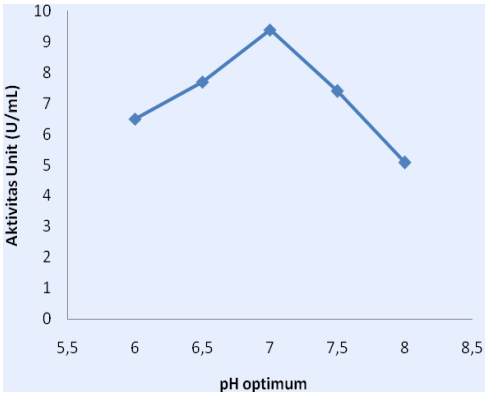
Data yang diperoleh dari endapan fraksi ke-3 di atas adalah enzim protease mempunyai aktivitas unit 8,78 U/mL dan aktivitas spesifik 8,44 U/mg. Hasil ini memperlihatkan bahwa telah terjadi kenaikan tingkat kemurnian sebesar 6,08 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim dengan perolehan 31,38%.

Dari tahapan pemurnian dengan fraksinasi ammonium sulfat dan dialisis, terlihat adanya peningkatan aktivitas spesifik yang disebabkan oleh peningkatan kemurnian enzim. Aktivitas spesifik enzim dipengaruhi oleh kadar protein, semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim maka semakin tinggi kemurnian enzim tersebut. Hal inio menunjukkan terjadinya pemisahan protein lain yang bukan enzim. Dengan meningkatnya aktivitas spesifik pada tahapan pemurnian, menunjukkan bahwa prose pemurnian yang dilakukan cukup baik.

Kondisi Optimum Kerja Enzim

Enzim dengan aktivitas tertinggi (fraksi (40-60)% jenuh) dari fraksinasi ammonium sulfat digunakan untuk penentuan kondisi optimum kerja enzim. Penentuan kondisi optimum kerja enzim dilakukan yang dilakukan meliputi pH, temperatur, dan waktu inkubasi. Kondisi optimum kerja enzim perlu dilakukan karena kondisi kerja enzim dalam mengkatalisi reaksi dengan substrat mungkin berbeda dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan actinomycetes dalam memproduksi enzim tesebut. Dengan mengetahui kondisi optimum kerja enzim maka aktivitas enzim akan optimum pula.

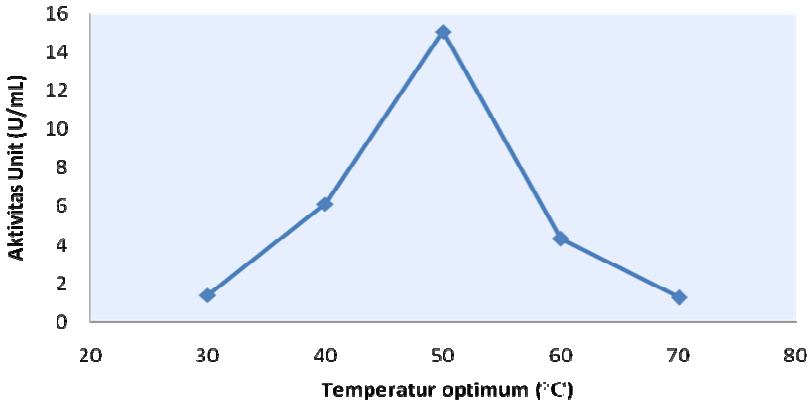
Untuk menentukan pH optimum enzim hasil isolasi, variasi pH yang digunakan adalah 6; 6,5; 7; 7,5 dan 8 hasilnya tertera pada gambar 6. Dari gambar tersebut terlihat bahwa aktivitas protease bervariasi dengan adanya perubahan pH. Aktivitas optimum protease dari *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau tercapai pada pH 7.



Gambar 6. Hubungan antara pH dengan aktivitas enzim protease

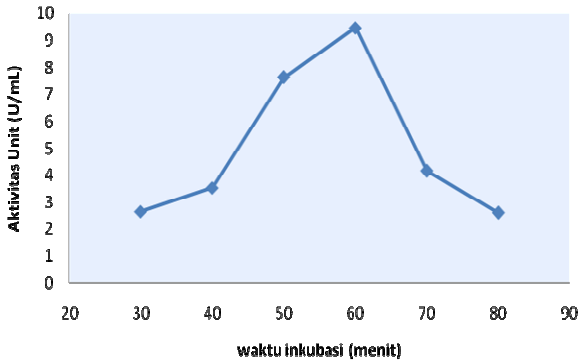
Pada pH optimum, enzim memiliki aktivitas tertinggi yang ditentukan oleh pKa residu-residu rantai samping dalam kisi pengikat substrat dan reaksi katalitik. Pada keadaan ini, ionisasi gugus-gugus pada residu-residu berada pada tingkat yang tepat untuk membentuk konformasi kisi pengikat substrat yang sesuai maupun kisi katalitik yang fungsional (Soemitro, 2005).

Pada penentuan temperatur optimum, suhu yang digunakan adalah temperatur (30, 40, 50, 60 dan 70)ºC. Dari hasil penelitian diperoleh, temperatur optimum enzim protease dari isolat *actinomycetes* adalah 50º C, seperti ditunjukkan pada Gambar 7. Pada temperatur kurang dari 50ºC, terjadi peningkatan aktivitas yang tidak terlalu besar dari ezim protease, sehingga kestabilan enzim meningkat. Dengan meningkatnya temperatur, energi kinetik molekul-molekul yang bereaksi bertambah sehingga molekul ya terjadi penurunan aktivitas enzim. Hal ini dikarenakan terjadinya denaturasi protein sehingga konformasi dari protein berubah dan enzim kehilangan sifat aslinya. Pada temperatur tinggi, substrat juga dapat mengalami perubahan konformasi sehingga gugus reaktifnya mengalami hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim (Suhartono, 1989).



Gambar 7. Hubungan antara temperatur dengan aktivitas enzim protease

Selain pH dan temperatur, waktu inkubasi juga mempengaruhi pembentukan produk dari reaksi katalisis enzim terhadap substrat. Penentuan waktu inkubasi optimum dilakukan dengan pengujian enzim lipase pada berbagai waktu inkubasi, yaitu (30, 40, 50, 60, 70, dan 80) menit. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease

Dari hasil uji aktivitas enzim dengan variasi waktu tersebut didapatkan waktu inkubasi optimum enzim protease adalah pada waktu inkubasi 60 menit. Pada waktu inkubasi di atas waktu inkubasi optimum, enzim mulai mengalami penurunan aktivitas. Hal ini dapat disebabkan karena jumlah substrat berkurang dan menghambat pembentukan kompleks enzim substrat. Selain itu dimungkinkan pula terjadinya autolisis protease oleh protease itu sendiri, karena substrat dari protease adalah molekul protein.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. pH optimum pertumbuhan *actinomycetes* dalam memproduksi enzim protease adalah pada pH 7 dengan waktu inkubasi pertumbuhan 120 jam.
2. Fraksinasi dengan ammonium sulfat meningkatkan aktivitas spesifik enzim dari 1,386 U/mg pada ekstrak kasar enzim menjadi 8,44 U/mg pada fraksi ammonium sulfat dengan tingkat kemurnian 6,08 kali.

3. Enzim protease dari *actinomycetes* isolat lumpur hutan bakau mencapai aktivitas optimum pada pH 7, temperatur 50ºC, dan waktu inkubasi 60 menit.

DAFTAR PUSTAKA

Alina, A. 2003. *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termostabil*. Bulletin Flasma Nutfah, Vol 9, No.2

Anson, M.L., (1938) *J. Gen. Physiol.* **22**, 79-89

Basuki, W. 1997. *Enzim dalam industri deterjen*. Proceeding the first Conference on Industrial Enzyme and Biotechnology; Technology, Strategy and Finance, September 10–11, Jakarta.

Enggel Y. 2002. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari *Clostridium bifermentans* R 14-1-b. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor.

Guntari, L.F. 2009. Isolasi dan Seleksi Actinomycetes Penghasil Enzim Selulase dari Lumpur Hutan Bakau Pantai Ringgung Perairan Teluk Lampung. [Skripsi]. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Magarvey, N.A., J.M. Keller, V. Bernan, M. Dworkin, and D.H. Sherman. 2004. *Isolation and Characterization of Novel Marine-Derived Actinomycete Taxa Rich in Bioactive Metabolites†.* Applied and Environmental Microbiology, Dec. 2004, P. 7520–7529 Vol. 70, No. 12

Rifaat, H.M., O.H. El-Said, S.M. Hassanein and M.S. M. Selim. 2007. *Protease Activity of Some Mesophilic Streptomycetes Isolated from Egyptian Habitats*. Journal of Culture Collections Vol. 5, 2006-2007, Pp. 16-24

Salas, J. A. 2009. *Marine Actinomycetes: A New of Natural Product*. Fakultas Kedokteran. Universitas Oviedo. Spanyol. [Paper]

Soemitro, S. 2005. Pengaruh Modifikasi Kimiawi Selektif Terhadap Kestabilan Enzim Amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera. J. Bionatura*. Vol. 7 (3): 259-273

Suryanto, D., E.M. dan Yurnaliza. 2005. *Eksplorasi Bakteri Kitinolitik : Keragaman Genetik Gen Penyandi Kitinase pada Berbagai Jenis Bakteri dan Pemanfaatannya.* USU

ng bereaksi semakin banyak dan produk yang dihasilkan makin banyak. Setelah melewati temperatur optimum yaitu diatas 50ºC, maka

DESKRIPSI AKTIVITAS ENZIM XYLANASE SPESIFIK DARI ACTINOMYCETES ISOLAT LOKAL

Heri Satria*
*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145
Email : satria_chemistry@unila.ac.id

ABSTRAK

Xilan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang kelimpahannya terbanyak kedua setelah selulosa. Struktur utama biopolimer xilan adalah D-xilosa yang berikatan β-1,4 dan memiliki percabangan yang mengandung gugus asetil, α-L-arabinofuranosil, dan asam 4-metil glukoronat. Untuk menguraikan biopolimer xilan secara lengkap menjadi unit-unit penyusunnya dibutuhkan suatu sistem enzim xilanolitik yang biasanya tersusun oleh β-1,4-endoxilanase, β-xilosidase, α-L-arabinofuranosidase, α-glukuronidase, asetil xilan esterase, dan asam fenolat (asam ferulat dan *p*-koumerat) esterase. Xilanase banyak dihasilkan oleh mikroorganisme pengurai salah satu genus yang banyak dipelajari adalah Actinomycetes. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan penseleksian isolat Actinomycetes yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim xilanase. Metode kualitatif yang digunakan untuk menseleksi isolat yang mampu menghasilkan xylanase meliputi pembentukan zona bening dengan indikator Congo Red, dan penggunaan senyawa methyl umbelliferyl (MUF). Aktivitas spesifik xylanase untuk menghidrolisis rantai cabang pada xylan dipelajari menggunakan senyawa turunan para Nitrofenol meliputi *p*NP-β-D-xilanopiranosida, *p*NP-α-D-arabinofuranosida, *p*NP-β-D-glukoropiranosida, dan *p*NP-asetat. Sebanyak 24 isolat Actinomycetes yang diperoleh dari tanah persawahan daerah Pringsewu berhasil dimurnikan. Sebanyak 5 isolat yang memiliki kemampuan menguraikan xylan yang ditunjukkan dengan adanya indeks xylanolitik dan kemampuan menghidrolisis senyawa 4-MUF-Xyl. Dari hasil uji spesifik diperoleh data bahwa xylanase isolat AcTP-1 memiliki aktivitas enzim β-xilosidase dan asetil xilan esterase, isolat AcTP-7 memiliki aktivitas enzim β-xilosidase, arabinofuranosidase dan asetil xilan esterase sedangkan isolat lainnya hanya memiliki aktivitas enzim β-xilosidase.

Kata kunci *: xylanase, Actinomycetes, aktivitas spesifik, methyl umbelliferyl, para Nitrofenol.*

PENDAHULUAN

Xilan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang kelimpahannya terbanyak kedua setelah selulosa dan banyak ditemukan pada dinding sel tumbuhan dengan konsentrasi berkisar antara 30-35% dari berat kering total. Struktur utama biopolimer xilan adalah D-xilosa yang berikatan β-1,4 dan memiliki percabangan yang mengandung gugus asetil, α-L-arabinofuranosil, dan asam 4-metil glukoronat (Baraznenok *et al.* 1999, Kulkarni *et al.* 1999, Subramaniyan dan Prema 2002).

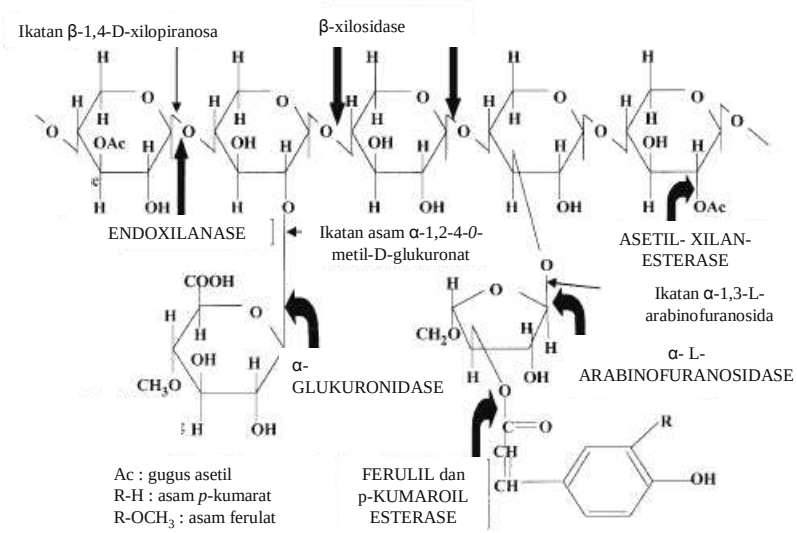
Untuk menguraikan biopolimer xilan secara lengkap menjadi unit-unit penyusunnya dibutuhkan suatu sistem enzim xilanolitik yang biasanya tersusun oleh β-1,4-endoxilanase, β-xilosidase, α-L-arabinofuranosidase, α-glukuronidase, asetil xilan esterase, dan asam fenolat (asam ferulat dan *p*-koumerat) esterase (Beg *et al.* 2001). Enzim-enzim xilanolitik tersebut banyak dihasilkan oleh mikroba yang hidup pada sisa tumbuhan seperti fungi dan bakteri. Mikroba-mikroba yang hidup pada sisa tumbuhan

membentuk hyfa vegetatif yang secara sinergi mensintesis enzim-enzim xilanolitik yang disekresikan, untuk memanfaatkannya sebagai sumber karbon.

Tanah pada daerah persawahan mengalami proses pengolahan setelah panen sampai siap digunakan kembali. Setelah masa panen, sebagai hasil samping jerami banyak diletakkan pada areal tanah bahkan dicampurkan kembali untuk menambah kesuburan tanah. Jerami padi merupakan limbah pertanian berlignoselulosa yang mengandung tiga komponen utama berupa selulosa 34,2%, hemiselulosa 24,5% dan lignin 23,4% (Howard *et al.* 2003). Xilan merupakan bagian dominan dari senyawa hemiselulosa disamping manan. Untuk memperoleh mikroba penghasil xilanase salah satu sumber sampel yang dapat digunakan adalah jerami padi, mengingat kandungan xilan yang cukup tinggi dapat dijadikan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya.

Salah satu genus bakteri tanah yang dapat menghasilkan enzim pendegradasi xilan adalah *Actinomycetes*. Penggunaan *Actinomycetes* dalam pendegradasian limbah berlignoselulosa memiliki nilai strategis dan meningkatkan efisiensi proses karena mikroba ini memiliki sistem enzim hidrolitik yang lengkap. *Actinomycetes* yang merupakan bakterial tanah memiliki kemampuan untuk menguraikan lignoselulosa. Kemampuan *Actinomycetes* dalam mendegradasi lignoselulosa bukan saja dapat dimanfaat untuk proses delignifikasi tetapi juga sekaligus proses sakarafikasi karena genus ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim-enzim hidrolitik ekstraselular (Wendish dan Kutzner, 1992).

Efektivitas enzim xilanase yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* untuk mendegradasi secara lengkap molekul xilan yang merupakan polimer bercabang ditentukan oleh sejauh mana isolat *Actinomycetes* tersebut menghasilkan enzim xilanase dengan aktivitas spesifik yang dibutuhkan untuk menguraikan percabangan pada molekul xilan (Gambar 1). Penelitian ini dikembangkan untuk menseleksi Actinomycetes yang memiliki aktivitas xilanase spesifik yang dapat menghidrolisis xilan secara lengkap.



Gambar 1. Struktur hipotetikal xilan dari tumbuhan dan berbagai enzim xilanolitik yang bekerja untuk menghidrolisis ikatan yang terdapat pada struktur xilan tersebut (Beg *et al.* 2001).

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengisolasi *Actinomycetes* xilanolitik dari tanah yang tercampur dengan limbah jerami padi, serta mengetahui aktivitas xilanase spesifik

meliputi β-xilosidase, α-L-arabinofuranosidase, α-glukuronidase, dan asetil xilan esterase dengan menggunakan substrat berbagai turunan senyawa *para*-Nitrofenol.

METODE PENELITIAN

Tanah yang diambil dari daerah persawahan di daerah Pringsewu, Lampung yang diketahui diolah menggunakan campuran jerami padi yang merupakan sisa hasil panen padi varietas Ciherang.

Isolasi dan Pemurnian *Actinomycetes*. Bakteri *Actinomycetes* diisolasi dari tanah yang diambil pada kedalaman 15-30 cm. Sebanyak 500 gr tanah dimasukkan kedalam 500 mL bufer salin fosfat. Pengkayaan media dilakukan dengan menambahkan 1 gr yeast ekstrak, Kemudian ditambahkan 0,05% Tween 80 dan digoyang di atas shacker selama 7 hari. Lalu filtratnya diencerkan berseri hingga 10^5 dan dilakukan plating diatas media media YMA (ekstrak khamir 4 gr, ekstrak malt 10 gr, glukosa 14 gr, agar-agar 15 gr per- liter media), dengan antibiotik Nistatine 50 µg dan Streptomycine 25 µg. Pemurnian dan pemeliharaan dilakukan pada media yang sama dengan plate isolat asal yang akan dimurnikan.

Pengujian Indeks Xilanolitik.
Isolat-isolat yang berhasil diisolasi kemudian dipilih untuk pengujian aktivitas xilanolitik. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media YMA-Xilan yang mengandung (per-l) : 4,0 gr ekstrak khamir, 10 gr ekstrak malt, 15 gr glukosa, dan 15 gr agar-agar, yang ditambahkan 5 gr Birchwood Xilan (Sigma Chemical Co.). Koloni murni ditumbuhkan diatas media YMA diinkubasi selama 7 hari. Larutan 1% *congo red* disebar di atas permukaan media dan dibiarkan selama 15 menit, kemudian ditambahkan larutan 1M NaCl dan dibiarkan selama 15 menit. Koloni yang memiliki aktivitas akan membentuk zona jernih (Teather dan Wood, 1982). Indeks xilanolitik diukur dengan membandingkan antara diameter koloni *Actinomycetes* dengan diameter zona jernih.

Pendeteksian Aktivitas β-Xilosidase.
Aktivitas β-xilosidase diamati melalui kemampuan isolat menghidrolisis senyawa 4-metilumberilferil-β-D-xilosida (Sigma). Isolat *Actinomycetes* yang ditumbuhkan pada media YMA yang mengandung 0,5% xilan birchwood diinkubasi pada suhu 37 ^oC selama 5 hari. Setelah koloni tumbuh, isolat dipindahkan ke atas kertas saring Wattman ukuran 42 steril, lalu ditetesi dengan 0,1 mM 4-metilumberilferil-β-D-xilosida dalam bufer sitrat-fosfat pH 5 dan diinkubasi pada suhu 37 ^oC selama 2 jam. Reaksi dihentikan dengan penambahan $CaCO_3$ jenuh beberapa tetes. Isolat yang positif menghasilkan β-xilosidase akan berpendar jika diamati di bawah sinar UV pada λ 340 nm (Kaneko *et al.* 2000).

Produksi dan Ekstraksi Enzim.
Isolat yang memiliki aktivitas xilanolitik ditumbuhkan pada media YM cair yang mengandung 0,1% (v/v) Tween 80 selama 4-5 hari untuk memperoleh jumlah sel yang cukup. Sebanyak 50 ml inokulum ditambahkan kepada media fermentasi yang telah disterilkan yang berisi 500 gr jerami berukuran 40 mesh, 0,6 % ekstrak khamir dalam larutan trace elemen. Moisture yang digunakan adalah buffer phosfat dengan perbandingan substrat:moisture sebesar 1:2, pada pH 7,0 (Beg *et al.* 2000). Fermentasi dilakukan selama 14 hari mengunakan wadah kaca dengan memperhatikan sisa ruang diatasnya untuk memberikan suasana fakultatif aerobik. Pemanenan enzim dilakukan dengan menambahkan 100 ml 0,05M bufer fosfat pH 7,0 kepada media fermentasi, diaduk lalu di saring dengan menggunakan glass wool. Filtrat yang diperoleh sebagai ekstrak kasar enzim digunakan untuk pengujian aktivitas enzim.

Pengukuran Aktivitas Enzim Xilanase.
Blanko : Sebanyak 500 µl substrat 0,5% birchwood xilan ditambahkan 500 µl 0,02M bufer sitrat fosfat pH 5. Kemudian larutan ini ditambahkan 1000 µl pereaksi DNS lalu dihomogenisasi dan dipanaskan pada suhu 100 ^{o}C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu ruang. *Kontrol* : Sebanyak 500 µl substrat 0,5% xilan birchwood ditambahkan 450 µl 0,02M bufer sitrat fosfat pH 5 lalu diinkubasi pada suhu 50 ^{o}C selama 30 menit. Kemudian larutan ini ditambahkan 1000 µl pereaksi DNS dan 50 µl ekstrak kasar xilanase dihomogenisasi dan segera dipanaskan pada suhu 100 ^{o}C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu ruang. *Sampel* : Sebanyak 500 µl substrat 0,5% xilan birchwood ditambahkan 450 µl 0,02M bufer sitrat fosfat pH 5. Kemudian larutan ini ditambahkan 50 µl ekstrak kasar xilanase dihomogenisasi lalu diinkubasi pada suhu 50 ^{o}C selama 30 menit lalu ditambahkan 1000 µl pereaksi DNS dan segera dipanaskan pada 100 ^{o}C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi masing-masing larutan dilakukan pada λ 540 nm (Miller 1959). Konsentrasi gula pereduksi diperoleh dengan menggunakan kurva standar xilosa pada konsentrasi 0,00-0,35 mg/ml. Satu unit aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah µmol xilosa yang dihasilkan permenit untuk setiap ml enzim pada kondisi optimumnya.

Pengujian Aktivitas Xilanase Spesifik.
Untuk mengetahui jenis aktivitas xilanase yang ada dilakukan pengujian aktivitas dengan substrat spesifik menurut metode Saha (2001) menggunakan senyawa turunan *p*-nitrofenil masing-masing :

- *p*-nitrofenil-β-D-xilanopiranosida (*p*NP X) untuk β-xylosidase
- *p*-nitrofenil-α-L-arabinofuranosida (*p*NP A) untuk α-L-arabinofuranosidase
- *p*-nitrofenil-α-D-galaktopiranosida (*p*NP G) untuk α-D-galaktopiranosidase
- *p*-nitrofenil-β-D-glukoropiranosida (*p*NP Glc) untuk β-D-glukoropiranosidase
- *p*-nitrofenil-asetat (*p*NP Ac) untuk asetil xilan esterase

Sebanyak 450 µl substrat turunan *p*-nitrofenil dengan konsentrasi 1 mM dan 400 µl 0,02M bufer sitrat fosfat pH 5 diinkubasi bersama 100 µl ekstrak kasar xilanase pada suhu 50 ^{o}C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 µl 0,4M Na_2CO_3. Pengukuran absorbansi dilakukan pada λ 405 nm. Kadar *p*-nitrofenol yang terbentuk diperoleh dengan menggunakan kurva standar *p*-nitrofenol dengan konsentrasi 0,00-0,50mM. Sebanyak 950 µl masing-masing konsentrasi *p*-nitrofenol diinkubasi pada suhu 50 ^{o}C selama 30 menit kemudian ditambahkan 50 µl 0,4 M Na_2CO_3. Satu unit aktivitas enzim xilanase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan perubahan 1 µmol berbagai substrat turunan *p*-nitrofenil menjadi *p*-nitrofenol permenit pada keadaan optimumnya.

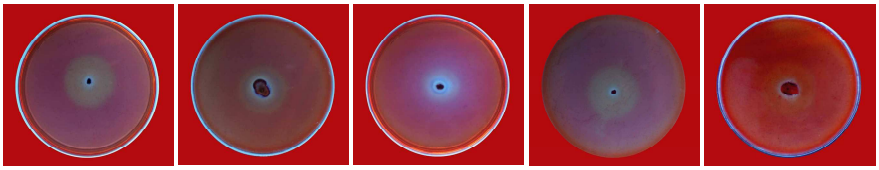
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian *Actinomycetes*.
Prosedur yang dilakukan untuk mengisolasi *Actinomycetes* dari tanah menggunakan media yang diperkaya dengan yeast ekstrak. Setelah diinkubasi selama 7 hari dilakukan seri pengenceran terhadap sampel mulai 0 sampai dengan 10^{-5} kali. Dari seri pengenceran tersebut faktor pengenceran 10^{-3}, 10^{-4}, dan 10^{-5} yang memberikan hasil optimal, sehingga dapat dipisahkan isolat-isolat sesuai dengan karakteristik koloni yang meliputi bentuk, elevasi, margin, dan warna. Media YMA disuplementasi dengan antibiotik Nistatine 50 µg dan Streptomycine 25 µg, dimaksudkan untuk menghambat pertumbuhan mikrofungi dan bakteri lainnya selai genus *Actinomycetes*. Sampai tahap isolasi dan pemurnian diperoleh 10 isolat yang berasal yang diberi kode isolat AcTP-x.

Pengujian Indeks Xilanolitik.
Isolat-isolat yang berhasil diisolasi kemudian dipilih untuk pengujian aktivitas xilanolitik. Metode pewarnaan Congo Red digunakan untuk membedakan isolat yang mampu menghidrolisis xilan yang terdapat pada media tumbuhnya. Indeks xilanolitik diperoleh dengan membandingkan diameter koloni dengan diameter zona jernih yang terbentuk. Beberapa isolat memiliki diameter koloni yang berdekatan dengan diameter zona bening, sehingga memiliki indeks xilanolitik yang kecil. Zona jernih terbentuk karena ikatan glikosidik terhidrolisis, sehingga interaksi antara ikatan glikosidik yang terdapat pada Birchwood xylan dengan indikator *Congo Red* hilang. Jika ikatan glikosidik tidak terputus, akan terbentuk warna merah hasil interaksi antara ikatan glikosidik dengan *Congo Red,* sehingga zona jernih tidak terbentuk (Teather dan Wood, 1982). Hasil pengukuran diperoleh 5 isolat yang memiliki indeks xilanolitik, sedangkan 5 isolat lainnya tidak menunjukkan adanya aktivitas xylanolitik. Tabel 1 menggambarkan hasil pengukuiran indeks xilanolitik dan zona jernih yang dihasilkan oleh lima isolat yang memiliki indeks xilanolitik dapat dilihat pada Gambar 2.

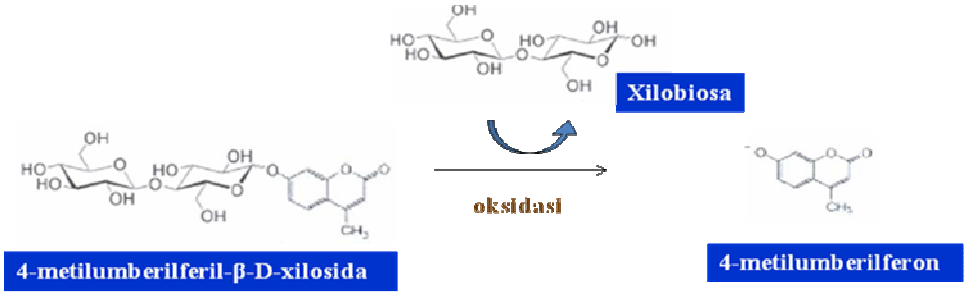
Tabel 1. Indeks Xilanolitik Isolat-isolat *Actinomycetes*

Kode Isolat	Indeks Xilanolitik
AcTP-1	3,38
AcTP-2	-
AcTP-3	1,36
AcTP-4	1,80
AcTP-5	-
AcTP-6	-
AcTP-7	3,88
AcTP-8	1,88
AcTP-9	-
AcTP-10	-



Gambar 2. Lima isolat Actinomycetes yang menghasilkan zona jernih pada pengujian indeks xilanolitik. Gambar dari kiri ke kanan masing-masing isolat AcTP-1, AcTP-3, AcTP-4, AcTP-7, dan AcTP-8.

Pendeteksian Aktivitas β-Xilosidase.
Aktivitas β-xilosidase diamati melalui kemampuan isolat menghidrolisis senyawa 4-metilumberilferil-β-D-xilosida. Hasil positif untuk pengujian aktivitas β-xilosidase dapat diketahui dengan melihat adanya koloni berpendar di atas UV-transiluminator. Hal ini disebabkan oleh adanya penumpukan 4-metilumberil-feron hasil penguraian substrat 4-metilumberil-feril-β-D-xilosida (4-MUF-Xyl) oleh enzim β-xilosidase (Kaneko *et al*. 2000). Gambar 3 menunjukkan prinsip pengukuran aktivitas β-xilosidase menggunakan senyawa 4-MUF-Xyl.

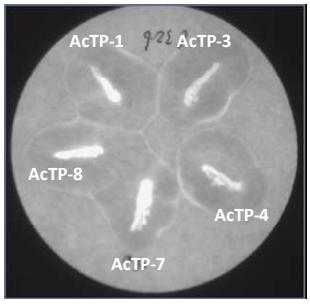


Gambar 3. Priinsip pengujian aktivitas enzim β-xilosidase dengan menggunakan senyawa 4-MUF-Xyl, senyawa 4-metilumberilferon akan berpendar dibawah sinar UV pada λ 340 nm.

Dari pengujian dengan menggunakan substrat tersebut diketahui bahwa isolat-isolat AcTP-1, AcTP-3, AcTP-4, AcTP7, dan AcTP-8 memiliki aktivitas β-xilosidase (Gambar 4). Aktivitas enzim β-xilosidase pada substrat xilan akan melepaskan xilosa sebagai produk akhir dari rantai polimer D-xilosida yang lebih pendek hasil penguraian enzim endo-β-xilanase (Kulkarni *et al*. 1999 ; Subramaniyan dan Prema 2002).

Pengukuran Aktivitas Enzim Xilanase dan Aktifitas Xilanase Spesifik.

Enzim xilanase diproduksi dengan menggunakan fermentasi padat (SSF) dengan menggunakan jerami padi sebagai substrat padat berlignoselulosa. Substrat ini bukan merupakan substrat xilan murni karena didalamnya juga terdapat senyawa lignin, dan selulosa. Aktivitas ekstrak kasar enzim xilanase diujikan dengan menggunakan birchwood xylan sebagai substrat yang akan dihirolisis untuk menghasilkan gula pereduksi (campuran xilosa, xilobiosa, dan xiolooligosakarida) untuk selanjutnya direaksikan dengan DNS. Satu unit aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah µmol xilosa yang dihasilkan permenit untuk setiap ml enzim.



Gambar 4. Pendeteksian aktivitas β-xilosidase menggunakan senyawa 4-MUF-Xyl yang menghasilkan perpendaran dibawah UV-transiluminator.

Isolat AcTP-1, AcTP-7 dan AcTP-8 memiliki aktivitas xilanase yang tinggi jika dibandingkan dengan isolat AcTP-3 dan AcTP4. Dari hasil pengujian substrat spesifik diketahui isolat AcTP-1 memiliki aktivitas β-xilosidase dan asetil xilan esterase, isolat AcTP-7 memiliki aktivitas enzim β-xilosidase, arabinofuranosidase dan asetil xilan esterase sedangkan isolat lainnya hanya memiliki aktivitas enzim β-xilosidase. Hasil pengukuran aktivitas enzim xilanase dan aktivitas enzim xilanase spesifik dapat dilihat pada Tabel 2. Dari beberapa enelitian sebelumnya dikatakan enzim xilanase yang berasal dari *Trichoderma reesei* (Clark *et al.* 1996) merupakan enzim bifungsional yang dapat memiliki aktivitas xilanase dan arabinofuranosidase. Li *et al.* (2000) melaporkan enzim β-xilosidase dari *Tricoderma koningii* mampu menghidrolisis substrat *p*-nitrofenil-α-L-arabinofuranosida (*p*NP-A). Shallom *et al.* (2002) mengatakan enzim arabino-

furanosidase dari *Geobacillus stearothermophillus* T-6 mampu menghidrolisis substrat *p*-nitrofenil-β-xilanopiranosida (*p*NP-X). Kemampuan kedua enzim ini dalam menghidrolisis substrat baik *p*NP-X maupun *p*NP-A disebabkan oleh kemampuan kedua substrat untuk menempati ruang yang sama pada daerah katalitik enzim dengan cara berikatan dengan residu triptopan[298] (Hovel *et al.* 2003). Data lain menyatakan bahwa terdapat 3 tipe enzim β-xilosidase, yaitu (1) hanya mempunyai aktivitas pNP-X, misalnya enzim β-xilosidase dari *Clostridium stercorarium,* (2) mempunyai aktivitas pNP-X maupun pNP-A, misalnya enzim β-xilosidase dari *B. Fibrisolvens; Clostridium stercorarium; C. Saccharolyticum; C. Thermocelum*; dan *Chaetomium trilaterales*, (3) mempunyai aktivitas xilanase, misalnya enzim β-xilosidase dari *C. Thermocellum, C. Saccharolyticum*, dan *C. Stercorarium*. Enzim β-xilosidase tipe ketiga ini sering disebut dengan xilanase. Ketiga tipe enzim β-xilosidase di atas juga berlaku bagi enzim α-L-arabinofuranosidase (Sakka *et al.* 1993).

Tabel 2. Aktivitas Enzim Xilanase (unit mL^{-1}) dan Aktivitas Enzim Xilanase Spesifik Ekstrak Kasar Enzim (unit mL^{-1})

Substrat	AcTP-1	AcTP-3	AcTP-4	AcTP-7	AcTP-8
Birchwood Xilan	1,897	0,202	0,104	2,438	1,004
p-nitrofenil-β-D-xilanopiranosida	0,694	0,032	0,042	0,742	0,148
p-nitrofenil-α-L-arabinofuranosida	0,000	0,000	0,000	0,032	0,000
p-nitrofenil-α-D-galaktopiranosida	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p-nitrofenil-β-D-glukoropiranosida	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p-nitrofenil-asetat	0,032	0,000	0,000	0,038	0,000

SIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lima isolat *Actinomycetes* memiliki aktivitas xilanase, semua isolat menunjukkan adanya aktivitas β-xilosidase, sedangkan isolat AcTP-1 memiliki aktivitas asetil xilan esterase, dan isolat AcTP-7 memiliki aktivitas arabinofuranosidase serta asetil xilan esterase.

Untuk mengetahui fraksi-fraksi protein yang memiliki aktivitas xilanase spesifik, penelitian ini perlu dilanjutkan untuk upaya purifikasi dan determinasi ukuran protein serta aktivitasnya terhadap substrat spesifik yang diujikan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini adalah lanjutan dari penelitian yang dibiayai oleh DIPA Universitas Lampung dengan surat perjanjian kontrak penelitian antara Lembaga Penelitian dengan Pembantu Rektor II Universitas Lampung Nomor : 1896/H26/KU/2009 tanggak 1 Juli 2009 atas nama Heri Satria. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Indar Novalia, Iman Lukmanul Hakim dan Septiyana yang telah membantu secara teknis di Laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Baraznenok VA, Becker EG, Ankudinova NV, Okunev NN. 1999. Characterization of neutral xylanase from *Chaetomium cellulolyticum* and their biobleaching effect on eucalyptus pulp. *Enzyme Microb Technol* 25:651-659

Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal GS. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications : a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 56:326-338

Clark EM, Tenkanen M, Nakni-Sentana T, Pentika M. 1996. Cloning of gene encoding α-L-arabino- furanosidase and β-xilosidase from *Trichoderma reesei* by expression in *Saccharomyces cereviceae*. *Appl Environ Microbiol* 62:3840-3846.

Hovel K, Shallom D, Niefind K, Belakhov V, Shoham G, Baasov T, Shoha Schombung D. 2003. Crystal structure and snapshots along the reaction pathway of family 51 α-L-arabino-furanosidase. *EMBO J* 22:4922-4932.

Howard RL, Abotsi E, Jansen van Rensburg EL, Howard S. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *Afr J Biotechnol* 2:602-619.

Kaneko S, Kitaoka M, Kuno A, Hayashi K. 2000 Syntheses of 4-methylumbelliferyl-β-D-xylobioside and 5-bromo-3-indolyl-β-D-xilobioside for sensitive detection of xylanase activity on agar plate. *Biosci Biotechnol Biochem* 64:741-745.

Kulkarni NA, Shendye, Rao M. 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS Micro-biol Rev* 23: 411-456.

Li YK, You HJ, Pan H. 2000. Mechanistic study of β-xylosidase from *Trichoderma koningii* G-39. *J Biochem* 127:315-320.

Sakka K, Yoshihawa K, Kojima Y, Karita S, Ohmiya K, Shimada K. 1993. Nucleotide Sequence of the *Clostridium stercorarium* xylA gene encoding a bifunctional protein with α-L- arabinofuranosidase.and β-D-xylosidase activities, and properties of translated product. *Biosci Biotech Biochem* 57: 268-272.

Shallom D, Belakhov V, Solomon D, Shoham G, Baasov T, Shoham Y. 2002. Detailed kinetic analysis and identification of the nucleophile in α-L-arabinofuranosidase from *Geobacillus stearothermophilus* T6, a family 51 glycoside hydrolase. *J Biol Chem* 277:43667-43673.

Subramaniyan S, Prema P. 2002. Biotechnology of microbial xylanases : enzymology, molecular biology, and application. *Critical Rev Biotechnol* 22: 33-64.

Teather R, Wood PJ, 1982. Use of congo red-polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovin rumen. *Appl Environ Microbiol* 43:777-780.

Wendisch FK, Kurtzner HJ. **1992**. Role of *Streptomycetaceae* in biodegradation in: Balows A, Truper H, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editor. *The Procaryotes, A Handbook On The Bacteria: Ecophysiology,Isolation, Identification, Application. 2nd ed.* vol 1. Springer-Verlag. New York

BATCH AND CONTINUOUS DIRECT LACTIC ACID FERMENTATION FROM CASSAVA by *Streptococcus bovis*

Suripto Dwi Yuwono and Sony Widiarto*
*Department of Chemistry, University of Lampung,
Jalan Prof.Dr. Sumantri Brojonegoro 1 Bandar Lampung, Indonesia
E-mail: yuwen_5774@yahoo.com

ABSTRACT

Process variables were optimized for the production of lactic aid from pretreated cassava by *Streptococcus bovis* for batch and continuous fermentations. In the batch fermentation, maximum yield 82.5% and maximum lactic acid productivity 2.43 was achieved at 39 ^{o}C, pH 5.5 with 50 g/L cassava concentration. In the continuous fermentation, dilution rates analyzed were between 0.03 to 0.06 h^{-1}. The lactic acid concentration, productivity and specific growth rate increased gradually with increase of dilution rate to a maximum at D = 0.05 h^{-1}. Maximum productivity (1.25 g/l.h) and specific growth rate (0.59 h^{-1}) were obtained at dilution rate of 0.05 h^{-1}.

Keywords: Batch fermentation, continuous fermentation, lactic acid, cassava, *Streptococcus bovis*

INTRODUCTION

Lactic acid is a natural organic with long history in food, pharmaceutical, chemical and personal care industries (Benninga H. 1990). Polymerization of lactic acid will produce poly lactic acid (PLA), a biodegradable plastic primarily used as surgical implants, drug delivery system and artificial scaffold materials in biomedical application (Kulkarni, R.K. et al, 1996; Huh, K.M, et al, 2003; O`connor, A, et al,2004). Lactic acid can be commercially manufactured either by chemical synthesis or by biotechnological fermentation. However, the production of lactic acid through biotechnological fermentation has recently gained a great interest due to environmental pollution caused by petrochemical industries and depletion of petrochemical resource. The fermentative production of lactic acid can be regarded as a green technology not only because renewable substrates are used for its production, but also because CO_2, a greenhouse gas, is in corporate into lactic acid during the fermentation. Although a number of different substrate have been used for the biotechnological production lactic acid, most studies on raw materials for lactic acid production have been focused on the pure substrate, such as wheat (Shamala,, et. al, 1988), corn (Hoshino K.,et al, 1991), potato (Ray L, 1991), sorghum (Richter K.,et al., 1994), and Barley (Childs C.G.,et al, 1977). Herein, starch is fisting enzymatically liquefied and sacharified to glucose, which is fermented by microorganisms to lactic acid. The direct conversion of starch to lactic acid by bacteria with amylolytic and lactic acid producing characteristics will eliminate the liquefaction and scharification processes.

S. bovis is a homofermentative lactic aid microorganism; therefore it produces lactic acid. Very recently, it has been proved that *S. bovis* is very effective for production of lactic acid from raw starch (Narita, J., et al, 2004). We have also conducted batch lactic acid fermentation from glucose by *S. bovis* using various basal media and gave same interesting result (Ghofar, A., et al 2005). In this paper, we report on the production of lactic acid by batch and continuous fermentation of *S. bovis* from cassava.

MATERIALS AND METHODS

Seed Culture

S. bovis JCM 5802 was obtained from Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN Japan). *S. bovis* JCM 5802 is a facultative anaerobic and homofermentative bacteria producing mainly L-lactic acid. The strain was stored in deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) broth with skim milk at –80 ^{o}C. The medium composition was as follows (g l^{-1}): peptone, 10; meat extract, 10; yeast extract, 5; glucose, 20; K_2HPO_4, 2; sodium acetate, 5; diamonium citrate, 2; $MgSO_4$.7H2, 0.1; $MnSO_4.H_20$, 0.05; Tween 80 (poly sorbit-80). In preparation for each experiment, a stock culture was inoculated into 5 ml MRS broth incubated for 18 h on a shaking water bath maintained at 37 ^{o}C.

Medium Preparation

Cassava was as substrate, while trypto soya broth was used as the basic medium. The basic medium (trypto soya broth) consisted of the following (per liter of distilled water): 17 g peptone, 3 g soybean peptone, 2.5 g glucose, 2.5 g K_2HPO_4, 2.5 g KH_2PO_4, 5 g NaCl. The basic medium and substrate solution were then sterilized by autoclaving at 121 ^{o}C for 15 min.

Fermentation

Batch culture was carried out at 37 ^{o}C in a bioreactor (ABLE BMJ-01, Japan) with volume of 1L. It consists of a glass vessel with stainless steel endplates and three equally spaced vertical baffles. Agitation was provided by six plate-blades impeller located 4 cm above the bottom of the vessel. The temperature was controlled at 37 ^{o}C and agitation speed at 100 rpm. NH_4OH 6 N was used to maintain the pH at 5.5.
Continuous cultures were carried out with working volume 750 mL in a 1 L fermentor. Other fermentation conditions were the same as those described for the batch culture. After 24 h of batch operation, feeding solution was added at several different dilution rates, while an equal volume of spent medium was removed from the fermentor.

Analytical Methods

Lactic acid and glucose were determined by Biosensor (Bio Flow BF4, Oji Scientific Instruments Ltd). The biosensor is an analytical device of flow injection method (Bio Flow) using enzyme column and hydrogen peroxide. Two columns with different enzymes were used for the measurements. One column was packed with lactic acid dehydroganase to measure lactic acid concentration, while the other one was packed with glucose oxide to measure glucose concentration. High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to analyze organic compounds, including succinic acid, present in the fermentation broth. The HPLC system (Tosoh UV-8010) was equipped with UV detector 210 nm. The eluent was $NH_4H_2PO_4$ + H_3PO_4 (pH 2.5) at flow rate of 1 ml min^{-1}.

Cell growth during fermentation was determined aseptically sampling an aliquot of the cultures. Viable count samples were taken regularly, plated on a BCP agar medium and incubated at 39 ^{o}C for 48 h. After 48 h incubation the colonies were counted by colony counting method in Colony Forming Unit (CFU/mL).

RESULTS AND DISCUSSION

Batch culture

Analysis of fermentation broth using HPLC showed the lactic acid fermentation by *S. bovis* produced L-lactic acid (with 100% optical purity) in major amount and organic acids in minor amount (data not shown). Due to this reason, pH of fermentation sharply decreases as the fermentation progress. Maintaining pH fermentation at a value 5.5 or above is necessary, because pH lower than 5.0 will decrease microbial activity. pH control was carried out by addition neutralization. It can be Figure 1 that the control of pH worked well. It is also important to note that the sudden rise of pH in continuous fermentation was due to sudden addition of medium whose pH is higher than 5.5.
Anaerobic batch cultures of *S. bovis* have been studied for the production lactic acid from cassava. When 50 g/L of cassava were used, starch was consumed completely, and specific growth rate grew to 0.57 h^{-1} in 12 h of culture (Figure 1).

The concentration lactic acid, yield, and productivity of lactic acid obtained at the end of fermentation were 38.5, 82.5 %, and 2.43 g/l.h, respectively. Moreover, the batch experiment revealed that sufficient concentration of lactic acid can be achieved in 24 hours. The viable cell concentration followed a pattern similar to lactic acid with viable cells number observed at the same time as the maximum concentration of lactic acid was observed. The maximum concentration of viable cell in fermentation by *S. bovis* was 4.27 x 10^8 after 10 h of fermentation.

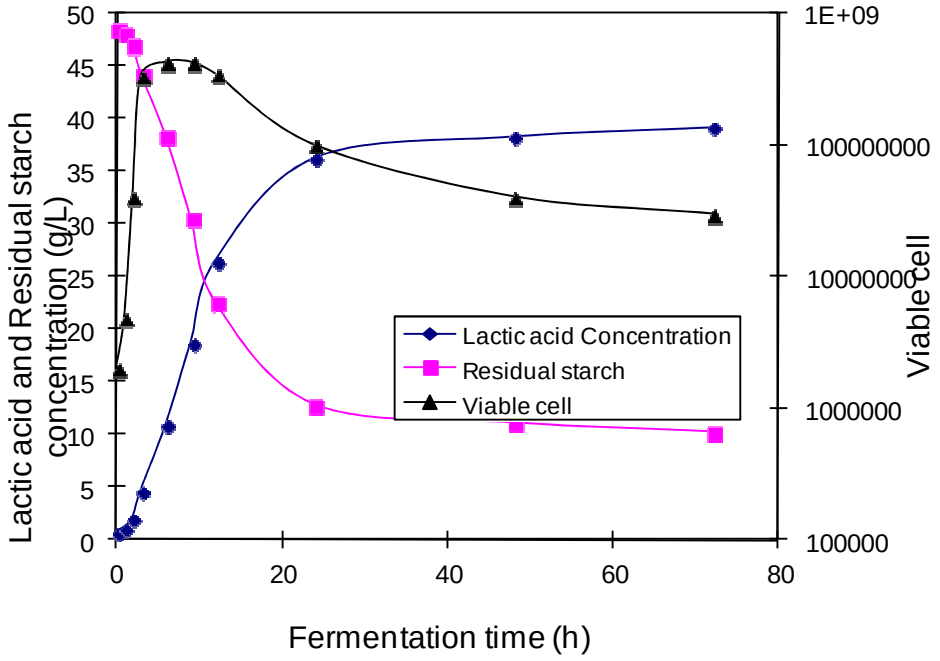


Figure 1. Time course of lactic acid, glucose and cell concentration of broth during batch fermentation.

