

# Biofarmasi

**Journal of Natural Products Biochemistry**

**VOLUME 4  
NOMOR 1  
PEBRUARI 2006  
ISSN: 1693-2242**

**PENERBIT:**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

**ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:**

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126  
Tel. & Fax. +62-271-663375  
E-mail: unsjournals@yahoo.com  
Online: www.unsjournals.com

**TERBIT PERTAMA TAHUN:**

2003

**ISSN:**

1693-2242

**PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:**

S u t a r n o

**SEKRETARIS REDAKSI:**

Ahmad Dwi Setyawan

**PENYUNTING PELAKSANA:**

Djoko Santoso  
Ratna Setyaningsih  
Solichatun  
Suratman  
Soerya Dewi Marliana  
Tetri Widiyani  
Venty Suryanti

**PENYUNTING AHLI:**

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang  
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung  
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor  
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta  
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

***Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry***

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

## Potensi Minyak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai Repelen terhadap Nyamuk *Culex quinquefasciatus* L.

### *Possibility of Acorus calamus* L. rhizome oil as repellent against *Culex quinquefasciatus* L. mosquito

CR. SRI UTARI\*, T. WIDYARINI, SUTARMIADJI D., RUBEN DHARMAWAN, DARUKUTNI

Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: editor@unsjournals.com

Diterima: 3 Januari 2006. Disetujui: 27 Pebruari 2006

**Abstract.** *Culex quinquefasciatus* L. is a vector mosquito for bancroftian filariasis in an urban area. One way to prevent the mosquito bites is the use of repellents. The study aims to reveal the potency of *Acorus calamus* rhizome oil as a repellent against *Cx. quinquefasciatus*. Experimental 90 mosquitoes were divided into three groups and two groups were treated with different repellents. One group was treated with sari puspa and another group with Calamus rhizome oil. The fluid group was the control group. Each group was treated four times. ANOVA test gave F test > F table, and t test ( $\alpha = 5\%$ ) showed that t test > t table. This statistic test supported a conclusion that Calamus rhizome oil (*Acorus calamus* L.) was a potential repellent against *Cx. quinquefasciatus*.

**Key words:** Calamus rhizome oil, repellent, *Culex quinquefasciatus*.

## PENDAHULUAN

*Culex quinquefasciatus* L. adalah spesies nyamuk yang merupakan vektor utama penyakit filariasis bancrofti di daerah urban (perkotaan). Nyamuk ini dapat berkembang biak pada kondisi apapun, sehingga populasinya tidak dapat ditekan secara sempurna. Di samping itu, kemampuannya sebagai vektor filariasis (derajat infeksi alami yang tinggi, sifat antropofilik, umur nyamuk yang panjang, kepadatan populasi yang tinggi dan mudahnya menggunakan sembarang tempat yang mengandung air sebagai tempat perindukan), ikut membantu penyebarluasan penyakit filariasis dan timbulnya daerah-daerah endemis filariasis (WHO, 1992; 1996). Menurut Soedarmo (2002), daerah endemis filariasis di Indonesia adalah Semarang dan Jakarta.

Penyakit filariasis bancrofti sendiri adalah penyakit infeksi oleh cacing filaria *Wuchereria bancrofti*. Penyakit ini tersebar luas baik di daerah tropis maupun subtropis, termasuk Indonesia. Infeksi ditandai oleh adanya episode demam, limfangitis tungkai, nyeri kepala, mialgia dan seringkali meninggalkan sisa gejala patologi dengan adanya manifestasi kronis berupa hidrokelen dan elefantiasis (WHO, 1989; Nelson, 1996; Sjaefoellah, 1996). Penyakit ini banyak menginfeksi laki-laki dewasa muda (usia produktif), sehingga dapat menimbulkan permasalahan sosial dengan adanya penurunan produktivitas kerja pada penderita (WHO, 1992). Oleh karena itu perlu dilakukan tindakan pengendalian terhadap penyakit tersebut.

Pengendalian filariasis bancrofti dengan mencegah gigitan nyamuk vektor menggunakan repelen merupakan metode yang tepat digunakan terhadap *Cx. quinquefasciatus* (Bellohertown, 2000), sebab nyamuk tersebut dapat berkembang biak pada setiap kondisi sehingga populasinya tidak dapat ditekan dengan sempurna (WHO, 1992). Saat ini penggunaan repelen kimia yang sudah beredar (yang mengandung DEET) ternyata menambah masalah baru karena menimbulkan efek iritasi pada kulit, terutama pada anak-anak dan bayi, sehingga masih perlu dipertimbangkan lagi penggunaannya (Bellohertown, 2000). Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mencari repelen alternatif sebagai pengganti DEET yang lebih aman dan efektif.

Sebagai repelen alternatif dalam penelitian ini digunakan rimpang tumbuhan liar jeringau (*Acorus calamus* L.) yang dikenal dengan nama jeringau. Menurut Kardinan (2000) dan Trevor (1995), apabila rimpang dari jeringau tersebut dibuat minyak dapat bermanfaat sebagai repelen. Di samping itu, rimpang jeringau telah digunakan untuk membasmi kutu tanaman di Tiongkok dan India, untuk membasmi rayap di Malaysia dan mengusir walangsangit di Filipina (Kardinan, 2000). Sedang Manik (2003) telah membuktikan bahwa ekstrak rimpang *A. calamus* dengan menggunakan pelarut methanol, heksana maupun eter, pada konsentrasi 5% memberikan efek repelen kuat terhadap *Periplaneta americana*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa minyak rimpang jeringau (*A. calamus*) juga dapat digunakan (berpotensi) sebagai repelen dan

mengetahui daya proteksinya dibandingkan dengan DEET terhadap nyamuk *Cx. quinquefasciatus*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif pilihan tentang penggunaan minyak rimpang jeringau sebagai repelen yang aman dan efektif.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Nopember-Desember 2002, di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen kuasi. Obyek penelitian adalah nyamuk *Cx. quinquefasciatus* betina umur 3-5 hari hasil kolonisasi dari Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit (BPVRP) Salatiga. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling* dan rancangan penelitiannya adalah rancangan eksperimental seri ganda/rangkaian berkala dengan pembandingan (Watik, 1993; Murti, 1997; Nasution, 1996). Sembilan puluh ekor nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dilaparkan lalu dimasukkan ke dalam 3 kandang, masing-masing 30 ekor. Tiga ekor marmot dicukur habis bulunya, marmot pertama tidak diolesi apa-apa, marmot kedua diolesi repelen DEET (merk dagang sari puspa) dan marmot ketiga diolesi minyak rimpang jeringau. Masing-masing marmot selanjutnya dimasukkan ke dalam kandang yang sudah berisi 30 ekor nyamuk. Kemudian dihitung nyamuk yang *blood fed* selama 5 menit setiap 60 menit mulai menit ke 0 sampai dengan ke 360. Data yang diperoleh dibuat tabel, selanjutnya dianalisis dengan uji Anava dua arah dan uji t-test.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dihitung jumlah nyamuk yang *blood fed* pada menit ke 60 sampai dengan menit ke 360 dari ketiga perlakuan (sari puspa, minyak rimpang jeringau, dan kontrol), masing-masing mengalami peningkatan (Tabel 1 dan 2). Hal ini menunjukkan bahwa baik sari puspa maupun minyak rimpang jeringau efek repelennya semakin berkurang dengan bertambahnya waktu, sehingga jumlah nyamuk yang menghisap darah semakin banyak. Tetapi pada kelompok kontrol hingga menit yang ke 360 ternyata ada satu sampai tiga nyamuk yang tidak mau menghisap darah marmot. Kemungkinan karena nyamuk tersebut sulit beradaptasi dengan suhu atau kelembaban di dalam laboratorium parasit FK UNS yang berbeda dengan di BPVRP.

Pada kelompok sari puspa efek proteksinya terlihat lebih kuat dibandingkan minyak rimpang jeringau, tampak pada menit ke 60 sampai dengan menit ke 360 jumlah rata-rata nyamuk yang menghisap darah lebih banyak pada minyak rimpang jeringau. Hal ini mungkin disebabkan tidak adanya zat tambahan pada minyak rimpang

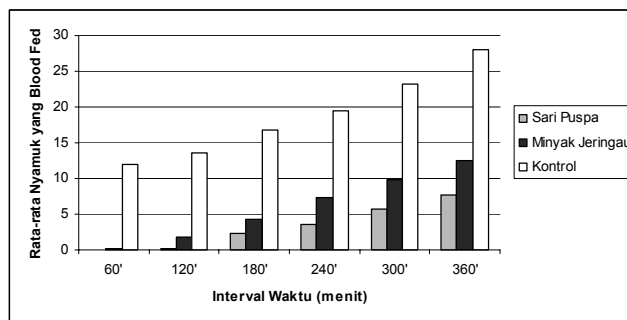
jeringau sehingga lebih mudah menguap dibandingkan sari puspa.

**Tabel 1.** Jumlah nyamuk yang *blood fed* pada setiap kelompok percobaan.

| Kelompok repelen        | Ulangan perlakuan | Interval waktu (Menit) |     |     |     |     |     | Jumlah |
|-------------------------|-------------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|                         |                   | 60                     | 120 | 180 | 240 | 300 | 360 |        |
| sari puspa              | I                 | 0                      | 0   | 4   | 5   | 7   | 8   |        |
|                         | II                | 0                      | 1   | 2   | 3   | 5   | 8   |        |
|                         | III               | 0                      | 0   | 2   | 4   | 6   | 9   |        |
|                         | IV                | 0                      | 0   | 1   | 2   | 5   | 6   |        |
|                         | Σ                 | 0                      | 1   | 9   | 14  | 23  | 31  | 78     |
| Minyak rimpang jeringau | I                 | 0                      | 2   | 5   | 6   | 10  | 15  |        |
|                         | II                | 0                      | 1   | 3   | 7   | 9   | 12  |        |
|                         | III               | 0                      | 1   | 4   | 6   | 9   | 10  |        |
|                         | IV                | 1                      | 3   | 5   | 10  | 11  | 13  |        |
|                         | Σ                 | 1                      | 7   | 17  | 29  | 39  | 50  | 143    |
| Kontrol                 | I                 | 10                     | 11  | 16  | 18  | 22  | 27  |        |
|                         | II                | 14                     | 16  | 16  | 21  | 25  | 28  |        |
|                         | III               | 13                     | 14  | 17  | 19  | 24  | 28  |        |
|                         | IV                | 11                     | 13  | 18  | 20  | 22  | 29  |        |
|                         | Σ                 | 48                     | 54  | 67  | 78  | 93  | 112 | 452    |
| Σ total                 |                   | 49                     | 62  | 93  | 121 | 155 | 193 | 673    |

**Tabel 2.** Jumlah rata-rata nyamuk yang *blood fed*.

| Repelen                 | Waktu pengamatan (menit) |       |       |      |       |       |
|-------------------------|--------------------------|-------|-------|------|-------|-------|
|                         | 60                       | 120   | 180   | 240  | 300   | 360   |
| sari puspa              | 0,00                     | 0,25  | 2,25  | 3,50 | 5,75  | 7,75  |
| Minyak rimpang jeringau | 0,25                     | 1,75  | 4,25  | 7,25 | 9,75  | 12,50 |
| Kontrol                 | 12,00                    | 13,50 | 16,75 | 19,5 | 23,25 | 28,00 |



**Gambar 1.** Jumlah rata-rata nyamuk yang menghisap darah.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Indriawan (2000) dan juga Pratiwi (2002) memang berbeda, efek proteksi sari puspa pada penelitian ini dapat bertahan 60 sampai 120 menit, jadi lebih lama pada penelitian kedua penelitian tersebut. Hal ini mungkin karena perbedaan jumlah pemakaian DEET yang dioleskan pada marmot, pada penelitian ini hanya digunakan 2,5 mL sedang pada kedua penelitian tersebut 5 mL. Untuk itu pada penelitian yang akan datang jumlah DEET yang digunakan mungkin perlu ditingkatkan. Demikian juga agar efek proteksi minyak rimpang jeringau dapat bertahan lebih lama (lebih efektif), maka jumlah minyak yang dioleskan mungkin juga perlu ditingkatkan, yaitu sama

dengan pembandingnya 5 mL. Ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Manik (2003) terhadap *Periplaneta americana*, di mana ekstrak *A. calamus* memberikan efek repelen kuat pada konsentrasi 5%.