Production of lactic acid using continuous culture fermentation

Although traditional batch fermentation appears to dominate the industrial today, there is much interest in developing more rapid methods of producing lactic acid, like continuous culture. In order to provide information on substrate utilization and volumetric productivities over a wide range rates, continuous culture of *S. bovis* was investigated in bioreactor. The substrate concentration was 50 g/l. Dilution rates analyzed were between 0.03 and 0.06 h^{-1}. Figure 2 shows the effect of dilution rate on the rate both lactic acid

and specific growth rate. Both lactic acid and specific growth rate increased gradually with increase of dilution rate to a maximum at D = 0.05 h^{-1}. Maximum productivity (1.25 g/l.h) and specific growth rate (0.59 h^{-1}) were obtained at dilution rate of 0.05 h^{-1}.

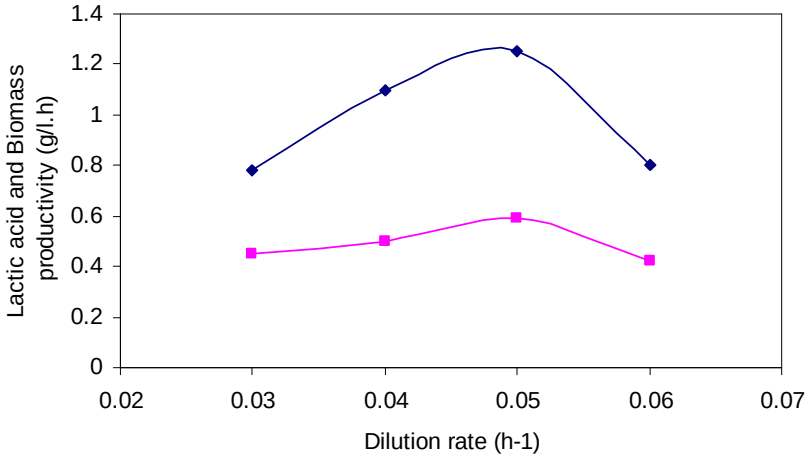


Figure 2. The effect of dilution rate (D) on biomass productivity and lactic acid productivities in effluent of continuous fermentation of *S. bovis* (■: biomass productivity, ●: lactic acid productivity)

CONCLUSION

In this study batch and continuous fermentations of lactic acid from cassava by *S. bovis* were conducted. In batch mode, lactic acid production and yield (38.5 g/l and 82.5%) and maximum productivities (2.43 g/l.h) were observed at pH 5.5 and 39 ^{o}C with 50 g/l initial cassava concentration. In continuous mode, maximum lactic acid concentration was obtained at low dilution rate, while the maximum productivity was recorded at D= 0.5 h^{-1}.

REFERENCES

Benninga H. 1990. A history of lactic acid Making. Dordrecht: Kluwer Academic.

Kulkarni, R.K. Pani, K.C., Neuman, C., Leoranard.F (1996): Polylactic Acid for Surgical Implants, Arch. Surg., **93**, pp 839-843.

Huh, K.M, Cho Y.W., Park, K, (2003), PLGA-PEG Block Polymers for Drug Formulations, Drug Delivery Technology, **3**(5), pp.44-49.

O`connor, A., Riga, A., Turner and J.F (2004), Determination of crystalline content gradients in Cold-Drawn Poly-L-Lactic acid Films by DSC, J. Therm.Anal.and Calor., **76**(2),pp.455-470.

Shamala, T.R. and Sreekantiah, K.R., Fermentation of starch hydrolysates by Lactobacillus plantarum. *J.Ind.Microbiol*. **3**, 175-178, (1988).

Hoshino K., M. Taniguchi, H. Marumoto, K. Shimizu and M. Fuji, Continuous Lactic Acid Production From Raw Starch in a Fermentation System Using a Reversibly Soluble-auto Precipitating Amylase and Immobilized Cells of *Lactobacillus casei*, *Agri Bio Chem*., **55**, 479-85, (1991).

Ray L, Mukherjee G, Majumdar S.K, Production of Lactic Acid from Potato Fermentation, *Ind J Exp Biol*, **29**:681-5, (1991).

Richter K. and A. Trager, L(+)-Lactic Acid From Sweet Sorghum by Submerged and Solid-state Fermentations, *Acta Biotechnol*., **14**, 367-78, (1994).

Childs C.G. and B. Welsby, Continuous Lactic Acid Fermentation, *Process biochem*. **1**, 441-4, (1977).

Narita, J., Nakahara, S., Fukuda, H and Akhihiro K (2004), Efficient Production of L(+) Lactic acid from Raw starch by Streptococcus bovis 148, J. Biosci.Bioeng., **97**, pp. 423-425.

Ghofar, A., S. Ogawa, and T. Kokugan; "Production of L-Lactic Acid from Fresh Cassava Roots Slurried with Tofu Liquid Waste by *Streptococcus bovis*," *J. Biosci. Bioeng.,* **100** (6), 606-612 (2005).

Yang ST, Zhu H,Li Y, Hong G (1994), Continuous propionate production from whey permeate using a novel fibrous bed bioreactor, biotechnol bioeng 43:1124-1130.

PENINGKATAN STABILITAS TERMAL ENZIM PROTEASE DARI *Rhizopus oligosporus* DENGAN PENAMBAHAN SORBITOL

Yandri A. S. dan Eka Yuliana
Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145
e.mail: yandrias@unila. ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas termal enzim protease yang dihasilkan oleh *Rhizopus oligosporus* dengan penambahan sorbitol. Untuk mencapai tujuan tersebut, dilakukan produksi, isolasi, dan pemurnian enzim. Enzim hasil pemurnian ditambah sorbitol dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 M. Keberhasilan penambahan sorbitol ditunjukkan dengan membandingkan stabilitas termal enzim protease sebelum dan sesudah ditambahkan sorbitol.

Hasil penelitian menunjukkan enzim hasil pemurnian memiliki aktivitas spesifik sebesar 21,13 u/mg, yang meningkat 227,20 kali terhadap ekstrak kasar. Stabilitas termal enzim hasil pemurnian pada suhu 60^{o}C ditunjukkan oleh nilai $t_{1/2}$ = 38,72 menit; k_i = 0,0179 menit^{-1}; ΔG_i = 104,331 kJ mol^{-1}. Enzim hasil pemurnian memiliki aktivitas sisa sebesar 0,40% setelah penyimpanan 300 menit pada suhu 60^{o}C. Stabilitas termal enzim setelah penambahan sorbitol 0,5; 1; dan 1,5 M pada suhu 60^{o}C ditunjukkan oleh nilai berturut-turut $t_{1/2}$ = 280,9 menit, k_i = 0,002467 menit^{-1}, ΔG_i = 109,833 kJ mol^{-1}; $t_{1/2}$ = 300 menit, k_i = 0,002310 menit^{-1}, ΔG_i = 110,015 kJ mol^{-1}; $t_{1/2}$ = 299,74 menit, k_i = 0,002312 menit^{-1}, ΔG_i = 110,013 kJ mol^{-1}. Enzim setelah penambahan sorbitol 0,5; 1; dan 1,5 M memiliki aktivitas sisa berturut-turut sebesar 47,36; 49,11; dan 49,57 % setelah penyimpanan selam 300 menit pada suhu 60^{o}C. Penambahan sorbitol dapat meningkatkan stabilitas termal enzim.

Kata Kunci: Protease, Rhizopus oligosporus, Sorbitol

PENDAHULUAN

Enzim adalah produk protein sel hidup yang berperan sebagai biokatalisator. Beberapa kelebihan yang dimiliki enzim yaitu mengkatalisis reaksi yang bersifat spesifik sehingga meminimalkan reaksi samping, dan bekerja pada kondisi yang ramah (*mild*). Keunggulan enzim sebagai biokatalisator ini menyebabkan enzim menjadi pilihan dibandingkan katalis kimia seperti asam atau basa kuat, pelarut atau bahan kimia lain yang bersifat toksik dan membahayakan lingkungan (Vidianingsih, 2002). Hal ini turut mendukung meluasnya aplikasi enzim pada proses-proses industri.

Beberapa kendala dari aplikasi enzim dalam proses-proses industri adalah harga enzim yang relatif mahal dan rendahnya stabilitas enzim (mudah rusak), khususnya bila digunakan dalam proses produksi yang menggunakan suhu tinggi. Pada suhu tinggi, enzim akan mengalami denaturasi yang membuat enzim menjadi inaktif. Sedangkan penggunaan suhu tinggi dikehendaki pada proses katalisis industri, selain untuk mengurangi kontaminasi mikroba, juga bertujuan untuk meningkatkan laju reaksi dan mengurangi masalah-masalah viskositas (Ahern dan Klibanov, 1987). Illanes (1999) melaporkan beberapa strategi untuk meningkatkan stabilitas enzim, yaitu penggunaan aditif sebagai penstabil, modifikasi kimia pada struktur enzim, derivatisasi, amobilisasi,

kristalisasi, dan protein *engineering*. Penggunaan aditif sebagai penstabil dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitas enzim (Suhartono, 1989).

Secara umum, senyawa aditif digolongkan ke dalam substrat dan senyawa sejenis, golongan senyawa bermuatan dan polimer, golongan senyawa organik kecil tak bermuatan seperti poliol (polihidroksi alkohol). Poliol yang diketahui reaktif adalah yang mengandung tiga karbon atau lebih. Etilen glikol yang mengandung dua atom karbon dan gugus hidroksil menunjukkan sifat diantara senyawa poliol dan senyawa sejenis yang lebih hidrofobik. Senyawa- senyawa ini menimbulkan hidrasi air sehingga konformasi protein terjaga dari kemungkinan membuka.

Diantara enzim industri, saat ini protease merupakan enzim yang paling penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Hal ini dapat dilihat dari jumlah penjualan enzim protease yang mencapai 60% dari total penjualan enzim dunia yang mencapai 1 milyar dollar AS per tahun (Sumantha *et al*., 2006).

Enzim protease dapat diperoleh dari tanaman, hewan, dan mikroba. Penggunaan mikroba sebagai penghasil enzim memiliki beberapa keuntungan, diantaranya biaya produksi yang relatif murah, dapat diproduksi dalam waktu singkat sesuai dengan permintaan, mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi dan mutunya seragam, dan aktivitas dapat ditingkatkan, serta mudah dikontrol. Protease mikroba merupakan enzim yang dapat mengkatalisis hidrolisis protein dan dapat dihasilkan oleh kapang secara ekstraseluler. Salah satu jenis kapang yang dapat menghasilkan enzim protease dengan aktivitas katalitik yang tinggi adalah *Rhizopus oligosporus.* Enzim protease dari *Rhizopus oligosporus* diketahui memiliki suhu optimum 40^{o}C (Herasari, 1994). Menurut Sumantha *et al*., (2006), enzim protease dari *Rhizopus sp* memiliki suhu optimum pada kisaran 40 - 55^{o}C dan kestabilan yang rendah terhadap suhu sehingga perlu dilakukan penambahan aditif seperti poliol untuk meningkatkan stabilitas termalnya. Pada penelitian ini untuk meningkatkan stabilitas termal enzim protease yang dihasilkan oleh *Rhizopus oligosporus* dilakukan dengan penambahan sorbitol.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Kapang penghasil protease yang digunakan adalah *Rhizopus oligosporus* L-36 yang didapatkan dari Laboratorium Teknologi Fermentasi ITB. Bahan-bahan yang digunakan adalah *potatoes dextros agar* (PDA), pepton, ekstrak ragi, NaCl, buffer pospat, akuades, sorbitol, larutan TCA (*tricloro acetic acid*), larutan kasein, larutan *bovine serum albumin* (BSA), tirosin, Na_2CO_3, NaOH, $CuSO_4.5H_2O$, reagen *folin ciocelteau*, Na/K tartarat, $(NH_4)_2SO_4$, kolom CM-sephadex C-50.

Alat-alat yang digunakan adalah kapas, autoklaf model SN-90, jarum ose, spektrofotometer Hitachi U2010, *environment shaker*, inkubator, neraca analitik, pengaduk magnet, pH meter, pipet mikro, pembakar spritus, sentrifuge, lemari pendingin, batang pengaduk, penangas air, dan alat-alat gelas lainnya.

Prosedur Penelitian

Isolasi dan pemurnian enzim

Isolasi enzim dilakukan dengan memisahkan enzim dari konstituen seluler lainnya menggunakan sentrifugasi pada 6000 rpm suhu 4 ^{o}C selama 30 menit. Filtrat yang diperoleh disebut ekstrak kasar enzim. Pemurnian enzim dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu: pengendapan dengan amonium sulfat dengan berbagai tinggkat kejenuhan; dialisis; dan kromatografi kolom penukar kation CM-Sephadex C-50.

Pengujian aktivitas enzim dan penentuan kadar protein

a. Pengujian aktivitas protease metode Kunitz (Yamaguchi *et al.* 1982)
Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 1 mL larutan kasein, 1 mL larutan enzim. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 60 ^{o}C selama 30 menit dan tambahkan 3 mL larutan TCA secara tepat, aduk dan diamkan kurang lebih 30 menit pada suhu ruang agar pengendapan berjalan sempurna. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan penyaringan atau sentrifugasi. Absorbansi filtrat diukur dengan spektrofotometer ultra ungu-tampak pada panjang gelombang 280 nm. Kontrol dibuat dengan memasukkan 1 mL larutan enzim, diinkubasi pada suhu 60 ^{o}C selama 30 menit, kemudian tambahkan 3 mL larutan TCA dan 1 mL larutan kasein. Aktivitas dihitung berdasarkan jumlah peptida sederhana yang terbentuk dengan menggunakan kurva standar tirosin.

b. Pengujian kadar protein metode Lowry (Lowry *et al.* 1951).
Sebanyak 0,1 mL larutan enzim ditambahkan 0,9 mL air dan 5 mL pereaksi C, dikocok dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 mL pereaksi D, dikocok dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan dibaca pada panjang gelombang 750 nm. Untuk menentukan konsentrasi protein enzim digunakan kurva standar BSA.

Karakterisasi Enzim Sebelum dan Setelah Penambahan Sorbitol

Penentuan pH optimum

Penentuan pH optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim terhadap substrat kasein pada variasi pH 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; dan 9 pada suhu 60 ^{o}C selama 30 menit.

Penentuan suhu optimum

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim terhadap substrat kasein dalam buffer pospat pH optimumnya dengan variasi suhu 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, dan 75 ^{o}C selama waktu inkubasi 30 menit.

Penentuan K_M dan V_{maks}

Harga K_M dan V_{maks} ditentukan dengan menguji aktivitas enzim protease dengan variasi konsentrasi substrat 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1% dalam buffer pospat pH optimumnya dan pada suhu optimumnya selama 30 menit.

Pengaruh Penambahan Poliol (sorbitol) Terhadap Aktivitas Enzim

Penentuan suhu optimum enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol

Larutan sorbitol ditambahkan kepada enzim hingga konsentrasi 0,5; 1;1,5 M. Sebanyak 1 mL campuran ditambahkan 1 mL substrat kemudian di inkubasi selama 30 menit pada suhu 40, 45, 50, 55, 60, 65, dan 70 ^{o}C dalam *waterbath*. Banyaknya asam amino dan peptida sederhana yang terbentuk ditentukan dengan metode Kunitz. Sebagai kontrol, 1 mL enzim tanpa penambahan sorbitol di inkubasi pada waktu dan suhu yang sama. Enzim kontrol ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penambahan sorbitol terhadap aktivitas sisa enzim.

Pengaruh sorbitol terhadap stabilitas termal enzim protease

Campuran enzim dan sorbitol dengan konsentrasi 0,5; 1; 1,5M diinkubasi pada suhu optimumnya selama 0, 60, 120, 180, 240, dan 300 menit setelah itu dilakukan uji aktivitasnya. Sebagai kontrol, enzim tanpa penambahan sorbitol diinkubasi pada suhu dan waktu yang sama. Enzim kontrol ini digunakan sebagai pembanding terhadap pengaruh penambahan sorbitol terhadap stabilitas termal enzim pada waktu yang telah ditentukan di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Enzim

Isolasi enzim protease

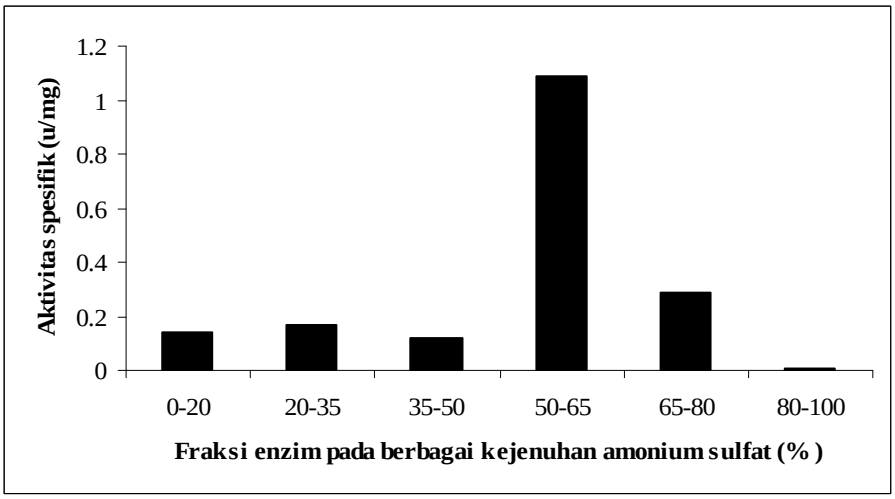
Enzim protease dari *Rhizopus oligosporus* di isolasi dengan memfermentasikan isolat kapang pada media yang terdiri dari pepton 0,5%; ekstrak ragi 0,15%; dan NaCl 0,25%. Fermentasi dilakukan pada *shaker* inkubator selama 48 jam pada suhu 35 ^{o}C (Ikram *et al*., 2003). Ekstrak kasar enzim protease memiliki aktivitas unit sebesar 0,065 u/mL dengan kadar protein 0,7 mg/mL.

Pemurnian enzim protease

Pemurnian enzim dilakukan melalui tiga tahap, yaitu fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis, dan kromatografi kolom penukar kation CM-Sephadex C-50.

a. Fraksinasi dengan amonium sulfat

Pada tahap ini ekstrak kasar enzim ditambahkan garam amonium sulfat dengan 6 tingkat kejenuhan (Gambar 1).



Gambar 1. Hubungan antara kejenuhan amonium sulfat dengan aktivitas spesifik enzim protease.

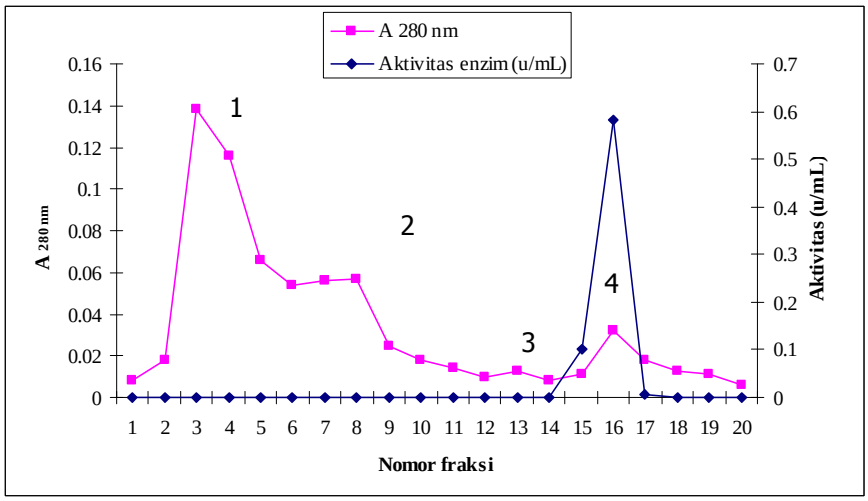
Gambar 1 menunjukkan enzim protease mempunyai aktivitas tertinggi pada fraksi 50-65% dengan aktivitas spesifik 1,09 u/mg. Data pada Gambar juga menunjukkan masih ada enzim yang terendapkan pada fraksi-fraksi lain selain fraksi 80-100% yang masih cukup besar. Jika pengendapannya hanya dilakukan pada fraksi 50-65% saja, dikhawatirkan akan banyak enzim yang hilang selama proses dan aktivitas protease tidak cukup besar untuk pemurnian selanjutnya. Oleh karena itu untuk tahap pemurnian selanjutnya protease diendapkan dengan amonium sulfat 0-35% dan 35-85%. Fraksi 0-35% tidak digunakan pada tahap selanjutnya karena dimungkinkan merupakan jenis enzim protease yang berbeda dan memiliki aktivitas yang rendah, sehingga yang digunakan untuk tahap selanjutnya adalah fraksi 35-85%.

b. Dialisis

Enzim protease hasil fraksinasi amonium sulfat 35-85% dimurnikan lebih lanjut dengan cara dialisis. Dengan dialisis diharapkan akan terjadi pemisahan protein dari garam-garam dan ion-ion lainnya. Proses dialisis menggunakan membran semipermeabel agar terjadi perpindahan ion-ion karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar membran. Enzim protease hasil dialisis fraksi 35-85% menunjukkan aktivitas spesifik 1,28 u/mg dan meningkat 13,76 kali dibanding ekstrak kasar dengan perolehan 84,56%.

c. Kromatografi kolom penukar kation CM-Sephadex C-50

Pemurnian enzim dengan penukar kation CM-Sephadex C-50 dimulai dengan penentuan buffer yang sesuai untuk kolom penukar kation tersebut. Dari hasil percobaan yang dilakukan, enzim tidak dapat menukar *counter* ion pada pH 6,5. Enzim dapat menukar *counter* ion dengan baik di bawah pH 6,5 yaitu pH 5,5 maka digunakan buffer pospat 0,02 M pH 5,5 sebagai buffer awal. Sedangkan buffer untuk elusi digunakan buffer pospat pH 7 yang mengandung NaCl 1 M. Pola protein (A_{280}) dan aktivitas unit (u/mL) enzim protease hasil kromatografi kolom penukar kation CM-Sephadex C-50 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram enzim protease dari *Rhizopus oligosporus* pada kolom CM-Sephadex C-50.

Gambar 2 menunjukkan terdapat 4 puncak protein yang terpisah cukup baik. Puncak pertama merupakan puncak protein yang paling tinggi, namun tidak memiliki aktivitas protease. Begitu pula dengan puncak 2 yang merupakan puncak protein yang cukup besar, namun aktivitas protease juga tidak ada. Puncak ke 3 merupakan puncak protein terendah dan juga tidak terdapat aktivitas protease. Sedangkan pada puncak 4, puncak protein cukup besar dibandingkan puncak 3 dan dengan aktivitas protease yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa sudah terjadi pemisahan protein dengan baik. Aktivitas protese yang tinggi terdapat pada fraksi 15 dan 16. Fraksi nomor 16 merupakan fraksi dengan aktivitas tertinggi yaitu dengan aktivitas unit sebesar 0,58 u/mL dan aktivitas spesifik 21,13 u/mg, meningkat 227,20 kali terhadap ekstrak kasar. Hasil pemurnian enzim protease dari *Rhizopus oligosporus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat terjadi penurunan kadar protein dan protein total, serta penurunan aktivitas total enzim, yang diiringi dengan kenaikan aktivitas spesifik dan tingkat kemurnian enzim. Penurunan kadar protein dan protein total menunjukkan bahwa pada tiap tahap pemurnian enzim, protein terlarut yang terdapat dalam larutan sampel dapat dipisahkan dari protein enzim itu sendiri, sehingga tujuan proses pemurnian enzim dapat tercapai. Penurunan aktivitas total enzim dari ekstrak kasar ke fraksi 35-85% amonium sulfat jenuh kemungkinan disebabkan karena ekstrak kasar enzim sangat encer sehingga tidak semua enzim terendapkan oleh amonium sulfat, atau enzim kehilangan aktivitas selama proses pemurnian. Hal yang sama juga terjadi pada proses pemurnian dari fraksi amonium sulfat ke fraksi kromatografi kolom. Enzim hasil pemurnian dengan kromatografi kolom menunjukkan tingkat kemurnian yang tinggi yaitu 227,20 kali dibandingkan ekstrak kasar.

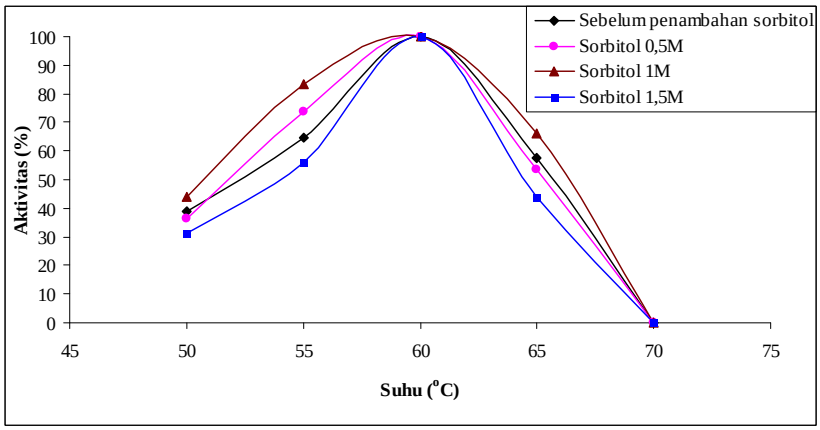
Tabel 1. Pemurnian enzim protease dari *Rhizopus oligosporus*

Tahap	Vol. (mL)	Aktivitas total (u)	Protein (mg/mL)	Protein total (mg)	Aktivitas spesifik (u/mg)	Kemur-nian (kali)	Peroleh-an (%)
Ekstrak kasar	2230	144,95	0,70	1561	0,093	1	100
Fraksinasi amonium sulfat (35-85%) hasil dialisis	227	122,58	0,42	95,34	1,28	13,76	84,56
Kromatografi kolom CM-sephadex C-50	170	98,77	0,0275	4,68	21,13	227,20	68,14

Karakterisasi Enzim Sebelum dan Setelah Penambahan Sorbitol

Penentuan suhu optimum

Aktivitas (%) enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol (0,5M; 1 M; dan 1,5M) pada berbagai suhu dapat dilihat pada Gambar 3. Suhu optimum enzim sebelum penambahan sorbitol berdasarkan Gambar 3 adalah 60^{o}C. Sedangkan suhu optimum enzim setelah penambahan sorbitol juga sama, yaitu 60^{o}C. Walaupun suhu optimum enzim setelah penambahan sorbitol tidak mengalami kenaikan dibandingkan enzim sebelum penambahan sorbitol, akan tetapi stabilitas enzim setelah penambahan sorbitol 1M meningkat terutama pada suhu 55-65 ^{o}C. Pada suhu 65^{o}C enzim sebelum penambahan poliol mempunyai aktivitas sebesar 57,5% sedangkan enzim dengan penambahan sorbitol 1M sebesar 65,92%. Penambahan sorbitol dengan konsentrasi 0,5M hanya meningkatkan stabilitas enzim pada suhu 55^{o}C, sedangkan sorbitol 1,5M justru memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan enzim sebelum penambahan sorbitol. Penambahan senyawa aditif seperti poliol tidak selalu menyebabkan terjadinya perubahan suhu optimum enzim (Yandri, 2004).

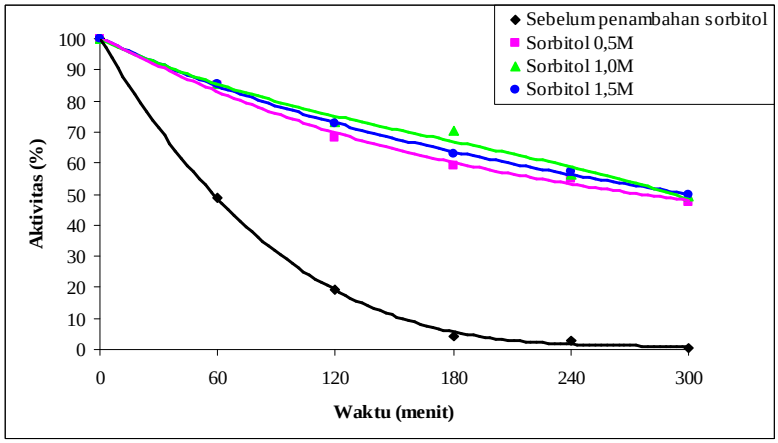


Gambar 3. Suhu optimum enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol (0,5M;1M; 1,5M)

Penentuan stabilitas termal enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol

Kurva uji stabilitas termal enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol 0,5M; 1M; dan 1,5M dapat dilihat pada Gambar 4. Gambar 4 menunjukkan aktivitas sisa (*residual*

activity) masing-masing enzim pada suhu 60°C selama 300 menit. Enzim sebelum penambahan sorbitol mempunyai aktivitas sisa sebesar 0,40% dan enzim setelah penambahan sorbitol 0,5M; 1M; dan 1,5M berturut-turut adalah 47,36%; 49,11%; dan 49,57%. Terlihat jelas bahwa enzim setelah penambahan sorbitol memiliki aktivitas sisa yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan enzim sebelum penambahan sorbitol.



Gambar 4. Stabilitas termal enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol (0,5M; 1M; dan 1,5M) dinyatakan dengan grafik antara aktivitas sisa (%) terhadap waktu, pada suhu 60°C.

Gambar 4 menunjukkan penambahan sorbitol 1M ternyata memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan sorbitol 0,5M dan 1,5M, dengan bentuk kurva yang lebih datar yang berarti selama inaktivasi termal enzim tidak banyak kehilangan aktivitasnya. Penambahan sorbitol 1M juga meningkatkan stabilitas termal enzim β-glukosidase dengan aktivitas sisa 75% selama 60 menit (Bernier *et al.*, 1988). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suhartono *et al.*, (1994) bahwa penambahan sorbitol sampai konsentrasi tertentu ke dalam filtrat enzim yang strukturnya masih fleksibel kemungkinan meningkatkan interaksi hidrofobik di dalam molekul enzim dan karenanya bersifat lebih tahan selama penyimpanan.

Penambahan sorbitol terhadap enzim pemurnian menunjukkan pengaruh yang baik terhadap stabilitas struktur enzim. Mekanisme stabilisasi struktur yang terjadi pada enzim hasil pemurnian akibat penambahan sorbitol dapat dijelaskan sebagai berikut: sorbitol melakukan interaksi hidrogen dengan molekul air lingkungan sehingga menyebabkan struktur enzim yang masih fleksibel menjadi lebih kompak akibat meningkatnya interaksi hidrofobik di dalam molekul enzim (Suhartono *et al.*, 1994; Lozano *et al.*, 1994), dan molekul sorbitol membentuk suatu lapisan permukaan pada protein dan selubung air di sekeliling molekul protein sebagai pelindung, hal ini menyebabkan konformasi protein lebih rigid (Matsumoto *et al.*, 1997).

a. Perubahan energi akibat denaturasi (ΔG_i), waktu paruh ($t_{1/2}$), dan k_i (konstanta laju inaktivasi termal) enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol

Perubahan energi akibat denaturasi (ΔG_i), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan nilai k_i enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perubahan energi akibat denaturasi (ΔG_i), waktu paruh ($t_{1/2}$), dan nilai k_i enzim sebelum dan setelah penambahan sorbitol 0,5M; 1M; dan 1,5M

Enzim	k_i (menit^{-1})	$t_{1/2}$ (menit)	ΔG_i (kJ mol^{-1})
Sebelum penambahan sorbitol	0,017900	38,72	104,331
Sorbitol 0,5M	0,002467	280,90	109,833
Sorbitol 1M	0,002310	300	110,015
Sorbitol 1,5M	0,002312	299,74	110,013

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ΔG_i enzim setelah penambahan sorbitol mengalami peningkatan dibandingkan enzim sebelum penambahan sorbitol. Ini menunjukkan bahwa enzim dengan penambahan sorbitol semakin rigid dan kurang fleksibel sehingga energi yang diperlukan untuk mendenaturasi enzim juga semakin tinggi.

Semua enzim setelah penambahan sorbitol meningkat waktu paruhnya antara 7 – 8 kali dibandingkan enzim sebelum penambahan sorbitol. Menurut Stahl (1999), stabilitas termal enzim ditentukan dengan menentukan waktu paruh enzim tersebut. Enzim dengan penambahan sorbitol 0,5M; 1M; dan 1,5M mampu meningkatkan waktu paruh dari 38,72 menit menjadi 280,9; 300; 299,74 menit. Sedangkan Bernier *et al.*, (1988) juga melaporkan terjadinya kenaikan waktu paruh dari 1,5 menit menjadi 6 menit pada 63^{o}C terhadap enzim β-glukoksidase dengan penambahan sorbitol 1M. Waktu paruh enzim dengan penambahan sorbitol 1M dan 1,5M tidak jauh berbeda, yang berarti semakin tinggi konsentrasi sorbitol belum tentu memberikan efek kestabilan yang lebih besar.

Tabel 2 juga menunjukkan terjadi penurunan nilai k_i (konstanta laju inaktivasi termal) untuk masing-masing enzim dengan penambahan sorbitol, ini berarti terjadi penurunan laju denaturasi enzim setelah penambahan sorbitol dibandingkan enzim sebelum penambahan sorbitol. Semakin rendah nilai k_i maka ΔG_i akan semakin besar yang berarti semakin banyak energi yang dibutuhkan untuk mendenaturasi enzim. Nilai k_i yang besar menunjukkan bahwa enzim tersebut fleksibel dalam larutan yang menyebabkan enzim tersebut lebih mudah terdenaturasi. Sedangkan nikai k_i yang rendah menunjukkan bahwa enzim kurang fleksibel (lebih rigid) sehingga energi yang diperlukan untuk mendenaturasi enzim juga semakin tinggi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut.

Aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian 21,13 u mg^{-1} protein, meningkat 227,20 kali dibandingkan dengan ekstrak kasar yang mempunyai aktivitas spesifik sebesar 0,093 u mg^{-1}. Uji stabilitas termal enzim protease hasil pemurnian tersebut pada suhu penyimpanan 60 ^{o}C selama 300 menit masih menunjukkan aktivitas sisa sebesar 0,40%, $t_{1/2}$ = 38,72 menit, k_i = 0,017900 menit^{-1}, dan ΔG_i = 104,331 kJ mol^{-1}.

Uji stabilitas termal pada suhu penyimpanan 60 ^{o}C selama 300 menit menunjukkan enzim dengan penambahan sorbitol 0,5 M mempunyai aktivitas sisa sebesar 47,36%, $t_{1/2}$ = 280,90 menit, k_i = 0,002467 menit^{-1}, dan ΔG_i = 109,833 kJ mol^{-1}; sorbitol 1 M

mempunyai aktivitas sisa 49,11%, $t_{1/2}$ = 300 menit, k_i = 0,002310 menit^{-1}, dan ΔG_i = 110,015 kJ mol^{-1}; dan sorbitol 1,5 M memiliki aktivitas sisa sebesar 49,57%, $t_{1/2}$ = 299,74 menit, k_i = 0,002312 menit^{-1}, dan ΔG_i = 110,013 kJ mol^{-1}. Penambahan sorbitol dapat meningkatkan stabilitas termal enzim.

Saran

Disarankan untuk menggunakan senyawa poliol selain sorbitol dan mempelajari kestabilannya terhadap pH, serta dapat mempelajari pengaruh poliol terhadap enzim selain protease.

DAFTAR PUSTAKA

Ahern, T. J., dan A. M. Klibanov. 1987. Why Do Enzyme Irreversibly Inactive at High Temperature. *Biotec. I. Microbial Genetic Engineering and Enzyme Technology*. Gustav Fischer. Stuttgart. New York. PP. 131 – 136.

Bernier, R.F., dan Stutzenberger, F. J. 1988. Stabilization of β-glukoksidase by Polyhidric Alcohols. *Journal of Biotecnology*. Elsevier Science. New York. Nomor 7: 293 – 298.

Herasari, Dian. 1994. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Kapang *Rhizopus oligosporus*. Skripsi Unila. Bandar Lampung.

Ikram, H., Mukhtar, H., Daudi, S., Ali, S., dan Qadeer, A. 2003. Production of Protease by Locally Isolated Mould Culture under Lab Condition. *Journal Biotechnology*. Goverment College University. Pakistan. Nomor: 1(2): 30– 36.

Illanes, A. 1999. Stability of Biocatalysts. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*. Universidad Catolica de Valparaiso. Chile. Volume 2 (1).

Lowry, O.H., N.J., Rosebrough, A.L., Farr, R.J. Randall (1951), Protein measurment with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193-265.

Lozano, P., Didier, C., dan Jose, L. 1994. Effect of Polyols on α-Chymotrypsin Termostability: a Mechanistic Analysis of Enzyme Stabilization. *Journal of Biotechnology*. Elsevier Science Inc. New York. Nomor 35: 9 – 18.

Matsumoto, M., Kida, K., dan Kondo, K. 1997. Effect of Polyols and Organic Solvent on Thermostability of Lipase. *Journal Chem, Technol, Biotechnol*. Doshisha University. Japan. Nomor 70: 188 – 192.

Stahl, S. (1999), Thermophilic microorganisms: The biological background for thermophily and thermoresistance of enzymes in *Thermostability of Enzymes* (Gupta, M.N. editor), Springer Verlag, New Delhi, 59-60.

Suhartono, M. T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Dirjen DIKTI, PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 322 halaman.

Suhartono, M. T., Andarwulan, N., Malikah, I., dan Mariani. 1994. Daya Simpan Protease *Bacillus stearothermophillus, B. Subtilis dan B. Licheniformis*. Buletin Teknologi dan Industri Pangan. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. Nomor: 3(V): 13 – 18.

Sumantha, A., Christian , L., dan Ashok, P. 2006. Microbiology and Industrial Biotecnology of Food – Grade Proteases: A Perspective. *Food Technol. Biotechnol*. Aubiere Cedex. France. Volume 44 (2): 211 – 220.

Vidianingsih, R. 2002. Mempelajari Stabilitas Termal Enzim Protease dari *Bacillus pumilus y1* dalam Pelarut Heksana, Toluena, dan Benzena. Skripsi IPB. Bogor.

Yamaguchi, T., Y. Yamashita, I. Takeda, and H. Kiso (1982), Proteolytic enzymes in green asparagus, kiwi fruit and miut: occurence and partial characterization, *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1983-1986.

Yandri, A.S. 2004. Karakterisasi dan Modifikasi Kimia α-Amilase dari Bakteri Isolat Lokal *Bacillus subtilis* ITBCCB148. Disertasi ITB. Bandung.

POLIMER ANTIBAKTERI (*Antibacterial Polymer*) : V. STUDI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PLASTIK POLIPROPILEN TERGRAFTING 4-VINILPIRIDIN TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* DALAM MEDIA SUSU KEMASAN

Idra Herlina,[1] Wasinton Simanjuntak,[1] Irwan Ginting Suka,[1] Judi Hadisarjono,[2] Ambyah Suliwarno,[3] dan Martina Restuati[4]

[1]Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, [2]Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
Jl. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
[3]Pusat Penelitian Dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pasar Jum'at, Jakarta
[4]Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan, Jl. Willem Iskandar Pasar V Sampali, Medan 20221.

ABSTRAK

Telah dilakukan studi aktifitas antibakteri plastik polipropilen, plastik komersial yang umum digunakan untuk kemasan minuman, tergrafting 4-vinil piridin terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E.coli)* dalam media susu kemasan. Plastik polipropilen tersebut digrafting dengan 4-vinil piridin kemudian dikuartenasi dengan bromo butan dan dikarakterisasi dengan FT-IR untuk evaluasi fungsional gugus piridin yang tergrafting. Hasil penelitian menunjukkan bahwa plastik polipropilen tergrafting 4-vinil piridin menunjukkan aktifitas antibakteri terhadap *E.coli* dalam media susu kemasan, sama dengan aktivitasnya pada media air baku dalam penelitian sebelumnya. Sifat antibakteri semakin meningkat dengan perlakuan kuaternasi yang dilakukan.

Keyword: *Polyprophylene, Grafting, 4-vinylpyridine, Quaternation, Antibacterial, E.coli*

PENDAHULUAN

Polipropilen (PP) adalah salah satu polimer sintetik yang banyak digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan berbagai jenis peralatan rumah tangga, film, pipa, ember, pelapis kawat dan kabel, serta kemasan makanan maupun minuman. Pemanfaatan PP yang sangat luas ini didasarkan pda sifat-sifatnya yang baik, antara lain tahan terhadap kelembapan dan bahan kimia, mudah dibentuk dan dicetak, ringan dan harganya murah (Pasaribu, 2004). Dalam pemanfaatan PP sebagai bahan kemasan makanan dan minuman, ada kemungkinan suatu bakteri menempel sehingga dapat menyebabkan penyakit sesuai dengan jenis bakteri tersebut. Misalnya, bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan gastrointeritis, infeksi saluran kemih, bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan keracunan makanan yang disertai mual, muntah, dan diare dan lain sebagainya (Gupte, 1990). Kelemahan praktis polimer PP ini adalah tidak adanya sifat antibakteri dan kemampuannya mengadsorpsi protein, sehingga permukaannya menjadi lingkungan yang baik bagi pertumbuhan bakteri.

Luasnya penggunaan bahan polimer, termasuk polipropilen (PP), dan adanya ancaman kontaminasi mikrobiologis dalam penggunaannya telah mendorong berkembangnya upaya untuk merekayasa permukaan polimer agar mempunyai sifat antibakteri, misalnya menambahkan zat penghambat pertumbuhan bakteri seperti asam benzoat, asam sorbat, dan asam propionat kedalam bahan makanan dan minuman tersebut (Yandri, 2006). Beberapa peneliti melakukan penempelan (grafting) gugus pengemban sifat antibakteri pada permukaan polimer. Untuk tujuan tersebut, beberapa metode telah dikembangkan, antara lain blending (Paul and Bucknall, 2000), IPN (*Interpenitrating Polymer Networking*), dan polimerisasi grafting (Rohman, 2006).

Dari penelitian sebelumnya (Herlina dkk., 2010), plastik kemasan PP tergrafting 4-vinil piridin menunjukkan aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dalam media air baku. Senyawa 4-vinilpiridin merupakan senyawa polikationik (*polycationic antibacterial*) yang diketahui memiliki aktifitas antibakteri pathogen (Cen *et al., 2004).* Atom nitrogen yang dimiliki dapat di kuaternasi dengan cara yang sederhana menghasilkan kation poliammonium yang bersifat sebagai antibakterial (Juan *et al*., 2000; Cen *et al.,* 2004). Dalam penelitian ini dilakukan studi aktifitas antibakteri plastikPP tergrafting 4-vinil piridin terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E.coli)* dalam media susu kemasan. Uji aktivitas antibakteri dengan metode *colony counting*. Dengan metode ini, dapat diketahui apakah polipropilen (PP) tergrafting 4-vinil piridin mampu menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri pathogen yang ada dalam sampel minuman. Untuk mengevaluasi reaksi polimerisasi grafting 4-vinilpiridin pada polipropilen (PP) dikarakterisasi dengan FTIR yang mampu menunjukkan perubahan gugus yang terjadi pada permukaan polipropilen (PP).

PROSEDUR PERCOBAAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumber radiasi gamma (PATIR BATAN), labu refluks dan kondensor, pompa vakum, penangas air, oven, neraca analitik, termometer, tabung polimerisasi, sumber radiasi gamma, spektrofotometer IR , *magnetic stirrer*, cawan petri, pipet mikro, autoklaf, *laminar air flow*, incubator, *Colony Counter*, dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia.
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah plastik kemasan minuman jenis Polipropilen (PP) komersial, 4-vinilpiridin (4VP) Wako-Japan, metanol PA, metanol teknis, akuades, 1-bromoheptana, n-heksana, nutrient agar (NA), susu kemasan bubuk, dan sampel bakteri *Escherichia coli.*

Prosedur Kerja

Plastik kemasan minuman yang digunakan adalah jenis Polipropilen (PP) komersial. Perlakuan pertama adalah pemurnian PP dari bahan adiktif yang terkandung didalamnya. PP direfluks dengan metanol selama 8 jam pada suhu 65°C untuk menghilangkan bahan pengotor dan adiktif, kemudian dikeringkan dalam oven pada 40^{o}C selama 2 jam.

Radiasi Sinar Gamma pada Polipropilen

Pada penelitian ini, akan dibuat PP tergrafting 4VP dengan variasi persen grafting. Untuk memperoleh variasi persen grafting tersebut, dilakukan manipulasi terhadap beberapa faktor yang mempengaruhi polimerisasi grafting 4VP pada PP, yaitu dosis radiasi, konsentrasi monomer, jenis pelarut, suhu, dan waktu polimerisasi berdasarkan penelitian sebelumnya (Apriati, 2010). PP diradiasi dengan sinar gamma (γ) menggunakan Iradiator Panorama Serbaguna (IPRASENA). Sumber radiasi berasal dari sumber isotop Co^{60} dengan dosis radiasi 30 KGy. Radiasi dilakukan di Pusat Penelitian dan

Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional (P3TIR, Pasar Jum'at, Jakarta).

Grafting 4-vinilpiridin (4-VP) pada Polipropilen Terradiasi

PP yang telah diradiasi dimasukkan kedalam tabung polimerisasi yang telah terisi 40 mL larutan yang mengandung 4-VP 10% dan pelarut metanol : air 20%. Kemudian tabung polimerisasi diletakkan diatas penangas air pada suhu 60^{o}C selama 5 jam dan dialiri gas N_2. Setelah reaksi polimerisasi, PP dikeluarkan dari tabung polimerisasi, lalu direfluks dengan air pada suhu 80^{o}C selama 8 jam. Kemudian direfluks kembali menggunakan metanol untuk menghilangkan homopolimer yang terbentuk atau sisa 4-VP yang tidak berpolimerisasi grafting dengan PP, lalu dikeringkan pada suhu 40^{o}C selama 2 jam untuk mendapatkan berat konstan.

Kuaternasi Polipropilen Tergrafting 4-vinilpiridin (PE-g-4VP)

Prosedur kuaternasi cincin piridin pada PP-g-4VP dilakukan dengan prosedur Allison *et. al* (2007) yang dimodifikasi. Larutan n-heksana dan 1-bromobutana dengan perbandingan 1 : 3 ditambahkan ke dalam kemasan PP-g-4VP sebanyak 40 mL sesuai dengan volume 4-vinilpiridin pada saat grafting. Larutan beserta kemasan didinginkan selama 24 jam, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirer* selama 6 jam, lalu dikeringkan pada suhu 40^{o}C selama 2 jam untuk mendapatkan berat konstan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan PP tergrafting 4VP dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk melakukan percobaan ini, prosedur yang dilakukan yakni sebagai berikut:

Penyiapan Media Uji

Isolat bakteri dipindahkan ke media NA dengan teknik cawan gores (*streak plate*) untuk memperoleh pertumbuhan optimum dan kemurnian bakteri *E.coli.* Penyiapan media uji, dilakukan dengan pembuatan NA. Sebanyak 2,8 gram NA dilarutkan dalam 100 ml akuades, selanjutnya media dipanaskan dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121^{o}C, tekanan 1 atm selama 20 menit. Media NA steril kemudian dituangkan pada cawan sebanyak 15 mL/cawan serta dipadatkan sebagai lapisan satu (lapisan dasar) dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 24 jam. Jika tidak terlihat adanya kontaminan, maka media ini dapat digunakan untuk membiakkan bakteri dengan cara digores.

Sterilisasi Substrat

Substrat yang digunakan adalah susu bubuk kemasan (susu sapi). Proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoclave dan *laminar air flow*. Susu bubuk dan air diautoclave selama 2 jam, selanjutnya dimasukkan dalam *laminar air flow* dan dipancarkan sinar UV selama 15 menit. Setelah di *blower* selama 10 menit, susu bubuk dan air dicampurkan.

Preparasi Sampel dan Penghitungan Bakteri

Pada penelitian ini, proses pengenceran bakteri dilakukan dengan memasukkan satu ose bakteri kedalam 20 mL substrat. Bakteri yang digunakan adalah *E.coli* dengan substrat susu bubuk kemasan. Kemudian dilakukan homogenisasi dengan di vortex. Selanjutnya larutan tersebut diambil sebanyak 250 µL dan dimasukkan kedalam 20 mL substrat dan di homogenkan kembali. Larutan yang telah homogen diambil sebanyak 250 µL dan dimasukkan kedalam 20 mL substrat. Setelah dihomogenkan, larutan diambil sebanyak 250 µL dan dimasukkan masing-masing ke dalam lima sampel plastik kemasan yang telah berisi 40 mL substrat yaitu PP murni, PP yang telah di radiasi (PP radikal), PP-g-4VP dengan persen grafting 0,4 %, PP-g-4VP dengan persen grafting 0,8 %, dan PP-g-4VP yang telah di kuaternasi (PP-g-4VP-Q). Dilakukan penghitungan awal bakteri dengan variasi pengenceran yaitu langsung dari substrat (I), dan pengenceran dengan 10 mL

substrat sebanyak dua kali pengenceran (II dan III). Sampel diinkubasi dan dihitung jumlah bakteri yang ada didalamnya dengan prosedur yang sama setiap hari.

Karakterisasi dengan FTIR
Karakterisasi dengan IR dilakukan terhadap PP murni dan PP yang tergrafting 4VP untuk mengkonfirmasi telah tertempelnya senyawa 4VP pada PP.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran mengenai perubahan fisik dan perubahan fungsional pada plastik kemasan polipropilen (PP) akibat grafting 4-vinil piridin (4-VP) dan kuaternasi oleh bromo butana, telah diuraikan pada penelitian sebelumnya (Herlina dkk., 2010).

Uji Aktivitas Antibakteri
Pengembangbiakan Bakteri
Pada penelitian ini, bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli*. Untuk mengembangbiakan bakteri tersebut, dilakukan dengan menggunakan metode cawan gores (*streak plate*). *E.coli* dan hasil biakan dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Hasil biakan *E.coli* dengan metode cawan gores (*streak plate*) dalam media spesifik EMBA

Uji Pendahuluan
Uji pendahuluan ini dilakukan dengan menggunakan nutrient agar sebagai stater. Sebanyak 40 mL nutrient agar dan 1 mL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam polipropilen dan PP tergrafting 4-vinil piridin (PP-g-4VP). Bakteri yang di uji adalah *E.coli*. Bakteri di inkubasi selama 2 hari dan diamati pertumbuhannya. Hasil dari uji pendahuluan ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Zona bening merupakan indikator daya hambat pertumbuhan bakteri, semakin luas zona bening menunjukkan makin terhambatnya pertumbuhan bakteri. Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa koloni *E.coli* yang berwarna putih susu terbentuk jauh lebih sedikit dibandingkan pada polipropilen murni. Sehingga, disimpulkan bahwa PP yang telah digrafting 4VP, PP-g-4VP memiliki aktifitas anti bakteri, sebagaimana sifat dari 4-VP sebelum digrafting ke plastik kemasan (Juan *et al.*, 2000; Cen *et al.,* 2004).

Gambar 2. Uji aktivitas antibakteri secara langsung dengan menuangkan media NA serta bakteri *E.coli* pada plastik kemasan (1) Pertumbuhan *E.coli* pada PP-g-4VP; (2) Pertumbuhan *E.coli* pada PP murni

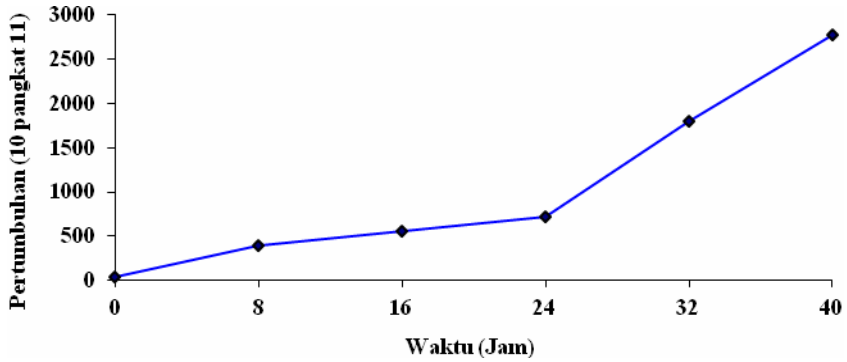
Uji dengan Metode Hitungan Cawan

Uji ini dilakukan dengan metode hitungan cawan (*plate count*). *Plate count*/ *viable count* didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai. Koloni yang tumbuh berasal dari suspensi yang diperoleh menggunakan pengenceran bertingkat dari sebuah sampel yang ingin diketahui jumlah bakterinya. Pada penelitian ini, proses pengenceran bakteri dilakukan dengan memasukkan satu ose bakteri kedalam 10 mL substrat. Bakteri yang digunakan adalah *E.coli* dengan substrat air baku. Kemudian dilakukan homogenisasi dengan di vortex.

Uji Aktifitas Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dalam Media Susu Kemasan

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan uji aktivitas antibakteri PP-g-4VP dan PP-g-4VP-Q pada media air baku dan menunjukkan hasil yang baik. Untuk memperluas cakupan aplikasi polimer antibakteri, pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri dilakukan pada susu kemasan. Karena air susu mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral dan mempunyai pH sekitar 6,8, tidaklah mengherankan bahwa, disamping merupakan makanan yang sehat bagi manusia juga merupakan medium pertumbuhan yang sangat baik bagi mikroorganisme. Bakteri non-patogen terdapat dalam air susu bahkan bila kondisi saniter yang paling ketat berlangsung. Akan tetapi perhatian utama kita ialah bahwa air susu merupakan sarana potensial bagi penyebaran mikroorganisme patogen.

Menurut Volk and Wheeler (1990), uji yang umum dilakukan untuk menentukan kualitas susu ada 6, yaitu uji fosfatase, penghitungan cawan standar, penghitungan keturunan (penghitungan mikroskopis langsung), uji reduktase, uji organisme coliformis, dan uji patogen tertentu. Pada penelitian ini, untuk menentukan daya hambat bakteri pada air susu, digunakan uji penghitungan cawan standar, serupa dengan uji yang dilakukan sebelumnya pada media air baku. Daya hambat bakteri dari PE-g-4VP dan PE-g-4VP-Q dengan media susu cenderung mirip dengan uji sebelumnya pada air baku. Pertumbuhan bakteri *E.coli* dalam media susu pada PE murni dapat dilihat pada Gambar 3.

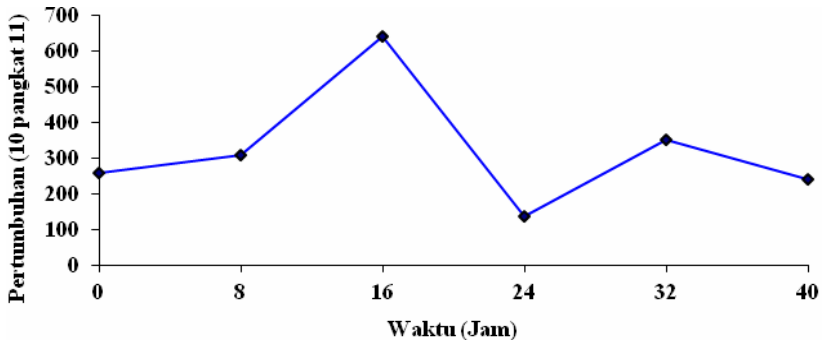


Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media susu dalam PP murni

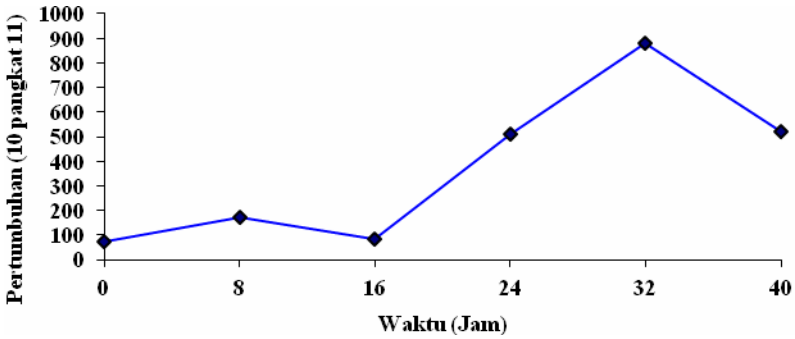
Jumlah bakteri terus meningkat dengan bertambahnya waktu serupa dengan kurva pertumbuhan standar. Diawal (0 sampai 8 jam), bakteri berada pada fase pertumbuhan adaptasi (*fase lag*). Fase ini merupakan tahap penyesuaian bakteri ke lingkungan baru dimana terjadi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianya (Purwoko, 2007). Adapun faktor yang mempengaruhinya adalah jumlah inokulum komposisi medium, faktor lingkungan, dan lainnya. Selanjutnya, dari 8 sampai 40 jam merupakan fase pertumbuhan logaritmik (*exponential phase*). Pertumbuhan bakteri lebih cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Dalam fase ini bakteri sudah beradaptasi secara baik dengan lingkungan pertumbuhannya sehingga mempunyai waktu penggandaan (*doubling time*) yang lebih cepat dibandingkan fase sebelumnya.

Dari kisaran waktu 0 sampai 40 jam, bakteri *E.coli* dalam media air baku belum mengalami fase pertumbuhan tetap (*stationer phase*) dan fase kematian. Pada fase pertumbuhan tetap, jumlah populasi tetap, karena jumlah sel bakteri yang relatif sama dengan jumlah sel bakteri yang mati dan pertumbuhan sampai pada titik klimaks yang tidak bisa dilampaui lagi. Hal ini terjadi karena berkurangnya jumlah nutrient dan faktor-faktor yang terkandung di dalam sel bakteri itu sendiri (Purwoko, 2007). Fase kematian merupakan akhir fase pertumbuhan bakteri, dimana jumlah individu menurun secara gradual sehingga grafik akan menuju kembali ke titik awal pertumbuhan. Penurunan terjadi disebabkan autolisis sel dan penurunan energi seluler (Purwoko, 2007).

Uji aktivitas antibakteri dari PP-g-4VP pada *E.coli* dalam media susu kemasan dilakukan pada PP-g-4VP dengan persen grafting 4 % (Gambar 4) dan 8 % (Gambar 5).



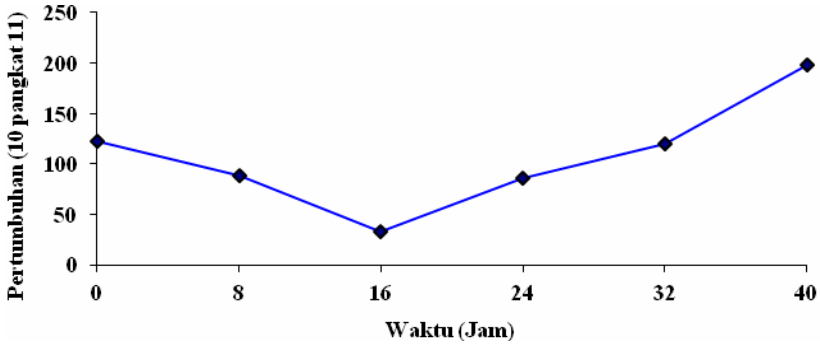
Gambar 4. Pertumbuhan *E.coli* dalam media susu pada PP tergrafting 4-VP (4 %)



Gambar 5. Pertumbuhan *E.coli* dalam media susu pada PP tergrafting 4-VP (8 %)

Dari Gambar 5, dapat diketahui bahwa bakteri mengalami penurunan pertumbuhan dibandingkan pada PP murni. Hal ini dipengaruhi oleh 4-VP yang diketahui memiliki daya hambat bakteri melalui interaksi elektrostatik. Dari Gambar 5 diketahui bahwa besar persen grafting mempengaruhi daya antibakteri. Pertumbuhan *E.coli* pada PP-g-4VP 8% cenderung mengalami penurunan dibandingkan pada PP-g-4VP 4%, hal ini ditunjukkan dari jumlah koloni yang berkurang.

Uji aktivitas antibakteri dari *E.coli* dalam media susu kemasan juga dilakukan pada PP-g-4VP-Q yaitu PP-g-4VP yang sudah dikuaternasi dengan menggunakan bromobutana. Gambar 6 menunjukkan grafik hubungan antara waktu dengan pertumbuhan bakteri *E.coli* dalam media air baku pada PP tergrafting 4-VP yang telah dikuartenasi (persen kuaternasi = 10,9%).



Gambar 6. Kurva pertumbuhan *E.coli* dalam media susu pada PE tergrafting 4-VP yang telah dikuartenasi (10,9%).

Sebagai perbandingan, aktfitas masing-masing sampel plastik kemasan diperlihatkan dalam Tabel 1.

Dari Tabel 1 diketahui bahwa PP-g-4VP-Q memiliki daya hambat antibakteri paling baik dibandingkan PP murni dan PP-g-4VP. Hal ini dipengaruhi oleh adanya kuaternasi dengan menggunakan bromobutana yang menyebabkan semakin terbentuknya muatan positif dari 4-VP yang membentuk ammonium kuaterner. Pada hakekatnya, senyawa ammonium kuaterner berperan sebagai antibakteri karena kemampuannya untuk berinteraksi dengan mikroorganisme melalui tahapan berikut (i) adsorpsi muatan positif ammonium kuaterner pada muatan negatif permukaan sel mikroorganisme melalui

interaksi elektrostatik, (ii) difusi melalui dinding sel yang didukung oleh rantai panjang alkil lipofilik, (iii) pengikatan terhadap membran sitoplasma, (iv) penyobekan membran sitoplasma, dan (v) pelepasan rangkaian sitoplasma yang mengakibatkan kematian mikroorganisme (Franklin and Snow, 1981).

Tabel 1. Pertumbuhan bakteri *E.coli* dalam media susu pada PP murni, PP-g-4VP (4%), PP-g-4VP (4%) dan PP-g-4VP-Q

Waktu (Jam)	Pertumbuhan Bakteri (x 10^{11})			
	PP	PP-g-4VP (4%)	PP-g-4VP (8%)	PP-g-4VP-Q
0	36	257	72	122
8	400	310	171	88
16	560	640	85	33
24	720	137	510	86
32	1800	350	880	120
40	2770	240	520	198

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

a. Polipropilen plastik kemasan dapat digrafting dengan menggunakan 4-vinilpiridin.
b. Polipropilen yang telah tergrafting 4-vinilpiridin dapat dikuaternasi dengan menggunakan bromobutana.
c. Polipropilen yang telah tergrafting 4-vinilpiridin memiliki daya hambat terhadap bakteri *E.coli* dimana semakin besar persen grafting, daya hambat cenderung semakin baik.
d. Kuaternasi dengan bromobutana pada polipropilen yang telah tergrafting 4-vinilpiridin mampu meningkatkan daya hambat bakteri.

Ucapan Terimakasih

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada Kementrian Negara Riset dan Teknologi Republik Indonesia atas dukungan dana dalam bentuk Program Insentif Riset Terapan Tahun Anggaran 2009.

DAFTAR PUSTAKA

Allison, B. C., Applegate, B. M and Youngblood, J. P. 2007. Hemocompatibility of Hydrophilic Antimicrobial Copolymers of Alkylated 4-Vinylpyridine. *Biomacromolecules*, *8* (10), 2995–2999.

Cen, L., Neoh, K. G., Ying, L and Kang, E. T. 2004. Surface Modification of Polymeric Films and Membranes to Achieve Antibacterial Properties. *Surface and Interface Analysis*. 36: 716–719.

Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar Edisi ke-3*. Diterjemahkan oleh Julius T. S. Binarusa Aksara. Jakarta. Hlm 84-85, 242-247, 261-265.

Herlina, I., Irwan, G. S., Simanjuntak, W., Suliwarno, A dan Restuati, M. 2010. Polimer Antibakteri (*antibacterial polymer*) : IV. Studi Aktifitas Antibakteri Plastik Kemasan Tergrafting 4-Vinil Piridin Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Proseding: Seminar Nasional Sain & Teknologi III, Bandar Lampung 18 – 19 November 2010. hal 205 – 216.*

Juan, J., Bjørn W. J and Erik, M. K. 2000. *Characterization of Plasma-Polymerized 4-Vinyl Pyridine on Poly(Ethylene Terephtalate) Film for Anti-Microbial Properties.* The Danish Polymer Centre. Department of Manufacturing Engineering and Management. The Technical University of Denmark. DK.-2800 Kgs Lyngby, Denmark.

Pasaribu, N. 2004. *Berbagai Ragam Pemanfaatan Polimer*. Digitized USU Digital Library. Sumatera Utara.

Paul, D.R. and Bucknall, C.B. 2000. *Polymer Blends*. John Willey & Sons. Canada.

Rohman, S. 2006. *Studi Pendahuluan Fungsionalisasi Silika Sekam Padi dengan Grafting 4-Vinil Piridin dan Uji Aktivitasnya*. Skripsi Sarjana FMIPA. Unila. Bandar Lampung.

Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. PT Bumi Aksara. Yakarta.

Volk, W. A dan Wheeler, M. F. 1990. *Mikrobiologi Dasar.* Erlangga. Jakarta.

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN DATUAN (*Ficus vasculosa*, Wall ex Miq)

Syaiful Bahri, dan Yuli Ambarwati[1]
[1]Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia, 35145
email:syaiful_bahri@unila.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi senyawa golongan flavonoid terhadap ekstrak metanol kayu akar tumbuhan datuan (*Ficus vasculosa*, Wall ex Miq). Isolasi senyawa flavonoid dimulai dari maserasi sampel kayu akar tumbuhan *Ficus vasculosa*, Wall ex Miq dengan pelarut metanol. Ekstrak pekat metanol sebanyak dua gram difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom dan diperoleh senyawa berbentuk kristal amorf berwarna putih dengan titik leleh 115-116 ^{o}C. Karakterisasi struktur dilakukan dengan spektroskopi UV-Vis dan IR. Data spektroskopi UV memberikan serapan maksimum pada $\boldsymbol{\lambda}_{max}$ 203, 215 (bahu) dan 268 nm. Penambahan NaOH menyebabkan pergeseran batokromik pada pita I sebesar 10 nm. Penambahan $AlCl_3$ tidak mengubah pergeseran pada pita I. Analisis lebih lanjut dengan spektroskopi IR menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi ini mengandung gugus fungsi C=C aromatik, C=O, C-O-C alkil eter, C-H dan O-H. Berdasarkan analisis spektrum IR dan UV-Vis, senyawa hasil isolasi diperkirakan merupakan senyawa flavonoid dari golongan isoflavon atau turunannya.

Kata kunci : Senyawa flavonoid, tumbuhan datuan, isoflavon

PENDAHULUAN

Salah satu genus penting pada famili Moraceae adalah Ficus. Di Indonesia beberapa spesies Ficus telah lama digunakan sebagai bahan obat-obatan, misalnya akar *Ficus benjamina* digunakan sebagai obat radang saluran pernafasan, daun *Ficus recurva* dipakai sebagai obat sakit pinggang, daun *Ficus deltoidea* digunakan sebagai jamu wanita (Rajab, 2005), *Ficus septica* digunakan sebagai obat flu, demam, antijamur dan antibakteri, penduduk Amazon menggunakan *Ficus gomelleira* sebagai obat penyakit dalam misalnya gangguan pencernaan (Kuo *et al*., 2002).

Beberapa genus Ficus dilaporkan menghasilkan beragam senyawa flavonoid, diantaranya 2R-3R-epiafzelekin (flavan-3-ol) dalam *Ficus deltoida* (Anwar, 1999 dalam Rajab, 2005), 5-hidroksi-7,5'-dimetoksi-3',4'-metilendioksiflavon dan 5,6,7,3',4',5'-heksametoksiflavon dalam *Ficus gomelleria* (Amaral *et al*., 2001), rotin (flavan-3-ol terglukosi) dan tatifolin dalam *Ficus pumilla* (Pistelli, 2000 dalam Rajab, 2005).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas pada tumbuhan, menurut perkiraan, kira-kira 2% dari seluruh karbon yang disintesis oleh tetumbuhan diubah menjadi flavonoid, dan dapat ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan (Markham, 1988). Penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam, diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri (Pepeljnjak *et al*., 1985), antiinflammasi, antitumor, antikanker, antivirus dan antialergi (Prawiroharsono, 2001).

Tumbuhan datuan (*Ficus vasculosa*, Wall ex Miq) termasuk genus Ficus. Berdasarkan studi pustaka, tumbuhan ini belum diteliti kandungan senyawa ataupun kegunaannya. Potensi ini perlu untuk didayagunakan untuk menggali potensi bahan alam untuk obat, untuk mengontrol hama tumbuhan dan lain-lain. Isolasi senyawa flavonoid dalam penelitian ini menggunakan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol. Aktivitas biologis dari senyawa flavonoid diketahui dengan uji aktivitas antimikrobial terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Pemurnian dilakukan dengan beberapa metoda kromatografi, dan identifikasi struktur dengan menggunakan data spektroskopi UV dan IR.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Agustus 2007 di Laboratorium Penelitian Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung. Analisis titik leleh, spektroskopi ultraungu-tampak, dan spektroskopi inframerah dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Institut Teknologi Bandung.

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium dengan berbagai ukuran, penguap vakum putar, satu perangkat alat untuk destilasi pelarut, satu set alat kromatografi kolom, satu set alat kromatografi cair vakum, pipet kapiler, bejana pengembang, lampu UV, spektrofotometer FT-IR Shimadzu Prestige-21, dan spektrofotometer ultraungu-tampak Shimadzu. Sedangkan bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah akar tumbuhan datuan yang berasal dari daerah Sungkai Selatan, Lampung Utara. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi adalah pelarut berkualitas teknis yang akan didestilasi terlebih dahulu, yaitu: *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol, aquades, larutan serium sulfat 1,5% dalam asam sulfat 2 N yang digunakan untuk visualisasi noda pada KLT, plat KLT silika gel GF_{254} 0,25 mm untuk kromatografi lapis tipis, silika gel Merck 60 G (10 – 40 μm) untuk KCV, silika gel Merck (63 – 200 μm) untuk kromatografi kolom gravitasi. Pereaksi geser untuk analisis spektrofotometer UV antara lain natrium hidroksida, alumunium klorida.

PROSEDUR PENELITIAN

Pengambilan dan persiapan sampel

Sampel berupa kayu akar tumbuhan datuan dalam keadaan basah diperoleh dari Desa Batu Nangkop, Kecamatan Sungkai Selatan, Lampung Utara. Sampel kayu akar dibersihkan dan dicacah hingga ukuran persegi tipis 1 cm kemudian dikering anginkan pada suhu ruang. Setelah sampel kayu akar kering kemudian dihaluskan.

Proses ekstraksi

Sebanyak 3 kg serbuk kering kayu akar *Ficus vasculosa* di maserasi dengan pelarut metanol selama 24 jam, maserasi dilakukan dua kali pada sampel yang sama. Setelah disaring, filtrat diuapkan menggunakan penguap vakum pada suhu 20-40 ^{0}C, dengan laju putaran 60-70 rpm. Ekstrak kasar yang didapat kemudian dianalisis dengan metode KLT menggunakan variasi eluen *n*-heksan, diklorometana, aseton, etil asetat dan metanol dengan perbandingan tertentu.

Pemurnian senyawa

Setelah dianalisis dengan menggunakan metode KLT, ekstrak kasar kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom dengan fasa silika gel. Fraksi-fraksi kromatografi yang diperoleh dianalisis dengan metode KLT, fraksi yang mengandung flavonoid lalu dianalisis kembali dengan metode KLT untuk mendapatkan eluen untuk fraksinasi selanjutnya. Bila masih terdapat beberapa senyawa maka dilakukan fraksinasi

kembali dengan metode kromatografi kolom sampai diperoleh flavonoid murni yang ditunjukkan oleh adanya satu noda pada kromatogram KLT.

Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

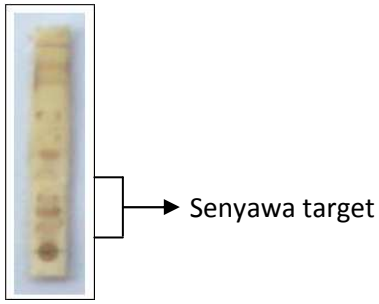
Sampel yang telah diisolasi kemudian diidentifikasi dengan metode spektroskopi, yaitu spektroskopi UV-Vis, dan IR.

Uji Bioaktivitas

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram, media biakan bakteri berupa nutrien agar (NA) dituangkan dalam cawan petri, setelah agar membeku, biakan bakteri dalam *nutrient broth* digoreskan pada permukaan agar. Kertas cakram dengan diameter 6 mm diletakkan pada permukaan media padat, pada cakram telah diteteskan masing-masing ekstrak kasar, senyawa hasil isolasi, metanol sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Cawan petri ini diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ^{o}C, setelah masa inkubasi akan terlihat adanya zona hambatan (bening) disekitar kertas cakram, daerah bening di sekitar kertas cakram menunjukkan uji positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

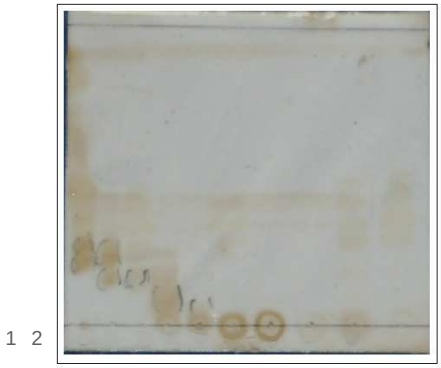
Kayu akar yang telah dikeringkan dan digiling (3,0 kg) dimaserasi dengan metanol. Setelah pelarut diuapkan dari ekstrak metanol pada tekanan rendah, diperoleh residu berwarna coklat kehitam-hitaman (12,02 g). Ekstrak tersebut kemudian dianalisis menggunakan metode KLT untuk mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid dengan larutan pengembang *n*-heksan : aseton (4:1) kromatogram yang dihasilkan divisualisasi dengan lampu UV dan pereaksi serium sulfat untuk penampak noda, kemudian plat KLT dipanaskan dengan *hot plate*. Hasil uji KLT menunjukkan adanya noda berwarna kuning yang menunjukkan senyawa flavonoid dan noda lain yang sangat rapat pada permukaan KLT, noda yang rapat menunjukkan campuran senyawa dalam ekstrak metanol ini masih sangat kompleks. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak metanol, larutan pengembang *n*-heksan : aseton (4:1).

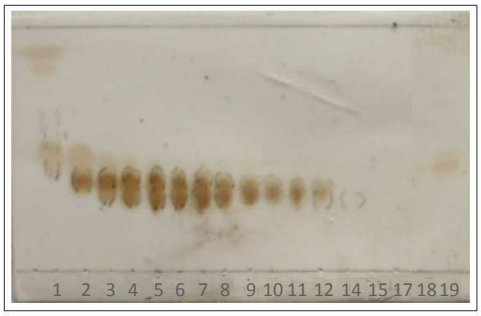
Isolasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 2 gram ekstrak metanol difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom. Elusi dilakukan secara bertingkat dan sistem eluen yang digunakan yaitu *n*-heksan : aseton (4:1, 1:1), aseton 100%, aseton : metanol (9:1) dan metanol 100%. Dari proses fraksinasi ini diperoleh sepuluh fraksi, semua fraksi ini kemudian dianalisis dengan metode KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksan : aseton (4:1) seperti terlihat pada Gambar 2.



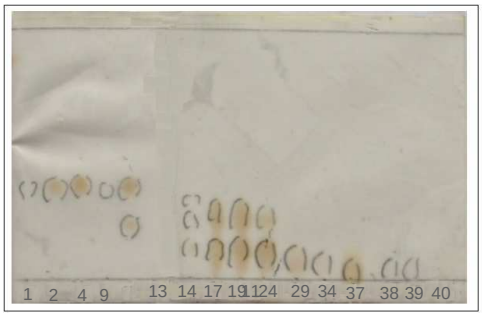
Gambar 2. Kromatogram KLT hasil fraksinasi pertama, larutan pengembang *n*-heksan : aseton (4:1).

Dari hasil visualisasi kromatogram menggunakan lampu UV dan pereaksi serium sulfat untuk penampak noda, diketahui bahwa senyawa flavonoid berada pada fraksi nomor 1, 2, 3 dan 4. Fraksi nomor dua dan tiga dipilih untuk fraksinasi selanjutnya karena mengandung senyawa flavonoid yang banyak dan lebih sederhana. Kedua fraksi ini digabung menjadi satu fraksi (A02), kemudian diuapkan pelarutnya dan didapat fraksi sebesar 370 miligram. Sebanyak 327 miligram fraksi A02 difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi. Sistem eluen yang digunakan yaitu *n*-heksan : aseton (5:2), aseton 100% dan metanol 100%, dihasilkan 19 fraksi yang selanjutnya dianalisis dengan metode KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksan : aseton (5:2) ditunjukkan pada Gambar 3.



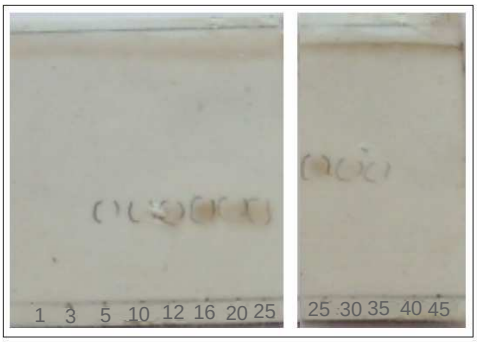
Gambar 3. Kromatogram KLT fraksinasi fraksi A02, larutan pengembang *n*-heksan : aseton (5:2).

Berdasarkan analisis KLT, senyawa flavonoid terdapat dalam fraksi nomor 2-12. Semua fraksi yang mengandung flavonoid (2-12) digabung menjadi fraksi A0202, dipekatkan dan didapat berat sebesar 265 miligram. Sebanyak 250 miligram fraksi A0202 ini dimurnikan lebih lanjut dengan metode kromatografi kolom gravitasi. Pada proses ini, elusi dilakukan dengan eluen *n*-heksan : diklorometan (2:3) dan metanol 100%, dihasilkan 40 fraksi. Beberapa fraksi kemudian dianalisis dengan metode KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksan : diklorometan (2:3) ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram KLT fraksinasi fraksi A0202, larutan pengembang *n*-heksan : diklorometan (2:3).

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa senyawa flavonoid berada dalam fraksi nomor 1-37 dan senyawa flavonoid pada fraksi nomor 1-8 memiliki Rf yang sama. Fraksi nomor 1-8 digabung menjadi fraksi A020201, dipekatkan dan diperoleh berat sebesar 66,3 miligram. Fraksi gabungan ini lalu dianalisis kembali dengan metode KLT menggunakan larutan pengembang *n*-heksan:diklorometan (5:1). Fraksinasi dilanjutkan menggunakan kromatografi kolom gravitasi, sebanyak 48,7 miligram fraksi A020201 difraksinasi dengan eluen *n*-heksan : diklorometan (5:1), dihasilkan 60 fraksi. Beberapa fraksi kemudian dianalisis menggunakan metode KLT (Gambar 5). Dari hasil analisis KLT diketahui senyawa flavonoid terdapat dalam fraksi nomor 5-35 dan senyawa flavonoid pada fraksi nomor 5-30 mempunyai Rf yang sama, sehingga fraksi-fraksi ini digabung menjadi fraksi A02020105, dipekatkan dan didapat berat sebesar 33 miligram.



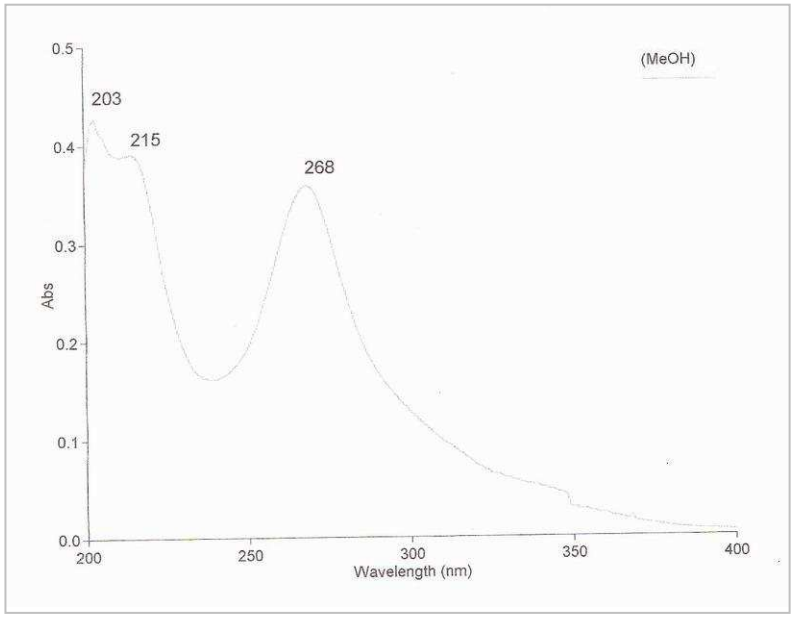
Gambar 5. Kromatogram KLT fraksinasi fraksi A 020201, larutan pengembang *n*-heksan : diklorometan (1:5).

Fraksi gabungan ini (A02020105) kemudian direfraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi dengan eluen *n*-heksan : diklorometan (5:1), dihasilkan 61 fraksi, fraksi nomor 5-45 hasil refraksinasi ini memberikan kristal sebanyak 8,3 miligram. Kristal yang didapat merupakan kristal amorf berwarna putih dengan titik leleh 115-116 ^{o}C. Kemurnian kristal diuji dengan metode KLT menggunakan beberapa sistem larutan pengembang yaitu *n*-heksana, diklorometan dan *n*-heksan:etilasetat (4:1). Hasil uji kemurnian ini ditunjukkan pada gambar 6.

Gambar 6. Kromatogram KLT kristal hasil isolasi, larutan pengembang yaitu : (a) diklorometan 100%, (b) *n*-heksan : etilasetat (4:1).

Uji visualisasi dengan lampu UV menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi bersifat UV aktif. Senyawa ini mempunyai tingkat kepolaran sedang yang ditunjukan oleh nilai Rf larutan pengembang yaitu 0,50 (diklorometan 100%); 0,57 (*n*-heksan : etilasetat 4:1). Kristal ini kemudian dianalisis dengan metode spektroskopi UV dan IR.

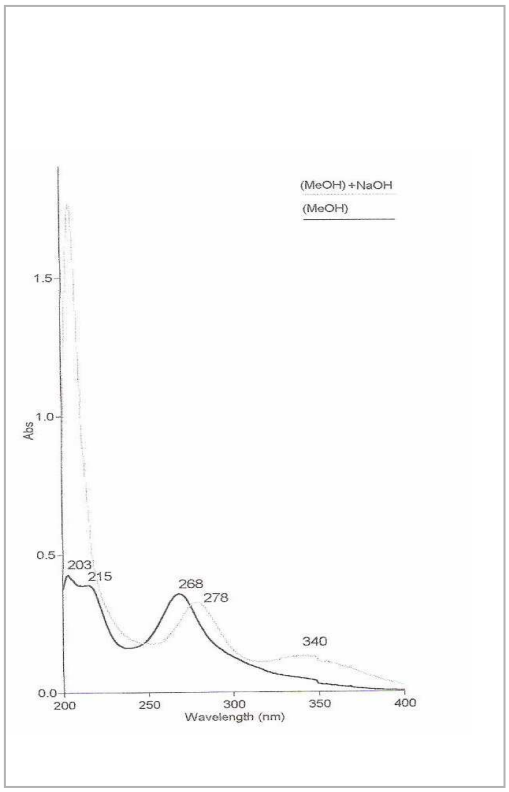
Analisis Spektroskopi
Spektroskopi ultraungu (UV)
Spektroskopi serapan ultraungu merupakan salah satu cara yang digunakan untuk menganalisis struktur flavonoid, cara ini digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Kedudukan hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Adapun pereaksi geser yang digunakan yaitu NaOH dan $AlCl_3$.
Analisis spektroskopi UV senyawa hasil isolasi dalam metanol diperoleh $\boldsymbol{\lambda}_{max}$ 203, 215 (bahu) dan 268 nm, ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH.

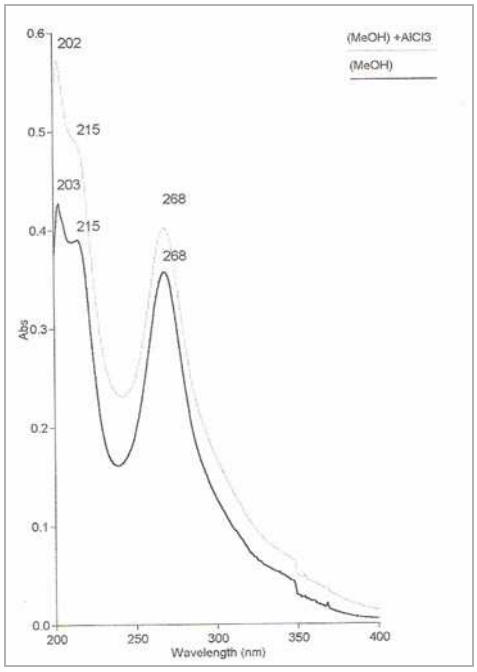
Spektrum khas flavonoid terdiri atas dua serapan maksimum pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Kekuatan serapan maksimum tersebut memberikan informasi yang berharga mengenai sifat flavonoid dan pola oksigenasinya (Markham, 1988). Spektrum senyawa isolasi dalam MeOH pada pita II menunjukkan puncak serapan maksimum pada 268 nm, sedang pada pita I tidak menunjukkan adanya serapan maksimum sama sekali. Bentuk spektrum yang demikian dimiliki oleh senyawa flavonoid golongan isoflavon, dihidroflavonol dan flavanon. Hal ini karena ketiganya mempunyai bentuk spektrum yang serupa, yaitu pada pita II mempunyai bentuk spektrum dengan intensitas serapan yang sangat kuat, sedang pada pita I mempunyai intensitas serapan yang lemah atau hanya berupa bahu saja (Markham, 1988). Selanjutnya, rentang serapan maksimum dihidroflavonol dan flavanon terletak di antara 275-295 nm pada pita II (Markham, 1988), sedang rentang serapan maksimum isolat terletak di antara rentang serapan maksimum isoflavon yaitu antara 245-270 nm dan tidak mempunyai serapan sama sekali pada pita I. Hal ini karena, walaupun isoflavon mempunyai ikatan rangkap diantara atom C_2 dan C_3, penempatan cincin B pada atom C_3 mencegah konjugasi kelompok fenil dengan kelompok pyron karbonil, hasil ini secara signifikan mengurangi kontribusi cincin B pada spektrum (Bohm, 1998). Atas dasar ini maka dapat diduga bahwa senyawa hasil isolasi tersebut mengandung isoflavon dan bukan dihidroflavonol serta flavanon.

Pada tahap selanjutnya ditambahkan pereaksi geser NaOH yang bertujuan untuk mendeteksi gugus hidroksil yang asam dan tidak tersubtitusi (Markham, 1988). Pada penambahan NaOH yang merupakan basa kuat, terjadi pergeseran batokromik pada pita II (Gambar 8). Atas dasar ini maka dapat diduga bahwa pada senyawa hasil isolasi mempunyai gugus OH pada cincin A dan mungkin merupakan senyawa flavonoid golongan isoflavon yang memiliki gugus OH pada cincin A.



Gambar 14. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH dan (MeOH+NaOH).

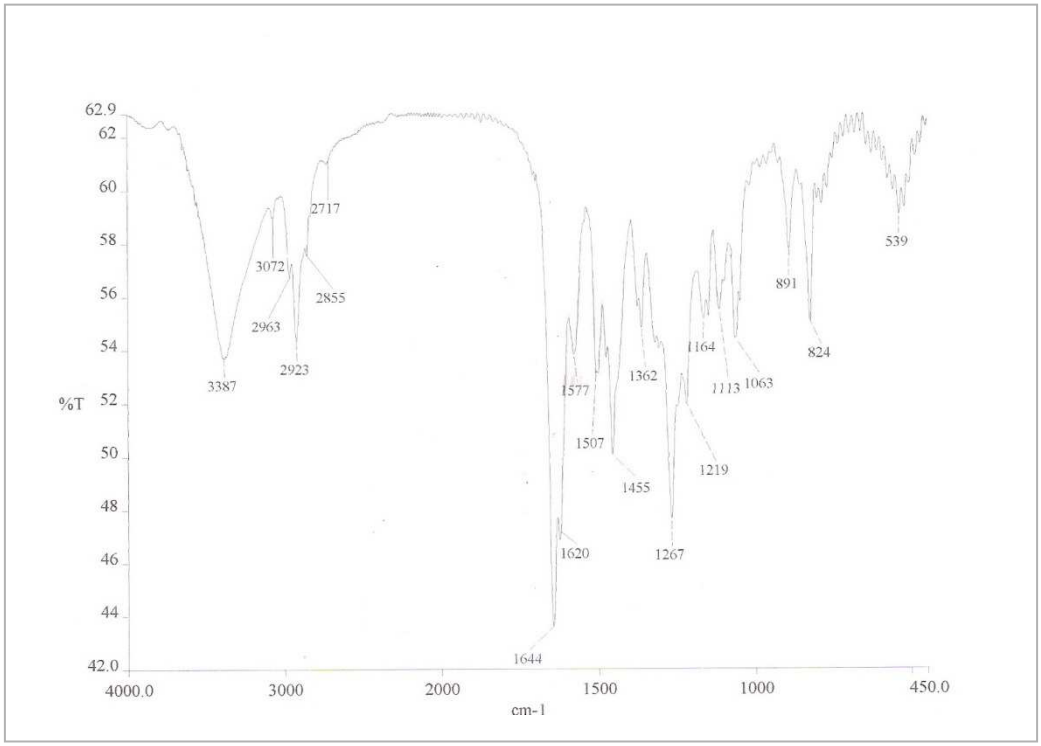
Pereaksi geser $AlCl_3$ digunakan untuk menentukan adanya gugus hidroksil pada posisi C_5 yang bertetangga dengan keton. Pergeseran batokromik terhadap spektrum metanol pada penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ menunjukkan adanya gugus hidroksil pada C_5 yang bertetangga dengan keton. Penambahan $AlCl_3$, ternyata tidak mengubah pergeseran pada pita II (Gambar 15), sehingga dapat diasumsikan bahwa pada isolat flavonoid tidak mempunyai gugus OH pada C_5 cincin A.



Gambar 15 Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH dan (MeOH+$AlCl_3$).

Spektroskopi infra merah

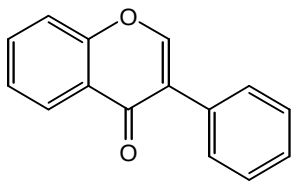
Pengukuran spektrum FTIR memberikan informasi yang lebih lengkap tentang gugus fungsional yang terkandung dalam struktur sustu senyawa. Spektrum FTIR senyawa hasil isolasi ditunjukkan pada Gambar 16.



Gambar 16. Spektrum FTIR senyawa hasil isolasi.

Spektrum FTIR senyawa hasil isolasi memperlihatkan adanya pita serapan untuk gugus hidroksil pada bilangan panjang gelombang 3387 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi uluran dari O-H. Adanya cincin benzen ditunjukkan dalam spektrum FTIR dengan adanya puncak pada panjang gelombang 1620, 1557, 1507 dan 1455 cm^{-1}, diperkuat dengan adanya uluran C-H aromatik pada panjang gelombang 3072 cm^{-1} dan serapan pada panjang gelombang 891 dan 824 cm^{-1} akibat vibrasi tekuk C-H aromatik keluar bidang. Gugus karbonil teridentifikasi dengan memberikan serapan pada panjang gelombang 1644 cm^{-1}, yang diduga merupakan vibrasi ulur C=O dari keton yang berkojugasi dengan ikatan rangkap. Menurut Silverstein *et al*., (1986), adanya konjugasi dengan satu ikatan C=C akan menghasilkan penurunan serapan dari pita serapan normal (1715 cm^{-1}) suatu cairan murni keton alifatik jenuh. Puncak serapan pada panjang gelombang 1267 dan 1219 cm^{-1} diduga merupakan uluran dari C-O-C alkil aril eter, sedangkan serapan pada panjang gelombang 2963, 2923 dan 2855 cm^{-1} merupakan uluran dari C-H dari metil.

Atas dasar serangkaian analisis spektrum ultraviolet dan spektrum infra merah terhadap komponen aktif yang terkandung dalam senyawa hasil isolasi untuk selanjutnya lebih menjurus ke arah adanya senyawa flavonoid dari golongan isoflavon atau turunannya.

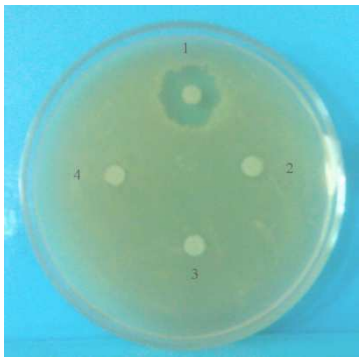


Gambar 17. Kerangka dasar isoflavon.

Uji Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram, uji dilakukan pada ekstrak kasar dan senyawa flavonoid hasil isolasi. Sebagai pembanding digunakan antibiotik kloramfenikol dengan konsentrasi sama sebagai kontrol positif dan pelarut metanol sebagai kontrol negatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid hasil isolasi dan ekstrak kasar dengan tidak memperlihatkan efek antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Hal ini dapat dilihat pada gambar 18.



Gambar 18. Uji Aktifitas antibakteri

Keterangan : (1) Kloramfenikol
(2) Metanol
(3) Senyawa flavonoid hasil isolasi
(4) Ekstrak kasar

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Isolasi terhadap 2 gram ekstrak metanol kayu akar tumbuhan datuan (*Ficus vasculosa*, Wall ex Miq) diperoleh kristal amorf berwarna putih sebanyak 8,3 miligram dengan titik leleh 115-116 ^{o}C. Berdasarkan serangkaian analisis spektrum ultraviolet dan spektrum infra merah, maka senyawa hasil isolasi diperkirakan merupakan senyawa flavonoid dari golongan isoflavon atau turunannya. Pengujian aktifitas antibakteri senyawa flavonoid hasil isolasi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan hasil negatif.

DAFTAR PUSTAKA

Amaral, D.F, M. S. P. Arruda, A.C. Arruda, A.H. Muller, L.L.J. Pantoja, and T.M.S. Lima. 2001. *Flavones from the leaves of Ficus gomelleira*. *J. Braz. Chem. Soc*. Vol. 12, No. 4, 538-541.

Bohm. B. A. 1998. *Introduction to Flavonoids*. Harwood Academic Publisher. Amsterdam. The Netherlands. hal 200-204.

Haslego, C. Optimize Liquid-Liquid Extraction. 2004. Cheresources. 20 Des 2006. http://www.cheresources.com/extraction.shtml.

Hostettmann, M. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*: Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB Bandung. Hlm 33-34.

Kuo, P. C, C.C. Chiu, L.S. Shi, C.Y. Li, C.S. Kuoh, T.S. Wu. 2002*. Non-alkaloidal constituents from the stem of Ficus septica. Journal of The Chineese Chemical Society*. 49: 113-116.

Markham K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih bahasa oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB Bandung. Hlm 1-3, 38-40.

Pepeljnjak S, Jalenjak I, Maysinger D*.* 1985. *Flavonoid content inpropolis extracts and growth inhibition of Bacillus subtilis*. *Pharmazie*. 40: 122-133.

Rajab, I. 2005. Isolasi metabolit sekunder dari kulit batang *Ficus deltoidea* (Moraceae). Tesis ITB. Bandung.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih bahasa oleh. Hlm 191-210.

Silverstein, R.M., G.C. Bassler dan T.C. Morril. 1986. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Edisi keempat. Alih bahasa A.J. Hartono dkk. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm 3-195.

Suwandhi, I. 2005. Mengenal Jenis – Jenis Ficus di Sekitar Mata Air. Universitas Winaya Mukti.

Wakeel O.K., P.I. Aziba, Ashorobi R.B., Umukuro S., Aderibigbe A., and Awe E.O. 2004. *Neuropharmalogical activities of Ficus platyphylla stem bark in mice. African Journal of Biomedical Research*, Vol. 7, 75-78, 1119-5096.

Worldagroforestrycentre. 2006. Wood Density. 20 Desember 2006. http://www.worldagroforestrycentre.org/sea/Products/AFDbases/WD/asps/DisplayDetail.asp?SpecID=1530.