**Tabel 3.** Hasil uji statistik Anava.

| SumberVariasi                    | dK | jK      | RK       | F      |
|----------------------------------|----|---------|----------|--------|
| Repelen (A)                      | 2  | 3327,53 | 16663,76 | 995,49 |
| Interval waktu (B)               | 5  | 1276,74 | 255,35   | 152,78 |
| Interaksi(AxB)                   | 10 | 93,81   | 9,38     | 5,61   |
| Sesatan                          | 54 | 90,25   | 1,67     |        |
| Total                            | 71 | 4788,32 |          |        |
| F <sub>0,05</sub> (10,54) = 2,01 |    |         |          |        |

**Tabel 4.** Hasil uji statistik t.

| Repelen                    | dK | {t hitung} | t tabel |
|----------------------------|----|------------|---------|
| Minyak jeringau-sari puspa | 46 | 2,43       | 2,013   |
| Kontrol-Minyak jeringau    | 46 | 11,70      | 2,013   |
| Kontrol-sari puspa         | 46 | 8,54       | 2,013   |

Hasil uji anava dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 5\%$ ) didapatkan F hitung (=5,6) lebih besar daripada F tabel (=2,01) (lihat tabel 3). Dengan demikian terdapat pengaruh yang signifikan antara kedua faktor (repelen dan interval waktu) dan satu faktor interaksi (repelen x interval waktu) terhadap nyamuk yang *blood fed*. Sedangkan pada analisa statistik dengan uji t (tabel 4) antara sari puspa-minyak jeringau, didapatkan t hitung (=2,43) > t tabel (=2,013) dengan  $\alpha = 5\%$ . Hal ini menunjukkan ada perbedaan bermakna antara kedua jenis repelen tersebut. Demikian pula antara sari puspa-kontrol dan minyak rimpang jeringau-kontrol, juga ada perbedaan bermakna. Dengan melihat hasil penelitian tersebut diatas, dan setelah dianalisa dengan uji anava dan uji t, maka dapat disimpulkan bahwa minyak rimpang jeringau berpotensi sebagai repelen terhadap nyamuk *Cx. quinquefasciatus*. Meskipun dalam penelitian ini lama proteksi minyak tersebut lebih rendah dibandingkan sari puspa, tetapi lebih alami dan lebih aman digunakan. Untuk itu mungkin juga perlu dilakukan penelitian potensi minyak rimpang jeringau ini sebagai repelen terhadap nyamuk vektor penyakit lainnya, misalnya vektor demam

berdarah ataupun malaria, sehingga dapat menunjang pengendalian vektor penyakit tersebut.

## KESIMPULAN

Setelah melihat hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa minyak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) berpotensi sebagai repelen terhadap nyamuk *Culex quinquefasciatus* yang merupakan vektor filariasis bancrofti.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bellohertown. 2000. *WNV Fact sheet with refernces*. [www.beloherstown.org/departement/west Nile Virus encephalitis.Htm](http://www.beloherstown.org/departement/west%20Nile%20Virus/encephalitis.Htm).15k
- Indriawan, R. 2000. *Perbandingan Lama Proteksi Minyak Kayu Putih dan Preparat DEET sebagai Repelen terhadap Nyamuk Aedes aegypti*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Kardinan, A. 2000. *Pestisida nabati: Ramuan dan Aplikasinya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Manik, S.M. 2003. *Repelensi Beberapa Ekstrak Tanaman terhadap Periplaneta americana* L. (Dyctioptera: Blattidae). Bogor: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Murti, B. 1997. *Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Nasution, S. 1996. *Metode Research (Penelitian Ilmiah)*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Nelson. 1996. *Ilmu Kesehatan Anak*. Volume 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pratiwi, K.E. 2002. *Pemanfaatan Ekstrak Bunga Melati (Jasminum sambac) sebagai Repelen terhadap Nyamuk Culex quinquefasciatus*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Soedarmo. 2002. *Buku Ajar IKA*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Trevor, R. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB..
- Watik, A. 1993. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada
- WHO. 1989. *Lymphatic Filariasis: the Disease and Its Control*. Geneva: WHO.
- WHO. 1992. *Lymphatic Filariasis: Geographical Distribution of Arthropod-Borne Disease and Their Principal Vector..* Geneva: WHO.
- WHO. 1996. *Operational Manual of the Application of Insecticides for Control of the Mosquito Vectors of Malaria and Other Disease*. Geneva: WHO.

## Pengaruh Variasi Metode Pengeringan terhadap Kadar Saponin, Angka Lempeng Total (ALT), dan Bakteri Patogen Ekstrak Simplisia Daun Turi (*Sesbania grandiflora*(L.) Pers.)

**The effect of drying methods variation on saponin content, total plate count, and pathogen bacteria of simplisia of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. leaf extract**

**NOOR AFIFAH RACHMAWATI, SURANTO\*, SOLICHA TUN**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 11 Nopember 2005. Disetujui: 5 Januari 2006

**Abstract.** The purposes of this research were to study the effect of drying methods variation on saponin content, total plate count, and pathogen bacteria of simplisia of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. leaf extract. The research was conducted by using Completely Random Design with the single factor and three replications. The treatment consisted of four treatments: without drying sample (as control) (P0), direct sunray drying (P1), indirect sunray (under shade place) drying (P2), and vacuum drying oven at temperature 45°C (P3). The observed parameters were: saponin content, total plate count, and pathogen bacteria. The data were analyzed using Analysis of Variants (ANOVA) and continued with the Duncan's Multiple Range Test (DMRT) on the 5% level. The result of research showed that drying method with vacuum drying oven at temperature 45°C to simplisia of *S. grandiflora* leaf produce the highest saponin contents due to 16.38 mg/mL. Dried method with indirect sunray (under shade place) and with direct sunray produce lower saponin contents are 16.24 mg/mL and 10.58 mg/mL. Dried method with vacuum drying oven at temperature 45°C to simplisia of *S. grandiflora* leaf could suppress microbial growth and produce the lowest bacteria total plate count due to  $7.9 \cdot 10^4$  colony/g. Dried method with direct sunray and with indirect sunray (under shaded place) produce bacteria total plate count is  $1.57 \cdot 10^5$  colony/g and  $1.88 \cdot 10^5$  colony/g. This third drying method showed pathogen bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* are negative (-).

**Key words:** *Sesbania grandiflora* (L.) Pers., drying methode, simplisia, saponin, total plate count.

### PENDAHULUAN

Pemakaian tanaman obat dalam satu dekade terakhir ini cenderung meningkat sejalan dengan berkembangnya industri jamu atau obat tradisional, farmasi, kosmetik, makanan, dan minuman. Tanaman obat yang digunakan biasanya dalam bentuk *simplisia* (bahan tumbuhan yang belum mengalami pengolahan apapun dan umumnya berupa bahan yang dikeringkan). *Simplisia* yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan akan kesehatan (mengobati berbagai jenis penyakit) berasal dari akar, daun, bunga, biji, buah, batang, dan kulit batang (Atjung, 1982).

Salah satu jenis tanaman yang dimanfaatkan sebagai *simplisia* adalah *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. (turi). Tanaman ini termasuk dalam famili Papilionaceae (Leguminosae), yang bagian-bagiannya (misalnya daun) diketahui mengandung senyawa aktif yang berkhasiat dan dapat digunakan sebagai obat tradisional. Daun *S. grandiflora* mengandung senyawa saponin, tanin, glikosida, peroksidase, flavonoid, polifenol, serta vitamin A dan B (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; BPPT, 2002). Daun *S. grandiflora* dapat digunakan untuk

pengobatan penyakit-penyakit tertentu, antara lain: batuk, keputihan, nifas, sakit kepala, cuci mulut dan kerongkongan, kuku lepas (obat luar), lebam (obat luar), dan sariawan (obat kumur) (Soedibyo, 1998). Selain itu, daun turi juga dimanfaatkan untuk dikonsumsi sebagai sayuran segar atau lalab oleh masyarakat terutama di pulau Jawa karena berkhasiat menambah produksi ASI (air susu ibu) bagi ibu-ibu yang sedang menyusui (Heyne, 1987). Penelitian tentang senyawa aktif yang berasal dari tanaman ini belum banyak dilakukan.

Senyawa aktif yang terdapat di dalam suatu tumbuhan dikenal sebagai metabolit sekunder. Menurut Herbert (1995) beberapa produk metabolit sekunder merupakan bahan obat yang berguna, salah satunya adalah saponin. Saponin adalah glikosida yang terdapat dalam daun *S. grandiflora*. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis darah (Harborne, 1987). Senyawa ini mempunyai khasiat sebagai antiseptik sehingga dapat digunakan sebagai anti radang karena dapat mengeluarkan cairan seperti buih detergen (Sumastuti, 1999). Sebagai obat fitofarmaka mutu tanaman

ditentukan oleh kandungan senyawa aktifnya, semakin tinggi kandungan bahan kimia yang berfungsi sebagai obat maka akan meningkatkan mutu tanaman tersebut (Kartasapoetra, 1992).

Metabolit sekunder sangat menentukan khasiat tanaman obat yang banyak dipengaruhi oleh lokasi tumbuh, perlakuan pra dan pasca panen. Pasca panen merupakan suatu tahap pengolahan dari bahan-bahan obat yang telah dipanen. Secara umum, kegiatan pasca panen tanaman obat meliputi sortasi, pembersihan, pengecilan ukuran, pengeringan, dan penyimpanan. Tingkat pengolahan yang perlu mendapat perhatian adalah tahap pengeringan. Kegiatan ini harus dilakukan secara tepat karena akan berpengaruh terhadap mutu dan zat berkhasiat yang terkandung di dalamnya (Syukur dan Hernani, 2001).

Pada saat pemanenan/pemetikan, daun *S. grandiflora* umumnya mengandung mikrobia dalam jumlah sangat banyak, sejak masih sebagai simplisia (bahan baku jamu), kemudian diolah dan disiapkan sebagai bahan jamu siap pakai. Banyak usaha ditujukan untuk menekan, mengurangi, atau menghilangkan sama sekali kehadiran mikrobia pada simplisia yang tergolong patogen dan penghasil racun pada manusia. Menurut Syukur dan Hernani (2001) hal tersebut sangat menentukan mutu akhir dari simplisia.

Mikrobia yang terdapat pada simplisia dapat dikendalikan dengan cara ditiadakan atau dihindari dari suatu lingkungan, salah satunya dengan menggunakan sarana dan metode fisik, yaitu pengeringan. Pemilihan metode ini tergantung pada keadaan yang mensyaratkan matinya mikrobia atau hanya terhambat pertumbuhannya, serta pengaruhnya terhadap mutu dan kandungan bahan yang dikenai perlakuan (Pelczar dan Chan, 1988). Pengeringan merupakan tahapan yang penting diperhatikan dalam upaya penyediaan simplisia yang memenuhi syarat. Menurut Risfaheri dkk. (1995) proses pengeringan bertujuan untuk menekan volume dan berat bahan serta memperpanjang daya simpannya sehingga memudahkan penanganan dan proses selanjutnya. Dengan menurunnya kandungan air di dalam bahan, maka mikrobia tidak dapat melakukan aktivitas hidupnya. Kesalahan dalam tahap pengeringan dapat menyebabkan kerusakan atau hilangnya sebagian komponen penting yang berkhasiat.

Dalam tahap pembuatan simplisia jamu atau obat tradisional, uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting, karena selain dapat menduga daya tahan simpannya, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi pangan atau indikator keamanan pangan (Fardiaz, 1993). Mikrobia yang sering digunakan sebagai indikator adalah bakteri *Escherichia coli*. Jika *E. coli* terdapat pada suatu sampel maka berarti pada sampel tersebut juga hidup bakteri patogen tertentu, misalnya *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Jumlah *E. coli* pada suatu sampel tertentu menunjukkan kuantitas dan kualitas dari bakteri patogen pada sampel (Cohn et al., 1999).

Penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh metode pengeringan terhadap kandungan saponin, Angka Lempeng Total (ALT), dan bakteri patogen pada simplisia daun *S. grandiflora* untuk mendapatkan kondisi dan metode pengeringan yang terbaik. Metode yang digunakan diharapkan memiliki kriteria *aman* (mencegah pencemaran produk dari unsur yang memberikan pengaruh kurang baik untuk kesehatan konsumen), *berkualitas* (produk terpelihara baik secara keseluruhan selama proses pengeringan sehingga layak untuk dikonsumsi), dan *efisien* (tidak memerlukan waktu yang lama dan tepat guna) (Holah, 1998).

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun *S. grandiflora* varietas merah, larutan peptone steril 0,1%, media *Nutrient Agar*, *Lactosa Broth* (LB III), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Endo Agar* (EA), *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Cetrimid Agar* (CA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), etanol 70%, saponin Sigma (larutan standar).

Alat yang digunakan adalah tambir/tampah bambu, *Vacuum Drying Oven* (*Constant Low Temperature & Humidity Chamber*) type Ogawa Seiki Co., LTD. Neraca analitik, blender kering, gelas ukur, tabung reaksi, tabung durham, erlenmeyer, oven/inkubator, cawan porselin, autoklaf, *shaker*, pembakar spiritus (bunsen), cawan petri, pipet volume, pipet tetes, sendok stainless, pinset, *stop watch*, *colony counter*, *hand tally*, bola hisap, spidol, jarum ose, aluminium foil, dan kertas label. Timbangan/neraca, botol, oven, dan desikator. Mortar, kertas saring, *hot plate*, *stirrer*, Spektrofotometer UV-Vis, dan kuvet.

### Cara kerja

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu macam metode pengeringan, dengan tiga ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

### Penyediaan bahan

Daun *S. grandiflora* varietas merah diperoleh dari kebun budidaya tanaman obat milik PT. Jamu Air Mancur Solo-Wonogiri. Pemanenan daun *S. grandiflora* varietas merah dilakukan pada pagi hari atau sore hari untuk memperkecil kehilangan senyawa-senyawa yang mudah menguap (Syukur dan Hernani, 2001). Daun dipanen dengan cara dipetik menggunakan tangan satu per satu, kemudian dibersihkan dari tangkainya. Pemetikan dilakukan terhadap daun diseluruh bagian tanaman (dari pucuk sampai bawah) (Sirait, 1985).

### Perlakuan pengeringan

Menimbang masing-masing 2 kg daun turi segar kemudian diberi perlakuan metode pengeringan yang berbeda, yaitu:

**Pengeringan dengan sinar matahari langsung.** Daun turi segar dihamparkan di atas tambir dengan tumpukan setipis mungkin ( $\pm 1$  cm), lalu dikeringkan di tempat yang memperoleh sinar matahari langsung dilakukan selama  $\pm 3-4$  hari dengan 2 kali pembalikan dalam sehari agar pengeringan merata. Pengeringan dihentikan sampai daun mudah dipatahkan, pada saat itu kadar air daun diperkirakan di bawah 10% (Departemen Kesehatan, 1995).

**Pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan).** Daun turi segar dihamparkan di atas tambir dengan tumpukan setipis mungkin ( $\pm 1$  cm), lalu dikeringkan di tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung dan banyak angin, dilakukan selama  $\pm 5-6$  hari dengan 2 kali pembalikan dalam sehari agar pengeringan merata. Pengeringan dihentikan sampai daun mudah dipatahkan, pada saat itu kadar air daun diperkirakan di bawah 10% (Departemen Kesehatan, 1995).

**Pengeringan dengan Vacuum Drying Oven suhu 45°C.** Daun turi segar dimasukkan oven dalam tempat yang telah disediakan, dengan 1 kali pembalikan dalam sehari agar pengeringan merata. Pengeringan dihentikan sampai daun mudah dipatahkan, pada saat itu kadar air daun diperkirakan di bawah 10%. Suhu dikontrol pada suhu 45°C (Departemen Kesehatan, 1995). Sebagai kontrol simplisia daun *S. grandiflora* yang masih segar langsung dilakukan pengamatan terhadap parameter yang diamati.

### Pengamatan

**Penentuan kadar air.** Perlakuan pengeringan dihentikan ketika daun mudah dipatahkan (sebelum terjadi perubahan warna daun) dan kemudian diukur kadar air daun keringnya. Simplisia daun turi yang telah dihaluskan berupa serbuk ditimbang sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang, kemudian dipanaskan lagi dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang, perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan, dihitung dengan menggunakan rumus (Sudarmadji dkk., 1981):

$$\text{Kadar air} = \frac{A - B}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

A = Berat botol timbang dan sampel sebelum dikeringkan. B = Berat botol timbang dan sampel setelah dikeringkan.

**Analisis kadar saponin pada simplisia daun *S. grandiflora* dengan metode spektrofotometer UV-Vis.**

Simplisia daun turi kering digerus dengan mortar hingga menjadi serbuk, kemudian 0,1 g serbuk yang telah halus diekstraksi dengan 10 mL etanol 70% di atas penangas air suhu 80°C selama 15 menit. Hasil ekstraksinya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  365 nm dengan larutan pembanding saponin Sigma (Stahl, 1985). Dari absorbansi yang diperoleh dapat diketahui kadar saponin.

**Analisis penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) bakteri.** Untuk menghitung jumlah bakteri digunakan metode *Total Plate Count* (TPC) (Santoso, 1999) dengan *Nutrient Agar*, pengenceran sampel dimulai dari  $10^{-1}$  –  $10^{-4}$  dalam larutan air pepton 0,1% steril. Sampel dengan tingkat pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  diambil sebanyak 1,0 mL dengan cara dipipet secara aseptik dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituangi media *Nutrient Agar* steril secara aseptik lalu diratakan dan digoyang. Selanjutnya cawan petri tersebut didiamkan selama 15-20 menit (sampai dingin membeku agarnya). Bila media tumbuh dalam cawan petri tersebut sudah padat, cawan Petri disusun terbalik dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi berakhir, pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung dengan *colony counter*, jumlahnya dihitung dengan *hand tally*.

Perhitungan jumlah koloni bakteri pada cawan dipilih pada tingkat pengenceran yang mengandung koloni antara 30-300 atau sesuai *Standart Plate Count* (SPC). Jumlah Angka Lempeng Total bakteri setiap mL sampel adalah jumlah bakteri yang terhitung dikalikan dengan pengencerannya. Rumus umum Angka Lempeng Total (ALT):

$$\text{ALT} = \frac{(a1+a2+a3) \times 1}{3 \times b}$$

$a1, a2, a3$  = jumlah koloni bakteri cawan petri I, II, III.  $b$  = tingkat pengenceran.

**Pengamatan makroskopis *Escherichia coli* dan *Salmonella*.** Sampel diambil sebanyak 2,0-3,0 mL dengan cara dipipet secara aseptik dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi *Lactosa Broth* (LB III) steril yang dilengkapi dengan tabung Durham, kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam. Jika terdapat gelembung gas, maka diinokulasi secara goresan pada media *Endo Agar* (EA), *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA) secara aseptik lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika dalam media terdapat koloni yang memiliki morfologi bulat, merah/hijau metalik, dan datar, maka berarti bakteri *E. coli* positif (+) dan jika memiliki morfologi bulat, transparan, dan inti hitam, maka berarti bakteri *Salmonella* positif (+).

**Pengamatan makroskopis *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.** Sampel diambil sebanyak 2,0 – 3,0 mL dengan cara dipipet secara aseptik dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi *Brain*

*Heart Infusion* (BHI) cair steril, pada suhu 37° C diinkubasi selama 24 – 48 jam. Jika terdapat kekeruhan dalam tabung berarti ada pertumbuhan, maka diinokulasi secara goresan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan media selektif *Cetrimid Agar* (CA) secara aseptik lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Jika dalam media terdapat koloni yang memiliki morfologi bulat dan kuning emas, maka berarti bakteri *S. aureus* positif (+), dan jika terdapat koloni berwarna hijau fluoresensi dan menyebar, maka berarti bakteri *P. aeruginosa* positif (+).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar air

Hasil analisis statistik menunjukkan kadar air simplisia daun turi yang dihasilkan pada perlakuan kontrol dan masing-masing metode pengeringan berbeda nyata. Pengaruh antar perlakuan dapat dilihat pada tabel 1. Lama pengeringan untuk mencapai kondisi daun mudah dipatahkan (perkiraan kadar air daun kurang dari 10%) pada masing-masing metode menunjukkan waktu yang berbeda. Lama pengeringan tercepat adalah pada simplisia daun *S. grandiflora* yang dikeringkan dengan metode sinar matahari langsung yaitu memerlukan waktu selama 3 hari pada kondisi cuaca cerah dengan lama penjemuran setiap harinya  $\pm 7$  jam. Pengeringan simplisia daun *S. grandiflora* dengan metode sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan) memerlukan waktu 6 hari untuk mencapai kadar air kurang dari 10%, dan pengeringan simplisia dengan *vaccum drying oven* suhu 45°C memerlukan waktu 4 hari.

**Tabel 1.** Rata-rata kadar air, kadar saponin, Angka Lempeng Total (ALT) bakteri simplisia daun *S. grandiflora* pada metode pengeringan yang berbeda.

| Perlakuan                                 | Metode Pengeringan                                   |                                                     |                                                      |                                                   |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|                                           | P0                                                   | P1                                                  | P2                                                   | P3                                                |
| Rata-rata kadar air simplisia             | 70,31 <sup>d</sup> %                                 | 7,61 <sup>a</sup> %                                 | 11,48 <sup>c</sup> %                                 | 9,18 <sup>b</sup> %                               |
| Rata-rata kadar saponin (mg/mL)           | 13,58 <sup>b</sup>                                   | 10,58 <sup>a</sup>                                  | 16,24 <sup>c</sup>                                   | 16,38 <sup>c</sup>                                |
| Rata-rata angka lempeng total (koloni /g) | 1013000<br>$\approx 1,01 \cdot 10^6$<br><sup>b</sup> | 157670<br>$\approx 1,57 \cdot 10^5$<br><sup>a</sup> | 1880000<br>$\approx 1,88 \cdot 10^6$<br><sup>c</sup> | 79000<br>$\approx 7,9 \cdot 10^4$<br><sup>a</sup> |

Keterangan: P = metode pengeringan; P0 = kontrol (daun segar), P1 = sinar matahari langsung, P2 = sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan), P3 = *vaccum drying oven* suhu 45°C. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Metode pengeringan simplisia dan lama pengeringan memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air simplisia daun *S. grandiflora*. Hal ini disebabkan adanya fenomena pindah panas dan

pindah massa dari bahan yang dikeringkan, selama pengeringan proses hilangnya air tidak terjadi pada kecepatan yang konstan sampai bahan tersebut kering. Semakin lama waktu pengeringan maka kecepatan penghilangan air akan makin menurun. Simplisia dikategorikan memenuhi persyaratan obat tradisional sesuai Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.661/Menkes/SK/VII/1994 apabila kadar air simplisia kurang dari 10% (Departemen Kesehatan, 1995).

### Kadar saponin

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengeringan dengan sinar matahari langsung, sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan), dan *vaccum drying oven* suhu 45°C berpengaruh nyata terhadap kadar saponin simplisia daun *S. grandiflora* (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar saponin daun *S. grandiflora* yang diberi perlakuan pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan) dan *vaccum drying oven* suhu 45°C menunjukkan kandungan saponin yang tidak beda nyata yaitu 16,24 mg/mL dan 16,38 mg/mL, sedangkan kandungan saponin terendah diperoleh dari perlakuan pengeringan dengan sinar matahari langsung yaitu 10,58 mg/mL.

Perbedaan kadar saponin simplisia daun turi yang dihasilkan pada metode pengeringan yang berbeda kemungkinan terjadi karena adanya perubahan sifat bahan aktif secara enzimatis di mana saat pengeringan sinar ultraviolet dapat menyebabkan fotodegradasi (adanya hidrolisis dan oksidasi) yang menurunkan kandungan saponin. Perlakuan pengeringan dengan metode *vaccum drying oven* suhu 45°C menunjukkan kadar saponin yang lebih tinggi, hal ini diduga karena metode tersebut dapat menghentikan daya kerja enzim secara lebih cepat dengan pengontrolan panas dan ventilasi yang tepat sehingga bahan tanaman menghasilkan wujud simplisia dan bahan aktif dengan kualitas yang baik (Brotosisworo, 1978).