THE INFLUENCES CYANIDE ON THE PHOTOREDUCTION OF Hg(II) CATALYZED BY TiO_2

Diky Hidayat
Jurusan Kimia F. MIPA Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No1 Bandar Lampung
email:diky_hidayat@unila.ac.id

ABSTRACT

The influence of presence cyanide on the photoreduction of Hg(II) catalyzed by TiO_2 has been studied. Photoreduction process was carried out in a closed reactor equipped with UV lamp, by irradiating and stirring a mixture of Hg(II) solution, TiO_2, oxalic acid or cyanide for a certain period of time. The amount of reduced Hg(II) by photoreduction was calculated by the substracting initial Hg(II) concentration with unreduced one, which was determined by using cold vapor atomic absorption spectrophotometry method. In this research the influences of concentration and solution pH in the presence cyanide were also evaluated.

The result of the research indicated that the presence of cyanide leads to a decrease in Hg(II) photoreduction, and a drastical drop is observed when more than 2 mmole cyanide was added for each mmole of Hg(II). Increasing solution pH from 2 - 4 in the presence of cyanide can improve the photoreduction but further increase of pH that higher than 4 leads to a decrease in photoreduction of Hg(II).
Keywords : photoreduction, Hg(II), TiO_2, cyanide

PENDAHULUAN

Telah lama disadari bahwa tersebarnya senyawa merkuri ke lingkungan menimbulkan masalah yang serius, sebagai contoh peristiwa yang terjadi di Teluk Minamata. Hal ini karena Merkuri (Hg(II)) dan garamnya merupakan senyawa yang berbahaya yang dapat tersebar luas, baik di dalam air maupun di udara. Senyawa merkuri yang biasa ditemukan dalam perairan adalah $HgCl_2$ dan Hg^{2+} yang larut, yang dapat mengalami metilasi oleh bakteri menjadi metil merkuri dan dimetil merkuri. Kedua senyawa tersebut dapat terakumulasi pada organisme perairan, seperti pada ikan sehingga konsentrasinya meningkat ratusan kali. Toksisitas senyawa metil merkuri dan dimetil merkuri lebih tinggi dibandingkan dengan merkuri anorganik seperti $HgCl_2$ karena senyawa metil merkuri mudah larut dalam lapisan lemak sehingga sebesar 90% metil merkuri tersebut dapat diabsorbsi oleh dinding usus. Selain itu penyerapan metil merkuri dan dimetil merkuri dalam tubuh juga menyebabkan keanehan mental dan gangguan fungsi saraf pada manusia. Berbeda dengan merkuri organik, merkuri bentuk anorganik ($HgCl_2$) hanya terserap sekitar 10% saja dalam dinding usus. Penyerapan $HgCl_2$ dapat menyebabkan kerusakan permanen pada otak, hati dan ginjal (Darmono, 2001). Sementara itu spesies merkuri di udara biasanya berupa Hg(0), yang dapat masuk dalam tubuh melalui pernafasan sehingga dapat menyerang ginjal secara kronis.

Kenaikan konsentrasi merkuri di lingkungan terutama disebabkan oleh pembuangan limbah industri yang masih mengandung merkuri dengan konsentrasi yang cukup tinggi (Mailman, 1980). Beberapa aktivitas manusia yang merupakan sumber tidak langsung pencemaran merkuri di lingkungan adalah pembakaran bahan bakar fosil, produksi baja,

semen, fosfat dan peleburan logam dari biji sulfidanya (WHO, 1976). Sumber yang terkait secara langsung dengan pencemaran merkuri adalah penggunaan fungisida organomerkuri dan industri yang menggunakan merkuri seperti pabrik plastik, kertas, baterai, industri farmasi, katalis dan dari pertanian (Timbrell, 1989).

Mengingat bahaya yang ditimbulkan oleh merkuri seperti yang telah diuraikan di atas maka perlu dilakukan upaya penanganan terhadap limbah tersebut. Penanganan tersebut dapat dilakukan dengan metode adsorpsi, pertukaran ion dan fotoreduksi. Metode adsorpsi dan pertukaran ion relatif sederhana dan efektif, namun tidak menghilangkan sifat racun Hg(II), melainkan hanya memindahkannya dari larutan dan padatan adsorben atau bahan penukar ion. Selain itu apabila adsorben atau penukar ion telah jenuh oleh ion Hg(II) maka akan menjadi limbah padat yang berbahaya karena masih mengandung ion Hg (II) yang cukup besar. Untuk mengatasi hal tersebut telah dikembangkan metode fotoreduksi menggunakan cahaya dan serbuk TiO_2 sebagai fotokatalis yang dapat mengubah ion Hg(II) yang sangat berbahaya bagi lingkungan menjadi Hg(0) yang lebih mudah penanganannya.

Sianida atau CN^- adalah salah satu senyawa beracun dan berbahaya yang dapat terbentuk pada berbagai fasa, padatan, cairan maupun gas. Bila berada dalam larutan sianida lebih mudah membentuk asam sianida (HCN) yang merupakan asam lemah namun memiliki toksisitas yang cukup tinggi. Pada kondisi asam dengan pH berkisar antara 1 sampai dengan 5,5 sianida bebas yang berada dalam larutan berair akan membentuk menjadi HCN dengan kelimpahan hampir 100%, hal ini terjadi karena kemudahan sianida untuk mengikat H^+ yang kelimpahannya tinggi pada pH asam. Pada pH 6 sianida bebas yang terdapat dalam larutan berair sebagian akan mulai membentuk ion CN^- atau mulai mulai terjadi campuran antara HCN dan CN^-. Pada kondisi basa dengan pH berada antara 12 - 14 maka ion CN^- yang memiliki kelimpahan hampir 100% . Sianida mudah membentuk komplek dengan logam alkali, selain sianida juga dapat membentuk kompleks dengan logam transisi, diantaranya dengan Hg(II) akan membentuk $Hg(CN)_2$,dan $Hg(CN)_4^{2-}$ yang memiliki kestabilan kompleks yang tinggi, dimana reaksinya sebagai berikut:

$$Hg^{2+} + 2CN^- \rightarrow Hg(CN)_2$$

$$Hg^{2+} + 4CN^- \rightarrow Hg(CN)_4^{2-}$$

Dalam lingkungan perairan ion Hg(II) sering ditemukan bersama dengan asam oksalat dan sianida yang secara alami dapat berada di lingkungan maupun yang berasal dari limbah berbagai industri. Adanya asam oksalat yang bertindak sebagai reduktor kemungkinan dapat berpengaruh terhadap fotoreduksi ion Hg(II). Sementara itu bila ion Hg(II) dan ion CN^- berada secara bersamaan di dalam perairan maka kedua ion ini akan bergabung membentuk senyawa $Hg(CN)_2$ dan $Hg(CN)_4^{2-}$ yang lebih sulit tereduksi sehingga kemungkinan dapat berpengaruh terhadap fotoreduksi ion Hg(II) tersebut Namun penggunaan asam oksalat dan sianida terhadap fotoreduksi ion Hg(II) ini belum banyak dilaporkan, sehingga mendorong dilakukannya penelitian ini.

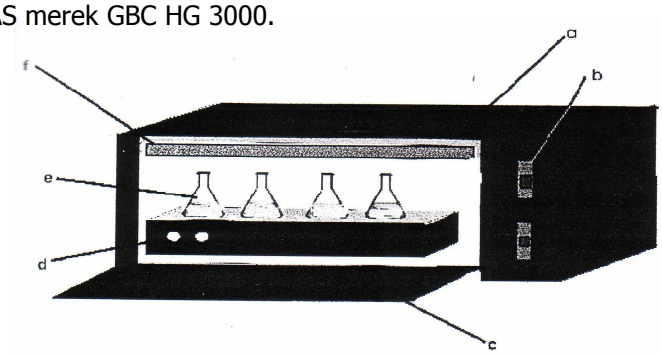
TUJUAN PENELITIAN

Adanya sianida yang bertindak sebagai reduktor kemungkinan dapat berpengaruh terhadap fotoreduksi ion Hg(II). Namun penggunaan asam oksalat terhadap fotoreduksi ion Hg(II) belum banyak dilaporkan, sehingga mendorong dilakukannya penelitian untuk mengetahui pengaruh asam oksalat terhadap fotoreduksi Hg(II) yang dikatalisis oleh TiO_2 ini.

METODE PENELITIAN

Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas laboratorium dan instrumentasi meliputi erlenmeyer, gelas beker, pipet volum, labu ukur, corong gelas, satu set reaktor yang dilengkapi lampu UV tipe *black light blue* (BLB) 38 watt 220 volt merek Philips dengan panjang gelombang 340—390 nm seperti pada Gambar 1., satu set pengaduk magnetik berpemanas (*hot plate stirrer*) merek Lab Tech 100 S, satu set neraca analitik Mettler AE 100, seperangkat alat sentrifuge buatan centrific model 228 dan tabung sentrifuge, pH meter HM-58 buatan TOA Electronics Ltd, dan satu unit *Cold Favour*-AAS merek GBC HG 3000.



Gambar 1. Reaktor Fotokatalisis;
Keterangan Gambar : a. Dinding reactor
b. Switch (on/off)
c. Jendela
d.Plate pengaduk magnet
e.Erlenmeyer
f. Lampu UV

Bahan-bahan Penelitian

Bahan kimia yang digunakan ini adalah kristal TiO_2, kristal $HgCl_2$, kristal NaOH, kristal KCl, HCl 37% (ρ = 1,19 g/ml, Mr 36,46), $Na_2HPO_4.2H_2O$, asam sitrat ($C_6H_8O_7.2H_2O$) yang semuanya buatan Merck. Kristal KCN, dan buffer pH 4 dan pH 7 BDH Analar. Boraks (Na2B4O7.10H2O) buatan BHD *Chemical Limited Poole England*, kertas saring *whatman* 42, dan akuabides.

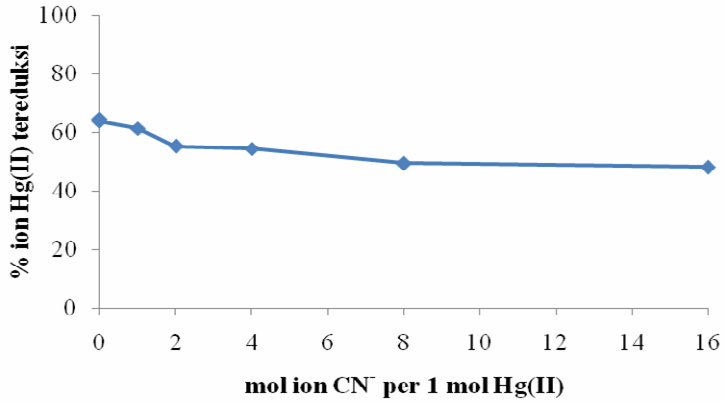
Cara Kerja

Untuk mempelajari pengaruh penambahan sianida dilakukan variasi konsentrasi sianida yaitu dengan perbandingan 0 : 1, 0,5 : 1, 1 : 1, 2 : 1, 4 : 1, 6 : 1 dan 8 : 1 untuk setiap mol ion Hg(II) dalam larutan bervolume 50 ml, konsentrasi awal reaktan pH, massa katalis, waktu paparan dibuat tetap. Untuk mempelajari pengaruh pH larutan maka dilakukan variasi pH pada 2, 3, 4, 6, 8, 10, dan, 12 dengan konsentrasi sianida 0,1 mmol dengan volume larutan 50 ml, konsentrasi awal reaktan, massa katalis, dan waktu paparan yang dibuat tetap.

Efektifitas fotoreduksi ion Hg(II) dinyatakan sebagai % ion Hg(II) yang terduksi, yang ditentukan dari selisih antara jumlah ion Hg(II) mula-mula dengan jumlah ion Hg(II) sisa. Jumlah ion Hg(II) sisa atau yang tereduksi dihitung berdasarkan konsentrasi ion Hg(II) yang tidak tereduksi ditentukan dengan menggunakan alat CVAAS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh adanya sianida terhadap efektivitas fotoreduksi campuran ion Hg(II) dan sianida terkatalisis TiO_2 dipelajari dengan cara melakukan proses terhadap campuran yang terdiri dari 50 ml larutan Hg(II) dan sianida dengan perbandingan mmol 0 : 1, 0,5 : 1, 1 : 1, 2 : 1, 4 : 1, 8 : 1, 16 : 1, 25 mg TiO_2, pada pH 8,4, dengan penyinaran selama 120 menit. Hasil yang didapat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh mol ion sianida terhadap efektifitas fotoreduksi ion Hg(II) terkatalisis oleh TiO_2

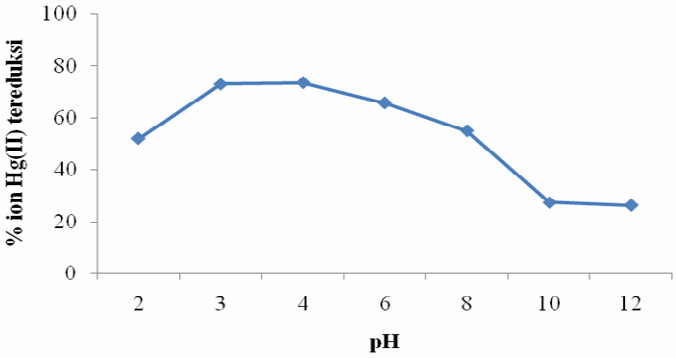
Pada Gambar 2. dapat dilihat secara umum bahwa kenaikan jumlah ion sianida bebas untuk setiap mol ion Hg(II) dalam larutan memberikan efektifitas fotoreduksi ion Hg(II) yang semakin rendah. Pada proses fotoreduksi dengan perbandingan 0,5 - 1 mol sianida untuk setiap mol Hg(II) efektifitas fotoreduksi relatif tinggi. Pada penambahan 0,5 mol sianida untuk setiap mol Hg(II) belum terjadi reaksi antara Hg^{2+} dengan CN^- atau keduannya berada dalam dalam keadaan bebas sehingga proses fotoreduksi ion Hg^{2+} dapat berjalan baik. Pada penambahan l mol sianida untuk setiap mol Hg(II) terjadi interaksi antara ion Hg^{2+} dengan CN^- sehingga membentuk $Hg(CN)^+$. Senyawa $Hg(CN)^+$ yang memiliki potensial reduksi 0,32 V masih mampu mengalami reduksi walaupun tidak semudah Hg^{2+}. Akibatnya fotoreduksi masih dapat berlangsung baik.

Pada penambahan 2 - 4 mol sianida untuk setiap mol Hg(II) memberikan efektifitas fotoreduksi yang lebih rendah yatu sebesar 55,32% dan 54,44% . Ini terjadi akibat interaksi antara ion Hg^{2+} yang ada dengan CN^- yang membentuk $Hg(CN)_2$, dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$. Senyawa $Hg(CN)_2$ mempunyai potensial reduksi yang negatif yaitu -0,17 V, dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$ sebesar -0,32 V, sehingga lebih sulit mengalami reduksi. Hal ini yang menyebabkan terjadinya penurunan efektifitas fotoreduksi.

Pada penambahan sianida sebesar 8 - 16 mol untuk setiap mol Hg(II) memberikan penurunan efektifitas fotoreduksi yang relatif kecil sebesar 49,44% dan 48,13%. Hal ini karena dengan perbandingan mol tersebut terjadi interaksi antara ion Hg^{2+} yang ada dengan CN^- yang ada sehingga membentuk $[Hg(CN)_4]^{2-}$. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa senyawa $[Hg(CN)_4]^{2-}$ yang memiliki potensial reduksi -0,32 V merupakan senyawa yang sulit mengalami reduksi. Hal ini yang menyebabkan terjadi penurunan efektifitas fotoreduksi.

Pengaruh pH terhadap efektivitas fotoreduksi ion Hg(II) dipelajari dengan cara melakukan reaksi fotoreduksi pada pH bervariasi dengan volume larutan 50 mL dengan perbandingan mol Hg(II) dan sianida 1 : 4, berat TiO_2 25 mg, dan waktu penyinaran selama 120 menit. Hasil ditunjukkan sebagai Gambar 3.

Dalam Gambar 3. terlihat adanya peneningkatan efektivitas fotoreduksi ion Hg(II) terkatalisis TiO_2 pada kenaikan pH larutan 2 - 4. Pada kenaikan pH larutan 4 - 10 terjadi penurunan fotoreduksi ion Hg(II) yang cukup nyata, sedangkan pada kenaikan pH 10 - 12 fotoreduksi ion Hg(II) relatif tetap. Pengaruh pH ini dapat dijelaskan berdasarkan spesiasi ion Hg(II), spesiasi ion sianida, maupun permukaan fotokatalis TiO_2.



Gambar 3. Pengaruh pH larutan terhadap efektifitas fotoreduksi ion Hg(II) dipengaruhi ion sianida yang dikatalisis oleh TiO_2.

Pada pH 2, terjadi fotoreduksi ion Hg(II) sebesar 51,92%. Pada pH larutan 2, spesies Hg(II) ditemukan sebagai ion Hg^{2+} yang lebih mudah tereduksi sedangkan sianida berbentuk asam lemah HCN, sehingga ke dua senyawa tidak dapat bereaksi membentuk senyawa kompleks $[Hg(CN)_4]^{2-}$ dan $Hg(CN)_2$, atau masing-masing masih dalam keadaan bebas. Sementara itu, TiO_2 ditemukan sebagai $>TiOH_2^+$ yang lebih sulit melepaskan elektron sehingga jumlah elektron relatif lebih sedikit. Oleh karena itu, meskipun jumlah ion Hg^{2+} yang dapat tereduksi relatif banyak namun karena jumlah elektron masih relatif sedikit maka fotoreduksi ion Hg(II) relatif rendah.

Pada pH 2 - 4 terjadi peningkatan fotoreduksi yang relatif besar yaitu pada pH 3 = 72,96% dan pH 4 = 73,44%. Pada kisaran pH 3 - 4 spesies Hg(II) ditemukan sebagai ion Hg^{2+} yang lebih mudah tereduksi sedangkan sianida berbentuk asam lemah HCN, sehingga ke dua senyawa tidak dapat bereaksi membentuk senyawa kompleks $[Hg(CN)_4]^{2-}$ dan $Hg(CN)_2$, atau masing-masing masih dalam keadaan bebas. Sementara itu, TiO_2 ditemukan sebagai campuran $>TiOH_2^+$ dan >TiOH, dengan jumlah >TiOH yang lebih besar. Karena >TiOH lebih mudah melepaskan elektron sehingga jumlah elektron yang tersedia relatif lebih banyak. Hal ini yang menjelaskan terjadinya peningkatan fotoreduksi ion Hg(II).

Kenaikan pH dari 4 - 10 memberikan penurunan fotoreduksi yang relatif besar. Dalam larutan dengan pH 4 - 6, jumlah ion Hg^{2+} semakin berkurang karena sebagian ion tersebut telah membentuk kompleks $Hg(OH)_2$ dan $Hg(CN)_2$, yang lebih sulit tereduksi. Pada 6 - 10 spesies ion Hg(II) ada dalam bentuk campuran ion Hg^{2+} dan endapan $Hg(OH)_2$. Endapan $Hg(OH)_2$ yang tidak dapat tereduksi ini ada dengan jumlah yang lebih banyak. Sianida pada pH 6 - 10 dapat ditemukan berupa campuran HCN dan CN^-, dengan jumlah CN^- yang lebih banyak. Dengan adanya CN^- maka endapan $Hg(OH)_2$ dapat larut menjadi senyawa-senyawa kompleks $Hg(CN)_2$ dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$ yang lebih sulit tereduksi. Jadi meskipun TiO_2 berbentuk TiOH yang dapat menghasilkan elektron dalam jumlah yang besar, namun karena hampir semua Hg(II) berada dalam bentuk yang sulit tereduksi maka hasil reduksi sangat rendah.

Sementara itu, pada kenaikan pH 10 - 12 fotoreduksi Hg(II) relatif sama. Spesies Hg(II) pada pH 10 - 12 berupa endapan $Hg(OH)_2$ sedangkan semua spesies sianida dapat ditemukan sebagai CN^-. Keberadaan CN^- yang dominan menyebabkan terjadinya pembentukan senyawa $Hg(CN)_2$ dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$ akibat kemampuan CN^- menggeser gugus OH^- pada $Hg(OH)_2$. Senyawa $Hg(CN)_2$ dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$ yang terbentuk sulit mengalami fotoreduksi, sementara itu permukaan fotokatalis TiO_2 berbentuk $>TiO^-$ yang lebih sulit untuk melepaskan elektron. Jadi selain $Hg(CN)_2$ dan $[Hg(CN)_4]^{2-}$ yang sulit

tereduksi, rendahnya fotoreduksi juga disebabkan oleh sedikitnya jumlah elektron yang tersedia.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut; adanya ion sianida (CN^-) dengan jumlah mol yang lebih kecil dari mol Hg(II) fotoreduksi masih berlangsung secara efektif, namun dengan adanya sianida lebih dari 2 mol untuk setiap mol ion Hg(II) atau rasio mol Hg/CN lebih dari 1:2 menyebabkan fotoreduksi ion Hg(II) yang terkatalisis TiO_2 berlangsung kurang efektif. Peningkatan pH larutan dari 2 - 4 dengan adanya sianida dapat meningkatkan efektifitas fotoreduksi Hg(II) tapi dengan meningkatnya pH larutan lebih dari 4 menurunkan fotoreduksi Hg(II).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Endang Tri Wahyuni, M.S., dan Prof. Dr. Bambang Rusdiharso, DEA., yang telah membimbing dan memberikan masukan selama penelitian ini dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

Chen, D., and Ray, K.A., 2001, 'Removal of Toxic Metal Ions from Wastewater by Semiconductor Photocatalysis', *Chemical Engginering Science*, 56; 1561 - 1570.

Cristante, M.C., Araujo, A.B., Jorge, S.M.A., Florentino, A.O., Valente, J.P.S., Padilha P.M., 2006, "Enhanced Photocatalytic Reduction of Hg(II) in Aqueous Medium by 2-Aminothiazole-Modified TiO_2 Particles", *Journal Brazilia Chemical Society*, 17; 453 - 457.

Guillard, C., Puzenat, E., Lachheb, H., Houas, A., Herrmann, J.M., 2005, "Why Inorganic Salts Decrease the TiO_2 Photocatalytic Efficiency", *International Journal of Photoenergy*, 07; 1 - 9.

Hoffmann, M. R., Martin, S. T., Choi, W., and Bahneman, D. W., 1995, "Environmental Application of Semiconductor Photocatalysis", *Chemical Review*, 95: 69 - 96.

Hidayat, D., 2009, "Penentuan Waktu Penyinaran dan Massa Katalis Optimum pada Fotoreduksi Hg(II) Dengan Katalis TiO_2", Proseeding SNMAP Lampung I, Bandar Lampung.

Hidayat, D., 2010, "Pengaruh Asam Oksalat Pada Fotoreduksi Hg(II) Dengan Katalis TiO_2", Proseeding SATEK Unila III, Bandar Lampung.

Khalil, M.W. Rophael, and W.E. Mourad, 2002, "The Removal of the Toxic Hg(II) Salts from Water by Photocatalysis", The National Research Centre, Giza, Egypt, 125 - 130

Lindberg, S., Trapp, S., Pirandello, A., Ucisik, A.S. 1984,"Risk Assesment of Mercury Emissions from Power Plants", Indiana Center For Coal Technology, Indiana USA.

Linsebigler, A.L., Lu, G., and Yates J.T., 1995, "Photocatlysis on TiO_2 Surfaces: Principles, Mecanisms, and Selected Results", *Chemical Review*, 95: 735 - 758.

Tipping E. dan Hurley M.A., 1992, "A Unifying Model of Cation Binding by Humic Substances", *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 56, 3627 - 3641.

Wang, X., Pchkonen, S.O., and ray, K.A., 2003. "Photocatalytic Reduction of Hg(II) on Two Commercial TiO_2 Catalyst", *Electrochemical Acta*, 49; 1435 - 1444.

ARTOKARPIN, SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Tati Suhartati, Dedi Nuryanto, Yandri A.S.
Jurusan Kimia FMIPA Unila
Jl. S. Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, 35145
e-mail: tatisuhartati@unila. ac.id

ABSTRAK

Senyawa organik yang telah diisolasi dari tumbuhan, banyak yang digunakan sebagai obat. *Artocarpus rigida* atau tumbuhan kenangkan mangandung beberapa senyawa derivat flavonoid yang memiliki toksisitas yang tinggi terhadap sel leukemia murine P-388. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dari kayu akar tumbuhan kenangkan yang tumbuh di Desa Keputran Sukoharjo Kabupaten Pringsewu.

Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pengumpulan dan persiapan sampel kemudian ekstraksi, isolasi, dan pemurnian senyawa menggunakan beberapa teknik kromatografi, sedangkan identifikasi senyawa dilakukan menggunakan spektroskopi IR, ultraviolet-tampak, dan ^{1}H-RMI. Dari kayu akar kenangkan telah diisolasi artokarpin berupa kristal amorf berwarna kuning dengan titik leleh 205º-206,6ºC yang strukturnya telah ditetapkan secara fisika dan spektroskopi.

Kata Kunci: flavonoid, *Artocarpus rigida,* isolasi, identifikasi

PENDAHULUAN

Telah diketahui bahwa banyak senyawa organik yang diisolasi dari tumbuhan digunakan sebagai obat, misalnya Artekin, berasal dari *Artemisia annua*. L (bahasa Cina : Qinghaosu; Indonesia: Anuma) digunakan untuk obat malaria, taksol dari *Taxus brevifolia*, untuk obat kanker. Dari berbagai spesies tumbuhan *Artocarpus*, juga telah diisolasi senyawa-senyawa kimia turunan flavonoid mulai dari senyawa flavonoid tidak terprenilasi, norartokarpetin (Lin dan Lou, 1995), sampai senyawa flavonoid yang mempunyai empat gugus prenil, artoindonesianin A (Hakim dkk., 1999). Artonin E, senyawa turunan flavonoid yang berpotensi sebagai obat anti kanker (Nomura *et al*., 1998) juga telah diisolasi dari *A. rotunda* (Suhartati *et al*., 1999a) dan *A. scortechinii* (Ferlinahayati *et al*., 1999). Uji aktivitas terhadap senyawa yang berhasil diisolasi juga telah dilakukan, misalnya uji dengan menggunakan *Artemia salina* telah dilakukan terhadap sikloartobilosanton dan artonin O (Suhartati *et al*., 1999b); uji dengan sel murine leukaemia P388 telah dilakukan pula terhadap artokarpanon, artokarpin, sikloartokarpin, dan kudraflavon A (Hakim *et al*., 1999), masing-masing memperlihatkan aktivitas yang tinggi.

Artocarpus rigida merupakan salah satu tumbuhan dari genus Artocarpus*,* famili Moraceae*,* yang tumbuh di hutan, tersebar di daerah tropika dan subtropika. Tumbuhan ini secara tradisional digunakan untuk mengobati gangguan fungsi hati. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, dilaporkan bahwa tumbuhan *Artocarpus rigida* mengandung beberapa senyawa turunan flavonoid yaitu 7-demetilartonol E, kromon artorigidusin, santon artonol B, flavonoid sikloartobilosanton, dan santon artoindonesianin C. Semua senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikobakterial terhadap *Mycobacterium*

tuberculosis; dan artoindonesianin C juga menunjukkan aktivitas sebagai antiplasmodial terhadap *Plasmodium falciparum* (Namdaung, 2006). Selain senyawa-senyawa tersebut, telah dilaporkan artonin E dari *A. rigida* yang juga memiliki aktivitas antiplasmodial (Suhartati, 2010).

Pada penelitian ini dari kayu akar Kenangkan (*A. rigida*) telah diisolasi artokarpin, suatu senyawa flavonid yang telah diidentifikasi secara fisika dan spektroskopi UV-Vis, IR, dan ^{1}H-NMR. Senyawa ini juga telah diuji bioaktivitasnya terhadap plasmodium, *B. subtillis* dan *E. coli*.

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat gelas, penguap putar vakum, satu set alat kromatografi cair vakum, satu set kolom kromatografi, pengukur titik leleh Fisher Jhons, lampu UV merk Spektroline model ENF-240 C/F, pipet kapiler, spektrofotometer FT-IR Shimadzu, spektrofotometer ultraviolet-tampak (UV-Vis) Shimadzu dan spektrometer ^{1}H-NMR JEOL ECA 500, frekwensi 500.00 MHz

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kayu akar kenangkan (*Artocarpus rigida* Bl.) yang telah dikeringkan dan dihaluskan, diperoleh dari Desa Keputran Kecamatan Sukoharjo Kabupaten Pringsewu.

Pelarut yang digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi, sedangkan untuk analisis spektrofotometer berkualitas pro analisis (p.a). Bahan kimia yang dipakai antara lain metanol, etil asetat, *n*-heksana, diklorometana, serium sulfat 1,5% dalam H_2SO_4 2 N, silika gel Merck G 60 untuk kromatografi cair vakum (KCV), silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk kromatografi kolom (KK), untuk kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat silika gel Merck kiesegel 60 F_{254} 0,25 mm.

METODE PENELITIAN

Isolasi Senyawa

Sebanyak 3 kg kayu akar *A. rigida* yang telah dihaluskan, dimaserasi 3 x, masing-masing dengan 15 L metanol selama 24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 45-50˚C dengan laju putaran 120-150 rpm, diperoleh ekstrak 143 gram. Ekstrak ini selanjutnya dipartisi secara KCV menggunakan Silika Gel, dengan eluen etil asetat-*n*-heksana (0%-100%) yang ditingkatkan kepolarannya. Berdasarkan kromatogram KLT, hasil fraksinasi dibagi menjadi 3 fraksi utama, yaitu fraksi A-C.

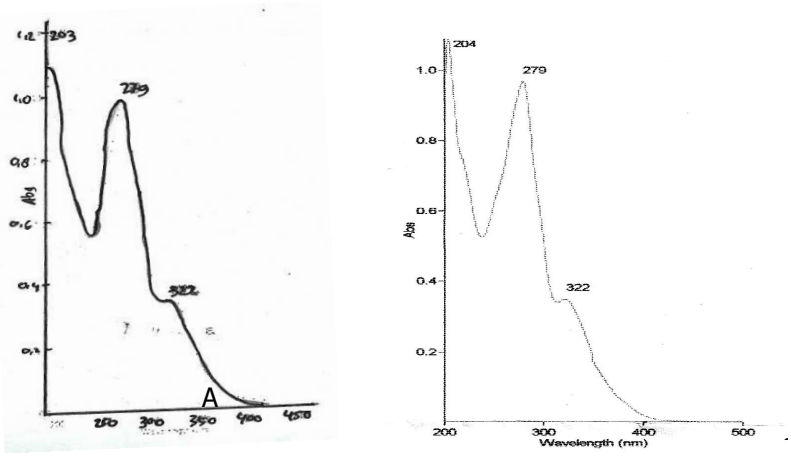
Pada fraksinasi lebih lanjut terhadap fraksi A (3 gr) dan B (14,13 gr) masing-masing dilakukan kromatografi kolom, dengan adsorben silika gel dan eluen etil asetat-*n*-heksana yang ditingkatkan kepolarannya. Fraksi-fraksi dengan Rf yang sama dari hasil kedua fraksinasi ini digabungkan dan difraksinasi lebih lanjut dengan cara yang sama. Setelah lebih dari lima kali kromatografi kolom, diperoleh senyawa (1) berupa kristal berwarna kuning pucat dengan berat 167 mg, titik leleh 205ºC-206,6 ºC.

Senyawa (1), UV (MeOH) λ_{maks} nm: 208, 280, dan 322 (bahu) dalam pelarut metanol (MeOH); (MeOH + NaOH) λ_{maks} nm: 211, 276, dan 368; spektrum IR (KBr) ν_{maks} (cm^{-1}): 3441, 2959, 1648, 1452, 1353, 1207, 1152, 976.

HASIL DAN PEMBAHASAN

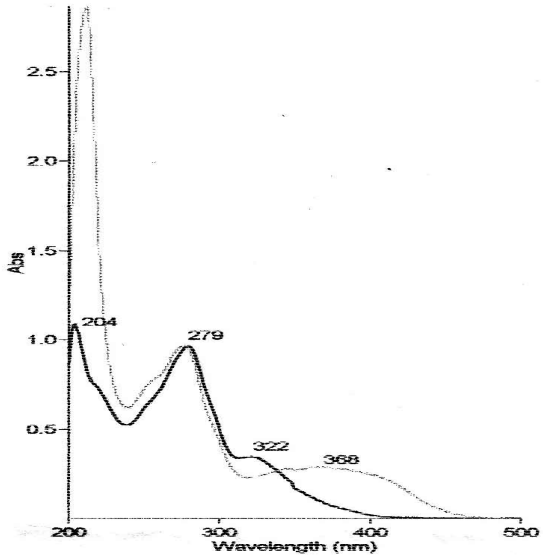
Analisis Spektrometri

Spektrum UV dari senyawa (1) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Institut Teknologi Bandung (ITB) menunjukkan serapan maksimum pada λ_{maks} 204, 279, dan 322 nm dalam pelarut metanol (MeOH) (Gambar 1). Spektrum UV senyawa (1) menunjukkan kemiripan dengan spektrum senyawa artokarpin standard. Perbandingan spektrum UV senyawa fenolik tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



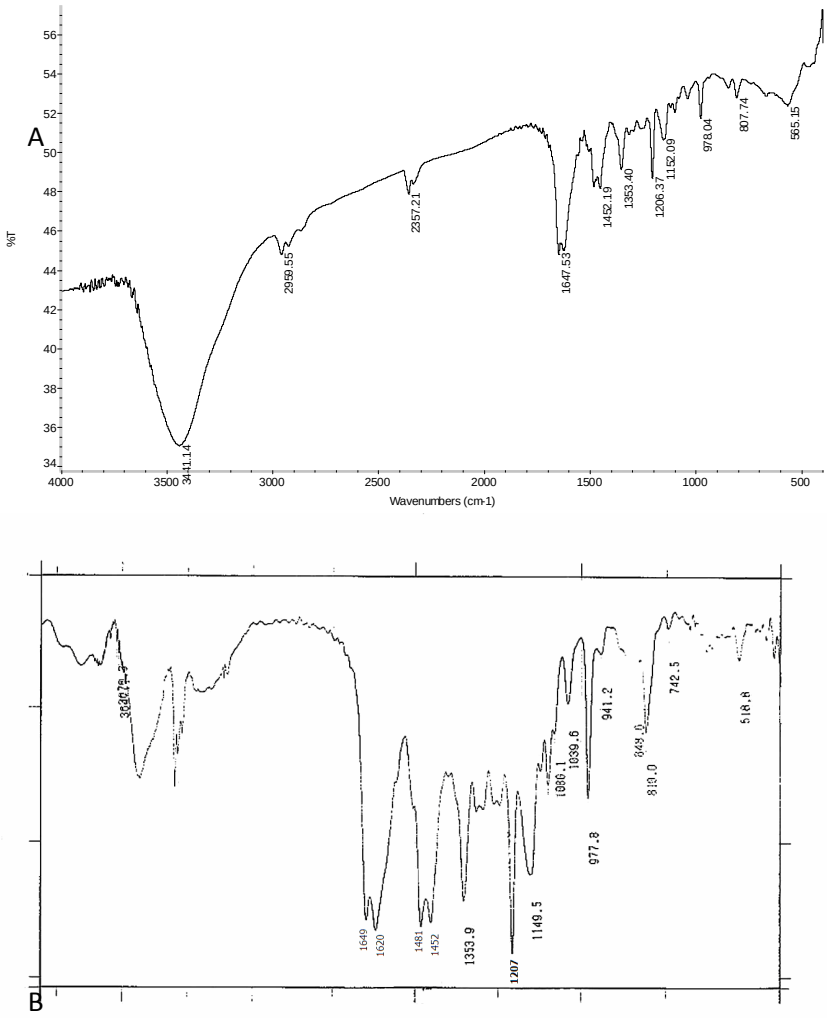
Gambar 1. Perbandingan spektrum UV (A) standar artokarpin dan (B) senyawa(1)

Penambahan pereaksi geser digunakan untuk menentukan posisi gugus hidroksil fenol dengan cara mengamati pergeseran puncak pada spektrum UV. Pereaksi geser Natrium hidroksida (NaOH) digunakan untuk mendeteksi adanya kerangka fenolat. Adanya pergeseran batokromik pada pita I menunjukkan adanya gugus hidroksil pada posisi C4' (Markham, 1988). Pada spektrum UV senyawa (1), setelah ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) terjadi pergeseran pita I sebesar 46 nm, disertai dengan penurunan intensitas (Gambar 2). Adanya pergeseran batokromik pita I ini memberi petunjuk adanya gugus hidroksil pada $C_{4'}$ senyawa(1).



Gambar 2. Spektrum UV senyawa (1) dalam MeOH dan dalam MeOH +NaOH

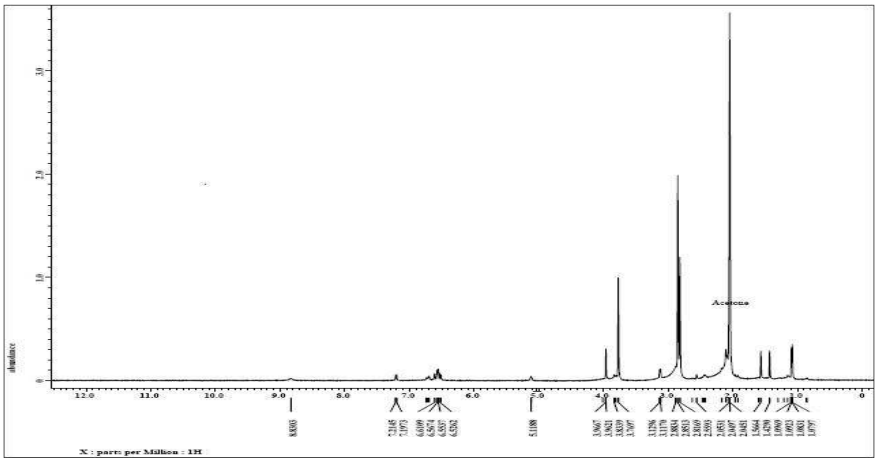
Dari data spektrum inframerah (IR) senyawa (1) dapat diketahui adanya pita melebar pada daerah bilangan gelombang 3441 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari gugus hidroksil yang membentuk ikatan hidrogen. Puncak serapan pada daerah 2959 cm^{-1} merupakan petunjuk adanya gugus C-H alifatik., pada 1647 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O), pada bilangan gelombang 1206 cm^{-1} menunjukkan uluran ikatan C-O alkohol, dan pada 1452 cm^{-1} menunjukkan adanya C=C aromatik, hal ini diperkuat dengan adanya serapan C-H aromatik pada bilangan gelombang 900-600 cm^{-1}. Perbandingan spektrum serapan senyawa (1) dengan spektrum serapan artokarpin yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (Suhartati, 2001), menunjukkan kemiripan seperti yang terlihat pada Gambar 3. Kemiripan spektrum IR tersebut menunjukkan bahwa senyawa (1) kemungkinan senyawa artokarpin.



Gambar 3. Perbandingan spektrum IR: A) senyawa (1), B) senyawa artokarpin

Analisis Spektrometri Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Dari data spektrum ^{1}H-RMI senyawa (1) diketahui adanya proton-proton aromatik pada geseran kimia (δ) 6,61 ppm (1H, s); dan sistem ABX pada δ 6,55 ppm (1H, d); δ 6,57 ppm (1H, d); dan δ 7,21 ppm (1H, d, J = 8,6 Hz). Selain itu terdapat pula proton C sp^2 alkena yang berasal dar γ,γ-dimetilalil pada δ 6,72 ppm (1H, dd, J = 16 dan 7 Hz); 6,52 ppm (1H, d, J = 6,3 Hz); 2,45 (1H, m); 1,09 ppm (3H, d, J= 2,3 Hz), dan 1,08 (3H, d, J = 2,2 Hz); juga terdapat proton-proton yang berasal dari gugus isoprenil pada δ 5,11



Gambar 4. Spektrum ^{1}H-RMI senyawa (1)

Tabel 1. Data ^{1}H-RMI senyawa artokarpin dan senyawa (1)

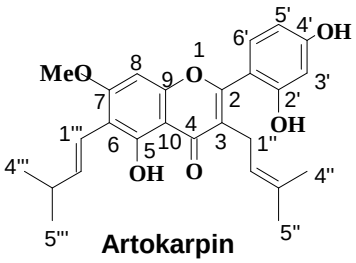
Posisi proton pada C	Artokarpin*	Senyawa (1)
5^{111}	1,11 (d, *J* = 6,8 Hz)	1,09 (d, *J* = 2,3 Hz)
4^{111}	1,11 (d, *J* = 6,8 Hz)	1,08 (d, *J* = 2,2 Hz)
4^{11}	1,46 (s)	1,43 (s)
5^{11}	1,61 (s)	1,57 (s)
3^{111}	2,48 (m)	2,45 (m)
7 (OCH_3)	3,88 (s)	3,96 (s)
2^{11}	5,15 (d, *J* = 6,6 Hz)	5,11
1^{11}	3,13 (d, *J* = 6,6 Hz)	3,12 (d, *J* = 6,3 Hz)
3^{1}	6,57 (s)	6,57 (d)
1^{111}	6,54 (d, *J* = 16,8 Hz)	6,52 (d)
5^{1}	6,52 (d, *J* = 8,5 Hz)	6,55 (d)
8	6,53 (s)	6,61 (s)
2^{111}	6,7 (dd, *J* = 6,8; 16,8 Hz)	6,71 (dd, *J* = 7 dan 16 Hz)
6^{1}	7,59 (d, *J* = 8,6 Hz)	7,21 (d, *J* = 8,6 Hz)
		8,82 (s)

Sumber: * Cunha *et al.* (1994)

ppm (1H) berasal dari proton pada C sp^2; 3,12 ppm (2H, d, *J* = 6,3 Hz); 1,43 ppm (3H, s); dan 1,57 ppm (3H, s). Selain itu terdapat puncak pada δ 3,96 (3H, s) yang berasal dari proton -OCH_3; dan δ 8,83 ppm yang berasal dari –OH aromatik. Dari data spektrum ^{1}H-NMR ini memperkuat bahwa senyawa (1) adalah artokarpin.
Spektrum ^{1}H-RMI senyawa (1) ditunjukkan pada Gambar 4. Perbandingan data ^{1}H-RMI senyawa (1) dengan artokarpin (Cunha *et al.*, 1994), dapat dilihat pada Tabel 1.

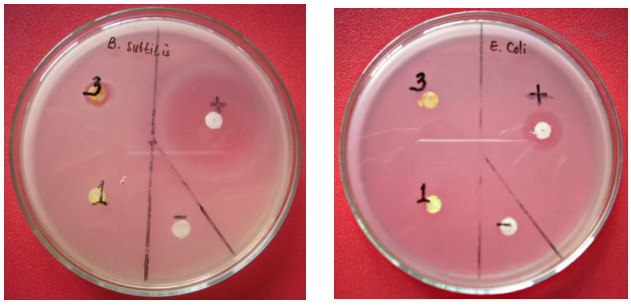
Perbandingan data ^{1}H-RMI senyawa (1) dengan artokarpin pada Tabel 1, menunjukkan nilai geseran kimia yang mirip, tetapi tetapan kopling tidak identik. Perbedaan ini disebabkan kemungkinan senyawa (1) belum cukup murni.

Berdasarkan hasil analisis terhadap senyawa hasil isolasi yang meliputi titik leleh, penafsiran spektrometri ultraungu-tampak, inframerah, ^{1}H-RMI dan membandingkan dengan senyawa artokarpin standard dapat disimpulkan bahwa senyawa (1) yang diperoleh dari kayu akar tumbuhan kenangkan (*A. rigida*) adalah artokarpin. Struktur molekul senyawa artokarpin dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur molekul artokarpin

Uji Bioaktivitas
Hasil analisis antiplasmodium *in vitro* yang dilakukan di Laboratorium Eijkman, senyawa (1) tidak menunjukkan aktivitas yang tinggi; sedangkan dari literatur, artokarpin mempunyai IC_{50} 3,0±0,2 µg/mL (Boonphong, 2007) menunjukkan aktivitas yang cukup tinggi terhadap plasmodium. Berdasarkan hasil uji antiplasmodium ini diperkirakan bahwa senyawa (1) masih belum murni. Pada uji bioaktivitas terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* (Gambar 6 dan Tabel 2), senyawa (1) aktif terhadap *B. subtilis* dengan zona hambat 9 mm dengan kadar senyawa (1) 283 µg/disk.



Gambar 6. Hasil uji antibakteri terhadap *B. subtilis dan E.* + Kontrol positif, - Kontrol negatif, 1. Sikloartokarpin, 3. Senyawa (1)

Tabel 2. Zona hambat senyawa (1) pada uji aktivitas terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*

Senyawa uji	Kadar (µg/disk)	Diameter zona hambat terhadap *B. subtilis* (mm)	Diameter zona hambat terhadap *E. coli* (mm)
Kloramfenikol	140	32	13
Kontrol negatif	0	0	0
Senyawa (1)	283	9	0

KESIMPULAN

Dari kayu akar *A. rigida* telah diisolasi artokarpin turunan senyawa flavon terprenilasi pada C-3. Senyawa ini mempunyai aktivitas antiplasmodial *in vitro* yang rendah. Pada uji antibakteri terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*, artokarpin, aktif terhadap *B. subtilis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Departemen Pendidikan Nasional Ditjen DIKTI, Direktorat DP3M atas dukungan dana dalam bentuk Hibah Penelitian Strategis Nasional Tahun Anggaran 2010.

DAFTAR PUSTAKA

Boonphong, S., A. Baramee, P. Kittakoop, and P. Puangsombat (2007), Antitubercular and Antiplasmodial prenylated flavones from the roots of *Artocarpus altilis*, *Chiang Mai J. Sci.*, **34**(3), 339-344.

Cunha, Maria P. Socorro, Angelo C. Pinto, and Raimundo B. (1994), Two Flavonoids Claricia racemosa*. J. Braz. Chem.Soc.,* **5**(2), 101-105.

Ferlinahayati (1999), *Norartokarpetin dan Flavonoid Terisoprenilasi dari Kulit Batang A. scortechinii King*, Tesis S-2, Kimia FMIPA ITB, Bandung.

Hakim, E.H., Eliza, Y. Kusumawati, S.A. Achmad, L. Makmur, N. Aimi, H. Takayama, dan M. Kitajima (1999**),** *J. Mat. & Sains*, **4**(2), 199-205.

Markham, K.R. (1988), *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB. Bandung. Hlm 1-113.

Lin, C.N.and Chai M.L. (1995), Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus*, *Phytochemistry*, **16**(6), 1447-1451.

Namdaung, U., Aroonrerk, N., Suksamrarn, S., Danwisetkanjana, K., Saenboonrueng, J., Arjchomphu, W., dan Suksamrarn, Apichart (2006), Bioactive Constituents of The Root Bark of *Artocarpus rigidus* subsp. *rigidus*. *Chem. Pharm. Bull.,* **54**(10), 1433.

Nomura, T., S. Hano, and M. Aida (1998), Isoprenoid-Substituted Flavonoid from *Artocarpus* Plants (Moraceae), *Heterocycles*, **47**(2), 1179-1205.

Suhartati T., Yandri A.S., Jhons F.S., and Sutopo Hadi (2010), In vitro and in Vivo Antiplasmodia Activity of Oxyresveratrol and Artonin E Isolated from Two Artocarpus Plants in Indonesia, OJC, **26**(3), 825-830.

Suhartati, T. (2001), *Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia*, Disertasi, ITB.,Bandung .

Suhartati, T., S.A. Achmad, N. Aimi, E.H. Hakim (1999b), Artonin E, Suatu Senyawa Flavonoid dari *Artocarpus rotunda*, *J. Mat. & Sains*, **4**(2), 178-184.

Suhartati, T., S.A. Achmad, N. Aimi, E.H. Hakim (1999b), Artonin O dan Sikloartobilosanton, Dua Senyawa Santon dari *Artocarpus rotunda*, Proceeding Seminar Kimia Bahan Alam'99, Depok 16-17 Nopember, 119-124.