### Angka Lempeng Total (ALT) bakteri

Angka Lempeng Total (ALT) adalah angka yang menunjukkan jumlah bakteri dalam 1 mL atau 1 g sampel makanan yang diperiksa. Berdasarkan analisis varian diketahui hasil bahwa perbedaan lama pengeringan dan kadar air pada masing-masing metode pengeringan memberikan pengaruh yang nyata terhadap Angka Lempeng Total simplisia daun *S. grandiflora* (Tabel 1).

Simplisia berupa serbuk dikategorikan memenuhi persyaratan obat tradisional sesuai Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.661/Menkes/SK/VII/1994 apabila Angka Lempeng Total (ALT)-nya kurang dari  $10^6$  koloni/g (Departemen Kesehatan, 1995). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa simplisia daun *S. grandiflora* yang dikeringkan dengan metode sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan) menunjukkan ALT yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan dua metode lainnya,

**Tabel 2.** Hasil pengamatan makroskopis bakteri patogen simplisia daun *S. grandiflora* pada metode pengeringan yang berbeda.

| Perlakuan | LB III steril | BHI steril | Pengamatan Makroskopis |                        |                         |                        |                                | Hasil       |
|-----------|---------------|------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------------|-------------|
|           |               |            | EA                     | EMBA                   | SSA                     | MSA                    | CA                             |             |
| <b>P0</b> | + gas         | + keruh    | Merah dan cembung      | Coklat tua dan cembung | Seperti media dan bulat | Seperti media dan flat | Seperti media                  | Negatif (-) |
| <b>P1</b> | + gas         | + keruh    | Merah dan flat         | Coklat tua dan datar   | Seperti media dan flat  | Kuning muda dan datar  | Seperti media dan datar        | Negatif (-) |
| <b>P2</b> | + gas         | + keruh    | Merah dan cembung      | Coklat merah dan flat  | Seperti media dan flat  | Kuning muda dan flat   | Seperti media (putih) dan flat | Negatif (-) |
| <b>P3</b> | + gas         | + keruh    | Merah dan flat         | Coklat muda dan bulat  | Merah muda dan flat     | Kuning muda dan flat   | Seperti media dan datar        | Negatif (-) |

Keterangan: P = metode pengeringan; P0 = kontrol (daun segar), P1 = sinar matahari langsung, P2 = sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan), P3 = *vaccum drying oven* suhu 45°C. EA = Endo Agar, EMBA = Eosin Methylen Blue Agar, SSA = Salmonella Shigella, Agar, MSA = Mannitol Salt Agar, CA = Cetrimid Agar.

dikategorikan tidak memenuhi persyaratan sebagai obat tradisional karena ALT-nya masih melebihi  $10^6$  koloni/g, sedangkan ALT simplisia daun kontrol menghasilkan jumlah bakteri  $1,01.10^6$  koloni/g, hal ini karena simplisia daun masih dalam kondisi segar baru dipanen dari pohonnya sehingga dipastikan masih banyak tercemar mikrobia. Untuk simplisia daun yang diberi perlakuan pengeringan sinar matahari langsung tidak menunjukkan beda nyata dengan perlakuan pengeringan *vaccum drying oven* suhu 45°C, berdasarkan ALT-nya dinyatakan memenuhi persyaratan sebagai obat tradisional, karena kurang dari  $10^6$  koloni/g.

Angka Lempeng Total (ALT) bakteri pada suatu produk dapat mencerminkan teknik penanganan, tingkat dekomposisi, kesegaran, serta kualitas sanitasi pangan. Angka Lempeng Total dapat digunakan untuk evaluasi kualitas sanitasi dan evaluasi perkiraan umur simpan untuk bahan segar. Tingginya Angka Lempeng Total biasanya menunjukkan bahwa bahan/simplisia dihasilkan dengan penanganan yang tidak hati-hati tanpa memperhatikan sifat bahan/simplisia (Sa'diyah, 1991). Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa perlakuan pengeringan pada bahan/simplisia pada umumnya dapat membantu menurunkan atau menekan jumlah angka pertumbuhan mikrobia terutama bakteri. Semakin sedikit jumlah bakteri pada simplisia akan memperkecil kerusakan pada simplisia.

#### Pemeriksaan bakteri patogen

Pengujian adanya kelompok mikrobia tertentu dalam suatu produk makanan merupakan bagian dari usaha pemantauan terhadap kualitas serta keamanan pangan itu secara mikrobiologis. Usaha untuk menguji suatu bahan makanan terhadap berbagai jenis mikrobia patogen serta toksin mikrobia yang ada dirasa kurang praktis karena memakan waktu, biaya, dan tenaga yang besar. Oleh karena itu, para ahli mikrobiologi menyarankan penggunaan suatu kelompok mikrobia sebagai indikator yang secara relatif mudah dideteksi (Sa'diyah, 1991).

Penyebab kerusakan simplisia/bahan yang disebabkan oleh faktor eksternal berupa mikrobia

salah satunya adalah bakteri, kerusakan ini dapat menyebabkan susut pasca panen baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Angka Lempeng Total yang rendah tidak selalu mencerminkan bahwa produk tidak tercemar bakteri patogen, demikian pula sebaliknya. Hasil pengamatan makroskopis bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Dari hasil pengamatan bakteri patogen yang terdapat dalam simplisia diketahui bahwa pada masing-masing metode pengeringan menunjukkan hasil negatif, artinya tidak ditemukan bakteri patogen *E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa*. Hal ini menandakan bahwa sampel sudah aman untuk dikonsumsi oleh konsumen, sebab persyaratan suatu produk obat tradisional boleh dikonsumsi sesuai Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 661/Menkes/SK/VII/1994 adalah apabila mikrobia patogen *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, dan *P. aeruginosa* negatif (Departemen Kesehatan, 1995).

Berdasarkan parameter kadar air simplisia, kadar saponin, Angka Lempeng Total (ALT), dan bakteri patogen, metode pengeringan simplisia daun *S. grandiflora* yang terbaik adalah metode pengeringan dengan *vaccum drying oven* suhu 45°C. Metode pengeringan yang baik adalah yang menjamin kualitas bahan aktif simplisia dan juga memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Metode tersebut diharapkan dapat diaplikasikan untuk mendapatkan simplisia tanaman obat khususnya simplisia daun *S. Grandiflora* yang bermutu tinggi.

#### KESIMPULAN

Metode pengeringan dengan *vaccum drying oven* suhu 45°C pada simplisia daun *Sesbania grandiflora* menghasilkan kadar saponin tertinggi yaitu 16,38 mg/mL. Metode pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan) dan dengan sinar matahari langsung menghasilkan kadar saponin yang lebih rendah yaitu 16,24 mg/mL dan 10,58 mg/mL. Metode pengeringan dengan

*vaccum drying oven* pada suhu 45°C pada simplisia daun *S. grandiflora* menghasilkan Angka Lempeng Total (ALT) bakteri yaitu  $7,9.10^4$  koloni/g. Metode pengeringan dengan sinar matahari langsung dan dengan sinar matahari tidak langsung (tempat teduh/di bawah naungan) menghasilkan Angka Lempeng Total (ALT) bakteri yang lebih tinggi yaitu  $1,57.10^5$  koloni/g dan  $1,88.10^6$  koloni/g. Ketiga metode pengeringan menunjukkan kandungan bakteri patogen *E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* yang negatif (-).

## DAFTAR PUSTAKA

- Atjung. 1982. *Tumbuhan Obat-obatan di Indonesia*, Cetakan 1. Jakarta: Kurnia Esa.
- BPPT. 2002. *Tanaman Obat Indonesia*. [www.iptek.net.id/ind/cakra\\_obat/tanamanobat.php?id=105](http://www.iptek.net.id/ind/cakra_obat/tanamanobat.php?id=105). (21 Juli 2004).
- Brotoisworo, S. 1978. *Pengantar Farmakognosi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Cohn, P.D., M. Cox, and P.S. Berger. 1999. Health and aesthetic aspect of water quality. In Latterman, R.D. (eds). *A Handbook of Community Water Supplies*. 5th Edition. New York: Mc-Graw Hill Inc.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Himpunan Peraturan Perundang-undangan Bidang Kesehatan 1994-1995*. Jakarta: Mitra Info.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafinda Persada.
- Harborne, S.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB Press..
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Penerjemah: Srigandono, B. Semarang: IKIP Press.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II cet-1. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Holah, J.T. 1998. Hygienic design of food equipment. *Food Australian Journal* (50): 7.
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Pelczar, M.J., dan E.C.S. Chan., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid II Cetakan 1. Penerjemah: Hadioetomo, R.S., Teja Imas, S. S. Tjitrosomo, S.L. Angka. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Risfaheri, S. Yuliani, dan A. Gani. 1995. Pengaruh suhu pengeringan terhadap mutu simplisia daun katuk (*Sauropus androgynus* Merr). *Warta PERHIPBA (Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alami)* 3: 2-4.
- Sa'diyah, S. 1991. *Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Penurunan Angka Kuman Serbuk Jamu Hasil Sterilisasi dengan Uap Alkohol*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.
- Santoso, U. 1999. *Handout Analisis Hasil Pertanian*. Yogyakarta: Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian Universitas Gajah Mada.
- Sirait, M. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sebagai Sumber Kesehatan (Manfaat dan Kegunaan)*. Surabaya: Penerbit Balai Pustaka.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro. Bandung: ITB Press.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1981. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sumastuti, R. 1999. Efek Antiradang infuse daun dan akar Som Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) pada tikus putih secara in vivo. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, (5): 4.
- Syamsuhidayat, S.S., dan Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1)*. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Syukur, C., dan Hernani. 2001. *Budidaya Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.

## Toksisitas Rimpang Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe): Tinjauan pada Karakteristik Hematologis dan Sistem Reproduksi Jantan Mencit (*Mus musculus* L.)

**Toxicity studies of the rhizome *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. and *Curcuma zedoaria* Roscoe on hematological and male reproduction system of mice (*Mus musculus* L.)**

SHANTI LISTYAWATI\*

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: shanti\_L@mipa.uns.ac.id

Diterima: 5 Januari 2006. Disetujui: 2 Pebruari 2006

---

**Abstract.** Chronic (90 days) oral toxicity studies on ethanolic extracts of the rhizome *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. and *Curcuma zedoaria* Roscoe were carried out in mice. The chronic dosage was 150 mg/kg/day as the extract. Hematological and spermatogenic changes in addition to body weight and external morphological were recorded. *C. xanthorrhiza* treatment had no significant effect on hematological and spermatogenic changes. *C. zedoaria*-treated animals revealed a significant fall in RBC, Hb level, and spermatozoa quality as compared to the control. The both extracts failed to show changes of external morphological and body weight and hematological.

**Key words:** *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma zedoaria*, chronic toxicity, hematological studies, spermatozoa quality.

---

### PENDAHULUAN

Banyak tanaman anggota kelompok Zingiberaceae digunakan sebagai tanaman obat. Dua diantaranya adalah temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) dan temu putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe), kedua tanaman ini dimanfaatkan rimpangnya. Rimpang temu lawak mengandung minyak atsiri dan zat warna kurkuminoid yang mempunyai efek farmakologis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rimpang dari temu lawak dapat menurunkan kolesterol dalam darah dan sel hati, meningkatkan sekresi empedu, merangsang nafsu makan, menurunkan tekanan darah, anti inflamasi, anti bakterial dan bersifat hepatoprotektif (Anonim, 1985; Duke, 1992, Isdadiyanto, 2000, Kertia dan Sudarsono, 2005). Selain digunakan sebagai jamu, temu lawak diproduksi juga sebagai minuman penyegar.

Temu putih mengandung minyak atsiri yang terdiri dari sineol, kamfen, dan sesquiterpenalkohol. Rimpang tanaman ini juga mengandung metabolit sekunder yang berupa kurkumenol, kurkumenolida, germakron, furanodienon, kurzerenon, zederon, dehidrokurdion, kurdion, prokurkumenol, isofurandienon, faranodiena. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai fungsi farmakologis dan dapat digunakan sebagai bahan anti kanker, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antiviral, antimutagenik, antiparasit dan antifertilitas. (Kiso *et al.*, 1985, Listyaningsih, 2000).

Sudah banyak penelitian farmakologi dan kandungan kimia dari kedua tanaman tersebut, tetapi hanya sedikit data tentang toksisitas atau efek samping yang sebenarnya penting untuk menentukan tingkat keamanannya apabila digunakan sebagai tanaman obat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui toksisitas kronis dari rimpang temu lawak dan temu putih yang diberikan dalam bentuk ekstrak dan diujikan pada mencit.

### BAHAN DAN METODE

Rimpang diperoleh dari pasar tradisional di Yogyakarta, kemudian diidentifikasi di laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Rimpang diekstraksi dengan ethanol 95% dan kemudian dievaporasi sampai diperoleh sediaan berbentuk serbuk.

Hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*) sebanyak 30, umur 6-7 minggu dengan berat badan 25-30 g, diperoleh dari UPHP (Unit Pengelolaan Hewan Percobaan) UGM. Hewan uji dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu kontrol, kelompok perlakuan rimpang temu lawak dengan dosis 150mg/kg BB/hari, dan kelompok perlakuan rimpang temu putih dengan dosis 150 mg/kgBB/hari, masing-masing kelompok terdiri dari 10 mencit.

Ekstrak rimpang dilarutkan dengan akuades dan diberikan secara oral ke hewan uji. Perlakuan

diberikan setiap hari selama 90 hari. Pengamatan gejala toksisitas eksternal meliputi perubahan tingkah laku, perubahan berat badan, dan mortalitas. Sampel darah untuk analisis karakteristik hematologis diambil dari sinus orbitalis, parameter yang diukur adalah jumlah leukosit dan eritrosit diukur dengan hemositometer, serta kadar hemoglobin dengan spektrofotometer. Pengamatan pada sistem reproduksi adalah berat testis dan cauda epididimis. Cauda epididimis kemudian dikeluarkan isinya dan ditambahkan larutan garam fisiologis untuk analisis kualitas spermatozoa yang meliputi abnormalitas, motilitas, kecepatan gerak, dan viabilitas spermatozoa.

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan ANAVA, jika terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama uji toksisitas kronis, tidak ditemukan perubahan tingkah laku dan morfologi luar. Peningkatan berat badan juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol, serta tidak ada hewan uji yang mati.

Hasil pengamatan karakteristik hematologis (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak temu lawak tidak memberikan perubahan yang signifikan pada karakteristik hematologis mencit. Kadar leukosit sebesar  $5,85 \times 10^3/\text{mm}^3$  darah, menunjukkan penurunan dibandingkan kelompok kontrol. Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin menunjukkan peningkatan dibandingkan kontrol. Menurut Quresh *et al.* (1992), beberapa tanaman anggota kelompok zingiberaceae mengandung senyawa yang dapat mempengaruhi kadar androgen di dalam darah, diantaranya adalah meningkatkan kadar testosteron dan dihidrotestosteron. Testosteron dan derivatnya sangat potensial dalam memacu eritropoiesis (pembentukan sel darah).

**Tabel 1.** Hasil analisis karakteristik hematologis mencit setelah uji toksisitas sub kronis dengan rimpang temu lawak dan temu putih.

| Parameter                                      | Perlakuan        |                  |                    |
|------------------------------------------------|------------------|------------------|--------------------|
|                                                | Kontrol          | Temu lawak       | Temu putih         |
| Jumlah leukosit ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )  | $6,69 \pm 0,14$  | $5,85 \pm 0,23$  | $4,72 \pm 0,16$    |
| Jumlah eritrosit ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) | $5,85 \pm 0,69$  | $7,59 \pm 0,43$  | $4,19 \pm 0,71^*$  |
| Kadar Hb (g/100 ml)                            | $13,36 \pm 0,37$ | $13,45 \pm 0,57$ | $11,77 \pm 1,19^*$ |

Keterangan: \* : menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol berdasar uji Tukey.

Peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin ini dapat juga melalui mekanisme yang lain, seperti dikemukakan oleh Venkatesan *et al.* (2003), bahwa curcumin yang terdapat pada genus *Curcuma* mempunyai efek antioksidan, yaitu dapat mencegah oksidasi hemoglobin yang diinduksi oleh

nitrit, serta mencegah lisis eritrosit. Kemampuan antioksidan ini dapat mencegah kerusakan membran eritrosit akibat faktor-faktor buruk dari lingkungan dengan demikian kadar hemoglobin di dalamnya juga dapat dipertahankan. Aktivitas antioksidan dari kurkumin juga sudah dibuktikan secara invitro dan diketahui bekerja melalui penghambatan aktivitas deoksigenase (Timmerman, 1995 dalam Kertia dan Sudarsono, 2005). Pada kelompok kontrol yang tidak mendapatkan perlakuan ekstrak rimpang temu lawak menunjukkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang lebih rendah.

Uji toksisitas rimpang temu putih menunjukkan penurunan yang signifikan pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin, serta penurunan jumlah leukosit yang tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol. Efek perubahan yang tidak menguntungkan terhadap kondisi hematologis ini dimungkinkan karena efek sitotoksik yang terdapat pada senyawa yang terkandung dalam rimpang temu putih lebih mendominasi daripada efek lain dari senyawa yang terkandung di dalamnya.

Hasil pengukuran berat testis (Tabel 2) menunjukkan bahwa rimpang temu lawak tidak menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap berat testis. Pada perlakuan dengan ekstrak rimpang temu putih, hasil pengukuran dan analisis berat testis menunjukkan adanya adanya penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol.

**Tabel 2.** Berat testis dan cauda epididimis mencit pada uji toksisitas sub kronis dengan rimpang temu lawak dan temu putih.

| Perlakuan  | Parameter          |                            |
|------------|--------------------|----------------------------|
|            | Berat testis (g)   | Berat cauda epididimis (g) |
| Kontrol    | $0,155 \pm 0,07$   | $0,074 \pm 0,07$           |
| Temu Lawak | $0,149 \pm 0,07$   | $0,071 \pm 0,05$           |
| Temu Putih | $0,128 \pm 0,07^*$ | $0,063 \pm 0,05^*$         |

Keterangan: \* : menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol berdasar uji Tukey.

Penurunan berat testis ini disebabkan terjadinya atrofi pada organ tersebut. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa secara *in vitro* ekstrak temu putih dapat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker. Sifat sitotoksik (mematikan sel) dari ekstrak rimpang temu putih terhadap sel-sel kanker ini dapat menimbulkan efek yang sama pada sel-sel yang lain terutama sel-sel yang aktif membelah seperti pada testis. Testis tersusun dari sel-sel spermatogenik yang setiap saat selalu mengalami pembelahan dan diferensiasi untuk menghasilkan spermatozoa. Hasil penelitian Siswanti dkk. (2003) menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu putih dapat mengakibatkan perubahan struktur tubulus seminiferus testis yang meliputi penurunan lapisan dan jumlah sel-sel spermatogenik, sel-sel tersusun lebih jarang, lumen tubulus semakin lebar, serta terjadi degradasi dari sel-sel Leydig. Selain efek sitotoksik, penurunan jumlah sel-sel spermatogenik

juga dapat disebabkan terganggunya sintesis hormon testosteron pada sel-sel Leydig, yang berakibat terganggunya fungsi sel Sertoli. Fungsi utama sel sertoli adalah memberi nutrisi pada sel-sel spermatogenik, sehingga apabila fungsi ini terganggu, perkembangan sel-sel spermatogenik tidak optimal. Menurunnya lapisan dan jumlah sel spermatogenik tubulus dan melebarnya lumen tubulus berakibat berat testis menurun.

Cauda epididimis merupakan saluran tempat menampung spermatozoa hasil spermatogenesis menuju duktus ejakulatorius. Banyaknya spermatozoa yang masak dan siap dikeluarkan akan mempengaruhi berat. Dari hasil pengukuran (Tabel 2) dapat dilihat bahwa ekstrak rimpang temu lawak tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat cauda epididimis dibandingkan dengan kontrol, sedangkan pada uji toksisitas ekstrak rimpang temu putih menunjukkan penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan ini dapat disebabkan oleh pengaruh penurunan berat testis pada kelompok ini. Penurunan berat testis dapat disebabkan oleh penurunan jumlah lapisan dan sel-sel spermatogenik akibat adanya zat aktif dalam temu putih (Siswanti dkk., 2003) sehingga spermatozoa yang tertampung pada lumen cauda epididimis ini juga lebih sedikit.

Kualitas spermatozoa menentukan tingkat fertilitas individu jantan. Parameter kualitas spermatozoa yang diamati pada uji toksisitas ini adalah abnormalitas, motilitas, kecepatan gerak, dan viabilitasnya.

**Tabel 3.** Hasil uji toksisitas sub kronis dari rimpang temu lawak dan temu putih pada kualitas spermatozoa mencit.

| Perlakuan  | Parameter kualitas spermatozoa |                  |                                     |                   |
|------------|--------------------------------|------------------|-------------------------------------|-------------------|
|            | Abnormalitas (%)               | Motilitas (%)    | Kecepatan gerak ( $\mu\text{m/s}$ ) | Viabilitas (%)    |
| Kontrol    | 2,29 $\pm$ 0,87                | 86,2 $\pm$ 7,79  | 152,03 $\pm$ 12,20                  | 75,83 $\pm$ 1,60  |
| Temu Lawak | 2,39 $\pm$ 0,63                | 85,5 $\pm$ 5,99  | 144,54 $\pm$ 3,27                   | 85,32 $\pm$ 1,14* |
| Temu Putih | 11,25 $\pm$ 5,32*              | 57,0 $\pm$ 6,79* | 158,21 $\pm$ 8,43                   | 60,40 $\pm$ 1,67* |

Keterangan: \* :menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol berdasar uji Tukey.

Analisis abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan mengamati morfologi spermatozoa. Secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang abnormal dari 100 spermatozoa pada semua kelompok perlakuan. Selain dilakukan penghitungan persentase spermatozoa yang abnormal juga dilakukan pengamatan bentuk-bentuk abnormalitas yang ditemukan.

Dari hasil analisis abnormalitas spermatozoa (Tabel 3) menunjukkan bahwa persentase abnormalitas pada kelompok perlakuan ekstrak rimpang temu lawak sebesar 2,39% dan nilai ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan ekstrak rimpang temu putih nilai abnormalitas mencapai 11,25%; terjadi

peningkatan yang signifikan dibandingkan abnormalitas spermatozoa kelompok kontrol.

Spermatozoa normal pada mencit terdiri dari bagian kepala, badan, dan ekor. Kepala spermatozoa mencit berbentuk kait yang panjangnya kurang lebih 0,008 mm. Panjang satu spermatozoa normal, kurang lebih 0,1226 mm. Menurut Toelihere (1985) dan Nalbandov (1990), kelainan morfologis spermatozoa di bawah 20% masih dianggap normal, dan apabila nilainya mendekati 50% dapat mengakibatkan terjadinya gangguan fertilitas.

**Tabel 4.** Bentuk-bentuk abnormalitas spermatozoa mencit pada uji toksisitas kronis dari ekstrak rimpang temu lawak dan temu putih

| No | Perlakuan  | Bentuk abnormalitas                                                                                                                                          |
|----|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Kontrol    | Kepala bulat<br>Kepala kecil<br>Bagian ekor keriting<br>Bagian ekor bercabang                                                                                |
| 2. | Temu lawak | Tanpa kepala<br>Bagian badan bergelung<br>Bagian badan melipat<br>Bagian ekor bercabang                                                                      |
| 3. | Temu putih | Kepala bentuk bulat<br>Kepala kembar dua<br>Bagian badan patah<br>Bagian badan melipat<br>Bagian ekor bercabang<br>Bagian ekor keriting<br>Bagian ekor patah |

Bentuk-bentuk abnormalitas spermatozoa yang didapatkan dalam penelitian ini berupa kelainan bentuk kepala, badan, dan ekor, secara rinci kelainan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena terganggunya spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testis. Kelainan spermatogenesis di dalam testis dapat disebabkan keturunan, penyakit, defisiensi makanan dan pengaruh lingkungan yang buruk. Menurut Lu (1995), suatu toksikan dapat menyebabkan penurunan jumlah sel-sel spermatogenik dan abnormalitas spermatozoa. Rimpang temu putih juga mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik, hal ini yang dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis, sehingga spermatozoa yang dihasilkan menjadi abnormal dan menurun kualitasnya.