METODE KALIBRASI ALAT UKUR AKTIVITAS *DOSE CALIBRATOR* MENGGUNAKAN SUMBER STANDAR FLOUR-18

Gatot Wurdiyanto, dkk
Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi
Badan Tenaga NGatot_w@batan.go.id
uklir Nasional

Abstrak

METODE KALIBRASI ALAT UKUR AKTIVITAS *DOSE CALIBRA*TOR MENGGUNAKAN SUMBER STANDAR FLOUR-18. Telah dilakukan penelitian metode kalibrasi untuk alat ukur aktivitas Dose Calibrator dengan menggunakan sumber standar F-18 di Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN. Hal ini perlu dilakukan guna memberikan dukungan terhadap perkembangan pemanfaatan teknologi nuklir di bidang kesehatan yang menggunakan teknologi *Positron Emission Tomography* (PET) di Rumah Sakit di Indonesia. Teknologi PET tersebut memanfaatkan sumber radioaktif F-18 sebagai perunut yang digunakan untuk mendiagnosis berbagai penyakit. F-18 diperoleh melalui proses iradiasi pada pesawat pemercepat elektron (*cyclotron*). Cara yang dilakukan adalah dengan menstandardkan sumber radioaktif F-18 kemudian sumber standard F-18 tersebut digunakan untuk mengkalibrasi alat ukur aktivitas *dose calibrator* yang dimiliki oleh rumah sakit. Standardisasi sumber F-18 dilakukan dengan metode spektrometri gamma. Kalibrasi alat ukur aktivitas *dose calibrator* dilakukan dengan mencacah sumber standard menggunakan alat ukur aktivitas *dose calibrator* milik rumah sakit. Koreksi yang dilakukan pada saat menstandardkan sumber F-18 adalah impuritas sumber, waktu mati, cacah latar, umur paro, dan peluruhan selama proses pengukuran. Faktor kalibrasi pada alat ukur dose calibrator adalah 1,12 dengan nilai ketidakpastian bentangan 6,6 %. Dengan berhasilnya penelitian ini diharapkan Laboratorium Metrologi Radiasi PTKMR-BATAN dapat melakukan kalibrasi alat ukur aktivitas menggunakan sumber standar berumur paro pendek F-18, sehingga pemanfaatan teknologi nuklir di bidang kedokteran dapat terlaksana dengan aman dan selamat baik bagi pekerja, masyarakat maupun lingkungannya.

Kata kunci : Kalibrasi, alat ukur aktivitas, F-18, dan spektrometri gamma.

PENDAHULUAN

Perkembangan pemanfaatan teknologi nuklir dalam bidang kesehatan telah memasuki era baru di Indonesia. Hal ini ditandai dengan masuknya teknologi Positron Emission Tomography / Computed Tomography (PET/CT) ke Indonesia yang menunjukkan semakin berkembangnya pemanfaatan teknologi nuklir di bidang kesehatan. PET/CT merupakan teknik pencitraan nuklir secara *noninvasive* yang meliputi pemberian radiofarmaka yang memancarkan positron dan pencitraan berikut distribusi dan gerakan material radioaktif perunut.

Seiring dengan pemanfaatan pesawat PET/CT, diperlukan suatu perangkat lain yang mendukung kegitan tersebut sebagai kontrol kualitas. Seperti diketahui, bahwa aplikasi pesawat PET/CT diikuti dengan keberadaan mesin pemercepat elektron (*cyclotron*) yang

akan memproduksi sumber radionuklida berumur paro sangat pendek seperti Flour-18 sebagai material perunut. Ukuran atau aktivitas dari sumber radionuklida F-18 perlu

diukur secara teliti dan akurat sebelum disuntikkan ke pasien. Alat ukur yang digunakan untuk mengukur aktivitas adalah *dose calibrator*. Alat ini merupakan alat utama yang sangat penting sebagai kontrol kualitas besaran dari sumber radioaktif yang akan disuntikkan ke pasien. Pemilihan alat ini sebagai alatn utama karena penggunaannya sangat praktis, sederhana, mudah, cepat dan sangat stabil dibanding alat ukur aktivitas lainnya. Meskipun demikian alat ini membutuhkan kontrol yang ketat dengan cara mengkalibrasi secara berkala ke laboratorium acuan menggunakan sumber standar yang sesuai. Kesalahan dalam pengukuran aktivitas menyebabkan diagnosis/ terapi menjadi tidak tepat. Efek samping terhadap pasien bila mendapat dosis aktivitas yang berlebihan kemungkinan akan mengakibatkan kanker pada organ yang terkena paparan radiasi.

Berdasar pada tugas dan fungsinya sebagai laboratorium acuan nasional dalam bidang pengukuran radioaktivitas, maka peran PTKMR dalam kegiatan PET/CT adalah dalam melakukan kalibrasi alat ukur radiasi/aktivitas. Dalam melaksanakan peran tersebut diperlukan sumber standar radiasi yang sesuai dan dapat digunakan untuk mengkalibrasi alat ukur radiasi. Salah satu sumber standar yang diperlukan adalah F-18.

Cara yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan menstandarkan sumber radioaktif F-18 menggunakan metode spektrometri gamma. Metode ini dipilih karena sangat fleksibel untuk mengukur radioaktif yang memancarkan foton gamma serta dapat melakukan analisa secara kualitatif dan kuantitatif. Selain itu metode ini dapat digunakan untuk menganalisa pengotor (impuritas) yang ada pada sumber standar tersebut, sehingga bila terdeteksi adanya impuritas maka dapat dilakukan koreksi secara bersamaan dengan pengukuran radioaktivitas sumber standar. Pengukuran aktivitas difokuskan pada energi 511 keV karena memiliki probabilitas pancaran sinar gamma yang sangat besar yaitu 200 % (Knoll, 1989). J.T. Cesena dan kawan-kawan melakukan standardisasi F-18 menggunakan sistem ionization chamber yang terkalibrasi (Cesena dkk., 2008). Kelemahan metode ini adalah tidak dapat melakukan analisa secara kualitatif dan kuantitatif impuritas dari sumber F-18. Untuk itu diperlukan metode lain dalam melakukan analisa kualitatif dan kuantitaf. Sedangkan beberapa laboratorium primer seperti National physics Laboratory, NPL (Inggris), NMIJ (Jepang), NIST (Amerika), ANSTO (Australia) dan lain-lain melakukan standardisasi F-18 menggunakan metode koinsidensi 4ṇ(EC)-γ (Bureau Internationale de Poids et Mesures, 2002). Metode koinsidensi 4ṇ(EC)-γ merupakan metode pengukuran secara absolut dimana sumber radioaktif diukur tanpa menggunakan pembanding/pengkalibrasi dari sumber standar. Selain itu metode ini sangat presisi dengan ketidakpastian di bawah 1 %. Namun demikian, untuk menentukan koreksi impuritas masih membutuhkan metode lain.

F-18 merupakan radionuklida yang mempunyai umur paro sangat pendek, yaitu 109,77 menit, meluruh dengan model tangkapan elektron dan memancarkan gamma pada energi 511 KeV menjadi O-183 (International Commission On Radiological Protection, 1983 dan Table De Radionucleides, 1982). Dengan sifat seperti ini, dalam melakukan standardisasi perlu memperhatikan beberapa faktor yang mempengaruhi dalam pengukuran radioaktivitasnya. Karena umur paro sangat pendek maka akan ada peluruhan aktivitas selama pengukuran. Untuk itu perlu dipertimbangkan lama pengukuran dengan pengaruh peluruhan aktivitasnya.Selanjutnya sumber standar tersebut digunakan untuk mengkalibrasi alat ukur aktivitas *dose calibrator* .

Tujuan dari penelitian ini adalah dapat melakukan kalibrasi alat ukur aktivitas *dose calibrator* secara akurat menggunakan sumber standar F-18 sehingga pemanfaatan teknologi nuklir dalam bidang kesehatan dapat terlaksana sesuai dengan tujuan pengobatan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dimulai dengan penyediaan sumber baku (*raw material*), preparasi, penghitungan aktivitas dan impuritas, koreksi-koreksi, analisis data dan kesimpulan. Preparasi sumber radioaktif yang dilakukan meliputi proses iradiasi, pengenceran dan penempatan sumber radioaktif, pengeringan dan pelapisan sumber.

Sumber baku (*raw material*)

Sumber F-18 didapatkan melalui reaksi $^{18}O(p, n)^{18}F$ pada suatu pesawat pemercepat partikel bermuatan (*cyclotron*) yang dipasang di sebuah Rumah sakit di Jakarta (Iaea. 1966). Pesawat ini mutlak diperlukan untuk menjamin ketersediaan sumber F-18 secara berkelanjutan mengingat umur paro F-18 yang hanya sekitar 110 menit. Efek dari produksi F-18 melalui cara ini menghasilkan neutron yang terhambur kesegala arah. Untuk itu pada pesawat *cyclotron* perlu dilengkapi dengan sistem perisai terhadap neutron agar tidak membahayakan lingkungan sekitarnya dan monitor neutron untuk mengetahui tingkat paparan radiasi dari neutron.

Preparasi

Preparasi sampel dimulai denganmenyiapkan wadah, alat-alat dan penyangga sumber baik berupa ampul maupun lapisan film tipis *mylar*, kemudian dibersihkan menggunakan alkohol encer dan disterilkan dari unsur- unsur lain. Preparasi dilakukan menggunakan metode gravimetrik menggunakan semimikro *balance* yang terkalibrasi karena lebih akurat dibandingkan metode lain. Sumber berbentuk titik yang disiapkan sebanyak 3 (tiga) buah dan sumber berbentuk cair dalam wadah ampul 2 (dua) buah. Setelah sumber F-18 diteteskan pada penyangga *mylar* lalu dikeringkan menggunakan sinar infra merah kemudian ditutup dengan lapisan *mylar* yang sama dan diberi kode. Untuk sumber berbentuk cair, setelah ditempatkan pada wadah ampul, ditutup dengan cara mengelas. Selanjutnya kedua jenis sumber F-18 tersebut siap diukur.

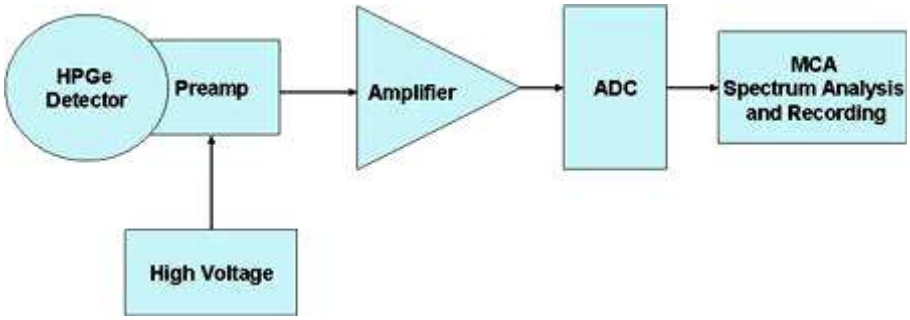
Pengukuran aktivitas

Aktivitas sampel berbentuk titik diukur menggunakan perangkat spektrometer gamma seperti pada Gambar 1. Detektor yang digunakan adalah semikonduktor HPGe Model GC1018, serial number 08057902 yang memiliki efisiensi relatif 10,3% dengan energi resolusi 1,69 keV pada energi 1333 keV. Detektor ini dilengkapi dengan *pre-amplifier* model 2002CSL dan bekerja pada tegangan operasional 4500 volt dengan polaritas positif. *Amplifier* yang digunakan adalah buatan Canberra tipe 2022 sedangkan setelan *amplifier* adalah *coarse gain* pada posisi 100 dan *fine gain* 0,73. Selanjutnya dihubungkan ke sistem *Multichannel analyzer* (MCA) dalam *software*Gennie 2000 yang di program dalam personal computer. Jarak sumber ke detektor 25 cm. Sebelum dilakukan pengukuran perangkat spektrometer gamma harus dikalibrasi lebih dulu menggunakan sumber standar yang mempunyai ketertelusuran ke sistem internasional. Pada penelitian

ini sumber standar yang digunakan adalah sumber multigamma Eu-152 berbentuk titik. Kalibrasi yang dilakukan adalah kalibrasi energi dan kalibrasi efisiensi deteksi (Knoll, 1989; Debertin And Helmer, 1988 dan Susetyo, 1988). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan lama pengukuran untuk sekali pengulangan adalah 5 menit. Pengukuran terhadap sumber standar Eu-152 dilakukan selama 10.000 detik agar dicapai nilai ketelitian yang tinggi. Untuk sumber cair dalam wadah ampul aktivitasnya ditentukan dengan menggunakan hasil ukur dari metode spektrometri gamma.

Pengukuran impuritas

Impuritas diukur menggunakan perangkat spektrometer gamma yang sama dengan yang digunakan saat mengukur aktivitas. Pengukuran dilakukan beberapa kali dalam waktu yang berbeda untuk melihat kemungkinan adanya impuritas yang mempunyai umur paro lebih besar dari sampel yang diukur. Sumber standar yang digunakan dalam pengukuran impuritas ini adalah Ba-133, Co-60, Cs-137 dan Eu-152. Kandungan impuritas suatu bahan standar perlu diketahui dan harus dikoreksi agar mendapatkan nilai standar yang akurat dan teliti. Alat yang digunakan adalah perangkat spektrometer gamma yang dapat melakukan analisa secara kualitatif maupun kuantitaif. Pengukuran impuritas dilakukan tersendiri agar efek puncak jumlahan (*sumpeak*) maupun gejala penumpukan (*pile-up*) yang terjadi seminimal mungkin. Faktor-faktor ini menjadi pengganggu utama saat melakukan analisis kualitatif.



Gambar 1. Perangkat spektrometer gamma menggunakan detektor semikonduktor HPGe.

Koreksi – koreksi

Faktor yang sangat menentukan keberhasilan pengukuran adalah melakukan sejumlah koreksi-koreksi yang mempengaruhi kondisi ideal pengukuran. Dalam penelitian ini koreksi yang dilakukan adalah cacah latar, waktu mati (*dead time*), faktor kekotoran sampel (*impuritas*), faktor peluruhan, dan lain-lain. Koreksi terhadap cacah latar dilakukan dengan mencacah latar selama 54.000 detik. Hal ini dilakukan untuk mencapai nilai pengukuran yang akurat. Sedangkan koreksi terhadap waktu mati (*dead time*) dilakukan secara langsung dengan menyetel (*setting*) waktu cacah pada posisi *live time*. Koreksi terhadap waktu peluruhan dilakukan pada setiap pengukuran meskipun lama pengukuran hanya 1 jam, hal ini disebabkan waktu paro sampel hanya sekitar 109,77 menit. Hal yang sangat kritis adalah saat menentukan titik acu aktivitas terukur karena selama proses pencacahan sumber radioaktif juga mengalami peluruhan yang sangat signifikan.

Pengambilan Data Kalibrasi

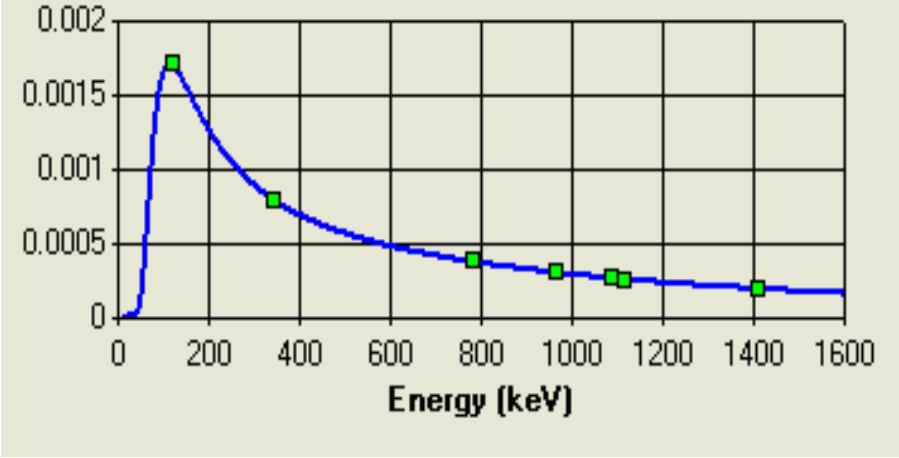
Setelah proses standardisasi selesai maka sumber standar tersebut digunakan untuk mengkalibrasi alat ukur aktivitas dose calibrator. Pengambilan data kalibrasi sebanyak 15 kali guna mendapatkan tingkat statistik yang memadai. Data kalibrasi dapat diambil setelah alat ukur yang akan dikalibrasi telah memenuhi persyaratan teknis dan cukup pemanasan. Hal ini dilakukan agar perangkat ukur tersebut telah mencapai kesetimbangan elektronik sehingga tidak mengalami distorsi elektronik maupun kebocoran arus. Diperhitungkan juga seberapa jauh pengaruh lama pengukuran dengan proses peluruhan dari sumber standar. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan faktor peluruhan selama pengukuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penimbangan sampel F-18 bentuk titik maupun cairan dalam wadah ampul ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Penimbangan Sumber F-18

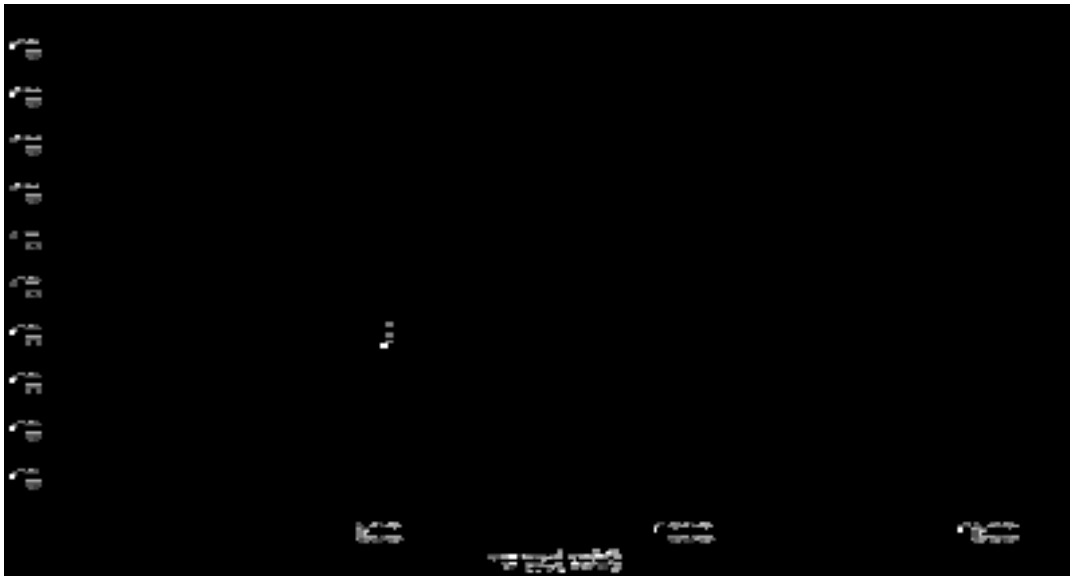
No.	Bentuk	Berat (mg)
T1801	Titik	13,30395
T1802	Titik	16,53735
T1803	Titik	12,64326
A1801/08	Ampul	4028,630
A1802/08	Ampul	2940,124



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Efisiensi dengan menggunakan Sumber Eu-152.

Hasil kalibrasi efisiensi dengan menggunakan sumber Eu-152 ditunjukkan oleh kurva pada Gambar 2. Data penimbangan sampel berbentuk titik dibuat dengan berat yang hampir sama, hal ini dibuat untuk menghindari efek absorpsi diri (*self absorption*). Sedangkan untuk sumber cair dalam wadah ampul dibuat berbeda untuk keperluan

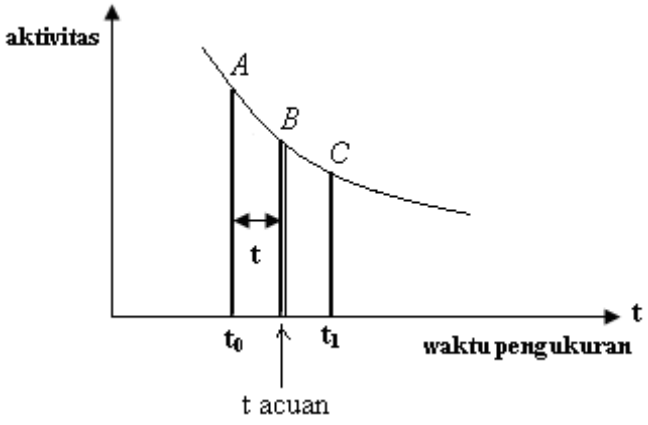
kalibrasi alat ukur *dose calibrator*. Kurva kalibrasi efisiensi menampilkan hubungan antara efisiensi deteksi dengan energi. Dari hubungan ini dapat diketahui besarnya efisiensi deteksi untuk setiap energi gamma yang dipancarkan oleh sumber radioaktif. Sesuai dengan kurva kalibrasi maka didapatkan nilai efisiensi untuk energi gamma 511 keV adalah 0,00061288. Spektrum F-18 ditampilkan pada Gambar 3., terlihat secara jelas foton pada energi 511 keV yang didapat menggunakan perangkat spektrometer gamma menggunakan detektor semikonduktor HPGe. Pada energi 511 keV spektrum yang terbentuk sebagai akibat dari spektrum F-18 dan juga energi anihilasi sehingga total intensitas menjadi 200%. Nilai ini yang digunakan untuk menentukan aktivitas F-18. Pada Gambar ini tidak ditemukan impuritas yang cukup signifikan.



Gambar 3. Spektrum F-18 Menggunakan Detektor Semikonduktor HPGe.

Gambar 4. menampilkan tipe peluruhan F-18 yang meluruh saat dilakukan pengukuran. Dalam hal ini titik acuan waktu pengukuran perlu ditentukan. Biasanya untuk radionuklida yang memiliki umur paro panjang titik acuan waktu pengukuran tidak begitu mempunyai nilai yang signifikan, dalam hal ini hanya menggunakan titik tengah dari lama perbedaan ini sangat berarti. Untuk waktu pengukuran selama 10 menit memiliki perbedaan sekitar 0,03 menit, sedangkan untuk pengukuran selama 5 menit memiliki perbedaan 0,011 menit. Dengan kondisi seperti ini penentuan aktivitas F-18 perlu dikoreksi dengan waktu peluruhan selama pengukuran.

Hasil pengukuran impuritas F-18 tidak terdeteksi sehingga koreksi terhadap impuritas tidak diperlukan. Hasil pengukuran aktivitas F-18 terkoreksi terhadap cacah latar, waktu mati dan waktu peluruhan selama pengukuran setelah dinormalisasi ke waktu acuan, ditampilkan pada Tabel 2.



Gambar 4. Tipe peluruhan F-18 terhadap waktu pengukuran.

Tabel 2. Hasil Pengukuran F-18 dengan metode Spektrometri gamma ternormalisasi.

No.	Berat (mg)	Aktivitas Jenis (Bq/mg) *)
T1801	13,30395	231931
T1802	16,53735	229873
T1803	12,64326	230112
Rata-rata		230639 ± 1125

*) Aktivitas jenis adalah nilai aktivitas dibagi dengan berat sampel.

Tabel 3. Data Kalibrasi Alat Ukur Aktivitas Dose Calibrator dengan sumber standar F-18

No.	Cacahan (mCi)	No.	Cacahan (mCi)	No.	Cacahan (mCi)
1	23	6	23	11	23
2	23	7	23	12	23
3	23	8	23	13	23
4	23	9	23	14	23
5	23	10	23	15	23

Dari Tabel 2 terlihat bahwa hasil pengukuran tiap-tiap sampel berbentuk titik setelah dikoreksi dan dinormalisasikan terhadap waktu acu yang sama, didapatkan hasil yang cukup baik dengan nilai (230639 ± 1125) Bq/mg. Dari hasil tersebut maka dapat ditentukan nilai aktivitas pada sumber cair dalam wadah ampul yaitu (929,16 ± 4,53) kBq untuk ampul dengan kode A1801/08 dan (678,11 ± 3,31) kBq untuk ampul dengan

kode A1802/08. Sumber standar ini dapat digunakan secara langsung untuk mengkalibrasi perangkat *dose calibrator* yang menggunakan radionuklida F-18 pada instalasi PET/CT.

KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Standardisasi F-18 menggunakan metode spektrometri gamma cukup memberikan hasil yang sangat baik karena memiliki tingkat kestabilan yang tinggi, dengan hasil pengukuran (230639 ± 1125) Bq/mg. Selain itu perangkat ini juga dapat menentukan kandungan impuritas dalam sampel.
2. Hasil pembuatan sumber standar dalam wadah ampul dengan nilai aktivitas (929,16 ± 4,53) kBq untuk ampul dengan kode A1801/08 dan (678,11 ± 3,31) kBq untuk ampul dengan kode A1802/08. Dari hasil ini sumber standar tersebut dapat digunakan untuk mengkalibrasi perangkat ukur seperti *dose calibrator* dan lainnya.
3. Koreksi terhadap waktu peluruhan selama pengukuran perlu dilakukan untuk radionuklida F-18, karena mempunyai perbedaan sekitar 3% untuk waktu pengukuran 10 menit dan sekitar 1,1% untuk waktu pengukuran selama 5 menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada pihak RS "Gading Pluit" yang telah mempercayakan kepada kami untuk mengkalibrasi perangkat *dose calibrator* sehingga kami mendapatkan peluang untuk mengukur / menstandardkan F-18. Mudah - mudahan kerja sama ini berlangsung lebih erat sehingga tujuan pemanfaatan teknologi nuklir di bidang kesehatan dapat berjalan secara tepat, aman dan selamat.

Daftar Pustaka

Cesena, J.T., Shultz, M.K., Lesile, T. And Bores, N.,2008. Radionuclide Calibrator Measurements Of 18f In A 3 Ml Syringe, Journal Applied Radiation And Isotopes, Vol. 66, Issues 6- 7.

Bureau Internationale De Poids Et Mesures. 2002. Comparison Results Of F-18, Bipm.Ri(Ii)-K1, F-18,.

International Commission On Radiological Protection. 19833. Radionuclide Transformation, Icrp Publication No. 38, 11-13.

Table De Radionucleides. 1982. Laboratoire De Metrologie Des Rayonnements Ionisants, Medical Selection, Commissariat A I Energie Atomique, 1982.

Iaea. 1966. Manual Of Radioisotope Production, Technical Reports Series Np. 63, Iaea, Vienna

Knoll, G. F. 1989. Radiation Detection And Measurement, Second Edition, John Wiley & Sons, Inc.

Debertin, K And Helmer, R. G. 1988. Gamma And X-Ray Spectrometry With Semiconductor Detectors, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam,

Susetyo, W. , 1988 Spektrometri Gamma Dan Penerapannya Dalam Analisis Pengaktifan Neutron, Yogyakarta, Universitas Gajah Mada Press.

BEBERAPA BAKTERI MESOFILIK AMILOLITIK ISOLAT LOKAL PENGHASIL ENZIM Cyclodextrin Glukanotransferase (CGT-ase)

Mulyono dan Hade Sastra Wiyana
Jurusan Kimia FMIPA UNILA

ABSTRAK

Penelitian ini merupakan studi pendahuluan terhadap beberapa isolat amilolitik mesofilik yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya untuk menghasilkan enzim CGT-ase beberapa isolat bakteri, pada medium Horikhosi's II. Sebanyak 14 isolat, masing-masing 10 isolat bakteri amilolitik mesofilik diperoleh melalui penelitian sebelumnya dan 4 isolat dari ITBCC. Dari 14 isolat bakteri yang diuji, terdapat 4 isolat diduga mampu menghasilkan CGT-ase pada medium Horikhosi's II yaitu B-24, 13-A, B-23 dan B-28 dan 1 isolat ITBCC yaitu *Bacillus firmus* dengan menunjukkan terbentuknya zona bening atau *halozone* berwarna keunguan atau kuning disekitar koloninya. Keempat isolat bakteri tersebut kemudian diuji pada medium yang mengandung sumber pati yang berbeda. Bakteri B-28 dan *Bacillus firmus* diduga bakteri yang potensial untuk menghasilkan enzim CGT-ase. Diantara sumber pati yang diuji, medium dengan pati singkong adalah yang paling baik. Isolat B-28 mampu menghasilkan diameter halozone sekitar 2.6 cm. Selanjutnya berdasarkan perubahan nilai absorbansi terhadap uji aktivitas ekstrak kasar enzim CGT-ase, kedua isolat tersebut mengkatalisis pati singkong secara berarti. Dengan melihat perbandingan terhadap kontrol, pembesaran nilai absorbansi dapat dianggap sebagai penguaraian pati menjadi siklodekstrin dengan jumlah aktivitas yang cukup.

Keywords: *CGT-ase, Siklodekstrin, pati singkong*

PENDAHULUAN

Enzim amilolitik berperan dalam mengubah pati menjadi gula sederhana. Gula sederhana ini dapat dimanfaatkan langsung sebagai metabolit sekunder karena bernilai ekonomis tinggi, atau diproses lebih lanjut menjadi produk akhir seperti etanol atau asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi enzimatik isolat amilolitik lokal, yang berpotensi untuk memproduksi metabolit, khususnya yang bermafaat sebagai bahan tambahan (eksipien) farmasi, yaitu siklodekstrin (CDs). Secara khusus selain pendalaman aktivitas amilase isolat, karakter enzim siklodekstrin glukotransferase (CGTase) yang berfungsi mengkatalisis pengubahan pati menjadi CDs, akan menjadi fokus kajian pada riset ini.

Mikroba mesofilik amilolitik mampu mendegradasi pati menjadi menjadi glukosa yang disebut enzim amilase, selain itu juga berpeluang menghasilkan enzim ekstraseluler lainnya yaitu enzim siklodekstrin glukanotransferase (CGT-ase). Medium Horikhosi's II adalah medium spesifik untuk mengisolasi mikroba amilolitik yang menghasilkan enzim CGT-ase (Park *et al.*, 1989). Enzim CGT-ase yaitu enzim ekstraseluler yang dapat mengubah pati menjadi siklodestrin (Tonkovo, 1998). Selanjutnya siklodekstrin banyak

digunakan dalam berbagai industri seperti industri obat-obatan, kosmetik, makanan dan industri kimia (Szejtli 1997; Vassileva *et al.* 2005). Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme tersebut harus sesuai komposisi dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan (Volk dan Wheeler, 1993). Medium yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri amilolitik pada praktik kerja ini yaitu medium Horikhosi's II (Park *et al.*, 1989) yang mengandung fenolftalein dan metil jingga, dengan sumber isolat bakteri dari limbah pabrik pengolahan singkong di Lampung.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat.

Penelitian ini dilakukan pada tahun 2010 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Instrumen Biokimia dan Laboratorium Biomolekuler Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Alat dan Bahan.

Adapun alat-alat yang digunakan adalah *autoclave*, *laminar air flow*, neraca analitik, inkubator, *shaker incubator*, *waterbath*, oven, spektofotometer UV-Vis dan alat-alat gelas lain seperti tabung reaksi, cawan petri, Erlenmeyer, beaker gelas, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, batang pengaduk, serta Bunsen, kaki tiga, kasa, rak tabung reaksi dan jarum ose. Adapun bahan-bahan yang digunakan pada praktik kerja lapangan ini adalah pati singkong, pepton, *yeast extract*, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$, fenolftalein, metil jingga, agar, natrium karbonat, bakteri 6-A, LTE-5, 11-A, B-26, B-6, LTE-6, B-24, 13-A, B-23, B-28, *Bacillus firmus* ITBCC, *Bacillus cereus* ITBCC, *Bacillus circulans* ITBCC, *Bacillus licheniformis* ITBCC, aquades, *soluble starch*, pati sagu, pati jagung, pati beras, buffer asetat 0.1 M pH 5.5, fenolftalein 1 mM, spiritus dan alkohol.

Persiapan Pendahuluan.

Seluruh alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih, dikeringkan dan dilakukan sterilisasi agar alat-alat tersebut terhindar dari mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya. Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Seluruh kegiatan dilakukan secara aseptik di dalam *laminar air flow* kecuali yang disebutkan secara khusus.

Pembuatan Medium Horikhosi's II.

Medium Horikhosi's II disiapkan dengan cara menimbang 1 g pati singkong, 0.5 g pepton, 0.5 g *yeast extract*, 0.1 g K_2HPO_4, 0.02 g $MgSO_4.7H_2O$, 0.03 g fenolftalein, 0.01 g metil jingga, 1,5 g agar dan 1 g natrium karbonat. Seluruh bahan yang telah ditimbang kecuali natrium karbonat dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 80 mL disebut larutan I. Larutan I dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk. Natrium karbonat dilarutkan dengan konsentrasi 1% dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer disebut larutan II. Sejumlah aquades disiapkan dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer disebut larutan III. Larutan I, larutan II dan larutan III disterilisasi dengan menggunakan pada suhu 121ºC, 1 atm selama 30 menit. Medium Horikoshi's II *autoclave* disiapkan dengan mencampurkan larutan I sebanyak 80 mL, Larutan II sebanyak 17 mL

dan larutan III sebanyak 3 mL. Setelah medium Horikhosi's II tercampur rata, medium Horikhosi's II dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL dan didiamkan pada suhu kamar.

Pertumbuhan Bakteri Amilolitik.

Medium Horikhosi's II diinokulasi dengan sejumlah isolat bakteri amilolitik yaitu 6-A, LTE-5, 11-A, B-26, B-6, LTE-6, B-24, 13-A, B-23, dan B-28 dan bakteri ITBCC yaitu *B. firmus*, *B. cereus*, *B. circulans*, dan *B. Licheniformis*, inokulasi dilakukan dengan medote tusuk. Medium Horikhosi's II diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam. Bakteri yang menghasilkan zona bening atau *halozone* berwarna keunguan atau kuning disekitar koloni merupakan bakteri yang menghasilkan enzim CGT-ase (Park *et al*., 1989). Diameter koloni dan *halozone* diukur. Pengukuran *halozone* dilakukan setiap 24 jam selama 3 hari.

Uji Aktivitas CGT-ase pada Medium Padat Horikoshi's II dengan Variasi Sumber Pati.

Sumber pati yang digunakan yaitu pati singkong, *soluble starch*, pati sagu, pati jagung dan pati beras. Pembuatan medium Horikhosi's II sama dengan prosedur yang diatas, tetapi tanpa penambahan substrat pati. Larutan I dibagi ke dalam 5 Erlenmeyer sebanyak 40 mL, dimasukkan 5 macam substrat pati seperti pati singkong, *soluble starch*, pati sagu, pati jagung dan pati beras ke dalam 5 Erlenmeyer yang berbeda. Masing-masing larutan dipanaskan hingga mendidih dan disterilisasi menggunakan *autoclave*. Masing-masing larutan I ditambahkan sebanyak 8.5 mL larutan II dan 1.5 mL larutan III yang telah disterilisasi. Medium Horikhosi's II dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak ± 15 mL. Medium Horikhosi's II diinokulasi dengan bakteri B-28 dan *Bacillus firmus* ITBCC. Medium Horikhosi's II diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator. Diukur diameter koloni dan *halozone* yang terbentuk.

Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim CGT-ase.

Aktivitas CGT-ase diukur berdasarkan metode Kaneko *et al.* (1987) dan dimodifikasi oleh Alves-Prado *et al.* (2008). Bakteri B-28 dan *Bacillus firmus* ITBCC diinokulasi pada medium cair Horikoshi's II yang mengandung pati singkong, pepton, *yeast extract*, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$ tanpa indikator fenolftalein dan metil jingga. 100 µL larutan enzim ditambahkan 800 µL *soluble starch* 1% yang disiapkan dalam buffer asetat 0,1 M pH 5,5 diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55^oC. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 4 mL Na_2CO_3 0.25 M dan 0.1 mL larutan fenolftalein 1 mM. Absorbansi diukur pada panjang λ_{maks} 550 nm. Untuk kontrol, enzim diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 100^oC selama 30 menit. Selanjutnya diperlakukan sama dengan prosedur di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan medium Horikhosi's II (Park *et al.*, 1989) dengan satuan (w/v) yang mengandung pati singkong 1%, pepton 0.5%, *yeast extract* 0.5%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4.7H_2O$ 0.02%, fenolftalein 0.03%, metil jingga 0.01%, agar 1.5%, dan Na_2CO_3 1% yang disterilisasi secara terpisah dengan medium Horikhosi's II. Pada pembuatan medium ini, dilakukan sterilisasi secara terpisah antara larutan I, larutan II dan larutan

III. Saat pencampuran antara larutan I dan II dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan kertas pH indikator. Ini bertujuan untuk mengetahui apakah pH medium telah mencapai pH 10. Fungsi dari larutan II yaitu untuk meningkatkan pH medium menjadi pH 10 dan menstabilkan pH larutan. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan III hingga 100 mL. Medium Horikhosi's II yang telah tercampur rata dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan pada suhu kamar.

Isolat bakteri yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya yaitu bakteri 6-A, LTE-5, 11-A, B-26, B-6, LTE-6, B-24, 13-A, B-23, B-28, dan bakteri ITBCC yaitu *B. firmus*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. licheniformis* di inokulasi pada medium Horikhosi's II dengan metode tusuk pada cawan petri yang dibagi menjadi 3 kuadran. Digunakan metode tusuk karena bakteri amilolitik bersifat anaerob sehingga akan lebih baik jika koloni bakteri tumbuh di dasar cawan petri. Medium yang telah diinokulasi bakteri diinkubasi selama 2 hari. Inkubasi dilakukan selama 2 hari karena dalam waktu itu bakteri akan tumbuh dengan baik. Setelah inkubasi 2 hari dilakukan pengamatan, bakteri yang tumbuh dan membentuk zona bening atau *halozone* berwarna keunguan atau kuning menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi pati menjadi siklodektrin (Aziz e*t al.*, 2007). Bakteri yang mampu menghasilkan *halozone* pada medium Horikhosi's II dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kemampuan menghasilkan *halozone* berbagai isolat bakteri pada medium Horikhosi's II

No	Nama Isolat Bakteri	Penampakan *Halozone*
1	6-A	-
2	LTE-5	-
3	11-A	-
4	B-26	-
5	B-6	-
6	LTE-6	-
7	B-24	+
8	13-A	+
9	B-23	+
10	B-28	+
11	cp1	+
12	cp2	-
13	cp3	-
14	cp4	-

Keterangan : cp1 = *B. firmus* ITBCC, cp2 = *B. cereus* ITBCC, cp3 = *B. circulans* ITBCC, cp4 = *B. licheniformis* ITBCC, (+) = menghasilkan *halozone*, (-) = tidak menghasilkan *halozone.*

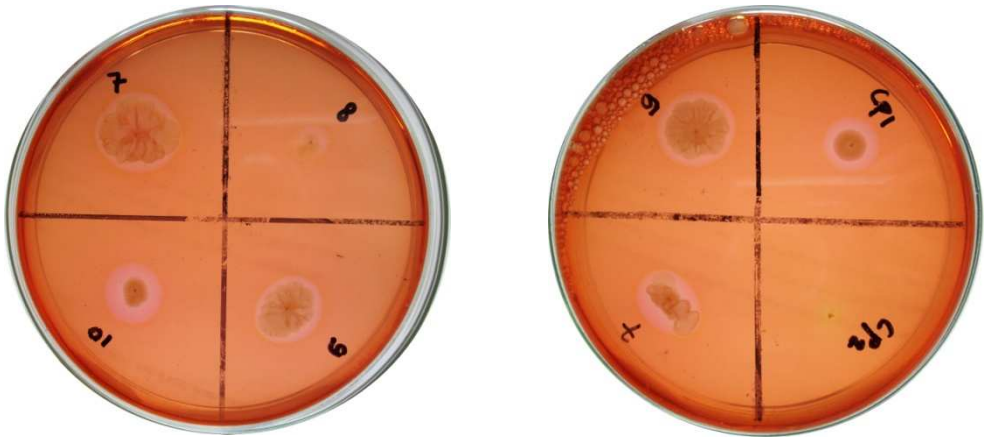
Dari data di atas maka isolat bakteri yang mampu menghasilkan *halozone* pada medium Horikhosi's II yaitu B-24, 13-A, B-23, B-28 dan cp1. Isolat bakteri tersebut diinokulasi kembali pada medium yang baru pada cawan petri yang telah dibagi menjadi 4 kuadran untuk mengetahui pertumbuhan koloni dan terbentuknya halozone disekitar koloni bakteri. Isolat bakteri tersebut diinokulasi dengan metode tusuk. Kemudian medium diinkubasi selama 2 hari. Setelah inkubasi 2 hari dilakukan pengamatan, diameter koloni dan *halozone* yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter koloni dan *halozone* isolat bakteri pada medium Horikhosi's II inkubasi selama 2 hari.

No	Nama Isolat Bakteri	Diameter Koloni (cm)	Diameter *Halozone* (cm)
1	B-24	1.5	1.8
2	13-A	0.5	0.8
3	B-23	1.4	1.6
4	B-28	0.7	1.4
5	cp1	0.8	1.3

Keterangan : cp1 = *B. firmus* ITBCC

Namun pada isolat bakteri B-24 dan B-23 diduga bukan koloni bakteri yang diinginkan karena pertumbuhan bakteri yang terjadi tidak membentuk membulat seperti bakteri B-28 dan cp1, sedangkan bakteri B-23 tidak membentuk *halozone* berwarna keunguan. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar di bawah ini



Gambar 1. Koloni yang menghasilkan *halozone* pada medium Horikhosi's II setelah inkubasi 2 hari.

Inkubasi dilanjutkan selama 1 hari untuk mengetahui penambahan diameter koloni dan diameter *halozone* pada isolat bakteri B-28 dan cp1. Hasil pengamatan setelah diinkubasi 3 hari dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter koloni dan *halozone* isolat bakteri pada medium Horikhosi's II inkubasi selama 3 hari.

No	Nama Isolat Bakteri	Diameter Koloni (cm)	Diameter Halozone (cm)
1	B-28	1.1	1.9
2	cp1	1	1.8

Keterangan : cp1 = *B. firmus* ITBCC

Zona bening atau *halozone* adalah zona berwarna bening yang berada disekitar koloni bakteri amilolitik. Zona bening yang terbentuk disekeliling isolat menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut telah mengkatalisis pati dibagian media tersebut (Cappuccino, 1993). Dimana pati telah dikatalisis menjadi siklodekstrin dengan bantuan enzim CGT-ase (siklodektrin glukanotransferase).

Enzim CGT-ase merupakan enzim multifungsional yang mengkatalisis pembentukan siklodekstrin dari pati. Beberapa spesies bakteri terutama *Bacillus macerans* (Kitahata dan Tsuyama, 1974), *Bacillus circulans* (Pongsawadi dan Yagiswa, 1987), *Bacillus magaterium* (Kitahata dan Okada, 1976), *Klebsiella sp.* (Bender, 1977, Lee *et al*., 1992) dan *Bacillus* alkalofilik (Nakamura dan Horikhosi, 1976) diketahui sebagai penghasil enzim CGT-ase yang potensial.

Produk katalisis enzim CGT-ase menurut pustaka yaitu siklodekstrin. Siklodekstrin merupakan oligosakarida yang tersusun 6, 7 atau 8 unit glukosa anhidrat melalui ikatan (1-4) dengan membentuk struktur melingkar. Berdasarkan jumlah unit glukosa penyusun, siklodekstrin dibagi menjadi 3 yaitu alfa (6 unit), beta (7 unit) dan gamma (8 unit) (Szetjli, 1982). Siklodekstrin pada umumnya diproduksi dari pati menggunakan enzim CGT-ase (Lee *et al,*. 1992).

Pada medium Horikhosi's II padat, dari 14 isolat bakteri yang diinokulasi ada 2 isolat bakteri yang menghasilkan enzim CGT-ase yaitu B-28 dan *B. firmus* ITBCC. Isolat bakteri tersebut kemudian diuji pada medium Horikhosi's II yang mengandung sumber pati yang berbeda. Apakah enzim CGT-ase dari dua isolat bakteri tersebut juga dihasilkan pada jenis pati yang berbeda, maka dilakukan uji pada medium Horikhosi's II padat. Sumber pati yang digunakan yaitu pati singkong, *soluble starch*, pati sagu, pati jagung dan pati beras. Berbagai jenis substrat pati mungkin digunakan untuk memproduksi CGT-ase, termasuk tepung jagung dan tepung beras (Wang *et al*., 1996). Isolat bakteri diinokulasi pada medium Horikhosi's II dengan metode tusuk. Medium diinkubasi selama 3 hari. Hasil pengamatan setelah diinkubasi selama 3 dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan data pengamatan di atas dapat dikatakan bahwa medium yang mengandung substrat pati singkong lebih baik untuk menghasilkan enzim CGT-ase, hal ini dapat dilihat dengan terbentuknya diameter *halozone* yang cukup besar. Dari data di atas juga dapat dibandingkan diameter *halozone* isolat bakteri B-28 yang terbentuk pada medium dengan substrat pati yang berbeda, dari diameter yang paling besar secara berurutan adalah:
pati singkong (2.6 cm) > pati sagu (2.3 cm) > pati jagung (1.3 cm) > pati beras (1.3) > *soluble starch* (1.2 cm)

Tabel 4. Diameter koloni dan *halozone* isolat bakteri pada medium Horikhosi's II yang mengandung sumber pati yang bervariasi setelah inkubasi selama 3 hari.

Jenis Pati	Nama Isolat Bakteri	Diameter Koloni (cm)	Diameter *Halozone* (cm)
Pati Singkong	B-28	**1.1**	**2.6**
	B. firmus ITBCC	0.9	1.4
Soluble Starch	B-28	1	1.4
	B. firmus ITBCC	0.9	1.2
Pati Sagu	B-28	1	**2.3**
	B. firmus ITBCC	0.9	1.6
Pati Jagung	B-28	1	**2.1**
	B. firmus ITBCC	0.8	1.4
Pati Beras	B-28	0.8	1.3
	B. firmus ITBCC	0.9	1.2

Berdasarkan data yang diamati bahwa isolat bakteri amilolitik dapat tumbuh pada semua sumber pati yang digunakan. Pati sagu, pati singkong dan pati jagung merupakan sumber pati yang paling baik untuk sintesis enzim (Aziz, *et al*., 2007).
Isolat bakteri B-28 dan *Bacillus firmus* ITBCC juga dilakukan uji pada medium cair untuk mengetahui aktivitas enzim CGT-ase. Aktivitas CGT-ase diukur berdasarkan metode Kaneko *et al.* (1987) dan dimodifikasi oleh Alves-Prado *et al.* (2008). Isolat bakteri diinokulasi pada medium Horikoshi's II tanpa agar (Park *et al*., 1989), serta tanpa fenolftalein dan metil jingga. Medium digoyang dalam *shaker incubator* selama 24 jam dan 48 jam pada suhu ruang dan disentrifugasi selama 15 menit untuk memisahkan endapan dengan supernatan. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim CGT-ase. Larutan enzim ditambahkan *soluble starch* 1% yang telah disiapkan dalam buffer asetat 0.1 M pH 5.5, selanjutnya diinkubasi pada suhu 55 ºC selama 10 menit. Hal ini dilakukan karena proses penguraian pati menjadi siklodekstrin berlangsung pada suhu 55 ºC selama 10 menit. Penghentian reaksi antara pati dengan enzim dilakukan dengan penambahan Na_2CO_3 0.25 M dan fenolftalein 1 mM. Pada saat penambahan fenolftalein larutan enzim berubah warna menjadi merah muda keunguan. Hal ini disebabkan karena larutan enzim dalam keadaan basa. Absorbansi diukur pada λ_{maks} 550 nm. Nilai serapan yang terukur pada spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk menghitung besarnya aktivitas unit enzim CGT-ase. Satu unit aktivitas CGT-ase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang memproduksi 1 µmol β-siklodekstrin per menit. Hasil pengukuran aktivitas enzim CGT-ase dapat dilihat pada Table 5 dan Tabel 6

Dari data yang disajikan di atas, isolat B-28 merupakan isolat yang cukup potensial untuk menghasilkan enzim CGT-ase, ini berdasarkan dari nilai absorbansi yang diperoleh. Analisis data aktivitas enzim CGT-ase, seharusnya menggunakan kurva standar β-siklodekstrin. Tetapi pada praktik kerja lapangan, tidak terdapat β-siklodekstrin untuk membuat kurva standar β-siklodekstrin. Dengan melihat perbandingan terhadap kontrol, pembesaran nilai absorbansi dapat dianggap sebagai penguaraian pati menjadi siklodekstrin dengan jumlah aktivitas yang cukup.