Pengukuran motilitas spermatozoa pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung spermatozoa yang dapat melakukan gerak progresif (lurus ke depan). Dari hasil pengukuran (Tabel 3) menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada perlakuan dengan ekstrak rimpang temu putih sebesar 57%, berarti lebih dari 50% spermatozoa yang dihasilkan oleh hewan uji kelompok ini tidak mampu melakukan gerak berpindah tempat secara lurus ke depan. Motilitas pada kelompok perlakuan dengan ekstrak rimpang temu lawak dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Gerak normal spermatozoa adalah lurus ke depan, gerakan ini ditentukan oleh keseimbangan gerak ekornya. Keseimbangan ekor spermatozoa tergantung dari bentuk morfologi spermatozoa. Jadi nilai motilitas ini sangat ditentukan oleh banyaknya spermatozoa dengan bentuk yang normal. Dari Tabel 3. dapat dilihat bahwa semakin tinggi nilai motilitas, nilai abnormalitas semakin kecil. Spermatozoa dengan bentuk normal sangat mendukung terjadinya gerak progresif. Gerak progresif ini diperlukan untuk bergerak dalam saluran reproduksi betina mencapai ovum.

Pemeriksaan kecepatan gerak spermatozoa dilakukan dengan mengukur waktu yang diperlukan oleh spermatozoa untuk melintasi jarak tertentu pada bilik hitung hemasitometer Neubauer. Hasil pengukuran kecepatan gerak spermatozoa (Tabel 3) menunjukkan bahwa ketiga kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Perlakuan dengan ekstrak rimpang temu lawak menyebabkan spermatozoa lebih cepat pergerakannya dibandingkan kelompok kontrol. Perlakuan dengan ekstrak rimpang temu putih cenderung menurunkan kecepatan gerak spermatozoa.

Viabilitas spermatozoa digunakan untuk mengetahui persentase spermatozoa yang hidup dari hasil spermatogenesis. Pengamatan dilakukan dengan membuat preparat apus spermatozoa dan diwarnai dengan Neutral Red 1%. Afinitas terhadap zat warna ini dapat digunakan untuk membedakan spermatozoa yang hidup dengan yang mati. Sel-sel yang mati akan menyerap zat warna, karena terjadi peningkatan permeabilitas membran sel terutama di daerah kepala yang tidak tertutup akrosom, sedangkan sel yang hidup membrannya sangat permeabel terhadap zat warna. Dari hasil penelitian (Tabel 3) diperoleh bahwa spermatozoa yang hidup dari kelompok perlakuan dengan rimpang temu lawak adalah sebesar 85,32%, menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol yang hanya sebesar 75,83%, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan rimpang temu putih terlihat adanya penurunan yang signifikan pada jumlah spermatozoa yang hidup, yaitu hanya sebesar 60,40%. Menurut Toelihere (1985), apabila lebih dari 20% dari spermatozoa yang dihasilkan mati, kesuburan hewan jantan akan terganggu.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

tidak memberikan efek toksik pada karakteristik hematologis dan sistem reproduksi mencit jantan, sedangkan ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) dapat menyebabkan penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Pada sistem reproduksi jantan menyebabkan penurunan berat organ reproduksi dan kualitas spermatozoa mencit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Duke, 1992. *Copendium of Medical Plants*. New York: Macmillan Publishing Co.
- Isdadiyanto, S., 2000. *Pengaruh Ciu dan Seduhan Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) terhadap Struktur Histologis Hepar Tikus Putih (Rattus norvegicus L.)*. [Tesis]. Yogyakarta: PPs. UGM.
- Junqueira, I.C. and J.M.D. Carneiro. 1998. *Histologi Dasar*. Penerjemah: Dharma, A. Jakarta: Penerbit EGC.
- Kertia N. dan N.A. Sudarsono. 2005. Prospek Manfaat Rimpang Temoe Lawak bagi Kesehatan. *Seminar Obat Tradisional*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Kiso Y, Y. Suzuki, and T. Wanatebe, 1985. *Planta Medica* 49: 185-187.
- Listyaningsih S., S.B. Widjokongko, dan O.P. Astirin. 2000. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit Putih terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit. [Laporan Penelitian]. Surakarta: Fakultas Kedokteran UNS.
- Lu, F.C. *Toksikologi Dasar*. Penerjemah: Nugroho. Edisi ke-2. Jakarta: UI Press.
- Nalbandov, A.V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Penerjemah: Keman S. Jakarta: UI Press.
- Qureshi, S., A.H. Shah, and A.M. Ageet. 1992. Toxicity studies on *Alpinia galanga* and *Curcuma longa*. *Planta Medica* 52: 124-127.
- Siswanti, T., OP. Astirin, dan T. Widiyanti, 2003. Pengaruh ekstrak temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). *BioSMART* 8(1): 38-42.
- Salisbury, G.W. dan N.L. Vandemark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Penerjemah: Djanuar R. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Shibara, Y., Y. Asakawa, M. Komada, K. Yasuda, and T. Takemoto. 1985. Curcumenone, curcumanolide A and curcumanolide B., three sesquiterpenoid from *Curcuma zedoaria*. *Phytochemistry* 4: 2623-2629.
- Smith, J.B. dan Mangkoewijaya, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Venkatesan, P., M.K. Unnikrishnan, M.S. Kumar, and M.N.A. Rao. 2003. Effect of curcumin analogues on oxidation of haemoglobin and lysis of erythrocytes. *Current Science* 84 (1): 74-78.

## Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* var *botrytis* L.) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Ren Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Pb Asetat Secara Oral

***The effect of broccoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) extract to the microanatomy structure of liver and kidney in mice (*Mus musculus* L.) after exposed by lead acetate (Pb-acetate) orally***

**RIRIN DIYAH SETYANINGSIH, NOOR SOESANTI HANDAJANI\*, MARTI HARINI**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 27 Nopember 2005. Disetujui: 3 Januari 2006.

**Abstract.** The aims of this research were to know the effect of broccoli extract to the microanatomy structure of liver and kidney in mice after induction of lead acetate. Broccoli contains antitoxic compound such as sulforaphane, beta-carotene, indole, quercetin, and glutathione. The research was evaluated experimentally to Swiss mice at the age of 2 months with average weight of 31 g. These mice were divided into five groups. A group was a placebo controls that given only with distilled water 1 ml for 30 days. Negative control group received lead acetate orally at the dose of 0.52 mg/g body weights for 15 days. Mice of group 1, 2, and 3 received the same treatment but continued with giving broccoli extract orally in three doses: 2.1 mg; 2.8 mg and 3.5 mg/g bw/day respectively for 15 days. Liver and kidney were removed at 31<sup>st</sup> day. Observation of microanatomy structure was: 1) Determining the kind and damage level of hepatocyte, glomerulus and proximal tubules epithelia as the qualitative data; 2) Measuring the height of proximal tubules epithelia, glomerulus diameter and central vein diameter as the quantitative data, which then analyzed with ANOVA. The result of this research showed that exposed by lead acetate orally caused hydrophilic degeneration, fatty swelling and necrotic (pycnotic, karyorrhexis, and karyolysis) on hepatocyte and proximal tubules epithelia, swelling of glomeruli. Consumption of broccoli at the dose of 3.5 mg/g bw/day could repair the damage cells of lead acetate. Broccoli extract at the lowest dose (2.1 mg/g bw/day and 2.8 mg/g bw/day) could not repair the damage cells of lead acetate. Consumption of broccoli extract at the dose of 3.5 mg/g bw/day was helping the cells repairmen (i.e. hepatocyte, glomerulus and proximal tubule epithelia) in mice (*Mus musculus* L.) damage by lead acetate.

**Key words:** broccoli extract, lead acetate, liver, kidney.

### PENDAHULUAN

Timah hitam yang diberi simbol Pb (*Plumbum*) merupakan salah satu logam berat tertua yang telah dikenal oleh manusia. (Hariono, 1991). Keberadaan Pb di alam lebih tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya. Kadarnya dalam lingkungan meningkat karena penambangan, peleburan, pembersihan dan berbagai penggunaannya dalam industri (Lu, 1995). Limbah akibat pemakaian timah hitam dalam bidang industri ternyata mempunyai dampak negatif yaitu mencemari lingkungan (udara, air, tanah, tanaman, hewan dan manusia), sehingga mempunyai potensi merusak kesehatan tanaman, hewan dan manusia. Polutan Pb di atmosfer cukup potensial untuk menimbulkan gangguan kesehatan pada mahluk hidup (Hariono, 1991; Santosa, 1995).

Pb atau senyawa asing lain yang terdapat dalam tubuh akan dimetabolisasi oleh hepar, diekskresikan oleh ren dan pembuangan juga dilakukan melalui keringat, feses, dan udara yang diekspirasikan. Jika kapasitas hepar untuk memetabolisasi senyawa

tersebut telah terlampaui, maka akan lebih banyak diangkut ke dalam sirkulasi (Katzung, 1995). Meskipun ren hanya merupakan 0,5% dari total masa tubuh tetapi ren menerima 20-25% *output* (keluaran) jantung, sebagai konsekuensinya beberapa obat atau bahan kimia dalam sistem sirkulasi akan diantarkan ke organ ren dalam jumlah tinggi (Klassen, 1985).

Usaha yang dapat dilakukan untuk mengurangi akumulasi bahan kimia (logam) berbahaya dalam organ tubuh salah satunya yaitu dengan meningkatkan sistem detoksifikasi dalam tubuh, sehingga dapat menetralkan bahan logam berbahaya yang masuk ke dalam tubuh sebelum merusak sel-sel tubuh atau mungkin menimbulkan bibit kanker. Ilmuwan dari Johns Hopkins telah menemukan kandungan sulforafan dalam brokoli dengan konsentrasi yang cukup tinggi. Diketahui bahwa sulforafan bersifat antikarsinogenik yang dapat berperan mencegah kanker (Conant, 2002).

Brokoli juga mengandung *phytochemicals* lain seperti isotiosianat, yang dapat merangsang produksi enzim dan bahan kimia antikanker. Bukti

kuat menyatakan bahwa orang-orang yang mengkonsumsi banyak buah-buahan dan sayur-mayur dapat mengurangi resiko kanker 20% sampai 50% jika dibandingkan dengan mereka yang mengkonsumsi dalam jumlah yang lebih sedikit (Apriadi, 2001).

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2004 sampai dengan Januari 2005. Tempat penelitian di Laboratorium Unit II Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta, Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta, dan Balai Besar Hewan Veteriner (BPHVet), Wates.

### Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, pisau, corong, blender, labu gojok, gelas ukur, gelas beker, pipet ukur, kertas saring, rotary evaporator dan oven, kandang mencit lengkap dengan tempat makan dan minum, Spet, timbangan digital, gelas ukur, timbangan elektrik, dissecting kit, gelas benda, gelas penutup, cawan petri, kaki tiga dan bunsen, oven, staining kit, holder, mikrotom, hot plate, mikroskop cahaya dan kamera yang menggunakan film negatif (kamera biasa).

Bahan yang digunakan, mencit (*Mus musculus* L.) galur Swiss sebanyak 20 mencit dengan umur 2 bulan dan berat badan rata-rata 30 gr, Pb asetat (anorganik), bunga *B. oleracea* var *Botrytis* L, etanol 70%, chloroform, formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%), toluol, xilol, Meyer's albumin, canada balsam, parafin, pewarna HE (Hematoxylin-Eosin), akuades, pellet BR II Coomfeed, air ledeng.

### Cara kerja

**Persiapan hewan percobaan.** Mencit (*Mus musculus* L) galur Swiss yang diperoleh dari UPHP UGM sebanyak 20 mencit ditimbang dan diadaptasikan terlebih dahulu di dalam kandang selama 7 hari. Hewan uji diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

**Pembuatan ekstrak.** Bunga *B. oleracea* var *Botrytis* L. diperoleh dari Pasar Gede Solo. Bunga dibersihkan dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 60°C sampai kering. Setelah kering bunga dipotong kecil-kecil kemudian digiling dengan menggunakan blender sampai diperoleh serbuk halus kemudian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 24 jam. Filtrat ditampung sampai diperoleh tetesan terakhir yang tidak berwarna dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60<sup>o</sup>-70<sup>o</sup>C hingga diperoleh ekstrak kasar.

**Pembuatan larutan dan penentuan dosis.** Larutan dibuat dengan mencampurkan antara bahan ekstrak *B. oleracea* var *botrytis* L. dengan akuades dengan volume 1 ml. Pb asetat ditimbang sesuai dosis kemudian dilarutkan dalam akuades 1 ml.

Dosis pemberian Pb sesuai pendapat Darmono (1995), yang menyatakan bahwa Pb dengan dosis 3,5 mg/hari pada manusia dapat menimbulkan efek toksik dalam beberapa bulan. Pada penelitian ini digunakan Pb anorganik yaitu Pb asetat dosis 4 mg/hari untuk menimbulkan efek toksik dalam beberapa minggu. Dosis pada manusia tersebut kemudian dikonversikan pada mencit dengan tabel konversi menurut Laurence dan Bacharach (1964) dalam Donatus (1999). Dosis terapi brokoli mengacu pada percobaan yang telah dilakukan oleh Jed *et al.* (1997) di *John Hopkins University* pada tikus putih strain SD yaitu berkisar 300 - 500 mg. Dosis yang diberikan yaitu, Pb asetat: 0,52 mg/g bb; ekstrak *Brassica oleracea* var *Botrytis*: 2,1 mg/g bb; 2,8 mg/g bb; dan 3,5 mg/g bb

**Perlakuan terhadap hewan percobaan.** Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok (Tabel 1).

**Tabel 1.** Pengelompokan perlakuan hewan percobaan.

| Kelompok           | Perlakuan                                                                                                    |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Kontrol plasebo | Pelarut akuades selama 30 hari                                                                               |
| 2. Kontrol negatif | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari                                                                   |
| 3. Perlakuan 1     | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 2,1 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |
| 4. Perlakuan 2     | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 2,8 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |
| 5. Perlakuan 3     | Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari selama 15 hari + ekstrak brokoli 3,5 mg/g bb/hari pada hari ke 16 selama 15 hari |

**Pembuatan preparat histologis.** Pengambilan sampel organ hepar dan ren dilakukan pada hari ke 31. Pembuatan preparat histologis menggunakan metode parafin (Suntoro, 1983) dan pewarnaan menggunakan metode Harris Hematoxylin-Eosin.

**Teknik pengumpulan data.** Pengamatan terhadap struktur ren dan hepar dalam bentuk irisan penampang melintang untuk melihat apakah terjadi perubahan struktur mikroanatomi setelah perlakuan. Kemudian data tersebut diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan nefron tiap-tiap ulangan perlakuan, dan kerusakan sel hepar. Pengklasifikasian dilakukan menurut pendapat Thomas dan Richter (1984) serta Mitchel (dalam Gufron, 2001) (Tabel 2, 3, dan 4).

Pengambilan data kuantitatif dilakukan dengan mengukur tinggi epitel tubulus kontortus proksimal dan diameter glomerulus pada ren, serta pengukuran diameter vena sentralis hepar.

### Analisis Data

Data kualitatif dianalisis dengan cara membandingkan antara kelompok perlakuan berdasarkan perbedaan kadar ekstrak yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA). Untuk mengetahui adanya

**Tabel 2.** Tingkat kerusakan glomerulus.

| Tingkat kerusakan | Glomerulus                                                                           |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Normal            | Normal, inti terlihat jelas, bentuk bulat                                            |
| Ringan            | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit +       |
| Sedang            | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++    |
| Berat             | Pembesaran glomerulus +++, penyempitan ruang kapsuler +++, butir-butir eritrosit +++ |

**Tabel 3.** Tingkat kerusakan tubulus ren.

| Tingkat kerusakan | Tubulus kontortus proksimal                                                                                                            | Tubulus kontortus distal                                                                                                               |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Normal            | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas.                                                                                        | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas                                                                                         |
| Ringan            | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tidak jelas.                                                              | Degenerasi bengkak keruh +, degenerasi hidrofik +, lumen sel tidak jelas.                                                              |
| Sedang            | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tidak jelas.                                              | Degenerasi bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik ++, perlemakan +, lumen sel tidak jelas.                                              |
| Berat             | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. |

**Tabel 4.** Tingkat kerusakan hepatosit

| Tingkat kerusakan | Keterangan                                                             |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Normal            | Hepar normal                                                           |
| Sangat ringan     | Bengkak keruh +                                                        |
| Ringan            | Bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik +, nekrosis +                    |
| Sedang            | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++              |
| Berat             | Degenerasi hidrofik +++, Degenerasi lemak +++, nekrosis +++, hiperemia |

**Tabel 5.** Tingkat kerusakan hepatosit paska perlakuan dengan menggunakan akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan                                                             |
|--------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | Normal            | Secara umum hepatosit normal                                           |
| Kontrol negatif    | Berat             | Degenerasi hidrofik +++, Degenerasi lemak +++, nekrosis +++, hiperemia |
| Perlakuan 1        | Sedang            | Degenerasi hidrofik +++, degenerasi lemak ++, nekrosis ++              |
| Perlakuan 2        | Ringan            | Bengkak keruh ++, degenerasi hidrofik +, nekrosis +                    |
| Perlakuan 3        | Sangat ringan     | Degenerasi hidrofik +                                                  |

Keterangan Tabel 2-5: \_ : normal, +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang, ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang, +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang (Mitchel dalam Gufron, 2001).

beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikans 5% (*computerized*).

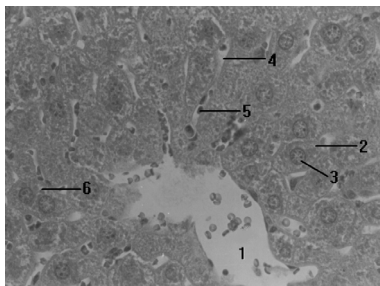
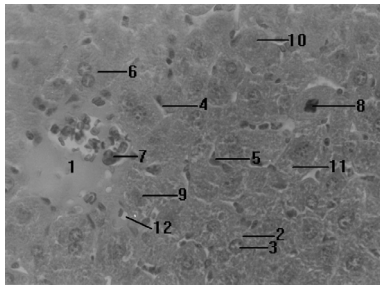
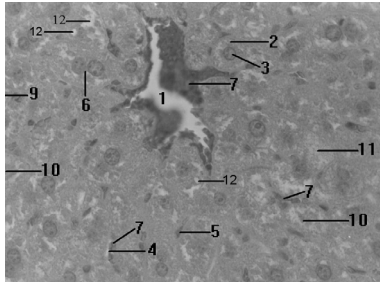
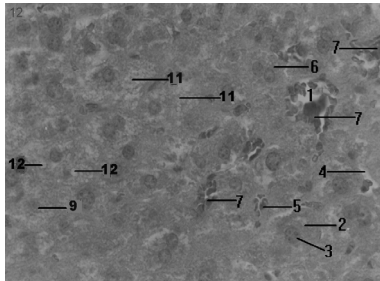
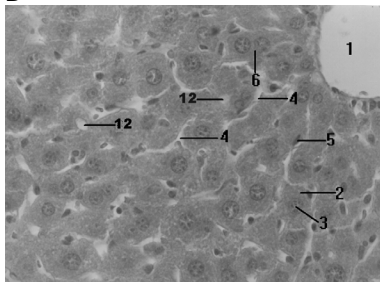
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hepar sebagai Organ Sasaran Efek Toksik Pb.

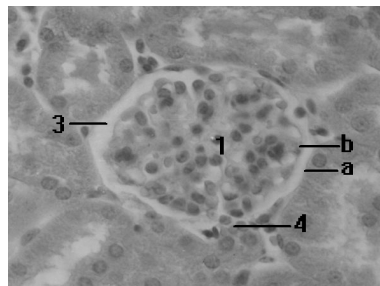
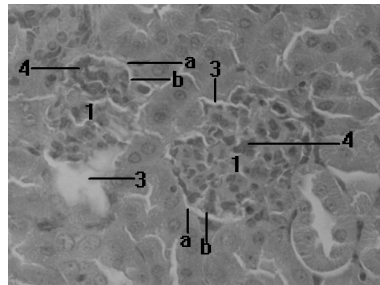
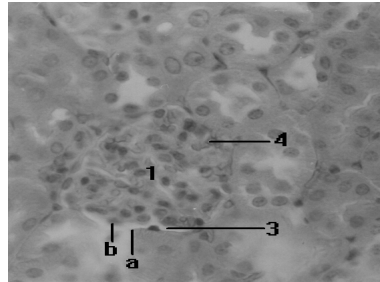
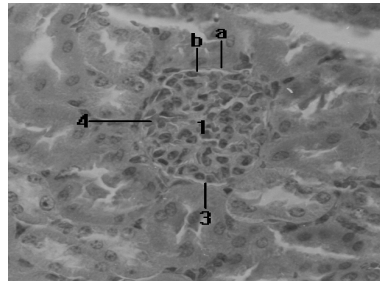
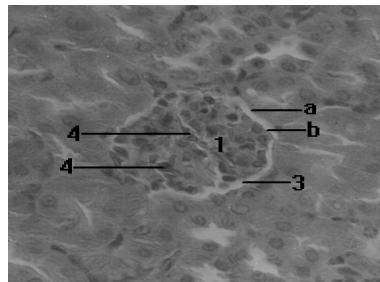
Sejumlah kecil dari Pb yang diabsorpsi lewat saluran pencernaan akan masuk ke dalam sirkulasi darah untuk kemudian didistribusikan ke berbagai organ di seluruh tubuh. Sekitar 90% Pb yang ada di sirkulasi darah berikatan dengan sel darah merah, dan sisanya berikatan dengan protein plasma (WHO, 1980; Osweiler *et al.*, 1985). Pb yang terikat pada permukaan sel darah merah akan didistribusikan dan terakumulasi di berbagai jaringan, salah satunya adalah hepar, yaitu melalui vena porta hepar. Berdasarkan pengamatan terhadap struktur mikroanatomi hepar dalam bentuk irisan penampang melintang dengan

perbesaran 400x diperoleh data kerusakan hepatosit, untuk kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakannya (Tabel 5).

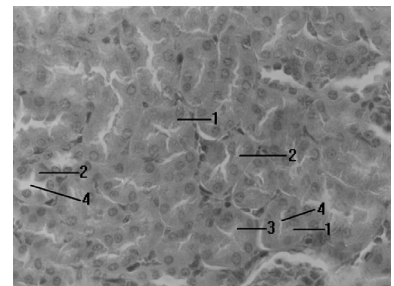
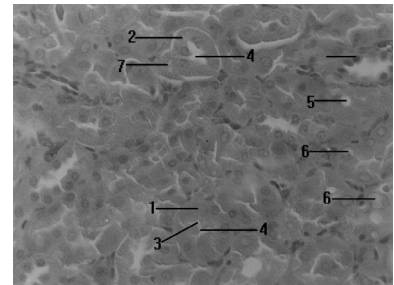
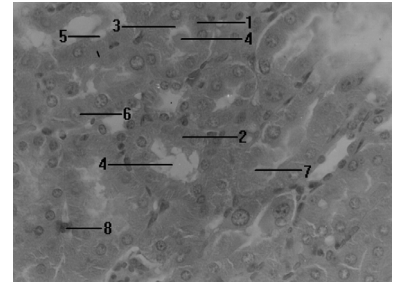
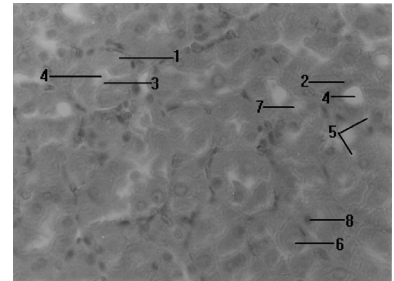
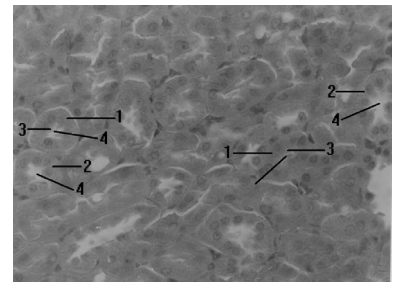
Perubahan yang terjadi pada membran sel mencerminkan gangguan pengaturan ion dan volume yang disebabkan oleh kehilangan ATP. Gangguan pada membran sel yang bersifat terus-menerus akan menimbulkan robekan pada membran sel dan membran organela. Hal ini menyebabkan  $\text{Na}^+$  yang masuk ke dalam sel berlebih dan diikuti oleh pembengkakan mitokondria karena pergeseran ion yang terjadi pada bagian dalam sel. Mitokondria yang mengalami tekanan akan berakibat pada gangguan dalam proses fosforilasi pernafasan oksidatif dalam mitokondria (Plaa, 1986). Kegagalan dalam pengikatan energi akibat terganggunya mitokondria akan menyebabkan sel kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida akibatnya terjadi akumulasi lemak yang dikenal sebagai degenerasi lemak.