Tabel 5. Hasil absorbansi aktivitas enzim CGT-ase inkubasi 1 hari

No	Nama Isolat Bakteri	Abs. (λ = 550 nm)	Δ Abs
1	Kontrol B-28	0.404	0.027
2	B-28	0.377	
3	Kontrol *B. firmus* ITBCC	0.637	0.285
4	*B. firmus* ITBCC	0.352	

Tabel 6. Hasil absorbansi aktivitas enzim CGT-ase inkubasi 2 hari

No	Nama Isolat Bakteri	Absorbansi (λ = 550 nm)	Δ Abs
1	Kontrol B-28	0.401	0.
2	B-28	0.384	
3	Kontrol *B. firmus* ITBCC	0.399	0.2
4	*B. firmus* ITBCC	0.384	

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan ini maka diperoleh kesimpulan bahwa dari 10 isolat bakteri amilolitik mesofilik yang diuji kemampuan untuk menghasilkan enzim CGT-ase melalui pengamatan pembentukan *halozone* pada medium padat Horikhosi's II, diperoleh isolat bakteri terbaik B-28 dengan diameter *halozone* sebesar 2.6 cm. Berdasarkan kemampuan halozone yang terbentuk nampak bahwa substrat pati dari singkong lebih disukai dibandingkan dengan pati sagu, *soluble starch*, pati jagung atau pati beras.

DAFTAR PUSTAKA

Alves-Prado H. F., Carneiro A. A., Pavezzi F. C., Gomes E., Boscolo M., Franco C. M., and Silva R. 2008. Production of cyclodextrins by CGTase from *Bacillus clausii* using different starches as substrates. *Appl Biochem Biotechnol*. 146:3–13.

Aziz, S., Sauvaphap A. N., Osman, H., Mohammed I. A. B., Norjanah B. A., Kamarulzaman K. and Roslin M. D. 2007. A rapid method for CGT-ase producing bacteria using different straches as carbon source. *Malays, Appl. Biol*. 36(2):1-5.

Bender. L. 1977. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Arch. Microbiol.* 3:272-282.

Cappucino, J. G. 1993. *Microbiology: A Laboratory Manual.* Addison Wesley Publishing Company.

Kaneko, T., Kato, T., Nakamura, N. and Horikhosi, K. 1987. Spectrophotometric determination of cyclization activity of β-cyclodextrin-forming cyclomaltodextrin glucanotransferase. *Journal of Japan Society of Starch Science*. 34(1):45-48

Kitahata, S., Tsuyama, N. and Okada, S. 1974. Purification and some propeties of cyclodextrin glycosyltransferase from a strain of *Bacillus* species. *Agric. Biot Chem*. 38:387-393.

Kitahata, S. and Okada, S. 1976. Actian of cycIodextrin glycosyltransferase from *Bacillus megaterium* strain no.5 on strach*. Agric. Biol. Chem*. 33:2413-14l7.

Lee, J.H, Choi, K. J. L., Choi, J. Y., Lee, Y. S., Kwon, I. B., and Yu, J. H. 1992. Enzymatic production of cyclodextrin glucanotransferase of *Klebsiella oxytoca* 19-1. *Enzyme Microb. Technol.* 14:1017-1020.

Nakamura, N. and Horikoshi, K. 1976. Characterization and some cultural conditions of cyclodextrin glycocyltransferase producing alkalophilic *Bacillus* species *Agric.Biol.Chem.* 40:753-757.

Park, S. C., Park, H. H. and Kim, S. H. 1989. A rapid screening method for alkaline β-cyclodextrin glucanotransferase using phenolphthalein-methyl orange containing solid media. *Agriculural Biological Chemistry*. 53:1167-1169.

Pongsawadi, P. and Yagiswa, M. 1987. Screening anti identification of cyclodextrin glucanotransferase producing bacteria. *J. Fennent. Techno*. 65:463-467.

Szejtli, J. 1982. Cyclodexrtins in food, cosmetics and toiletries. *Starch/Starke.* 34:379-385.

Szejtli J. 1997. Utilization of cyclodexstrin in industrial products and processes. *Journal of Material Chemistry.* 7:575-587.

Tonkova A. 1998. Bacterial cyclodextrin glucotrasferase. *Enzyme and Microbial Technology.* 22:678-686.

Vassileva, A., Beschkov, V., Ivanova, V. and Tonkova, A. 2005. Continuous cyclodextrin glucanotransferase production by free and immobilized cell of *Bacillus circulans* ATCC 21783 in Bioreactors. *Process Biochemistry.* 40:3290-3295.

Wang, W. J., Powell, A. D. and Oates, C. G. 1996. Sago starch as biomass source : raw sago starch hydrolysis by commercial enzymes. *Bioresource Technology*. 55:55-61.

UJI AKTIVITAS KATALIS Fe-SILIKA SEKAM PADI UNTUK DEGRADASI ZAT WARNA

Kamisah D. Pandiangan dan Wasinton Simanjuntak[1]
[1]Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung,
Bandar Lampung, Indonesia, 35145
email: kamisahdelilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Dalam penelitian ini, katalis Fe-silika sekam padi dibuat dengan metode sol-gel. Sebagai prekursor katalis digunakan filtrat kalium silikat yang diperoleh dari hasil ekstraksi silika sekam padi dengan KOH 1,5% dan lama waktu ekstraksi 30 menit. Katalis dibuat dengan cara mencampurkan logam Fe sebagai dopan ke dalam filtrat kalium silikat dengan jumlah bevariasi. Campuran sol kalium Fe-silika selanjutnya diendapkan dengan menambahkan larutan asam HNO_3 10% hingga pH optimum untuk pembentukan gel Fe–silika tercapai. Gel kemudian dicuci dengan akuades hangat hingga bersifat netral, selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110^oC selama 24 jam dan dikalsinasi pada suhu 550^oC. Uji aktivitas katalis Fe-silika dilakukan terhadap zat warna yakni *methylene blue* dan *rhodamine* B. Aktivitas terbaik diperoleh pada katalis Fe-silika sekam padi dengan kandungan logam Fe sebanyak 1,08 gram yakni dengan kemampuan degradasi terhadap *methylene blue* 5 ppm sebesar 77,71% dan *rhodamine* B 150 ppm sebesar 24,93%.

Kata Kunci: silika, sekam padi, aktivitas katalis, zat warna

PENDAHULUAN

Penggunaan katalis heterogen pada berbagai jenis industri sangat dibutuhkan karena di samping fungsi utamanya untuk meningkatkan laju reaksi, katalis jenis ini juga memiliki berbagai keunggulan dibanding dengan katalis homogen, antara lain efisiensinya yang tinggi, kemudahan untuk digunakan dalam berbagai media, kemudahan pemisahan katalis dari campuran reaksi, dan penggunaan ulang katalis (Moffat, 1990; Frenzer and Maier, 2006). Sifat suatu katalis heterogen ditentukan oleh jenis pengemban, jenis situs aktif, promotor dan juga metode preparasi yang diterapkan.

Salah satu jenis pengemban katalis heterogen yang umum digunakan adalah silika untuk berbagai peruntukan (Tomiyama et al., 2003; Pandiangan dkk, 2008; Barrault et al., 2002; Yang, 2006). Permasalahan utama terkait dengan pemanfaatan silika adalah bahan baku yang digunakan umumnya merupakan produk impor, seperti TMOS, TEOS, dan fume silica, yang harganya sangat mahal. Dengan demikian, penggunaan bahan baku silika di atas akan mengakibatkan ketergantungan terus-menerus pada negara lain. Untuk mengatasi hal ini, pencairan sumber silika yang relatif murah mutlak diperlukan.

Pada penelitian ini silika diekstrak dari sekam padi. Pemilihan sekam padi sebagai sumber silika didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya (Irwan dkk, 2007) yang menunjukkan bahwa silika sekam padi mempunyai karakteristik yang sama dengan ketiga bahan baku komersil di atas. Kesamaan karakteristik tersebut menunjukkan bahwa silika sekam padi pada hakekatnya dapat dimanfaatkan sebagai pengganti silika impor yang dipaparkan di atas. Disamping alasan kesamaan struktur, pemilihan sekam padi juga didukung oleh beberapa alasan praktis yakni silika sekam padi dapat diekstraksi dengan menggunakan larutan alkalis menghasilkan sol silika (Daifullah et al., 2004), sehingga hasil ekstraksi tersebut dapat dimanfaatkan langsung untuk pembuatan katalis dengan teknik sol-gel. Pemanfaatan silika sekam padi juga didorong oleh gagasan pemanfaatan residu pertanian dengan jumlah melimpah di Indonesia pada umumnya dan Provinsi Lampung pada khususnya. Data dari Biro Pusat Statistik Provinsi Lampung tahun 2007 menunjukkan bahwa Provinsi Lampung mampu menghasilkan padi mencapai 2.304.000 ton per tahun, di daerah ini terdapat lahan pertanian padi seluas 376.436 ha, dengan produksi padi mencapai 1.797.623 ton per tahun (BPS, Provinsi Lampung 2007). Dari produksi tersebut diperkirakan dihasilkan sekam sekitar 460.800 ton, yakni sekitar 20% dari berat padi yang dihasilkan. Dengan demikian, pemaanfaatan silika sekam padi merupakan kontribusi penting bagi pembangunan nasional, khususnya sektor pertanian padi.

Preparasi katalis heterogen dengan metode sol-gel dapat memungkinkan untuk memasukkan situs aktif (dopan) ganda secara stimulan sehingga komposisi dopan dapat diatur pada saat preparasi. Selain itu, proses sol-gel juga dapat menghasilkan interaksi dopan-pengemban yang lebih kuat sehingga kehilangan dopan selama proses sintering dapat ditekan (Frenzer and Maier, 2006), produk yang dihasilkan memiliki kehomogenan dan kemurnian yang tinggi, tidak bereaksi dengan senyawa sisa, suhu pengerjaan relatif rendah sehingga kehilangan bahan akibat penguapan dapat diperkecil (Jamarun, 2000).

Selain jenis pengemban dan metode preparasi, faktor lain yang mempengaruhi aktivitas katalis heterogen adalah jenis dan jumlah dopan logam aktif yang digunakan. Jenis logam yang umum digunakan pada pembuatan katalis heterogen antara lain adalah Zn (Orlovic et al., 2001), Ni (Korosec and Bukovec, 2006), Cu (Pintar et al., 2005), Fe dan Co (Frenzer and Maier, 2006), dan campuran logam (Pintar et al., 2005).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pembuatan katalis heterogen dari silika sekam padi yang ditopang logam aktif Fe secara sol-gel. Dan untuk mengetahui efektifitasnya, maka katalis diuji aktifitasnya terhadap degradasi zat warna yakni *methylene blue* dan *rhodamin* B. Pemilihan zat warna sebagai substrat katalis dimaksudkan sebagai informasi dasar untuk mengaplikasikan katalis dalam penanganan limbah dengan zat warna yang lebih kompleks.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Silika Sekam Padi

Pada penelitian ini, silika sekam padi diekstraksi dengan mengadopsi metode yang digunakan sebelumnya (Daifullah *et al.*, 2004; Pandiangan dkk., 2008). Sebanyak 50

gram sekam padi direndam dalam larutan KOH dengan konsentrasi 1,5%, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan dibiarkan hingga 30 menit. Sampel kemudian disaring dan filtrat yang mengandung silika terlarut ditampung. Untuk mengendapkan silika, ke dalam filtrat ditambahkan larutan HNO_3 10% secara bertahap hingga pembentukan gel silika berhenti. Gel selanjutnya dipisahkan dan dicuci dengan akuades panas untuk menghilangkan kelebihan asam. Silika yang diperoleh dari perlakuan ini selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110^oC selama 6 jam untuk menghilangkan air.

Preparasi Katalis dengan Metode Sol Gel

Ke dalam 4 gelas kimia yang berisi 100 mL filtrat kalium silikat masing-masing ditambahkan $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ dengan berat 1,08 g; 2,17 g; 3,25 g dan 4,34 g. Masing-masing larutan diaduk dengan pengaduk magnetik agar logam terdistribusi merata dalam larutan, lalu diasamkan hingga mencapai pH optimum untuk mendapatkan gel Fe-silika. Gel selanjutnya disaring dan dicuci dengan akuades panas di dalam pompa vakum hingga air pencucian bersifat netral kemudian dikeringkan pada 110^oC, kemudian dikalsinasi pada suhu 550^oC. Selanjutnya katalis disebut sebagai Fe_1-SiO_2, Fe_2-SiO_2, Fe_3-SiO_2, dan Fe_4-SiO_2.

Uji Aktivitas Katalis

Uji aktivitas katalis Fe_1-SiO_2; Fe_2-SiO_2; Fe_3-SiO_2; Fe_4-SiO_2 dilakukan terhadap zat warna *methylene blue* dan *rhodamine B*. Degradasi zat warna diamati dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Tahapan analisisnya adalah sebagai berikut: Sebanyak 25 mL zat warna dimasukkan ke dalam gelas kimia 50 mL, kemudian ditambahkan 0,25 gram katalis (Fe_1-SiO_2; Fe_2-SiO_2; Fe_3-SiO_2; Fe_4-SiO_2) lalu diaduk menggunakan pengaduk *magnetik stirrer* selama 1 jam. Sampel didiamkan beberapa saat hingga partikel-partikel katalis turun di dasar gelas piala, kemudian filtrat zat warna yang telah dikontakkan dengan katalis dipisahkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum untuk masing-masing sampel zat warna. Untuk kurva kalibrasi dibuat larutan standar yakni larutan standar *methylene blue* dibuat dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm dan larutan standar *rhodamine B* dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Silika dari Sekam Padi

Pada penelitian ini ekstraksi silika dari sekam padi menggunakan metode presipitasi, yang dilakukan sebelumnya oleh Daifullah *et al.*, (2004). Sekam padi direndam ke dalam larutan KOH (dengan variasi konsentrasi 1,0; 1,5; 2,5; 5,0; 10%). Selain konsentrasi KOH, variabel yang dianggap mempengaruhi jumlah rendemen ekstraksi adalah lamanya waktu ekstraksi, serta pH pengasaman untuk pengendapan silika. Kondisi optimum untuk tahapan ekstraksi silika dari sekam padi adalah menggunakan larutan KOH 1,5% dengan waktu ektraksi 30 menit dan pH pengasaman 7,0 dengan penambahan HNO_3 10%.

Dari hasil penelitian, diperoleh data bahwa untuk setiap ekstraksi 50 gram sekam padi menggunakan 500 mL larutan KOH dan dengan waktu ekstraksi 30 menit, filtrat kalium silikat rata-rata yang diperoleh adalah sebanyak 400-450 mL. Setelah dilakukan proses

pengeringan gel silika, diperoleh rata-rata serbuk silika adalah sebanyak 9,3448 - 10,5129 gram (18,69 - 21,03 %). Rendemen ini relatif hampir sama dari kandungan silika yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya, yakni sekitar 20% (Mansaray and Ghaly, 1998).

Pembuatan Katalis Fe-silika Sekam Padi dengan Metode Sol-Gel

Pembuatan katalis Fe-silika dilakukan dengan metode sol-gel. Pertama-tama disiapkan filtrat kalium silikat yang diperoleh dari hasil ekstraksi silika sekam padi dengan KOH 1,5% dan lama waktu ekstraksi 30 menit. Filtrat kalium silikat tersebut digunakan selanjutnya sebagai prekursor dalam pembuatan katalis. Katalis dibuat dengan cara mencampurkan sejumlah logam dopan ke dalam Filtrat kalium silikat, yang mana dalam hal ini adalah Fe-nitrat ($Fe(NO_3)_3$). Campuran sol kalium Fe–silika selanjutnya diendapkan dengan menambahkan larutan asam HNO_3 10% hingga pH larutan mencapai pH = 7, yaitu pH optimum yang diperoleh dari prosedur kondisi optimum ekstraksi sekam padi. Endapan atau gel Fe–silika yang dihasilkan dari proses ini selanjutnya dicuci dengan akuades hangat hingga air bilasan bersifat netral, selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110^oC selama 24 jam untuk menghilangkan H_2O. Fe-silika yang telah kering selanjutnya dihitung massa dan persentase rendemennya. Persentase rendemen terbesar yang diperoleh selanjutnya dianggap sebagai parameter untuk kondisi terbaik dalam pembuatan katalis.

Penentuan massa maksimum dopan yang digunakan dalam pembuatan katalis

Pada tahapan ini variabel tetap adalah volume filtrat kalium silikat maksimum untuk pembuatan katalis berdasarkan percobaan sebelumnya, sedangkan variabel berubahnya merupakan jumlah dopan Fe yang digunakan yaitu 1,08, 2,17, 3,25, 4,34 gram. Rendemen yang terbentuk dari pembuatan katalis Fe–silika sekam padi yang dibuat dengan menggunakan metode sol-gel dengan variasi jumlah dopan Fe dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Persentase rendemen yang diperoleh dari Fe-silika variasi massa dopan

Massa Fe-nitrat (gram)	Nama Katalis	Rendemen	Persentase Rendemen (%)
1,08	Fe_1-SiO_2	11,3171	82,78
2,17	Fe_2-SiO_2	12,7455	**93,23**
3,25	Fe_3-SiO_2	12,7395	93,19
4,34	Fe_4-SiO_2	11,8110	86,40

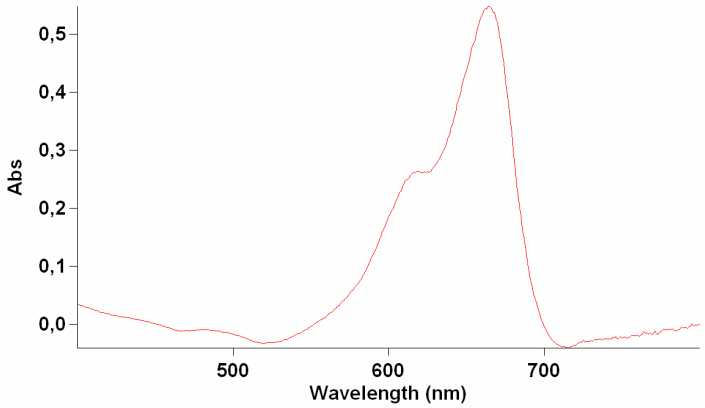
Berdasarkan data pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa rendemen terbesar diperoleh dengan jumlah dopan Fe sebanyak 2,17 gram yakni sebesar 93,23%. Untuk menentukan aktivitas terbaik suatu katalis, tidak cukup hanya dengan menggunakan data rendemen, akan tetapi perlu dilakukan karakterisasi misalnya dengan penentuan keasaman. Untuk lebih mengaktifkan pusat aktif katalitik pada katalis Fe-silika maka terlebih dahulu diberikan perlakuan termal dengan cara mengkalsinasi katalis Fe-silika yang telah dihasilkan pada suhu bervariasi, yaitu 400, 550, 700, 850 dan 1050^oC. Berdasarkan penentuan keasaman katalis yang dilakukan dengan metode gravimetri menggunakan amoniak sebagai adsorbat diketahui bahwa suhu terbaik pada proses kalsinasi adalah

550°C dan jumlah dopan Fe sebanyak 1,08 gram dengan berat amoniak teradsorpsi adalah 1344,96.10^{-5} mol/gram (Pandiangan dkk, 2008).

Uji Aktivitas Katalis

Degradasi zat warna *methylene blue*

Uji aktifitas dilakukan terhadap sampel katalis Fe-silika (Fe_1-SiO_2; Fe_2-SiO_2; Fe_3-SiO_2; Fe_4-SiO_2) yang telah dikalsinasi pada suhu 550°C untuk mendegradasi zat warna *methylene blue* 5 ppm. Pengukuran aktivitas katalis dalam mendegradasi zat warna dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebelum dilakukan pengukuran terlebih dahulu dicari panjang gelombang maksimum untuk *methylene blue* dan spektrumnya disajikan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Spektrum Uv-Vis *methylene* blue sebelum perlakuan

Berdasarkan Gambar 1 dapat disimpulkan bahwa panjang gelombang maksimum yang dipakai untuk pengukuran uji aktivitas katalis terhadap *methylene blue* adalah 663,8 nm. Hasil pengukuran ini mendekati nilai absorbansi panjang gelombang maksimum referensi untuk *methylene blue*, yaitu λ maksimum 664 nm (Monash *et al.*, 2008). Untuk lebih jelasnya gambaran aktivitas katalis dalam mendegradasi *methylene blue* ditunjukkan pada Gambar 2 dan hasil pengukuran aktivitas katalis disajikan pada Tabel 2 berikut.

.

Gambar 2. (a) Katalis sebelum uji katalitik
(b) Katalis setelah uji katalitik
(c) Substrat *methylene blue* sebelum dan sesudah terdegradasi oleh katalis Fe-silik

Tabel 2. Persentase penurunan intensitas warna *methylene blue* 5 ppm

Katalis	% penurunan intensitas warna
Fe_1-SiO_2	**77,71**
Fe_2-SiO_2	76,71
Fe_3-SiO_2	76,64
Fe_4-SiO_2	75,71

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah perbandingan dopan yang dimasukkan ke dalam matriks silika berpengaruh terhadap kemampuan katalis untuk mendegradasi zat warna. Hal ini disebabkan karena situs aktif katalis dapat terdistribusi pada permukaan sampel sehingga mampu bekerja dengan baik. Dan aktivitas terbaik diperoleh dengan menggunakan katalis zat $Fe_{\mathbf{1}}$-SiO_2 (jumlah dopan Fe = 1,08 g) yaitu sebesar 77,71%.

Degradasi zat warna *rhodamin* B

Selain mengunakan *methylene blue* sebagai substrat, uji katalis Fe-silika juga dilakukan terhadap zat warna merah yakni *rhodamine* B dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran aktivitas katalis $Fe_{\mathbf{1}}$-SiO_2; $Fe_{\mathbf{2}}$-SiO_2; $Fe_{\mathbf{3}}$-SiO_2; $Fe_{\mathbf{4}}$-SiO_2 dilakukan pada panjang gelombang maksimum *rhodamine* B yakni 553,3 nm, dimana λ maksimum yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan Gang *et al* (2003) yakni 554 nm.

Data hasil pengukuran aktivitas katalis Fe-silika terhadap *rhodamine* B disajikan pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Persentase penurunan intensitas warna *rhodamine* B 150 ppm

Katalis	% penurunan intensitas warna
Fe_1-SiO_2	**24,93**
Fe_2-SiO_2	17,86
Fe_3-SiO_2	2,80
Fe_4-SiO_2	8,66

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa kemampuan degradasi katalis Fe-silika terhadap substrat *rhodamine* B 150 ppm terbaik diperoleh pada penggunaan katalis Fe_1-SiO_2. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah perbandingan dopan yang dimasukkan ke dalam matriks silika berpengaruh terhadap kemampuan katalis untuk mendegradasi zat warna. Seperti halnya pada penggunaan substrat *methylene blue*, aktivitas terbaik pada degradasi *rhodamine* B diperoleh dengan menggunakan katalis zat $Fe_{\mathbf{1}}$-SiO_2 (jumlah dopan Fe = 1,08 g) yaitu sebesar 24,93%. Data ini sesuai dengan hasil uji keasaman katalis yang telah dibahas sebelumnya (Pandiangan dkk, 2008) bahwa katalis Fe_1-SiO_2 memiliki kemampuan daya adsorpsi terbaik dibandingkan katalis Fe-SiO_2 lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpukan bahwa katalis Fe-silika sekam padi yang dibuat dengan metode sol-gel mempunyai aktivitas katalitik untuk mendegradasi zat warna *methylene blue* dan *rhodamine* B. Aktivitas terbaik diperoleh pada katalis Fe-silika sekam padi dengan kandungan logam Fe sebanyak 1,08 gram (Fe_1-SiO_2) yakni dengan kemampuan degradasi terhadap *methylene blue* 5 ppm sebesar 77,71% dan *rhodamine* B 150 ppm sebesar 24,93%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada Direktorat DP2M Ditjend DIKTI atas dukungan dana dalam bentuk Hibah PEKERTI Tahun Anggaran 2008.

DAFTAR PUSTAKA

Barrault, J., Pouilloux, Y., Clacens, J. M., Vanhove, C., Bancquart, S. 2002. Catalysis and Fine Chemistry, *Catalysis Today* ,75, 177–181.

Badan Pusat Statistik Indonesia. 2007. *Informasi Umum dan Indikator Penting.*

Daifullah, A. A. M., Girgis, B. S., Gad, H. M. H. 2004. "Utilization of Agro-Residues (Rice Husk) in Small Waste Water Treatment Plans" *Material Letters,* 57, 1723-1731.

Frenzer, G and Maier, W. F. 2006. Amorphous Porous Mixed Oxides: Sol-Gel Ways to a Highly Versatile Class of Materials and Catalysts. Annual Review of Materials Research, 36, Pages 281-331.

Gang, W., Z. Yuanjing, and X. Rongchun. 2003. *Photocatalytic Degradation Kinetics of Rhodamine B Catalyzed by Nanosized TiO2 Film*. Chinese Science Bulletin. Vol. 48 No.1 49 52.

Irwan, G.S., Wasinton S. dan Kamisah D. P. 2007. Sililasi Silika Sekam Padi dengan Metakriloksi Propiltrimetoksisilan. *Jurnal Ilmiah MIPA*. Vol.X No.1 Halaman 1-7.

Jamarun, N. 2000. *Proses Sol Gel*. FMIPA Kimia Universitas Andalas. Padang. pp 1-40.

Korosec, R. C and Bukovec, P. 2006. Sol-Gel Prepared NiO Thin Films for Electrochromic Applications. Acta Chim. Slov. 136-147.

Mansaray, K.G., and Ghaly A.E. 1998. Agglomeration Characteristic of Alumina Sand Rice Husk Ash Mixtures at Elevated Temperature. *Energy Sources J.* 19, 989.

Moffat, J.B. 1990. Theoretical Aspects of Heterogeneous Catalysis. New York: Van Nostrand Reinhold.

Monash, P., A. Majhi, and G. Pugazhenthi. 2008. *Adsorpstion Studies of Methylene Blue onto MCM 41*. The 12th Interational Conference of International Association for Computer Methods and Advances in Geomechanics (IACMAG). pp 2240-2248.

Orlovic, A. M., Janackovic, D. T., Drmanic, S., Marinkovic, Z and Skala, D. U. 2001. Alumina/silica aerogel with zinc chloride as an alkylation catalyst. J. Serb. Chem. Soc. 66(10)685–695.

Pandiangan, K.D, Irwan G.S, Mita R, Sony W, Dian A, Syukri A, Novesar J. 2008. Karakteristik Keasaman Katalis Berbasis Silika Sekam Padi Yang Diperoleh Dengan Teknik Sol-Gel. *Prosiding Seminar Sains dan Teknologi (SATEK II)* Universitas Lampung, Hal. III 342 – III 353.

Pintar, A., Batista, J and Hocevar, S. 2005. Redox Behavior of $(CuO)_{0.15}(CeO_2)_{0.85}$ Mixed Oxide Catalyst Prepared by Sol-Gel Peroxide Method. Acta Chim. Slov. 52: 44-52.

Tomiyama, S., Takahashi, R., Sato, S., Sodesawa, T., Yoshida, S. 2003. Preparation of Ni/SiO_2 Catalyst with High Thermal Stability for CO_2-reforming of CH_4. *Applied Catalysis A: General*, 241, 349–361.

Yang, S., Changhai L., and Roel P. 2006. A Novel Approach to Synthesizing Highly Active Ni_2P/SiO_2 Hydrotreating Catalysts. *Journal of Catalysis*. 237. pp 118–130.

BAKTERI PADA INFEKSI LUKA POST-OPERASI DAN POLA KEPEKAANNYA TERHADAP ANTIBIOTIK

Ety Apriliana
Bagian Biomedik Program Studi Pendidikan Dokter Unila
email : eapriliana@gmail.com

ABSTRAK

Seksio sesarea merupakan pembedahan yang lazim dilakukan di Obstetri Ginekologi. Frekuensi tindakan seksio sesarea di seluruh dunia meningkat dari tahun-tahun sebelumnya. Namun, salah satu masalah penting yang menjadi masalah dalam persalinan melalui seksio sesarea adalah terjadinya infeksi luka post operasi pasca pembedahan. Kulit yang terbuka memungkinkan menjadi tempat yang cocok untuk bakteri patogen berkembang biak dan menimbulkan infeksi. Beberapa flora normal pada kulit juga dapat menimbulkan infeksi bila jumlahnya melebihi dari normal sehingga mampu menghasilkan toksin.

Seksio sesarea merupakan teknik pembedahan yang sering menjadi pilihan apabila terdapat insidensi penyulit persalinan. Perkembangan teknologi dan inovasi di bidang kedokteran merupakan penyebab peningkatan tindakan operasi seksio sesarea di dunia selama 20 tahun terakhir ini. Salah satu komplikasi seksio sesarea adalah infeksi luka post operasi. Bahaya infeksi post operasi dapat diperkecil dengan pemberian antibiotik profilaksis. Penggunaan antibiotik didapatkan pada hampir 25-40% pasien di rumah sakit selama perawatan. Beberapa fakta penggunaan antibiotik yang tidak rasional terjadi di rumah sakit seperti, pemberian antibiotik yang tidak tepat, dosis yang tidak adekuat serta durasi pemberian antibiotik yang tidak sesuai. Hal ini dapat berakibat pada perubahan pola bakteri penyebab infeksi dan resistensinya terhadap berbagai antibiotik.

Infeksi pada luka telah menjadi suatu masalah di bidang bedah untuk waktu yang lama. Kemajuan dalam mengontrol infeksi tidak sama sekali memberantas masalah ini karena perkembangan resistensi obat. Pengaruh pola kepekaan tersebut terutama terhadap terapi empirik. Penggunaan antibiotika dikatakan tepat bila efek terapi mencapai maksimal sementara efek toksis yang berhubungan dengan obat menjadi minimum, serta perkembangan antibiotika resisten seminimal mungkin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pola resistensi bakteri dari isolat bakteri pada luka post operasi terhadap beberapa antibiotik yang sering digunakan pada pasien rawat inap di bagian bedah RSUD Dr. H. Abdul Moeloek. Metode penelitian merupakan deskriptif laboratorik. Sampel diambil dari 53 isolat bakteri yang berasal dari 30 pasien rawat inap bagian bedah RSUD Dr.H.Abdul Moeloek Bandar Lampung. Pengujian resistensi menggunakan metode difusi agar Kirby Bauer. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa Isolat bakteri yang paling banyak resisten adalah *Klebsiella sp.*, *Proteus vulgaris*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus saprophyticus*.

Kata kunci : Antibiotika, Resistensi, Luka Post Operasi

PENDAHULUAN

Seksio sesarea merupakan teknik pembedahan yang sering menjadi pilihan apabila terdapat insidensi penyulit persalinan. Perkembangan teknologi dan inovasi di bidang kedokteran menjadi salah satu penyebab peningkatan tindakan operasi seksio sesarea di dunia selama 20 tahun terakhir ini. Namun, salah satu komplikasi seksio sesarea adalah infeksi luka post operasi. Terjadinya infeksi post operasi dapat diakibatkan oleh kontaminasi ruangan operasi, peralatan rumah sakit yang terkontaminasi dan perawatan luka post operasi yang tidak sesuai prosedur (Himatusujanah, 2008 ; Prawirohardjo, 2007)

Bahaya infeksi post operasi dapat diperkecil dengan pemberian antibiotik profilaksis, akan tetapi tidak dapat dihilangkan sama sekali (Prawirohardjo, 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bambang Wibowo dkk. di rumah sakit dr. Kariadi Semarang (2004), pemberian antibiotik sebelum pembedahan dapat menurunkan morbiditas post seksio sesarea sebesar 7%.

Sejumlah uji klinis acak telah membuktikan bahwa antibiotik tunggal yang diberikan pada saat seksio sesarea akan menurunkan angka infeksi. Bagi wanita dalam persalinan atau ruptur selaput ketuban, sebagian besar dokter menganjurkan pemberian ampisilin 2 g dosis tunggal, sefalosporin, atau penisilin spektrum luas setelah janin lahir. Dilaporkan bahwa pemberian penicilin dan gentamisin atau pemberian sefamandol dosis tunggal segera setelah tali pusat diklem, yang diikuti dengan pemberian obat yang sama dengan interval 6 jam, telah menurunkan angka morbiditas akibat infeksi seperti metritis, abses pada luka insisi dan tromboflebitis panggul (Meyer, Norman. 2003 ; Roeshadi H, 2005)

Namun, beberapa penyakit infeksi dengan bakteri penyebab yang telah resisten terhadap berbagai antibiotik. Hilangnya efektifitas antibiotik ini sudah dilaporkan sejak ditemukannya penicilin pada tahun 1940, dimulai dengan *Staphylococcus aureus*. Sekarang, masalah ini menjadi perhatian kembali karena mulai meningkatanya resistensi bakteri terhadap berbagai macam antibiotik (*multi drug resistance*) (Harniza, 2009).

Staphylococcus aureus adalah organisme yang paling banyak ditemukan pada isolat luka post operasi. Resistensi strain ini (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) telah meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas akibat infeksi luka post operasi. Hal ini menimbulkan kendala dalam pengobatan infeksi dengan MRSA karena pilihan antibiotik sangat terbatas (Harniza, 2009). Pemilihan antibiotik sebagai terapi infeksi memiliki peran penting dalam mencapai kesembuhan pasien. Oleh karena itu, tes laboratorium uji kepekaan terhadap antibiotik diperlukan untuk memilih antibiotik secara rasional (Brooks dkk., 2005).

Penggunaan antibiotik didapatkan pada hampir 25-40% pasien di rumah sakit selama perawatan. Sistem NNIS (*The National Nosocomial Infection Surveillance*) dan beberapa penelitian mengatakan bahwa terdapat hubungan langsung antara penggunaan antibiotik yang tinggi terhadap insidensi terjadinya resistensi obat. Beberapa fakta penggunaan antibiotik yang tidak rasional terjadi di rumah sakit seperti, pemberian antibiotik yang tidak tepat, dosis yang tidak adekuat serta durasi pemberian antibiotik yang tidak sesuai. Hal ini dapat berakibat pada perubahan pola bakteri penyebab infeksi dan resistensinya terhadap berbagai antibiotik (Harniza, 2009).

METODA PENELITIAN

Bahan dan Materi Penelitian

Sampel adalah swab luka yang diperoleh dari penderita post-operasi Bedah yang dirawat di ruang rawat inap SMF Bedah Rumah Sakit Abdul Muluk Bandar Lampung pada periode April-Mei 2010. Bahan untuk pemeriksaan adalah kit pewarnaan Gram, media Agar darah, agar MacConkey, agar Mueller Hinton, disc antibiotik, kit pemeriksaan Biokimia (katalase, koagulase, DNAase, TSIA, sitrat, gula-gula, indol, urea . Alat yang dipakai adalah gelas objek, lidi kapas steril, ose bulat, pinset, lampu bunsen, autoklaf, inkubator, mikroskop binokuler.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dari swab luka dilakukan pada media agar darah dan agar MacConkey. Setelah itu dilanjutkan dengan identifikasi melalui pewarnaan Gram dan uji biokimia. Untuk bakteri Gram positif dilakukan beberapa uji biokimia yaitu uji katalase, koagulase, DNAase, fermentasi glukosa, dan gula-gula. Untuk bakteri Gram negatif dilakukan beberapa uji biokimia yaitu uji TSIA, sitrat, urea, Indol, dan gula-gula.

Uji kepekaan bakteri terhadap antibiotika

Isolat bakteri uji dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland ditanamkan pada media agar Mueller Hinton kemudian diletakkan beberapa disc antibiotika pada media tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu 37^0 C selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0 C dilakukan pengukuran daerah hambatan yang meliputi daerah bening di sekitar disc antibiotika menggunakan jangka dengan memakai satuam mm lalu dibandingkan dengan diameter zona hambat berdasarkan National Commite of Clinical Laboratory Standart (NCCLS) (Morello, 2003).

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Setelah dilakukan beberapa tahap identifikasi bakteri dengan melakukan kultur isolat, pewarnaan gram dan test biokimia, kemudian ditentukan spesies-spesies, didapatkan hasil pengamatan sebanyak 30 sampel luka post operasi seksio sesarea. Sebanyak 30 sampel yang diisolasi dan diidentifikasi, didapatkan 34 isolat bakteri. Beberapa bakteri yang didapatkan adalah *Pseudomonas sp. (26,47%), Eschericia coli (14,7%), Klebsiella sp. (11,7%), Streptococcus sp. (11,7%), Proteus sp. (5,88%), Enterobacter sp. (5,88%), Providencia sp. (5,88%), Staphylococcus aureus (5,88%), Alkaligenes* sp (2,94%)*, Bacillus sp (2,94%)*, *Citrobacters sp. (2,94%)* dan *Staphylococcus epidermidis (2,94%).*

Hasil uji kepekaan isolat bakteri terhadap beberapa antibiotika dapat dilihat pada Tabel 1. Terdapat beberapa isolat bakteri yang resisten terhadap semua antibiotika yang diuji, yaitu *Pseudomonas sp, Klebsiella sp,* dan *Streptococcus sp*. Isolat bakteri luka post operasi seksio sesarea sensitif terhadap gentamisin (79,41%), ciprofloksasin (76,47%), Cefatzdime (67,65%) dan Ceftriaxon (58,82%), tetapi resisten terhadap ampisilin (85,30%), cefadroxil (73,53%) dan amoksisilin (61 %).

PEMBAHASAN

Pada pengambilan sampel luka post operasi seksio sesarea, didapatkan beberapa jenis bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Bakteri yang didapatkan dari hasil identifkasi adalah *Pseudomonas sp. (26,47%), Eschericia coli (14,7%), Klebsiella sp.*

(11,7%), Streptococcus sp. (11,7%), Proteus sp. (5,88%), Enterobacter sp. (5,88%), Providencia sp. (5,88%), Staphylococcus aureus (5,88%), Alkaligenes sp. (2,94%)*, Bacillus sp. (2,94%)*, *Citrobacters sp. (2,94%)* dan *Staphylococcus epidermidis (2,94%).*

Hani A. Masaadeh dan Adnan S Jaran , melakukan penelitian insidensi *Pseudomonas aeruginosa* pada luka post operasi dimana frekuensi luka post operasi seksio sesarea yang terbanyak. Dari hasil penelitian tersebut ditemukan pola bakteri luka post operasi yaitu *Pseudomonas aeruginosa* (27,8%), *Eschericia coli* (15,6%), *Staphylococcus aureus* (14,7%), *Acinetobacter sp.* (13 %), *Klebsiella sp.* (12,1%), *Proteus sp.* (6,0%), *Citrobacter sp.* (3,4%), *Streptococcus pyogenes* (2,6%), *Enterococcus faecalis* (1,7%). Pola bakteri pada penelitian di atas mendekati dengan penelitian yang dilakukan dengan peneliti dimana *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri terbanyak sekitar 20-30%, lalu *Eschericia coli* merupakan bakteri terbanyak kedua sekitar 15 %, hal ini sangat sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti, pola bakteri dan presentasi pola bakteri tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Hani dkk (Masaadeh, dkk 2009)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Kiran Ruhli, Bharti Arora, dan Himanshu Adlakha, mereka melakukan identifikasi pada luka post operasi dimana pada penelitian tersebut luka post operasi terbanyak adalah operasi seksio sesarea. Hasil isolasi dari spesimen luka post operasi tersebut didapatkan pola bakteri antara lain *Pseudomonas aeruginosa* (27.7%), *Eschericia coli* (20,4%), *Klebsiella sp.* (16,5%), *Staphylcoccus aureus* (15,7%), *Proteus sp.* (5,3%), *Acinetobacter sp.* (3,8%) dan *Citrobacter sp.* (0,8%). Pola bakteri pada penelitian di atas juga tidak jauh berbeda dengan sebaran pola bakteri pada penelitian yang dilakukan oleh peneliti, dimana *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan, lalu diikuti dengan *Eschericia coli* dan *Klebsiella sp*. (Ruhli, Kiran dkk 2009).

Bakteri yang paling banyak ditemukan pada isolat luka post operasi pada hasil penelitian adalah bakteri *Pseudomonas sp* (26,47%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Oguntibeju dan Nwobu, dimana frekuensi isolasi *Pseudomonas aeruginosa* paling banyak ditemukan pada pasien yang mengalami operasi seksio sesarea. Pseudomonas adalah kelompok bakteri yang secara umum terdapat pada tanah dan lingkungan alami lainnya. Walaupun banyak dari tipe *Pseudomonas* yang sudah diidentifikasi, namun satu spesies yang paling penting adalah *Pseudomonas. aeruginosa* (Oguntibeju dkk 2004).

Pseudomonas aeruginosa dapat dijumpai di banyak tempat di rumah sakit; desinfektan, alat bantu pernafasan, makanan, saluran pembuangan air dan kain pel. Penyebaran *Pseudomonas aeruginosa* melalui aliran udara, air, tangan tercemar, penanganan dan alat-alat yang tidak steril di rumah sakit. Selain itu, dapat juga lewat hewan (lalat, nyamuk, dsb) yang telah tercemar. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan kontaminasi pada perlengkapan anestesi dan terapi pernafasan, cairan intravena, bahkan air hasil proses penyulingan.

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri yang menjadi sumber infeksi nosokomial. *Pseudomonas aeruginosa* menyumbang sekitar 10-20 % penyebab infeksi nosokomial. Bakteri ini sering ditemukan dan diisolasi dari penderita neoplastik, yang mengalami luka, dan luka bakar yang berat. Bakteri ini masuk melalui fungsi pertahanan yang abnormal, misalnya pada kulit yang robek karena kerusakan kulit langsung. Kuman melekat dan mengkoloni selaput mukosa atau kulit dan menginvasi secara lokal dan menyebabkan penyakit sistemik (Boel, Trelia 2004).

Gambaran kejadian bakteri pada infeksi nosokomial di Indonesia masih bervariasi dan sulit untuk mendapatkan angka pasti karena penelitian masih kurang dan tidak lengkap.

Tabel 1. Hasil Uji Sensitivitas Isolat Bakteri pada Luka Post Operasi Seksio Sesarea dengan Metode Difusi Agar *Kirby-Bauer* Periode April – Mei 2010 di RSUD DR H Abdul Moeloek Bandar Lampung

Kode	Bakteri	Uji Sensitivitas Metode *Kirby-Bauer*							
		AMP	AML	CFR	CN	CAZ	CRO	CTX	CIP
001	*Bacillus sp*	R	S	S	S	S	S	S	S
002	*Escherichia coli*	R	R	S	S	S	S	I	S
003	*Escherichia coli*	R	R	R	S	S	S	I	S
004	*Escherichia coli*	R	I	I	S	S	S	I	S
005	*Pseudomonas sp*	S	S	R	S	S	S	I	S
006	*Proteus sp*	S	S	I	S	S	S	S	S
007	*Klebsiella sp*	R	R	R	S	R	I	R	S
008	*Pseudomonas sp*	I	I	I	S	S	I	I	S
009	*Pseudomonas sp*	S	S	I	S	S	S	S	S
010	*Pseudomonas sp*	R	R	R	R	R	R	R	R
	Streptococcus sp	R	R	R	R	R	R	R	R
011	*Staphylococcus aureus*	R	S	S	S	I	I	I	S
012	*Pseudomonas sp*	R	R	R	S	S	I	S	S
013	*Providencia sp*	R	R	R	S	S	S	S	S
	Staphylococcus epidermidis	R	R	S	S	R	I	I	S
014	*Klebsiella sp*	R	R	R	R	R	R	R	R
	Streptococcus sp	R	R	R	R	R	R	R	R
015	*Providencia sp*	R	R	R	S	S	S	I	S
	Streptococcus sp	R	R	R	R	R	R	R	R
016	*Proteus sp*	R	R	R	S	S	S	S	S
017	*Alkaligenes sp*	R	S	R	S	S	I	I	S
018	*Klebsiella sp*	R	R	R	S	R	S	I	R
019	*Klebsiella sp*	R	R	R	S	S	I	R	R
020	*Streptococcus sp*	R	S	R	S	I	I	S	S
021	*Pseudomonas sp*	R	S	R	S	S	S	I	S
022	*Pseudomonas sp*	S	S	R	S	S	S	I	S
023	*Pseudomonas sp*	R	R	R	I	S	I	R	S
024	*Enterobacter sp*	R	R	R	S	S	S	S	S
025	*Enterobacter sp*	R	S	R	S	S	S	S	S
026	*Staphylococcus aureus*	R	S	S	S	R	S	S	S
027	*Pseudomonas sp*	R	R	R	S	S	S	S	S
028	*Escherichia coli*	R	R	R	I	S	S	S	S
029	*Escherichia coli*	R	R	R	S	S	S	S	I
030	*Citrobacter sp*	R	R	R	S	S	S	S	S

Ket : R:resisten; S:sensitif; I:intermediat
Ampisilin (AMP), Amoksisilin (AML), Cefadroxil (CFR), Gentamisin (CN), Ceftazidim (CAZ), Ceftriaxon (CRO), Cefotaxim (CTX), Ciproploksasin (CIP)

Tabel 2. Pola kepekaan Isolat Bakteri pada Luka Post Operasi Seksio Sesarea Periode April – Mei 2010 di bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD DR H Abdul Moeloek Bandar Lampung

No	Antibiotik	Jumlah Isolat Bakteri		
		Sensitif	Intermediate	Resisten
1.	Ampisilin	4	1	29
2.	Amoksisilin	11	2	21
3.	Cefadroxil	5	4	25
4.	Gentamisin	27	2	5
5.	Ceftazidim	23	2	9
6.	Ceftriaxon	20	9	5
7.	Cefotaxim	14	12	8
8.	Ciprofloksasin	26	1	7

Penderita yang dioperasi merupakan penderita yang mempunyai resiko tinggi untuk mendapatkan infeksi nosokomial, terlebih jika di rawat inap di rumah sakit dengan tingkat hygiene yang kurang. Angka infeksi nosokomial di Indonesia dilaporkan sebesar 2.3%-18.3%. Public Health Laboratory Service melaporkan 5%-19 % penderita yang dioperasi mengalami infeksi pasca operasi dengan frekuensi infeksi tergantung pada jenis operasi yang dilakukan (Rasyid, Roslaili dkk 2000).

Penggunaan antibiotik spektrum luas menjadi pilihan terapi pada pasien post operasi seksio sesarea di bagian rawat inap Obstetri dan Ginekologi RSUD DR H Abdul Moeloek. Dari penelusuran rekam medik pasien post seksio sesarea periode Februari-Maret 2010, antibiotika yang paling sering diberikan seperti ampisilin parenteral, cefadroxil oral dan gentamisin. Padahal, hasil penelitian menunjukkan ampisilin dan cefadroxil lebih sering resisten. Angka resistensi ampisilin mencapai 85,30% sedangkan cefadroxil sebesar 73,53%. Sebaliknya, sensitivitas gentamisin sebesar 79,41%.

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini umumnya golongan beta-laktam seperti penisilin dan cephalosporin. Contoh penisilin spektrum luas adalah ampisilin dan amoksisilin. Inaktivasi plasmid yang diperantarai penisilinase merupakan masalah utama resistensi penisilin di klinik seperti *Escherichia coli* dan *Haemophilus influenza* sering kali resisten (Mycek, 2001). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menyebutkan *Escherichia coli* resisten terhadap ampisilin 100%. Selain itu, kejenuhan lingkungan tertentu (misalnya, rumah sakit) pada penisilin telah menghasilkan penekanan terseleksi terhadap mikroorganisme yang sensitif penisilin dan menghasilkan lebih banyak organisme yang resisten terhadap penisilin. Penekanan pada flora normal menghasilkan sebagian kekosongan yang biasanya diisi oleh organisme yang resisten obat yang lazim digunakan. Penderita tersebut dibuat rentan terhadap penyakit secara selektif terhadap superinfeksi dengan mikroorganisme yang berasal dari lingkungan rumah sakit (*Proteus, Pseudomonas, Enterobacter, Serratia, Staphylococcus* dan sebagainya) (Katzung, 2002).

Penggunaan antibiotika seharusnya sesuai dengan prinsip pemilihan antibiotika yang benar meliputi indikasi, pemilihan jenis antibiotika, cara kerja, dosis, lama pemberian dan evaluasi efektivitas. Dokter harus mengetahui kecepatan kerja antibiotik, besarnya efek obat dan lamanya kerja obat dikontrol oleh empat proses dasar gerakan modifikasi obat di dalam tubuh yaitu, absobrsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Hal ini penting untuk memilih rute pemberian antibiotik yang tepat (Mycek, 2001).

Pemilihan jenis antibiotik yang tepat dapat mencegah peningkatan resistensi alami terhadap antibiotik. Resistensi alami adalah sifat dari antibiotik tersebut kurang atau tidak aktif terhadap suatu bakteri dan bersifat diturunkan misalnya, ampisilin tidak efektif terhadap *Enterobacter, Pseudomonas* dan infeksi *Proteus* indol positif atau cefadroxil memiliki aktivitas sangat kecil terhadap *Pseudomonas aureginosa, Proteus* indol positif*, Enterobacter, Serratia marcenscens, Citobacter* dan *Actinobacter* (Katzung, 2002). Oleh karena itu, ampisilin dan cefadroxil tidak efektif untuk terapi luka yang disebabkan oleh *Pseudomonas sp, Proteus* indol positif*, Enterobacter, Serratia marcenscens, Citobacter* dan *Actinobacter.* Padahal, urutan pertama bakteri terbanyak pada penelitian ini ditempati oleh *Pseudomonas sp* sebesar 26,47%. Hasil penelitian menunjukkan *Pseudomonas sp* resisten terhadap cefadroxil sebesar 77,78% dan ampisilin sebesar 55,56%.

Ucapan Terimakasih

Kami ucapkan terimakasih kepada M. Imanuddin Nasution dan Palupi M.N. Utami yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

Boel, Trelia. 2004. Infeksi Saluran Kemih. Medan Usu digital Library. Diakses pada tanggal
13 Juli 2010. Library.usu.ac.id/ ../fkg-trelia2.pdf.

Brooks, Geo F., Butel, Janet S., Morse, Stephen A. 2005. *Jawetz, Melnicks & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi I. Salemba Medika. Jakarta.

Harniza, Yulika. 2009. Pola Resistensi Bakteri yang Diisolasi dari Bangsal Bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusomo pada Tahun 2003-2006. FK UI. Jakarta

Himatusujanah. 2008. Hubungan Tingkat Kepatuhan Pelaksanaan Protab Perawatan Luka dengan Kejadian Infeksi Luka Post Sectio Caesarea (SC) di Ruang Mawari Rumah Sakit R.Moewardi Surakata.(Skripsi) Universitas Muhammadiyah Surakarta. Solo

Kiran, Ruhil, Bharti Arora, dan Himanshu adlakha. 2009. Pseudomonas aeruginosa isolation
of post operative wound in a referral Hospital Haryana, India. Department of microbiology.

Maharaja Agrasen Medical colleage, agroha (hisar). Diakses pada tanggal 13 Juli 2010. www.idthai.org/../p.43-48.pdf.

Masaadeh, Hani M dan Adnan S.Jaran. 2009. Incident of Pseudomonas aeruginosa in Post Operative Wound Infection. *American Journal of Infectious disease 5(1)* Faculty of Medicine Jordan University of Science and Technology, Irbid Jordan Departemen of Biologycal science.

Meyer, Norman. 2003. Cefazolin Versus Cefazolin Plus Metronidazole For Antibiotic Prophylaxis At Cesarean Section. Department of Obstetrics and Gynecology, University of Tennessee Health Science Center.

http://www.thefreelibrary.com/Cefazolin+versus+cefazolin+plus+metronidazole+for+antibiotic-a0110813702. Diakses pada tanggal 16 Maret 2010

Mycek, dkk. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Widya Medika. Jakarta. Hal. 304, 307-309, 318,328-329

Oguntibeju, Nwobu. 2004. Occurrence of Pseudomonas aeruginosa in post operative wound
infection. *Pak j med Sci.*

Prawirohardjo, Sarwono. 2007. *Ilmu Kebidanan.* Edisi ketiga. Yayasan Bina pustaka

Sarwono Prawirohardjo d/a Bagian Kebidanan Kandungan FKUI . Jakarta Pusat.

Rasyid, Roslaili dan Suhelmi K. *2000.* Prevalensi Infeksi Nasokomial pasien Pasca Sectio Sesarea pada Bagian Obstetri Ginekologi RSUP DR. M. Djamil Padang. Bagian Mikrobiologi FK Unand Bagian Kebidanan dan Penyakit Kandungan FK Unand. Majalah Kedokteran Andalas No.2. Vol.24.

Roeshadi, R. Haryono. 2006. Sulbaktam/ Ampisilin sebagai Antibiotika Profilaksis pada Seksio Sesarea Elektif di RSIA Rosiva Medan. Medan: FK USU.
http://www.ojs.lib.unair.ac.id/index.php./CDK/article/view/2899/2879. Diakses pada tanggal
15 Maret 2010

Wibowo, Bambang, dkk., 2004. Perbandingan kejadian infeksi luka operasi pasca bedah sesar
pada penderita dengan antibiotik profilaksis pra-bedah dan setelah penjepitan tali pusat di
Rumah Sakit dr. Kariadi Semarang. (SKRIPSI). Universitas Diponegoro. Semarang

PEMBUATAN ASAP CAIR DARI TEMPURUNG KELAPA DAN UJI APLIKASI SEBAGAI PENGENDAP SILIKA SEKAM PADI

Gia Y. K. Asmoro, Imam Akbar, Wasinton Simanjuntak
Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Lampung

ABSTRAK

Penelitian ini merupakan uji pendahuluan penggunaan asap cair tempurung kelapa untuk mendapatkan silika dari sekam padi dengan metode sol-gel. Asap cair dibuat dari tempurung kelapa dengan teknik pirolisis, menggunakan perangkat pirolisis yang dilengkapi dengan sistim kondensor (pendingin) untuk mengembunkan asap hasil pirolisis. Proses pirolisis dilakukan pada suhu 400 ^{o}C selama 1,5 jam. Asap cair yang dihasilkan lalu dibiarkan selama tiga hari agar tar mengendap sehingga memudahkan untuk dipisahkan. Tar dan asap cair dipisahkan secara dekantansi, dan asap cair digunakan untuk mengendapkan silika dari sol silika sekam padi dalam larutan KOH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asap cair mampu bekerja efektif untuk meneteralkan sol silika dan menghasilkan gel silika yang selanjutnya dikeringkan untuk mendapatkan silika padat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa asap cair berpeluang untuk menggantikan asam mineral yang umum digunakan hingga sekarang dalam pengolahan silika sekam padi dengan metode sol-gel.

Kata kunci: asap cair, tempurung kelapa, silika, sekam padi

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang terkenal dengan hasil perkebunannya. Salah satunya ialah kelapa. Kelapa merupakan komoditas perkebunan yang sangat berpotensi, karena hampir setiap bagian dari tanaman ini dapat dimanfaatkan dalam berbagai peruntukan. Diketahui bahwa Indonesia menghasilkan kelapa dalam setahun berkisar antara 15.5 milyar buah kelapa. Dari jumlah tersebut diketahui akan menghasilkan air kelapa sebanyak 3,75 juta ton, serat sabut sebanyak 1,8 juta ton dan tempurung kelapa sebanyak 1,75 ton (Agustian dkk, 2003).

Dewasa ini, industri kelapa pada umumnya masih terfokus pada pengolahan daging buah dan air kelapa, sementara hasil samping dari buah kelapa seperti tempurung kelapa masih kurang termanfaatkan. Pada umumnya tempurung kelapa baru dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan arang kelapa melalui proses pembakaran terbuka. Dengan cara ini, arang yang dihasilkan merupakan arang mutu rendah dan metode pengolahan ini juga menyebabkan pencemaran udara karena asap hasil pembakaran dibebaskan langsung ke lingkungan.

Kelemahan metode pengolahan konvensional di atas merupakan latar belakang pengolahan tempurung kelapa dengan metode pirolisis yang dilakukan dalam penelitian ini. Metode pirolisis digunakan karena selain menghasilkan arang dengan mutu yang lebih baik, metode ini juga menghasilkan asap cair secara simultan. Asap cair merupakan potensi lain dari tempurung kelapa karena produk ini mengandung berbagai jenis senyawa organik hasil penguraian bahan organik tempurung kelapa selama proses pirolisis. Salah satu golongan senyawa yang diketahui merupakan komponen asap cair adalah asam asam karboksilat, antara lain asam asetat, propionat, butirat, dan valerat

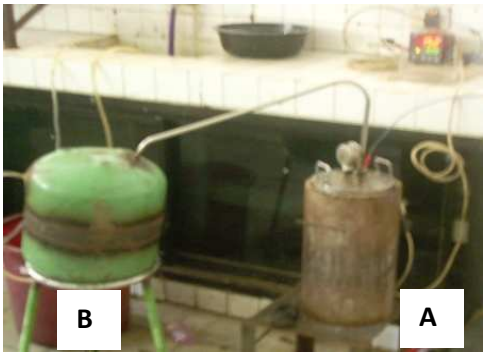
(Hardy, 2009). Karena keberadaan komponen ini, asap cair secara umum bersifat asam, dan inilah yang menjadi alasan untuk mempelajari penggunaannya untuk mendapatkan silika dari sekam padi dengan metode sol-gel, yang dilakukan dalam penelitian ini.

Dewasa ini, silika sekam padi terus mendapat perhatian karena peranan silika yang sangat luas dalam beragam peruntukan, antara lain sebagai penyangga katalis heterogen (Adam *et al*., 2006; Chumee *et al.,* 2009) dan adsorben (Daifullah et al., 2003). Umumnya silika dari sekam padi diperoleh dengan metode sol-gel. Metode ini melibatkan dua tahap utama yakni ekstraksi silika dengan larutan alkalis seperti NaOH atau KOH untuk mendapatkan silika dalam bentuk sol, dilanjutkan dengan peneteralan sol silika menggunakan asama mineral, seperti HCl, H_2SO_4 atau HNO_3 (Daifullah *et al*., 2004; Kalapathy *et al*., 2000; Irwan dkk, 2009), untuk mendapatkan silika dalam bentuk gel. Gel selanjutnya dikeringkan untuk mendapatkan silika dalam bentuk padatan. Metode sol-gel ini sudah dimanfaatkan secara luas, namun penggunaan asam mineral masih dianggap sebagai kelemahan karena selain harga asam yang cukup mahal, asam mineral juga merupakan senyawa yang berbahaya bagi lingkungan. Dengan demikian, pada prinsipnya penggunaan asap cair lebih baik ditinjau dari sisi biaya dan keramahan terhadap lingkungan.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Asap Cair

Pembuatan asap cair dilakukan menggunakan perangkat pirolisis seperti ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Perangkat pirolisis untuk pembuatan asap cair
A: Reaktor B: Pendingin

Secara gari besar, perangkat terdiri dari sebuah reaktor (A) dimana proses pirolisis berlangsung, dan unit pendingin (B) yang dihubungkan dengan reaktor. Reaktor terbuat dari tabung *stainless steel*, ditempatkan dalam pembungkus yang terbuat dari semen. Reaktor dilengkapi dengan elemen pemanas melingkari tabung *stainless steel*, dan dihubungak dengan sumber arus yang dilengkapi dengan pengatur suhu. Unit pendingin terbuat dari pipa *stainless steel* dan ditempatkan dalam tabung yang dilengkapi dengan sistim pendingin dengan air. Di bagian bawah pendingin dilengkapi dengan saluran untuk menampung asap yang sudah terkondensasi (asap cair).

Untuk pelaksanaannya, sebanyak 500 gram tempurung kelapa yang telah dicuci dan dikeringkan dimasukkan ke dalam reaktor pirolisis. Perangkat pemanas lalu dihidupkan dan suhu diatur pada 400 ^oC. Setelah suhu tercapai, pirolisis dilangsungkan selama 1,5

jam. Asap cair yang dihasilkan ditampung dan dibiarkan selama tiga hari. Asap cair lalu disaring untuk memisahkan tar. Asap cair ini dikenal sebagai asapa cair mutu (*grade*) tiga. Sebagian asap cair digunakan langsung dan sebagian didestilasi pada suhu 150 ^{o}C, dan destilat yang dihasilkan dikenal sebagai asap cair mutu (*grade*) dua. Asap cair grade dua ini juga digunakan seperti halnya asap cair *grade* tiga.

Ekstraksi Silika dari Sekam Padi

Sekam padi sebelumnya dibersihkan dari pengotor-pengotor yang menempel pada sekam padi dengan cara mencuci sekam padi hingga bersih kemudian dikeringanginkan hingga benar-benar kering. Selanjutnya sekam padi yang telah bersih direndam dengan 500 ml KOH 1.5% disertai dengan pemanasan hingga mendidih selama 30 menit. Tujuan dilakukan pemanasan ini adalah untuk mempermudah proses pelarutan silika dalam sekam padi ke larutan KOH 1.5%, lalu didiamkan selama semalam. Kemudian disaring, filtrat yang merupakan sol silika ditampung untuk digunakan sebagai sampel.

Pengendapan Silika

Untuk pengendapan silika, sebanyak 200 ml sol silika dimasukkan ke dalam gelas kimia. Ke dalam sampel lalu ditambahkan asap cair secara bertahap, sambil pH dipantau dengan pH meter. Penambahan asapa cair dilakukan hingga pH sol mencapai nilai 6,8-7,0. Sampel selanjutnya didiamkan selama 24 jam untuk proses penuaan (aging) gel yang terbentuk. Gel yang terbentuk selanjutnya dicuci dengan akuades panas hingga air cucian bersifat netral, lalu gel dikeringkan pada suhu 110 ^{o}C selama 6 jam untuk menghilangkan air. Silika yang diperoleh selanjutnya digerus hingga menjadi bubuk dan ditimbang untuk menghitung rendemen yang diperoleh. Sebagai pembanding, pengendapan silika juga dilakukan menggunakan larutan HCl 10% dengan cara yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, pembuatan asap cair dilakukan menggunakan 500 gram tempurung kelapa dengan suhu pirolisis 400 ^{0}C dan waktu pirolisis 1,5 jam. Dari percobaan ini dihasilkan asap cair *grade 3* sebanyak 250 mL, dan memiliki pH = 2,8. Untuk mendapatkan asap cair *grade* dua, asap cair *grade* iga didestilasi pada suhu 150 ^{o}C. Hasil percobaan menunjukkan dari 700 mL asap cair *grade* tiga diperoleh asap cair *grade* 2 sebanyak 500 mL. Asap cair grade dua ini memiliki pH = 3,3. Contoh asap cair yang dihasilkan dalam penelitian ini disajikan dalam Gambar 2.

A **B**

Gambar 2. Asap cair yang dihasilkan dari tempurung kelapa dengan metode pirolisis
A: asap cair *grade* tiga
B: asap cair *grade* dua

Untuk membandingkan pengendapan dengan asam mineral, sebanyak 200 mL sol silika diperlakukan dengan asam mineral (HCl 10%) dan dua jenis asap cair yang diteliti, yakni asap cair *grade* dua dan tiga. Perbandingan didasarkan pada dua parameter ukur, yakni

volume asam dan asap cair yang diperlukan, dan massa silika yang dihasilkan. Hasil percobaan dirangkum dalam Tabel 1 .

Tabel 1. Rangkuman hasil percobaan pengendapan silika sekam padi dengan HCl dan asap cair.

Pereaksi	Volume (mL)	Massa silika (gr)
HCl 10%	25	6,8
Asap cair grade tiga	70	5,1
Asap cair grade dua	120	4,8

Hasil percobaan dalam Tabel 1 menujukkan bahwa asap cair mampu mengendapkan silika dari sekam padi, meskipun dengan volume yang lebih banyak dibanding dengan volume asam mineral (HCl) yang diperlukan. Selain unggul dalam hal volume, harus diakui pula bahwa efektifitas asam mineral juga lebih tinggi dilihat dari massa silika didapatkan dari sol silika dengan volume yang sama. Hasil juga menunjukkan bahwa asap cair *grade* tiga lebih efektif dibanding dengan asap cair *grade* dua, baik dalam hal volume yang dibutuhkan maupun massa silika yang diperoleh. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sebagian komponen asam dalam asap cair *grade* tiga tidak terdapat dalam asap cair *grade* dua, karena volatilitasnya yang rendah sehingga tidak menguap ketika asap cair didestilasi.

Gambar 3. Contoh silika sekam padi yang diperoleh menggunakan asap cair.

Gel silika selanjutnya didiamkan selama 24 jam untuk proses penuaan (aging). Gel selanjutnya dicuci dengan akuades panas hingga air cucian bersifat netral, lalu disaring dengan vakum, setelah itu dikeringkan pada suhu 110 ^{o}C selama 6 jam untuk menghilangkan air. Silika yang diperoleh selanjutnya digerus hingga menjadi bubuk dan ditimbang untuk penghitungan rendemen yang didapat. Contoh silika yang sudah dikeringkan dan digerus menjadi serbuk disajikan dalam Gambar 3. Seperti terlihat, silika yang diperoleh berwarna putih bersih serupa dengan silika serbuk yang diperoleh dengan asam mineral.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa asap cair dapat digunakan untuk mendapatkan silica dari sekam padi dengan metode sol-gel. Hasil ini menunjukkan bahwa asap cair berpotensi untuk digunakan sebagai pengganti asam mineral untuk mendapatkan silika sekam padi, maupun silika nabati lainnya. Namun demikian, harus diakui bahwa asap cair tidak seefektif asam mineral, ditinjau dari volume

yang ibutuhkan dan massa silika yang idapatkan. Dari dua jenis asap cair yang diteliti, hasil penelitian menunjukkan bahwa asap cair *grade* tiga relatif lebih efektip dari asap cair grade dua.

DAFTAR PUSTAKA

Adam, F., Kandasamy, K., and Balakrishnan, S. (2006). Iron incorporated heterogeneous catalyst from rice husk ash. *Journal of Colloid and Interface Science*, **304,** 137–143.

Agustian, A., S. Friyatno, Supadi dan A. Askin. (2003). Analisis pengembangan agro-industri komoditas perkebunan rakyat (kopi dan kelapa) dalam mendukung peningkatan daya saing sektor pertanian. Makalah Seminar Hasil Penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian Bogor. T.A. 2003. hlm 38.

Chumee, J., Grisdanurak, N., Neramittagapong, S., and Wittayakun, J. (2009). Characterization of AlMCM-41 Synthesized With Rice Husk Silica And Utilization As Supports For Platinum-Iron Catalysts. Brazilian Journal of Chemical Engineering, **26**, 367 – 373

Daifullah, A. A. M., Girgis, B. S and Gad, H. M. H. (2003). Utilization of Agro-residues (Rice Husk) in Small Waste Water Treatment Plans. *Material Letters,* **57**: 1723–1731.

Daifullah, A.A.M., N.S. Awwad, N.S., and S.A. El-Reefy, S.A (2004).Purification of Wet Phosphoric Acid From Ferric Ions Using Modified Rice Husk *Chemical Engineering and Processing*, **43,** 193–201

Della, V.P., Ku¨hn, I., and Hotza. (2002). Rice Husk Ash as An Alternate Source For Active Silica Production. *Materials Letters*, **57**, 818–821.

Hardy, Agus Putrawan. 2009. Pemurnian asap cair dari sekam padi hasil pembakaran batu bata dengan metode ekstraksi. (Tesis). Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Irwan, G.S., Simanjuntak, W., and Pandiangan, K.D (2009). Potential Utilization of Rice Husk Silica As An Alternative For Mineral-Derived Silica. Proceeding of International Seminar On Sustainable Biomass Production and Utilization, Challenges and Opportunity, Bandar Lampung, August 3-4, 2009.

Kalapathy, U., Proctor, A and Schultz, J. (2000). A simple Method For Production of Pure Silica From Rice Hull Ash. *Bioresource Technoogy,* **73**: 257–260.

Imam, S.H., Gordon, S.H., Mao, L., and Chen, L. 2001. Environmentally Friendly Wood Adhesive from Renewable Plant Polymer: Characteristic and Optimization. Polymer Degradation and Stability. 73: 529-533.

Jayasekara, R., Harding, I., Bowater, I., Christie, G.B.Y., and Lonergan, G.T. 2003. Preparation, Surface Modification and Characterization of Solution Cast Starch PVA Blends Film. Polymer Testing. 23: 17-27.

Krogars, K., Heinamaki, J., Karjalainen, M., Rantanen, J., Luukkonen, P., and Yliruusi, J. 2003. Development and Characterization of Aqueous Amylose-Rich Maize Starch Dispersion for Film Formation. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. Volume 56, Number 2, September 2003 , pp. 215-221(7).

Lawton, J.W and Fanta, G.F. 1994. Glycerol-Plasticized Films Prepared From Starch – Poly (vinyl alcohol) Mixtures: Effect of Poly (ethylene-co-acrylic acid). Carbohydrate Polymers. 23: 275-280.

Lourdin. D., Valle, G.D., and Colonna, P. 1995. Influence of Amylose Content on Starch Films and Foams. Carbohydrate Polymers 27: 261-270.

Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D., and Ring, S.G. 1985. The Roles of Amylose and Amylopectin in The Gelation and Retrogradation of Starch. Carbohydrate Research. 135: 271-281.

Okaya, T., Kohno, H., Terada, K., Sato, T., Maruyama, H. and Yamauchi, J. 1992. Specific Interaction of Starch Polyvinyl Alcohol Having Long Alkyl Groups. Journal of Applied Polymer Science. 45: 1127-1134.

Shogren, R.L., and Jasberg, B.K. 1994. Ageing Properties of Extruded High-Amylose Starch. Journal of Environmental Polymer Degradation. 2: 99-109.

Shogren, R.L., Greene, R.V. and Wu, Y.V. 1991 Complexes of Starch Polysaccharides and Poly (ethylene-co-acrylic acid): Structure and Stability in Solution. Journal of Applied Polymer Science.42: 1701-1709.

van Soest, J.J.G., and Vliegenthart, J.F.G. 1997. Crystallinity in Starch Plastics: Consequences for Material Properties. Trends in Biotechnology. 15(6): 208-213.

van Soest, J.J.G., Hulleman, S.H.D., de Wit, D., Vliegenthart, J.F.G. 1996. Crystallinity in Starch Bioplastics. Ind. Crops Prod. 5: 11-22.

Wongsuban, B., Muhammad, K., Ghazali, Z., Hashim, K., and Hassan, M.A. 2003. The Effect of Electron Beam Irradiation on Preparation of Sago Starch / Polyvinyl Alcohol Foams. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B. 211: 244-250.

Zhai, M., Yoshii, F., and Kume, T. 2003. Radiation Modification of Starch-based Plastic Sheets. Carbohydrate Polymers. Volume 52, Number 3, May 2003 , pp. 311-317(7).

Zhiqiang, L. 1999. Thermoplastic Starch/PVAl Compounds: Preparation, Processing, and Properties. J. Appl. Polym. Sc. 74. 2667-2673.

Effect of Ageing on the Properties of Starch-PVA Biodegradable Plastic

Sonny Widiarto and Suripto Dwi Yuwono
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung
e-mail : swidiarto@unila.ac.id

Abstract

Effect of ageing (storage) on the tensile properties of starch – polyvinyl alcohol biodegradable plastics has been studied in the presence of compatibilizers. Borax and glutaraldehyde have been used as a compatibilizers to improve the properties of plastics. Tensile strength of the plastic films increases whereas elongation at break decreases after the two months storage. The changes of tensile properties could be related to both changes on crystallinity and loss of plasticizer during storage. The changes of the crystallinity of the films were followed by X-ray diffractometry. Diffraction intensity at 17^o and 23^o in Starch-PVA-Borax films increases due to B-type crystallinity. However, this phenomena is not found for the Starch-PVA-Glutaraldehyde samples.

INTRODUCTION

Starch has been incorporated to varying extents into plastics in an effort to develop a biodegradable alternative to petroleum-based commodity plastics (Fanta et al., 1990; Shogren et al., 1991; van Soest et al., 1996; Bastioli et al., 1998; Arvanitoyannis et al., 1997). Starch blended with the synthetic polymer poly(vinyl alcohol) (PVA) has been studied as a potential biodegradable polymer (Okaya et al., 1992; Lawton and Fanta, 1994; Zhiqiang et al., 1999; Imam et al., 2001; Zhai et al., 2002; Jayasekara et al., 2003; Wongsuban et al., 2003). Lawton and Fanta (1994) showed that cast films containing starch and PVA could be produced if a small amount of poly (ethylene-*co*-acrylic acid) (EAA) was added to the formulation. Starch – PVA films cast without EAA will have phase separate during drying (Lawton, 1996).

van Soest and Vliegenthart (1997) have examined the change in material properties of extruded sheet of starch plastics of varying amylose to amylopectin ratio, which are aged over periods of up to eight months. They found that, within the first few days after processing, there was an increase in amylose single helical and B-type crystallinity, which caused a rapid and effective increase in strength and stiffness of the films. This, together with a reduction in elongation at break was thought to be caused by crystallities acting as a permanent crosslink. B-type crystallinity was found to increase further over several months of storage. Both amylose and amylopectin recrystallize in the B-type crystal structure although amylose crystallization was found to occur much faster than amylopectin outer chain.

Golding (1998) aged starch films consisting of a mixture of wheat starch, A939 and PVA for 28 days at 23^oC, 70%RH and 50^oC, 99%RH and monitored their tensile and crystalline properties. He found that the films stored at 23^oC and 70%RH showed a small increase in tensile properties with no significant change in Young's modulus or strain at break over 28 days. However, he found the films stored at 50^oC and 99%RH showed an increase in Young's modulus and tensile strength during the first 14 days followed by an even sharper increase in Young's modulus and a rapid fall in elongation at break over the last 14 days. Golding (1998) explains this behavior as being a consequence of brittleness

caused by high crystallinity. Golding's findings are consistent with van Soest's and Vliegenthart's (1997). That is, ageing causes recrystallization of amylose and amylopectin which leads to brittleness resulting in failure at high Young's moduli and small elongations.

Golding's (1998) result suggest temperature may have an effect on crystallization since ageing at 23°C had little effect on the starch film's properties whereas ageing at 50°C had significant effect. Shogren and Jasberg (1994) aged extruded high-amylose starch at various temperatures. They classified ageing of films at a temperature below the glass transition temperature (T_g) of starch as "physical ageing" which they found resulted in no change in crystallinity. Ageing above T_g was classified as "retrogradation" which was found to allow starch chains to recrystallize. Retrogradation was more clearly defined by van Soest and Vliegenthart (1997) as starch structural changes, such as helix formation and crystallization, during ageing of starch materials above T_g.
The temperature, relative to the T_g and T_m of the material, at which starch plastic films will be aged should certainly be considered in explaining experimental result in terms of crystallinity.

METHODOLOGY

Starch was provided by Nitsei Sago Industries Sdn. Bhd., Mukah, Sarawak. Starch was used as received without further purification. Poly(vinyl alcohol) was obtained from Merck with molecular weight of 72000 and 98% hydrolyzed. Sodium tetraborate decahydrate (borax) $Na_2B_4O_7.10H_2O$ and glutaraldehyde 50% (v/v) aqueous solution were obtained from BDH Chemical, England. Glycerol (density = 1.25 g/mL) was obtained from Univar Australia.

Starch was first dispersed in distilled water and then heated under stirring at 80°C in a three-neck flask for 45 minutes. Immediately, after gelatinization process, a required amount of glycerol was added. Stirring was continued until a homogeneous mixture was obtained. The mixture was then poured into a petry dish and dried in an oven for 1 day at 60°C. A film with thickness of about 100□m was obtained. To prepare starch – PVA – borax blends (SPB samples), solution of sodium tetraborate decahydrate was then added into starch – PVA solution, and stirred for another 30 minutes. To prepare starch – PVA – glutaraldehyde blends (SPG samples), the above procedure was used but the use of borax was replaced by glutaraldehyde.
Samples for tensile measurement were conditioned at ambient temperature (25± 3 °C). The samples were placed in a closed chamber containing saturated NaBr solution in distilled water for 7 days (Lourdin et al., 1997). The measurements were carried out using an Instron machine model 4403 according to ASTM D638 with a crosshead speed of 50 mm/min.

The changes of the crystallinity of the films were followed by X-ray diffractometry. X-ray diffraction (XRD) was carried out by using an X-ray diffractometer (Shimadzu, XRD-600). The scanning region of the diffraction angle (2θ) was 2-40°, which covered all significant diffraction peaks of the starch crystallites. The Cu-K□ radiation (□= 1.54) was monochromized by means of nickel filter. The other operation conditions were as follows: step interval, 0.02 and scan speed, 2°/min.

RESULT AND DISCUSSION

To study the effect of ageing or storage on the properties of starch – PVA plastic, the easiest approach is to measure the strength of samples before and after ageing. Figure 1-4 show tensile properties of plastic film samples as before and after two months storage. It can be shown from the figures, tensile strength of the film samples increases whereas elongation at break decreases after the storage. The changes of tensile properties could be related to both changes on crystallinity and loss of plasticizer during storage.

Tensile properties of films are sensitive measure of the storage treatment of starch films (Krogars et al, 2003). According to the literature, the changes in elongation are clearly related to the changes in starch structure and B-type crystallinity (van Soest and Knooren, 1997). Amylose-rich starch is less sensitive to storage phenomena than amylopectin-rich starch.
The changes of the crystallinity of the films were followed by X-ray diffractometry. Figure 5 and 6 show effect of the storage on the X-ray diffractogram of SPB and SPG samples, respectively. Diffraction intensity at 17^o and 23^o in SPB films increases due to B-type crystallinity. However, this phenomena is not found for the SPG samples.
Gelatinized starch is metastable and nonequilibrium systems and therefore undergo structural changes during storage (Hoover, 2001). Miles et al. (1985) attribute the initial gel firmness during storage to the formation of an amylose matrix gel and the subsequent slow increase in gel firmness to reversible crystallization of amylopectin. During storage, amylose forms double-helical associations of 40-70 glucose units, whereas amylopectin crystallization occurs by association of the outermost short branches (Ring et al., 1987). The amylopectin content of starch could be crystallizing during storage. This would give film that have lower free volume and less molecular movement for the chains to move during the tensile test (Lawton, 1996).

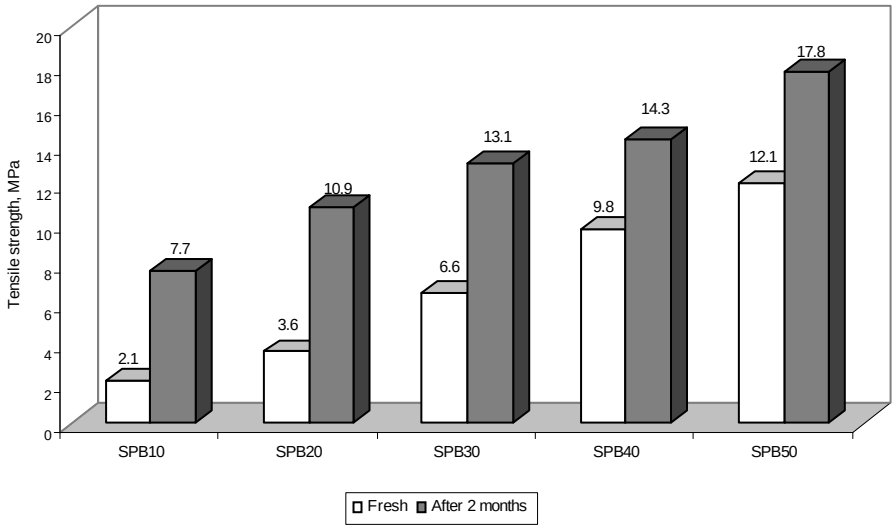


Figure 1. Effect of storage on the tensile strength of SPB samples

Figure 2. Effect of storage on the elongation at break of SPB samples

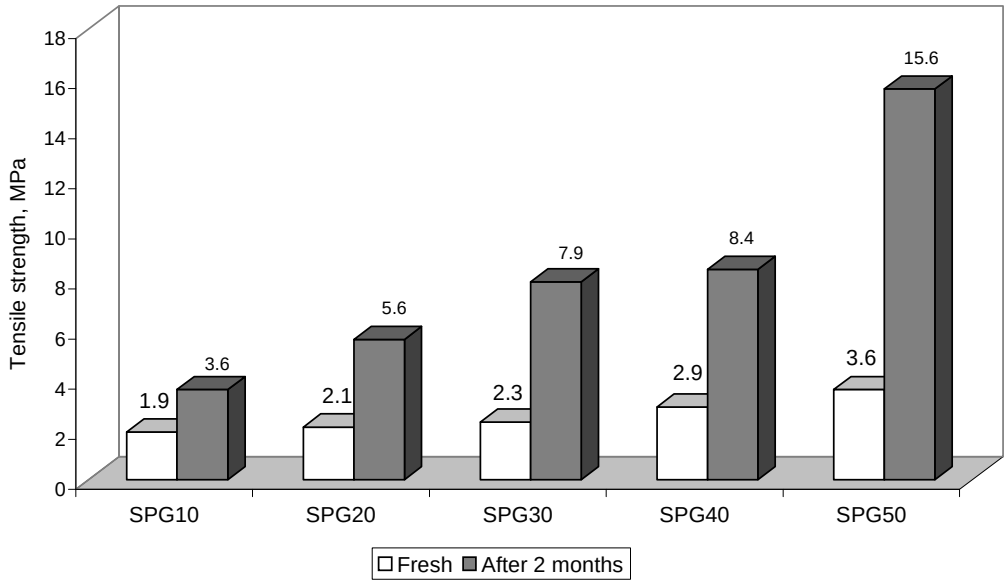


Figure 3. Effect of storage on the tensile strength of SPG samples

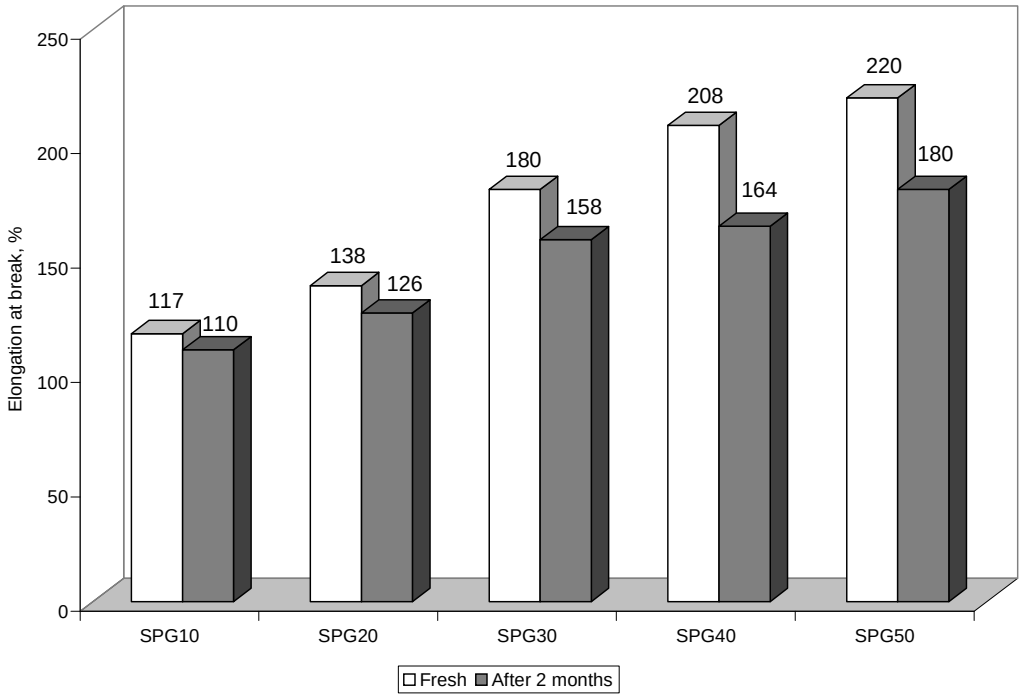


Figure 4. Effect of storage on the elongation at break of SPG samples

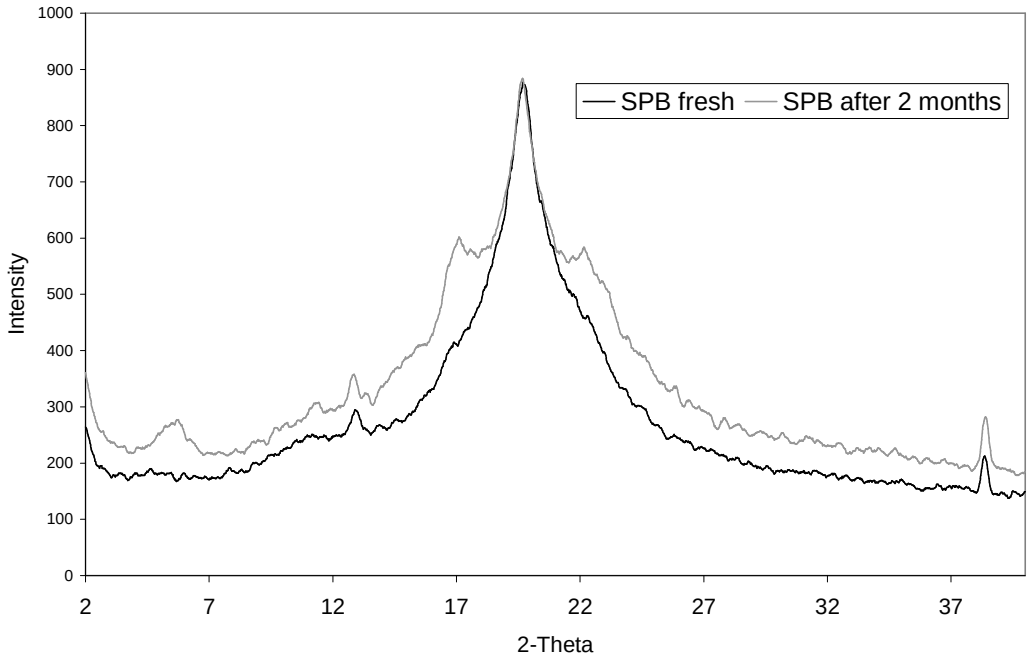


Figure 5. Effect of storage on the X-ray diffraction pattern of starch – PVA – Borax film

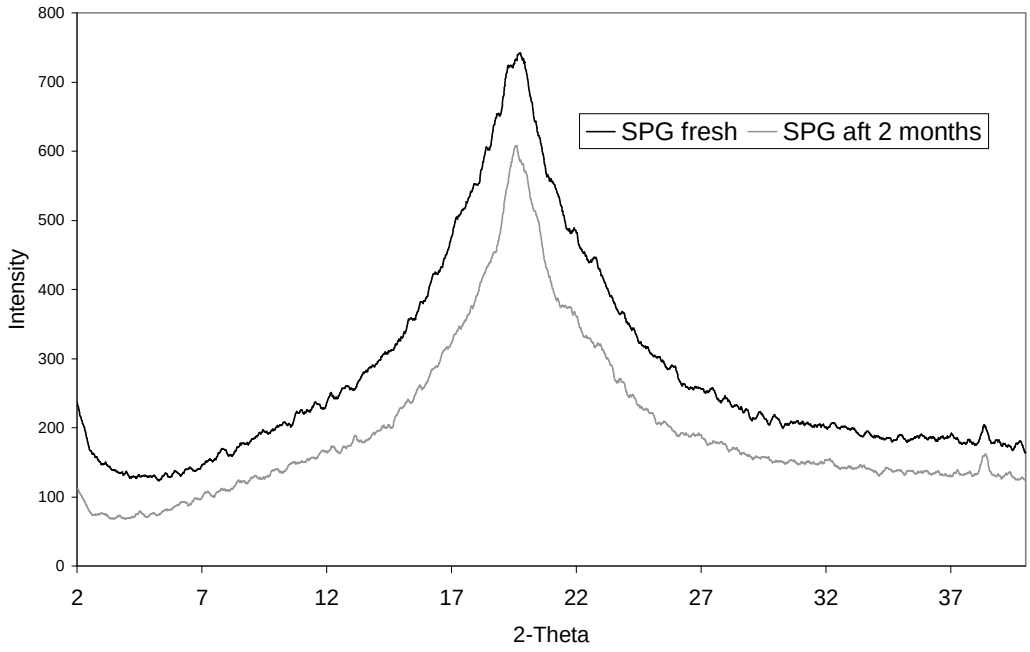


Figure 6. Effect of storage on the X-ray diffraction pattern of starch – PVA – Glutaraldehyde film

CONCLUSION

Tensile strength of starch-PVA plastic films increase whereas elongation at break decrease after two months storage. The changes of these tensile properties could be related to both changes on crystallinity and lost of plastiziser during storage.

REFFERENCES

Arvanitoyannis, I., Kolokuris, I., Nakayama, A., and Aiba, S. 1997. Preparation and Study of Novel Biodegradable Blends Based on Gelatinized Starch and 1,4 –trans – Polyisoprene (Gutta Percha) for Food Packaging or Biomedical Application. Carbohydrate Polymers. 34. 291-302

Bastioli, C. 1998. Properties and Application of Mater-Bi Starch-based Materials. Polymer Degradation and Stability. 59. 263-272.

Fanta, G.F., Swanson, C.L. and Doane, W.M. 1990. Composite of Starch and Poly (ethylene-co-acrylic acid). Complexing between Polymeric Component. Journal of Applied Polymer Science 40: 811-821.

Golding, S. 1998. The Effect of Annealing on the Structural and Mechanical Properties of Starch Films. The University of Queensland. St. Lucia.

Hoover, R. 2001. Composition, molecular structure and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. Carbohydrate Polymers. 45. 253-267.

PENGARUH HIDROLISIS DAN KONDENSASI PADA SINTESIS HIBRIDA *Nannochloropsis*-SILIKA *IMPRINTED* IONIK CD(II)

Buhani
Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Lampung
Tel. +62 (721) 770422; Fax +62 (721) 770422;
email: buhani_s@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pengaruh media hidrolisis dan kondensasi dalam proses pembuatan material hibrida *Nannochloropsis*-Silika *imprinted* ionik Cd(II) (Cd(II)-IIP) telah dipelajari dengan menggunakan kombinasi pelarut air-etanol. Penggunaan air-etanol yang sebanding menghasilkan pengikatan dan pelepasan ion Cd(II) yang optimal yaitu masing–masing sebesar 99,20 dan 99,07 %. Elusi ion Cd(II) dalam polimer *imprinted* ionik (PII) dari hibrida *Nannochloropsis*-Silika menggunakan Na_2EDTA-HCl lebih efektif dibandingkan dengan Na_2EDTA-HNO_3 dengan masing-masing fraksi *imprinted* ionik yang terbentuk sebesar 99,88 dan 94,58 %. Konsentrasi 0,1 M ion Cd(II) yang digunakan sebagai templat menghasilkan fraksi *imprinted* ionik sebesar 99,38 %.

Kata kunci : *imprinted* ionik, hibrida organo-silika, *Nannochloropsis sp*

PENDAHULUAN

Silika gel merupakan salah satu material anorganik yang banyak digunakan sebagai matriks pendukung dalam mengimmobilisasi biomassa alga (Buhani dkk., 2010). Silika gel yang mempunyai gugus silanol dan gugus siloksan tanpa dimodifikasi dengan penambahan (immobilisasi) gugus aktif terlebih dahulu dilaporkan dapat mengadsorpsi ion logam, meskipun demikian atom O sebagai situs aktif silika merupakan spesies yang mempunyai ukuran relatif kecil dan polarisabilitas rendah sehingga kecenderungannya untuk berinteraksi dengan logam berat yang umumnya mempunyai ukuran besar dan polarisabilitas tinggi secara teoritis relatif tidak begitu kuat. Sehubungan dengan hal itu, perlu adanya upaya untuk meningkatkan efektivitas silika dalam mengadsorpsi ion logam melalui penambahan (immobilisasi) gugus aktif yang mampu secara efektif mengikat ion logam.

Biomassa alga merupakan salah satu material alam yang memiliki gugus aktif yang berperan dalam mengikat ion logam dan memiliki kelimpahan yang cukup banyak di wilayah perairan Indonesia. Biomassa dari beberapa spesies alga efektif untuk mengikat ion logam dari lingkungan perairan (Harris dan Ramelow, 1990), karena biomassa alga mengandung beberapa gugus fungsi yang dapat berperan sebagai ligan terhadap ion logam (Figuerira, dkk., 1999; Yang and Volesky; 1999; Gupta dan Rastogi, 2008). Akan tetapi ada kendala karena biomassa berat jenisnya rendah sehingga kurang efektif digunakan sebagai material pengisi kolom untuk adsorpsi secara kontinyu, mudah terdegradasi secara biologi maupun kimia (Harris dan Ramelow, 1990 dan Buhani dkk., 2006). Oleh karena itu perlu dilakukan immobilisasi biomassa alga dengan matriks pendukung seperti silika agar diperoleh material yang stabil secara kimia dan mudah digunakan sebagai adsorben logam berat.

Pada penelitian ini dilakukan peningkatan kualitas material dari biomassa *Nannochloropsis sp* dengan silika sebagai matriks pendukung melalui proses sol gel dan *imprinting* ionik sehingga akan diperoleh hibrida organo-silika yang stabil secara kimia serta meningkatkan jumlah gugus aktif yang akan berperan dalam mengikat logam berat. Teknik polimer *imprinting* ionik dapat meningkatkan selektivitas adsorpsi karena ion logam dapat berperan sebagai templat membentuk polimer melalui proses *imprinting* ionik. (ErsÖz dkk., 2004; Chang dkk., 2007; Li dkk., 2007; Zhao dkk., 2007; dan Zhai dkk., 2008).

Pembentukan hibridisasi organo-silika bertujuan menambah gugus aktif sehingga akan meningkatkan kapasitas adsorpsi, sedangkan proses *imprinting* ionik dilakukan agar material hibrida organo-silika tersebut dapat bersifat selektif terhadap ion logam target yang sesuai dengan ion logam templatnya. Dengan demikian material hibrida *Nannochloropsis*–Silika *imprinted* ionik akan memiliki kapasitas dan selektivitas adsorpsi yang baik terhadap logam target. Keberhasilan sintesis material *imprinted* ionik yang dilakukan melalui proses sol-gel disertai proses *imprinting* ionik, sangat dipengaruhi oleh reaksi hidrolisis dan kondensasi pada pembentukan material sol-gel. Beberapa faktor yang menentukan keberhasilan proses sol-gel antara lain media hidrolisis dan kondensasi serta kondisi asam-basa saat ke dua proses tersebut berlangsung (Gupta dan Kumar, 2008). Salah satu ukuran keberhasilan sintesis material *imprinted* ionik adalah banyaknya rongga *imprinted* ionik yang terbentuk dengan tidak mengubah karakteristik fisiko-kimia material *imprinted* ionik yang dihasilkan dibandingkan dengan material *non-imprinted* ionik (NIP). Untuk menghasilkan material *imprinted* ionik dengan karakteristik yang tidak jauh berbeda dengan material NIP, tetapi memiliki fraksi rongga *imprinted* ionik yang optimal, perlu diperhatikan beberapa hal yang berpengaruh pada pembentukan material *imprinted* ionik, antara lain media sintesis sol-gel, proses pengikatan ion logam, dan elusi ion logam dari polimer *imprinted* ionik (PII). Oleh karena optimasi prosedur terhadap berbagai faktor yang menentukan pengikatan dan pelepasan ion logam pada material *imprinted* ionik sangat penting untuk dilakukan untuk mendapatkan material yang bersifat selektif dalam mengadsorpsi ion logam target.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tetraetil ortosilikat (TEOS), etanol, $CdCl_2.H_2O$, Na_2EDTA, CH_3COOH, dan HNO_3 dari Merck, Germany. NH_4OH dan HCl (37%) dari Alba Chemical. Biomassa alga *Nannochloropsis sp* dari Balai Budidaya Laut Lampung.

Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini disamping peralatan gelas standar dan plastik, digunakan pula peralatan pendukung dan analisis. Peralatan pendukung terdiri dari timbangan analitik (Mettler AE 160), alat penggerus (lumpang dan mortar), ayakan ukuran 200 mesh dan Oven (Fisher Scientific), pemanas dan pengaduk magnet, sentrifugator (OSK 6474B Sentrifuge), dan pH meter (Orion 4 Star), pompa vakum (Buchi Vac^R V-500). Peralatan analisis terdiri dari spektrofotometer serapan atom (SSA) (Perkin Elmer 3110) digunakan untuk analisis logam. Spektrofotometer IR (Prestige-21 Shimadzu) untuk menganalisis gugus fungsional.

Prosedur Kerja

Pengaruh pelarut

Komposisi pelarut yang digunakan sebagai media hidrolisis dan kondensasi adalah air dan etanol (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh pelarut terhadap sintesis material hibrida *Nannochloropsis*-Silika *imprinted* ionik Cd(II)

Formula	TEOS (ml)	Air (ml)	Etanol (ml)	$CdCl_2 H_2O$ (g)
Cd(II)-IIP-1	5	10	0	0,097
Cd(II)-IIP-2	5	5	5	0,097
Cd(II)-IIP-3	5	2,5	7,5	0,097
Cd(II)-IIP-4	5	0	10	0,097

Pengaruh pengelusi

Larutan A sebanyak 5 mL TEOS dan 5 mL air dimasukkan ke dalam gelas plastik, kemudian ditambahkan HCl 1 M sampai pH 2, selanjutnya diaduk dengan pengaduk magnet sampai homogen. Larutan B: sebanyak 0,097 gram $CdCl_2 \cdot H_2O$ dan etanol dimasukkan dalam gelas plastik, diaduk dengan pengaduk magnet sambil dipanaskan sampai larut. Selanjutnya ditambahkan biomassa *Nannochloropsis sp* dan pengadukan dilanjutkan selama 1 jam. Larutan A dicampur dengan larutan B dengan pengadukan sampai terbentuk gel. Gel kering dibilas dengan campuran air/etanol 60/40%, dilanjutkan dengan merendam gel selama 24 jam menggunakan larutan Na_2EDTA 0,1 M. Kemudian gel tersebut dibagi menjadi 2 bagian, bagian pertama ditambah dengan HCl 0,5 M dan diaduk dengan pengaduk magnet dan bagian kedua ditambah dengan HNO_3 0,5 M. Gel-gel tesebut disaring dan dinetralkan dengan akuades, kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 60^oC. Kadar Cd yang terdapat di dalam gel sebelum dan setelah dilepaskan dengan pengelusi tersebut dianalisis dengan SSA.

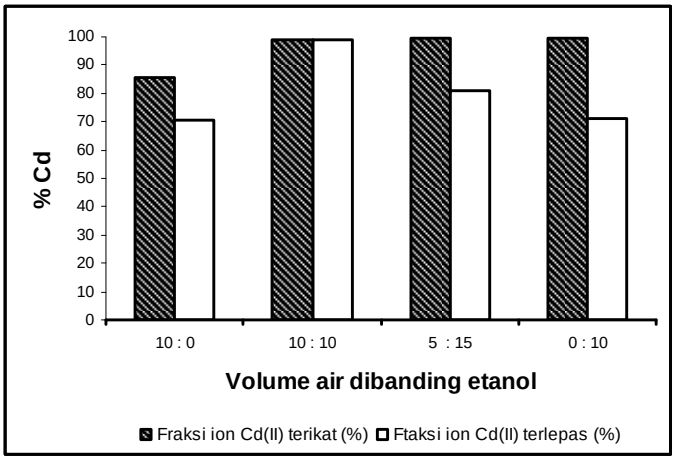
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh media hidrolisis dan kondensasi

Untuk mengetahui pengaruh pelarut ion logam yang akan digunakan sebagai templat pada pembuatan material *imprinted* ionik, maka dilakukan variasi jumlah volume pelarut ion logam yang digunakan. Pelarut logam yang biasa digunakan adalah air dan etanol. Dalam penelitian ini kedua pelarut tersebut dikombinasikan untuk mengetahui efektifitas jumlah logam yang terikat dengan gugus aktif dari biomassa *Nannochloropsis sp* dalam PII. Jumlah ion logam yang terikat akan menentukan jumlah situs aktif pada material PII yang disintesis.

Pada pembuatan material PII, komposisi prekursor dan senyawa aktif yang digunakan berdasarkan hasil yang diperoleh pada hasil optimasi dan uji adsorpsi dari material hasil modifikasi silika dengan *Nannochloropsis sp* (Buhani, dkk., 2009). Data tentang pengikatan ion logam dan jumlah ion logam yang dapat dilepaskan dari PII untuk ion logam Cd(II) dari biomassa *Nannochloropsis sp* dilihat pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 dapat diamati bahwa jumlah ion Cd(II) yang terikat pada PII optimal pada perbandingan volume air-etanol 1 : 1 yaitu sebesar 99,20 % dan logam Cd yang dapat dilepaskan sebagai templat sebesar 99,07 %. Pelarut ditambahkan dengan tujuan untuk memudahkan bercampurnya prekursor anorganik dengan air agar diperoleh sol yang homogen. Selain itu pelarut juga berpengaruh terhadap laju hidrolisis dan kondensasi serta struktur material sol-gel yang terbentuk melalui peningkatan atau penurunan aktivitas katalis karena terbentuknya ikatan hidrogen dengan molekul pelarut atau pengenceran sol akibat menurunnya konsentrasi prekursor (Gupta dan Kumar; 2008; Brinker dan Scherer, 1999).



Gambar 1. Pengaruh media hidrolisis dan kondensasi pada pembentukan fraksi *imprinted* ionik Cd(II)-IIP dari biomassa *Nannochloropsis sp*

Penggunaan air dan etanol sebagai pelarut, karena kedua pelarut tersebut memiliki karakteristik penting dalam proses sol-gel antara lain bersifat polar, momen dipol, dan bersifat protik sehingga mudah melepaskan proton (Schubert dan Husing, 2000). Air dan etanol bersifat polar sehingga dapat mensolvasi TEOS dalam proses sol-gel, momen dipol yang rendah akan efektif dalam menstabilkan sistem yang bersifat elektrostatik, dan bersifat protik akan memudahkan ion hidronium lebih elektrofilik. Pengaruh pelarut tersebut diamati dari material hasil sintesis terutama pada jumlah ion logam yang terikat dan dilepaskan dari PII.

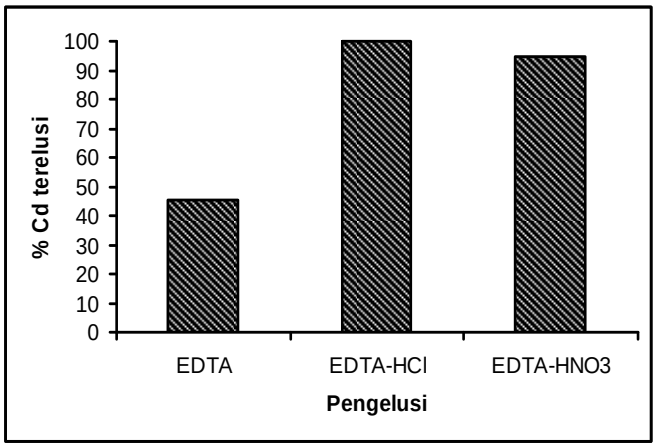
Komposisi Cd(II)-IIP yang hanya menggunakan air saja sebagai pelarut menunjukkan bahwa jumlah ion logam yang terikat pada PII lebih rendah. Hal ini disebabkan oleh sifat H_2O merupakan asam dan basa yang baik, dan baik ion logam maupun ligan dalam reaksi pembentukan kompleks dapat tersolvasi (Martel dan Hancock, 1996). Dengan demikian air dapat berperan sebagai ligan dan berkompetisi dengan gugus aktif seperti gugus hidroksil, amin dan karbonil dari biomassa *Nannochloropsis sp* dalam membentuk ikatan dengan ion Cd(II). Oleh karena itu pembentukan kompleks antara gugus aktif pada biomassa *Nannochloropsis sp* dengan ion Cd(II) menjadi kurang efektif.

Untuk penggunaan volume etanol yang lebih banyak dari air dapat diamati bahwa pengikatan ion Cd(II) cukup besar, akan tetapi jumlah ion logam yang dapat dilepaskan relatif lebih sedikit (Gambar 1), ini diperkirakan karena adanya etanol memperlambat laju kondensasi. Pada kondisi tersebut penataan atom Cd menjadi lebih teratur dalam material PII, dengan kata lain atom Cd terjebak dalam material, sehingga sukar untuk dilepaskan. Makin besar jumlah etanol yang digunakan untuk pelarutan ion logam dan hidrolisis TEOS, maka laju kondensasi makin lambat karena ukuran molekul etanol yang lebih besar dari molekul air akan menimbulkan efek sterik. Selain itu adanya etanol menyebabkan gel yang terbentuk lebih cepat kering, karena etanol berperan sebagai *cosolvent* untuk mempercepat pengeringan gel monolitik (Brinker dan Scherer, 1990).

Pada medium air-etanol yang sebanding (volume 1 : 1) dapat diamati bahwa laju kondensasi relatif tidak begitu cepat, sehingga atom Cd yang terikat pada material PII dapat tertata dengan baik dan lebih mudah dilepaskan. Selain itu juga kombinasi air-etanol yang sebanding menyebabkan beberapa hal antara lain, media hidrolisis lebih homogen, sehingga saat proses kondensasi laju depolimerisasi lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan media air saja (Brinker dan Scherer, 1990).

Pengaruh pengelusi

Pada bagian ini dipelajari pengaruh eluen dalam melepaskan ion logam yang digunakan dalam pembentukan PII. Untuk mencapai tujuan tersebut maka digunakan beberapa jenis eluen yang efektif dalam melepaskan ion logam seperti larutan Na_2EDTA, HCl dan HNO_3 (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh pengelusi ion Cd(II) terhadap fraksi *imprinted* ionik Cd(II)-IIP dari biomassa *Nannochloropsis sp*

Dari Gambar 2 dapat diketahui bahwa elusi ion logam yang terdapat dalam polimer *imprinted* ionik Cd(II)-biomassa menggunakan 0,1 M Na_2EDTA dan dilanjutkan dengan 0,5 M HCl lebih efektif yang ditunjukkan dengan banyaknya jumlah ion logam yang dilepaskan dari PII setelah elusi apabila dibandingkan dengan penggunaan 0,1 M Na_2EDTA atau 0,1 M Na_2EDTA dan dilanjutkan dengan 0,5 M HNO_3. Na_2EDTA berperan dalam melepaskan ion logam yang terikat karena pembentukan kompleks, sedangkan HCl dan HNO_3 dapat melepaskan ion logam yang terikat dengan interaksi elektrostatik . Interaksi ion Cl^- dengan ion Cd(II) lebih kuat dibandingkan dengan ion NO_3^- yang bersifat sebagai donor yang lebih lemah dari Cl^- dalam pembentukan kompleks dengan Cd(II). Dengan demikian HCl lebih efektif dari HNO_3 dalam mengelusi ion Cd(II), ini didukung oleh data energi ikat Cd-Cl yang cukup besar yakni 621 kcal mol^{-1} (Martel dan Hancock, 1996).

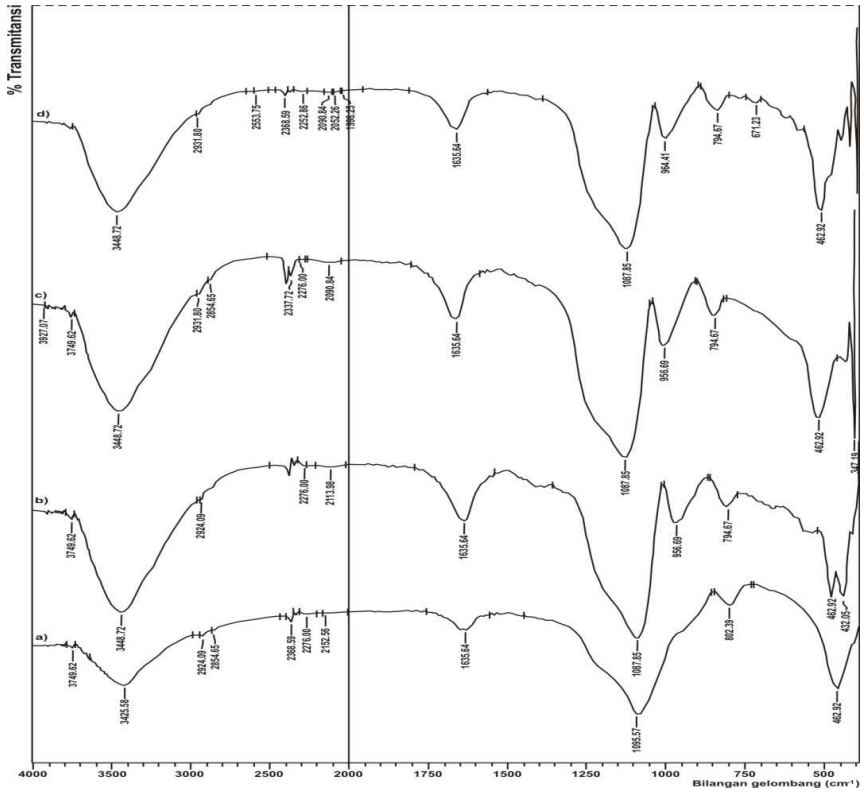
Pengaruh konsentrasi ion templat

Data pengaruh konsentrasi ion Cd(II) yang digunakan sebagai ion templat (Tabel 2) menunjukkan bahwa konsentrasi ion logam yang optimum digunakan pada sintesis adsorben *imprinted* ionik Cd(II) adalah 0,10 M. Pada konsentrasi tersebut jumlah ion yang terikat sebesar 0,127 mol g^{-1} material dan jumlah yang dilepaskan sebesar 0,128 mol/g (99,38 %). Dari data tersebut, maka konsentrasi ion Cd(II) yang dipilih 0,10 M.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi ion logam asal terhadap jumlah ion Cd(II) yang terdapat pada material (CdII)-IIP) dari bomassa *Nannochloropsis sp*

Adsorben	[Cd] awal		[Cd] terikat		[Cd] templat	
	mmol/g	%	mmol/g	%	mmol/g	%
Cd(II)-IIP-a	0,107	100,00	0,101	93,93	0,104	97,38
Cd(II)-IIP-b	0,129	100,00	0,127	98,60	0,128	99,38
Cd(II)-IIP-c	0,159	100,00	0,145	91,45	0,149	93,90

Identifikasi gugus fungsional



Gambar 3. Spektra inframerah material NIP, Cd(II)-IIPa, Cd(II)-IIPb dan Cd(II)-IIPc dari biomassa *Nannochloropsis sp*

Untuk mengetahui bahwa biomassa *Nannochloropsis sp* sudah terdapat di dalam material NIP dan Cd(II)-IIP dapat diketahui berdasarkan spektra inframerah yang terdapat dalam Gambar 3. Dari Gambar tersebut adanya serapan pada bilangan gelombang 1087,85 dan 964,41 cm^{-1} masing-masing menunjukkan vibrasi ulur Si-O-Si dan Si-OH. Air yang terserap direfleksikan oleh vibrasi vOH pada 3444,72 cm^{-1}. Pita serapan disekitar 79467 dan 470,63 cm^{-1} dihasilkan dari vibrasi Si-O. Serapan karakteristik pada NIP dan Cd(II)-IIP dapat diketahui pada pita serapan sekitar 2931,8 cm^{-1} yang merupakan vibrasi dari gugus C-H dari biomassa *Nannochloropsis sp* (Filha dkk., 2006 dan Quintanilla dkk., 2006). Hal ini menunjukkan bahwa biomassa *Nannochloropsis sp* sudah terikat pada permukaan silika setelah modifikasi dalam NIP dan Cd(II)-IIP

KESIMPULAN

Media hidrolisis dan kondensasi dalam proses pembuatan material hibrida *Nannochloropsis*-Silika *imprinted* ionik Cd(II) berperan penting dalam menentukan fraksi rongga *imprinted* ionik yang terbentuk. Penggunaan volume air-etanol yang sebanding (1 : 1) dalam proses hidrolisis dan kondensasi serta penggunaan eluen Na_2EDTA-HCl menghasilkan pengikatan dan pelepasan ion Cd(II) yang optimal sebagai fraksi *imprinted* ionik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didukung oleh dana DIKTI, Departemen Pendidikan Nasional Indonesia melalui hibah Penelitian Strategis Sesuai Prioritas Nasional Tahun ke 2, dengan no kontrak: 104/H26/8/PL/2010, 22 April 2010).

DAFTAR PUSTAKA

Brinker, C.J., dan Scherer, W.J., 1990, *Sol-Gel Science*: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, Academic Press, New York.

Buhani**,** Suharso dan Zipora Sembiring, 2006, Biosorption of Metal Ions Pb(II), Cu(II) and Cd(II) on *Sarggasum duplicatum* Immobilized Silica Gel Matrix, *Indo. J. Chem***.** 6 (3): 245-250.

Buhani, Suharso and Sumadi, 2010, Adsorption Kinetics and Isotherm of Cd(II) Ion on *Nannochloropsis sp* Biomass Imprinted Ionic Polymer, *Desalination,* 259: 140-146.

Chang, X., Jiang, N., Zheng, H., He, Q., Hu, Z., Zhai, Y., and Cui, Y., 2007, Solid-phase Extraction of Iron(III) with an Ion-Imprinted Fungtionalized Silica Gel Sorbent Prepared by a Surface Imprinted Technique, *Talanta*, 71: 38-43.

ErsÖz, A., Say, R., and Denizli, A., 2004, Ni(II) Ion-Imprinted Solid-Phase Extraction and Preconcentration in Aqueous Solutions by Packed-bed Colums. *Anal. Chim. Acta,* 502: 91-97.

Figueira, M.M., Volesky B., and Mathieu, H.J, 1999, Instrumental Analysis Study of Iron Species Biosorption by Sargassum Biomasss*, Environt Sci. Technol*., 33: 1840-1846.

Filha, V.L.S.A, Wanderley, A.F., de Sousa, K.S., Espinola, J.G.P., da Fonseca, M.G., Arakaki, T., and Arakaki, L.N.H., 2006, Thermodynamic Properties of Divalent Cations Complexed by Ethylenesulfide Immobilized on Silica Gel, *Colloids and Surface A: Physicochem. Eng. Aspects*, 279: 64-68.

Gupta, R. and Kumar, 2008, Molecular Imprinting in Sol-gel Matrix, *Biotech. Advances*, 26: 533 – 547.

Gupta, V.K., and Rastogi, A., 2008, Biosorption of Lead From Aqueous Solution by Green Algae Spirogyra Species: Kinetics and Equilibrium Studies, *J. Hazard. Mater***.**, 152: 407-414.

Harris, P.O., and Ramelow, G.J., 1990, Binding of Metal Ions by Particulate Biomass Derived from Chorella Vulgaris and Scenedesmus Quadricauda*, Environt Sci. Technol*., 24: 220-228.

Li, F., Jiang, H., dan Zhang, S., 2007, An Ion-imprinted Silica-supported Organic-Ionorganic Hybrid Sorbent Prepared by a Surface Imprinted Technique Combined with a Polysaccharide Incorporated Sol-Gel Process For Selective Separation of Cadmium(II) from Aqueous Solution, *Talanta*, 71: 1487-1493.

Martell A.E., and Hancock, R.D., 1996, *Metal Complexes in Aqueous Solution*, Plenum Press, New York.

Quintanilla, D.P., del Hierro, I., Fajardo, M., and Sierra I., 2006, 2-Mercaptothiazoline Modified Mesoporous Silica for Mercury Removal from Aqueous Media, 2006, *J. Hazard. Mater.*, B134: 245-256.

Schubert, U., and Husing, N., 2000, *Synthesis of Inorganic Materials*, Wiley-Vch Verlag GmbH, Weinheim.

Zhai, Y., Liu, Y., Chang, X., Ruan, X., and Liu, J., 2008, Metal Ion-Small Molecule Complex Imprinted Polymer Membrans : Preparation and Separation Characteristics, *Reactive & Functional Polymers* , 68 : 284-291.

Zhao, J., Han, B., Zhang, Y., and Wang, D., 2007, Synthesis of Zn(II) Ion-Imprinted Solid-phase Extraction Materials and Its Analytical Application, *Anal. Chim. Acta*, 603: 87-92.

ANALISIS VOLTAMMOGRAM SIKLIK SENYAWA KLORAMBUSIL PADA VARIASI DIAMETER ELEKTRODA KERJA MENGGUNAKAN PERANGKAT LUNAK POLAR 4.2

Hardoko Insan Qudus[1], Nurma Hayati[1], Ni Luh Gede Ratna J[1]
[1]Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung

ABSTRAK

Analisis voltammogram siklik senyawa klorambusil pada variasi diameter elektroda kerja menggunakan perangkat lunak Polar 4.2 telah dikaji untuk menentukan nilai konstanta laju reaksi kimia susulannya (k_f) dengan teliti. Senyawa klorambusil merupakan zat pengalkil yang bersifat anti kanker dan berpotensi karsinogenik sehingga memicu timbulnya kanker sekunder. Daya guna dan tingkat bahaya senyawa ini berkaitan dengan nilai konstanta laju reaksi kimia susulan majunya (k_f). Analisis voltammogram siklik senyawa klorambusil pada variasi diameter elektroda kerja (0,25 mm; 0,5 mm; 1,0 mm; dan 1,5 mm) dilakukan dengan cara membuat voltammogram siklik tiruannya menggunakan perangkat lunak Polar 4.2 pada kondisi parameter instrumental yaitu potensial awal 0,5 volt; potensial akhir 1,5 volt; temperatur : 21°C; dan konsentrasi klorambusil 5 mM dalam pelarut asonitril-tetrabutilamonium perklorat 0.1 M. Berdasarkan pada nilai acuan i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan $E_{pc,}$ maka dengan mengatur parameter k_s, α, E°, D, dan k_f pada isian submenu chemicals program didapat voltammogram siklik tiruan yang sesuai dengan voltammogram siklik acuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai k_f pada variasi diameter elektroda kerja adalah 0,25 mm (1,44/s); 0,5 mm (3,81/s); 1,0 mm (3,33/s); dan 1,5 mm (4,16/s). Uji statistika menunjukkan bahwa pada variasi diameter elektroda kerja (0,5 mm; 1,0 mm dan 1,5 mm) tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai $k_f$nya.

Keywords *: Voltammogram Siklik, Klorambusil, Elektroda, Perangkat lunak, Polar 4.2.*

PENDAHULUAN

Voltammogram siklik merupakan metode analisis kimia elektrometri, yang dewasa ini selain dapat digunakan untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif juga dapat digunakan untuk melakukan studi kinetika kimia khususnya mekanisme reaksi kimia yang terjadi pada permukaan elektroda kerja dan penentuan nilai konstanta laju reaksi kimianya (Gosser, 1993). Metode tersebut telah digunakan untuk membuat voltammogram siklik zat pengalkil pada berbagai variasi laju selusur potensial. Hasil analisis terhadap Voltammogram siklik zat pengalkil klorambusil menunjukkan adanya reaksi kimia susulan setelah terjadinya oksidasi. Hal tersebut didukung dengan tidak munculnya arus puncak katodiknya pada laju selusur potensial yang rendah. Reaksi kimia susulan yang teridentifikasi pada voltammogram sikliknya dapat dihitung nilai konstanta laju reaksi kimia susulannya dengan metode Nicholson-shain (Hardoko, 2006) atau metode simulasi digital menggunakan perangkat lunak (Hardoko, 2007).

Pada penelitian terdahulu, Mulia (2008) telah melakukan analisis terhadap voltammogram siklik klorambusil pada variasi diameter elektroda kerja dan didapatkan nilai laju reaksi kimia susulan maju (k_f) menggunakan perhitungan Nicholson-Shain yaitu untuk diameter : 0,25 mm (1,139/s); 0,5 mm (3,868/s); 1,0 mm (4, 017/s); dan 1,5 mm (0,502/s). Nilai konstanta laju reaksi kimia susulan maju (k_f) yang didapat, diasumsikan : (1) jenis

mekanisme reaksinya ErCi; (2) penentuan nilai banding arus puncak katodik (i_{pc}) yang dihitung merupakan tinggi puncak reduksi dengan acuan pada garis dasar (dengan nilai nol) dari proses terjadinya oksidasi; dan (3) pemakaian kurva kerja yang diekstrapolasikan.

Masalah yang timbul disebabkan oleh ketiga hal tersebut adalah bahwa nilai konstanta laju reaksi kimia susulan majunya (k_f) tidak teliti. Untuk itu, maka pada penelitian ini akan dikoreksi nilai reaksi kimia susulan maju (k_f) dengan cara membuat voltammogram siklik tiruannya menggunakan perangkat lunak Polar 4.2. Digunakannya perangkat lunak Polar 4.2 (Huang, 2000), karena mampu mengeliminir ketiga hal tersebut. Sehingga diharapkan diperoleh nilai konstanta laju reaksi kimia susulan maju (k_f) senyawa klorambusil pada variasi diameter elektroda kerja yang teliti.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat komputer yang dilengkapi dengan Program Polar 4.2 edisi trial (DrHuang Pty Ltd.) beserta printer.

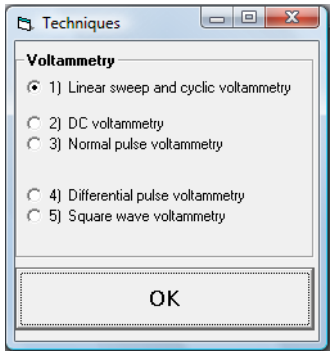
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah data *file* voltammogram siklik zat pengalkil klorambusil pada variasi diameter elektroda kerja 0,25 mm; 0,5 mm; 1 mm; dan 1,5 mm, konsentrasi klorambusil 5 mM dalam pelarut asetonitril-terabutilamonium perklorat 0,1 M, temperatur 21°C, potensial awal 0,5 V, potensial akhir 1,5 V serta dilakukan pembuatan voltammogram sikliknya pada setiap variasi laju selusur potensial 0,5 - 1,0 volt/s (Mulia, 2008).

Cara Kerja

1. Diaktifkan program Polar 4.2 pada komputer, dipilih menu *help*, dipilih submenu *logon*, dimasukkan *passworrd*, selanjutnya dipilih *ok*. Tampilan submenunya disajikan pada Gambar 1.

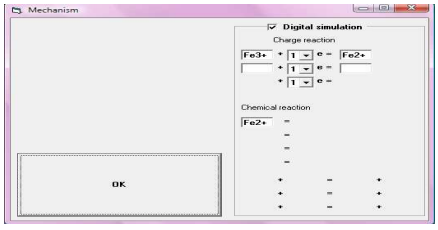
Gambar 1. Tampilan submenu *help* pada program Polar 4.2

2. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *techniques*, dipilh No.1 *linier sweep and cyclic voltammetry* dan dipilih *ok*. Tampilan submenunya disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Tampilan submenu *techniques* pada program Polar 4.2

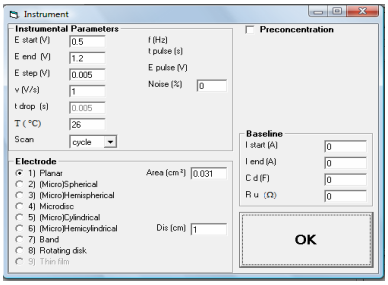
3. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *mechanism*, dipilih *digital simulation*, diketik Fe^{2+} dan dipilih *ok*. Tampilan Submenunya disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Tampilan submenu *mechanism* pada program Polar 4.2

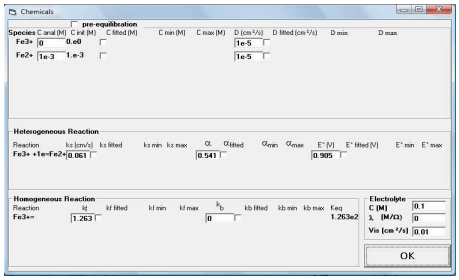
4. Dipilih menu *input*, dipilih *instrument*, dan pengisiian data dalam submenu ini disesuaikan dengan data pada kondisi eksperimen voltammogram siklik yang telah diperoleh, dan klik *ok*. Tampilan Submenunya disajikan pada Gambar 4.

5.



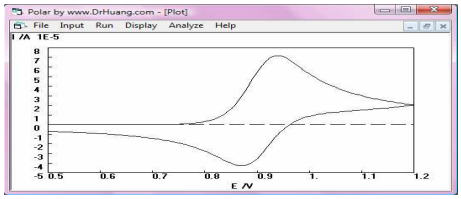
Gambar 4. Tampilan Submenu *instrument* pada program Polar 4.2

6. Dipilih menu *input*, dipilih submenu *chemical*, dan pengisian data dalam submenu ini disesuaikan dengan data pada kondisi eksperimen voltammogram siklik yang telah diperoleh. Nilai parameter k_s (konstanta laju transfer elektron heterogenus standar), α (koefisien transfer elektron), E°(potensial sel standar senyawa), D (koefisien difusi senyawa) dan k_f (konstanta laju reaksi kimia susulan maju) diisi dengan mengubah nilai-nilainya.Tampilan Submenunya disajikan pada Gambar 5.



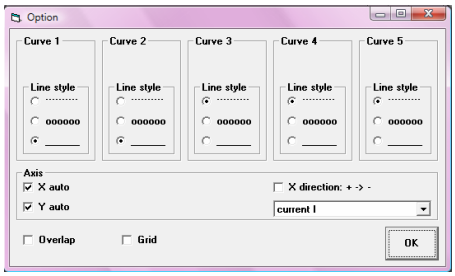
Gambar 5. Tampilan Submenu *chemical* pada program Polar 4.2

7. Dipilih menu *run*, dipilih *simulate* dan didapatkan grafik voltammo-gram siklik. Tampilan kurvanya disajikan pada Gambar 6.



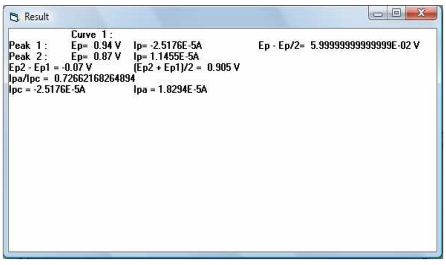
Gambar 6. Tampilan kurva voltammogram siklik tiruan

8. Dipilih menu *analysis*, dipilih submenu *y data*, dan pilih *–y*.
9. Dipilih menu *display*, dipilih submenu *option*, hilangkan tanda *check* pada *x direction* dihilangkan dengan memilihnya, dan pilih *ok*. Tampilan submenunya disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Tampilan Submenu *option* pada program Polar 4.2

10. Dipilih menu *analysis*, dipilih submenu *find peak*, diperoleh data nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} dari voltammogram sikliknya. Tampilan Submenu *result* disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Tampilan Submenu *result* pada program Polar 4.2

Nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} yang telah diperoleh dicatat dan dilakukan simulasi pada laju selusur potensial yang lain. Jika didapat keadaan pertama kali nilai i_{pa} simulasi > nilai i_{pa} acuan dan nilai i_{pc} simulasi > nilai i_{pc} acuan, maka nilai k_f diatur naik atau jika nilai i_{pa} simulasi < nilai i_{pc} acuan, maka nilai k_f diatur turun.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Voltammogram siklik tiruan senyawa klorambusil dibuat dengan simulasi menggunakan perangkat lunak Polar 4.2. Parameter pada submenu *chemical* diatur sedemikian rupa sehingga diperoleh voltammogram siklik tiruan dengan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} yang sama dengan hasil eksperimen (acuan). Hasil pencocokan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} disajikan pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4.

Tabel 1. Data pencocokan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} simulasi (sim) dengan acuan pada variasi laju selusur potensialnya yang divariasikan diameter elektroda kerja 0,25 mm.

v (volt/s)	i_{pc} sim (µA)	i_{pc} (µA)	i_{pa} sim (µA)	i_{pa} (µA)	E_{pc} sim (volt)	E_{pc} (volt)	E_{pa} sim (volt)	E_{pa} (volt)
0,5	3,70	3,70	8,81	8,81	0,855	0,853	0,985	0,986
0,6	3,96	3,96	9,67	9,67	0,850	0,849	0,985	0,986
0,7	4,71	4,71	11,0	11,0	0,845	0,844	1,005	1,003
0,8	4,89	4,89	11,5	11,5	0,845	0,844	1,005	1,007
0,9	5,30	5,30	11,9	11,9	0,840	0,841	1,010	1,011
1,0	5,71	5,71	12,5	12,5	0,825	0,827	1,005	1,007

Tabel 2. Data pencocokan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} simulasi (sim) dengan acuan pada variasi laju selusur potensialnya yang divariasikan diameter elektroda kerja 0,50 mm.

v (volt/s)	i_{pc} sim (µA)	i_{pc} (µA)	i_{pa} sim (µA)	i_{pa} (µA)	E_{pc} sim (volt)	E_{pc} (volt)	E_{pa} sim (volt)	E_{pa} (volt)
0,5	1,37	1,37	8,39	8,39	0,880	0,881	0,975	0,975
0,6	1,87	1,87	9,31	9,31	0,875	0,875	0,980	0,978
0,7	2,39	2,39	9,98	9,98	0,870	0,872	0,980	0,981
0,8	2,75	2,75	10,3	10,3	0,875	0,875	0,980	0,981
0,9	3,39	3,39	11,3	11,3	0,870	0,871	0,985	0,986
1,0	3,85	3,85	11,8	11,8	0,865	0,864	0,990	0,089

Tabel 3. Data pencocokan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} simulasi (sim) dengan acuan pada variasi laju selusur potensialnya yang divariasikan diameter elektroda kerja 1,0 mm.

v (volt/s)	i_{pc} sim (µA)	i_{pc} (µA)	i_{pa} sim (µA)	i_{pa} (µA)	E_{pc} sim (volt)	E_{pc} (volt)	E_{pa} sim (volt)	E_{pa} (volt)
0,5	8,93	8,93	46,7	46,7	0,880	0,881	0,975	0,975
0,6	11,4	11,4	50,8	50,8	0,880	0,881	0,975	0,975
0,7	14,6	14,6	55,2	55,2	0,870	0,872	0,980	0,978
0,8	16,9	16,9	58,9	58,9	0,875	0,875	0,980	0,980
0,9	19,8	19,8	62,3	62,3	0,880	0,878	0,985	0,984
1,0	22,4	22,4	64,7	64,7	0,875	0,875	0,985	0,984

Tabel 4. Data pencocokan nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} simulasi (sim) dengan acuan pada variasi laju selusur potensialnya yang divariasikan diameter elektroda kerja 1,50 mm.

v (volt/s)	i_{pc} sim (µA)	i_{pc} (µA)	i_{pa} sim (µA)	i_{pa} (µA)	E_{pc} sim (volt)	E_{pc} (volt)	E_{pa} sim (volt)	E_{pa} (volt)
0,5	12,0	12,0	20,5	20,5	0,880	0,878	0,975	0,976
0,6	13,7	13,7	22,1	22,1	0,885	0,875	0,975	0,975
0,7	14,9	14,9	23,8	23,8	0,870	0,872	0,980	0,981
0,8	16,3	16,3	25,3	25,3	0,870	0,871	0,980	0,981
0,9	17,8	17,8	27,2	27,2	0,870	0,871	0,980	0,981
1,0	18,7	18,7	28,3	28,3	0,865	0,867	0,985	0,984

Sedangkan data parameter yang diisikan pada submenu *chemicals* Polar 4.2 yang dapat diubah-ubah untuk pencocokan adalah nilai v, k_s, α, D, E°, dan k_f. Parameter hasil simulasinya disajikan pada Tabel 5, Tabel 6, Tabel 7, dan Tabel 8.

Tabel 5. Data parameter nilai k_s, α, D, E°, dan k_f pada variasi laju selusur potensialnya dengan variasi diameter elektroda kerja 0,25 mm.

v (volt/s)	ks x 10^{-2} (cm/s)	α	D x 10^{-4} (cm^2/s)	E° (volt)	k_f (1/s)
0,5	2,308	0,0018	6,989	0,9250	2,669
0,6	3,728	0,0595	6,989	0,9275	3,103
0,7	5,448	0,1239	6,989	0,9250	3,586
0,8	7,248	0,1729	6,989	0,9275	4,127
0,9	8,148	0,2569	6,989	0,9275	4,509
1,0	7,808	0,3369	6,989	0,9275	4,899

Tabel 6. Data parameter nilai k_s, α, D, E°, dan k_f pada variasi laju selusur potensialnya dengan variasi diameter elektroda kerja 0,50 mm.

v (volt/s)	ks x 10^{-2} (cm/s)	α	D x 10^{-4} (cm^2/s)	E° (volt)	k_f (1/s)
0,5	2,308	0,0018	6,989	0,9250	2,669
0,6	3,728	0,0595	6,989	0,9275	3,103
0,7	5,448	0,1239	6,989	0,9250	3,586
0,8	7,248	0,1729	6,989	0,9275	4,127
0,9	8,148	0,2569	6,989	0,9275	4,509
1,0	7,808	0,3369	6,989	0,9275	4,899

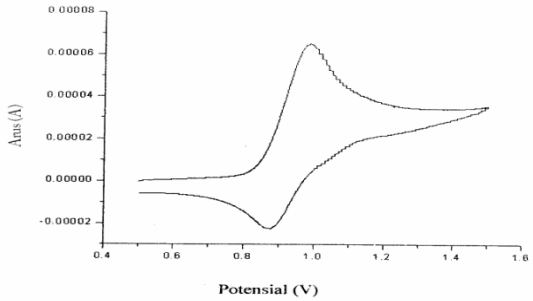
Tabel 7. Data parameter nilai k_s, α, D, E°, dan k_f pada variasi laju selusur potensialnya dengan variasi diameter elektroda kerja 1,0 mm.

v (volt/s)	ks x 10^{-2} (cm/s)	α	D x 10^{-4} (cm^2/s)	E° (volt)	k_f (1/s)
0,5	3,111	0,0130	6,989	0,9275	2,311
0,6	4,976	0,0468	6,989	0,9275	2,756
0,7	7,499	0,1080	6,989	0,9250	3,186
0,8	8,003	0,1731	6,989	0,9275	3,562
0,9	8,993	0,2441	6,989	0,9325	3,901
1,0	9,093	0,3301	6,989	0,9300	4,288

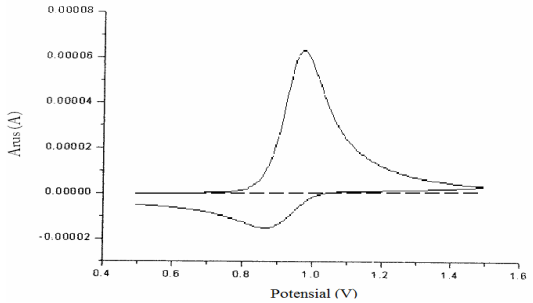
Tabel 8. Data parameter nilai k_s, α, D, E°, dan k_f pada variasi laju selusur potensialnya dengan variasi diameter elektroda kerja 1,50 mm.

v (volt/s)	ks x 10^{-2} (cm/s)	α	D x 10^{-4} (cm^2/s)	E° (volt)	k_f (1/s)
0,5	2,639	0,8701	6,989	0,9275	2,876
0,6	2,529	0,8699	6,969	0,9250	3,364
0,7	2,535	0,8599	6,969	0,9250	3,899
0,8	2,630	0,8599	6,969	0,9250	4,431
0,9	2,661	0,8489	6,969	0,9250	4,931
1,0	2,688	0,8389	6,969	0,9250	5,461

Salah satu contoh pembandingan antara voltammogram siklik tiruan dengan voltammogram siklik acuan disajikan pada Gambar 9 dan Gambar 10.



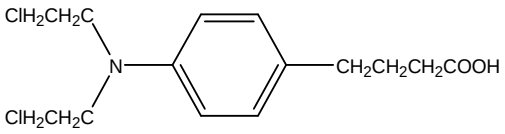
Gambar 9. Voltammogram siklik acuan senyawa klorambusil pada diameter elektroda 1,0 mm dan v = 1 volt/s



Gambar 10. Voltammogram siklik tiruan senyawa klorambusil pada diameter elektroda 1,0 mm dan v = 1 volt/s

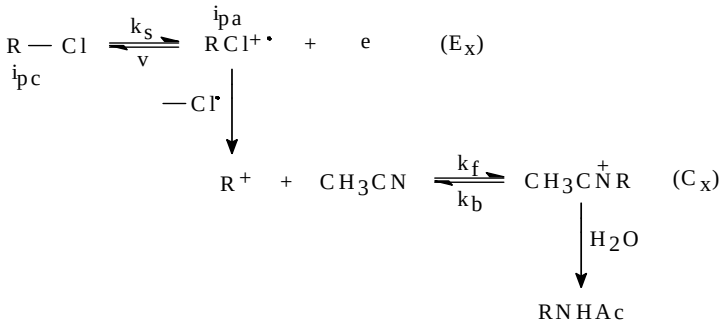
PEMBAHASAN

Tegangan dengan potensial yang menaik (oksidasi) diberikan pada senyawa klorambusil (RCl), maka akan menyebabkan senyawa klorambusil (Gambar 11) mengalami oksidasi pada gugus halidanya dengan nilai potensial elektroda standarnya (E^o = 0,925 V).



Gambar 11. Struktur kimia senyawa klorambusil (Connors dkk., 1992)

Sehingga arus puncak anodik (i_{pa}) yang terjadi dapat diukur. Senyawa klorambusil teroksidasi membentuk zat antara yang reaktif, yaitu radikal karbokation. Zat antara yang terbentuk dengan nukleofil pelarut (asetonitril) akan bereaksi secara kimia membentuk produk. Pada saat yang sama laju selusur potensial yang menurun (reduksi) mengubah karbokation menjadi zat asalnya dengan munculnya arus puncak katodik (i_{pc}) pada sekitar nilai potensial elektroda standarnya (E^o = 0,925 V). Dengan terjadinya reaksi kimia susulan, maka terjadi kompetisi antara reaksi kimia susulan pada laju selusur potensial menurun yang divariasikan. Sehingga pada suatu saat nilai arus puncak katodik akan mendekati sama dengan arus puncak anodiknya. Jenis mekanisme reaksi yang terjadi pada permukaan elektroda kerja ini disebut dengan jenis mekanisme yang mengikuti ExCx (E : Elektrokimia; C: Chemical). Keadaan x pada E dikarakterisasi menggunakan nilai ks yang berhubungan dengan laju selusur potensialnya (Gosser, 1993), sedangkan x pada C dikarakterisasi menggunakan hubungan nilai ipc/ipa pada variasi laju selusur potensialnya pula (Mabbot, 1983). Kejadian tersebut secara menyeluruh disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Reaksi elektrokimia (E) zat pengalkil yang diikuti oleh reaksi kimia (C) susulan (Hardoko dkk, 2000).

Perangkat lunak Polar 4.2 mencocokkan voltammogram siklik tiruan dengan voltammogram siklik acuan, sehingga didapatkan nilai nilai i_{pa}, i_{pc}, E_{pa} dan E_{pc} yang sama. Pada keadaan tersebut nilai konstanta laju reaksi kimia susulan majunya (k_f) secara otomatis langsung terhitung. Nilai konstanta laju reaksi kimia susulan majunya (k_f) pada variasi laju selusur potensialnya dapat dilihat pada Tabel 5, Tabel 6, Tabel 7, dan Tabel 8. Sedangkan nilai konstanta laju reaksi kimia susulan maju pada variasi diameter elektroda kerjanya disajikan pada Tabel 9.

Berdasarkan pada Tabel 9, maka terlihat bahwa nilai k_f yang didapat dengan metode Nicholson-Shain dapat dikoreksi dengan nilai k_f menggunakan metode perangkat lunak Polar 4.2 dengan hasil yang lebih teliti. Hasil yang teliti ini didukung pula dengan jenis

mekanisme reaksi E_qC_i yang sebenarnya. Jenis mekanisme reaksi Ex tersebut ditentukan berdasarkan nilai ksnya seperti yang tercantum pada Tabel 5, Tabel 6, Tabel 7, dan Tabel 8 dengan syarat reversibilitas pada setiap laju selusur potensialnya (v) : q = kuasi-reversibel (ks > 2,5 x $10^{\square}$ $v^{i\square}$cm/s); r = reversibel (ks > 0,3$v^{i\square}$cm/s). Pada uji statistika anova (Miller dan Miller, 1991) yang dilanjutkan dengan sbt (selisih berarti terkecil) menggunakan data nilai k_f Polar 4.2 yang tercantum pada Tabel 9, maka dapat dinyatakan bahwa pada variasi diameter elektroda kerja 0,50; 1,00; dan 1,50 mm tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada nilai $k_f$nya.

Tabel 9. Data nilai konstanta laju reaksi kimia susulan maju (k_f) pada variasi diameter elektroda kerja.

Diameter Elektroda Kerja	k_fNicholson-Shain (Mulia, 2008) Asumsi : E_rC_i	k_f Polar 4.2 Nyata : E_qC_i
0,25 mm	1,139	1,44 ± 0,32
0,50 mm	3,868	3,81 ± 0,85
1,00 mm	4,017	3,33 ± 0,73
1,50 mm	0,502	4,16 ± 0,76

Berdasarkan pada Tabel 9, maka terlihat bahwa nilai k_f yang didapat dengan metode Nicholson-Shain dapat dikoreksi dengan nilai k_f menggunakan metode perangkat lunak Polar 4.2 dengan hasil yang lebih teliti. Hasil yang teliti ini didukung pula dengan jenis mekanisme reaksi E_qC_i yang sebenarnya. Jenis mekanisme reaksi Ex tersebut ditentukan berdasarkan nilai ksnya seperti yang tercantum pada Tabel 5, Tabel 6, Tabel 7, dan Tabel 8 dengan syarat reversibilitas pada setiap laju selusur potensialnya (v) : q = kuasi-reversibel (ks > 2,5 x $10^{\square}$ $v^{i\square}$cm/s); r = reversibel (ks > 0,3$v^{i\square}$cm/s). Pada uji statistika anova (Miller dan Miller, 1991) yang dilanjutkan dengan sbt (selisih berarti terkecil) menggunakan data nilai k_f Polar 4.2 yang tercantum pada Tabel 9, maka dapat dinyatakan bahwa pada variasi diameter elektroda kerja 0,50; 1,00; dan 1,50 mm tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada nilai $k_f$nya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pada pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai konstanta laju reaksi kimia susulan maju (k_f) senyawa klorambusil pada variasi diameter elektroda kerjanya menggunakan metoda Polar 4.2 adalah 0,25 mm (1,44/s), 0,50 mm (3,81/s), 1,00 mm (3,33/s), dan 1,50 mm (4,16/s).
2. Uji statistika menunjukkan bahwa pada variasi diameter elektroda kerja (0,5 mm; 1,0 mm dan 1,5 mm) tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai $k_f$nya.

DAFTAR PUSTAKA

Connors, A.K. Gordon, L.A. Valentino, J.S. 1992. *Stabilitas Kimia Sediaan Farmasi*. Jilid 2. Edisi Kedua. Penerjemah Drs. Didik Gunawan. IKIP semarang Press. Semarang. 410-415.

Gosser, D.K. 1993. *CyclicVoltammetry : Simulation and Analysis of Reaction Mechanism*. Wiley-VCH Inc. New York. 1-154.

Hardoko, I.Q., Kosasih, S., Kurnia, F, Buchari, 2000, *Kajian Reaktivitas Kimiawi Klorambusil, Melfalan, dan Uramustin yang Digunakan pada Kemoterapi Kanker dengan Metode Voltammetri Siklik*, Prosiding Seminar MIPA 2000, FMIPA-ITB, Bandung. 438 – 450.

Hardoko, I.Q. 2006. *Voltammogram Siklik.* Seri Monograf. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung. 1 – 13.

Hardoko, I.Q. 2007. *Analisis Voltammogram Siklik Zat Pengalkil Anti Kanker yang Mengikuti Mekanisme Reaksi EC Menggunakan Perangkat Lunak Polar 3.3*. Seri Monograf. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Huang, W. (2000), *Polar 4.2 for Windows : Electrochemical Simulation and Data Analysis*, DrHuang Pty Ltd., Sydney, 1-12.

Mabbott, G.A. (1983). An Introduction to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Ed.*, **60**, 9, 697-702

Miller, J.C dan J.N Miller. 1991. *Statistika untuk Kimia Analitik*. Penerjemah Suroso. ITB. Bandung.

Mulia, S. 2008. *Analisis Voltammogram Siklik senyawa klorambusil Pada Variasi Diameter Elektroda Kerja* (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.