**A****B****C****D****E**

**Gambar 1.** Penampang melintang hepar (vena sentralis & hepatosit) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Vena sentralis, 2. Hepatosit, 3. Inti hepatosit, 4. Sinusoid, 5. Sel kupffer, 6. Hepatosit inti 2, 7. Butir eritrosit, 8. piknosis, 9. karioreksis, 10. kariolisis, 11. degenerasi lemak, 12. degenerasi hidrofik, Perbesaran: 400x, Pewarnaan: HE.

**A****B****C****D****E**

**Gambar 10.** Penampang melintang korteks ren (glomerulus) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Glomerulus, 2. Kapsula Bowman: a. Lapis parietal, b. Lapis visceral, 3. Ruang Bowman, 4. Butir-butir eritrosit. Perbesaran: 400x. Pewarnaan: HE.

**A****B****C****D****E**

**Gambar 15.** Penampang melintang korteks ren (tubulus) mencit kelompok: A. kontrol plasebo, B. kontrol negatif, C. perlakuan 1, D. Perlakuan 2, E. perlakuan 3. Keterangan: 1. Tubulus kontortus proksimal, 2. Tubulus kontortus distal, 3. Brush border, 4. Lumen, 5. Degenerasi hidrofik, 6. Bengkak keruh, 7. Karioreksis, 8. Piknosis, Perbesaran: 400x, Pewarnaan: HE.

Degenerasi lemak bersifat *reversible*, merupakan awal terjadinya nekrosis. Nekrosis merupakan perubahan morfologi atau struktur sel yang sifatnya *irreversible*. Menurut Himawan (1996), penyebab nekrosis ialah rusaknya susunan enzim di dalam sel. Timbal mampu menghambat aktivitas enzim seperti pada retikulum endoplasma dan mitokondria. Hal ini menyebabkan reaksi metabolisme sel dapat terhambat dan lama kelamaan sel akan mengalami kematian. Inti yang mengalami piknosis dan kariolisis merupakan tahap awal dari nekrosis.

Degenerasi sel dan nekrosis menyebabkan terjadinya perubahan susunan sel, karena sel yang tidak mampu kembali ke keadaan semula menyebabkan terbentuknya ruang kosong sehingga sinusoid melebar. Pelebaran pembuluh darah dalam hal ini vena sentralis merupakan gangguan sirkulasi yang disebut hiperemia. Hiperemia diduga terjadi karena adanya penyumbatan dalam suatu pembuluh sehingga aliran darah terhambat akibatnya vena sentralis melebar. Hiperemia dapat berlanjut menjadi hemoragi yaitu pecahnya pembuluh darah sehingga darah keluar dari pembuluh dan menyebar ke jaringan di sekitarnya. Pada pengamatan struktur mikroanatomi hepar ditunjukkan oleh adanya butir-butir eritrosit pada vena sentralis dan sinusoid (Gambar 5-8). Untuk membuktikan adanya pelebaran diameter vena sentralis maka dilakukan pengukuran (Tabel 6).

**Tabel 6.** Rata-rata diameter vena sentralis hepar mencit setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/bb/hari mencit dan 3 variasi dosis brokoli secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata diameter vena sentralis $\pm$ SD ( $\mu$ m) |
|--------------------|-------------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | - ,9195 $\pm$ 1.287 <sup>a</sup>                      |
| Kontrol negatif    | - ,7380 $\pm$ 2.596 <sup>c</sup>                      |
| Perlakuan 1        | - ,8120 $\pm$ 2.993 <sup>b</sup>                      |
| Perlakuan 2        | - ,8134 $\pm$ 1.701 <sup>b</sup>                      |
| Perlakuan 3        | - ,8949 $\pm$ 1.355 <sup>a</sup>                      |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Analisis data untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak brokoli terhadap struktur mikroanatomi hepar setelah pemberian Pb asetat secara oral menunjukkan perbedaan pada data kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif pada perlakuan 3, hepatosit masih menunjukkan kerusakan, meski pada tingkat sangat ringan, sedang secara kuantitatif diameter vena sentralisnya tidak menunjukkan beda nyata dengan kontrol plasebo, hepatositnya tersusun normal dan tidak mengalami kerusakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa brokoli mempunyai efek memperbaiki kerusakan. Hal ini juga terlihat pada kontrol negatif dan perlakuan 1, secara kuantitatif perlakuan 1 identik dengan perlakuan 2, tetapi tingkat kerusakan hepatosit pada perlakuan 1 tergolong tingkat sedang. Kelompok perlakuan 2

secara kualitatif menunjukkan tingkat kerusakan ringan.

*Ren sebagai organ sasaran efek toksik Pb.*

Menurut Stine dan Brown (1996), induksi toksikan dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan pada ren, hal ini terjadi karena beberapa faktor: (i) Aliran darah yang menuju ke ren cukup besar (25% dari *out put* jantung) sehingga darah yang mengandung toksikan kemudian dikirim ke ren dalam jumlah besar. (ii) Toksikan yang tidak direabsorpsi akan tetap tertinggal sebagai filtrat dengan konsentrasi yang meningkat. (iii) Apabila toksikan tereabsorpsi kemungkinan akan tetap tertinggal dalam sel-sel tubulus.

### Glomerulus

Glomerus menjalankan fungsinya sebagai tempat filtrasi zat-zat dari sistem peredaran darah. Glomerulus merupakan suatu jaringan yang berasal dari arteriol afferen, suatu cabang dari arteri ren. Kapiler glomerulus mempunyai pori-pori yang besar (70 nm), beberapa zat dengan bobot molekul di bawah 60.000 dapat disaring masuk dalam kapsula Bowman. Darah memasuki glomerulus bertekanan sekitar 60 mmHg dan diatur oleh sel khusus dari arteriol afferen yang disebut sel juxtaglomerular. Tekanan tersebut mendorong cairan darah keluar dari pori-pori melalui membran dasar dan melewati arteriol afferen untuk difiltrasi di antara podosit (sel penyusun lapisan visceral simpai Bowman) (Junquiera *et al.*, 1998; Burkitt, 1995).

Berdasarkan pengamatan struktur mikroanatomi glomerulus pada masing-masing kelompok perlakuan diperoleh data kerusakan glomerulus yang meliputi pembengkakan glomerulus, penyempitan ruang kapsuler dan keberadaan butir-butir eritrosit yang kemudian diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan tersebut (Tabel 7).

**Tabel 7.** Tingkat kerusakan glomerulus setelah pemberian akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan                                                                         |
|--------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | Normal            | Normal, inti terlihat jelas, bentuk membulat                                       |
| Kontrol negatif    | Sedang            | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++. |
| Perlakuan 1        | Sedang            | Pembesaran glomerulus ++, penyempitan ruang kapsuler ++, butir-butir eritrosit ++. |
| Perlakuan 2        | Ringan            | Pembesaran glomerulus +, penyempitan ruang kapsuler +, butir-butir eritrosit +.    |
| Perlakuan 3        | Normal            | Normal, inti terlihat jelas, bentuk membulat                                       |

Keterangan: \_ : normal, +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang, ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang, +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang (Mitchel dalam Gufron, 2001).

Untuk membuktikan pengaruh dari tiap perlakuan (Pb asetat dan brokoli) terhadap diameter glomerulus dilakukan pengukuran (Tabel 8).

**Tabel 8.** Rata-rata diameter glomerulus setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli secara oral.

| Kelompok Perlakuan | Rata-rata diameter glomerulus $\pm$ SD ( $\mu$ m) |
|--------------------|---------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | 20,875 $\pm$ 0.750 <sup>a</sup>                   |
| Kontrol negatif    | 25,187 $\pm$ 0.826 <sup>b</sup>                   |
| Perlakuan 1        | 24,000 $\pm$ 1.594 <sup>b</sup>                   |
| Perlakuan 2        | 22,125 $\pm$ 0.854 <sup>a</sup>                   |
| Perlakuan 3        | 20,562 $\pm$ 1.328 <sup>a</sup>                   |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Peningkatan diameter glomerulus terjadi akibat adanya interaksi antara Pb dan pembuluh darah sehingga mengakibatkan adanya vasodilatasi pembuluh darah. Vasodilatasi ini menyebabkan membesarnya anyaman kapiler glomerulus, sehingga diameternya bertambah (Shurlan, 1999).

Pembengkakan pada glomerulus akan mengakibatkan aliran darah menjadi terganggu, sehingga sel darah merah dapat terjebak dalam kapiler darah. Sirkulasi darah menjadi tidak lancar karena gangguan pada kapiler darah, darah akan terkumpul dalam kapiler dan menyebabkan tekanan dinding kapiler naik. Jika hal ini terus berlangsung dinding kapiler akan pecah, sehingga sel-sel darah seperti eritrosit akan memasuki jaringan. Menurut Himawan keadaan ini disebut dengan hiperemia yaitu suatu keadaan di daerah tertentu terdapat darah yang berlebihan pada pembuluh darah.

Tingkat kerusakan glomerulus secara kualitatif hampir sama dengan perubahan diameternya untuk masing-masing kelompok perlakuan. Perbedaan yang terlihat hanya pada kelompok 2. Pada tingkat kerusakan ringan (kelompok 2) hanya dibedakan banyak sedikitnya butir eritrosit dengan tingkat kerusakan sedang yang terjadi pada kontrol negatif dan perlakuan .

### Tubulus kontortus proksimal

Timbal difiltrasi oleh glomerulus dan dapat direabsorpsi oleh sel epitel tubulus. Hal ini menyebabkan sel tubulus kontortus proksimalis paling banyak mengalami kerusakan. Husein dan Trihono (1996) menyebutkan bahwa kerusakan oleh Pb mengenai hampir semua struktur subseluler seperti membran plasma mitokondria, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel (pembentukan *intranuclear inclusions body*). *Intranuclear inclusions body* merupakan kompleks protein sulfidril-timbal yang terbentuk oleh mekanisme proteksi. Menurut Darmono (1995), dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk dapat mengeliminasi *intranuclear inclusions body*.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap struktur mikroanatomi ren (tubulus) dalam bentuk irisan penampang melintang, diperoleh data kerusakan pada sel tubulus proksimal dan distal, untuk

kemudian diklasifikasikan tingkat kerusakannya (Tabel 9).

**Tabel 9.** Tingkat kerusakan tubulus kontortus proksimal ren setelah pemberian akuades, Pb asetat 0,52 mg/g bb/hari dan 3 variasi dosis brokoli.

| Kelompok perlakuan | Tingkat kerusakan | Keterangan                                                                                                                             |
|--------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | Normal            | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas.                                                                                        |
| Kontrol negatif    | Berat             | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas. |
| Perlakuan 1        | Berat             | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, ada sel yang nekrosis, lumen tidak jelas.                        |
| Perlakuan 2        | Berat             | Degenerasi bengkak keruh +++, degenerasi hidrofik +++, perlemakan ++, lumen sel tidak jelas. ada sel yang nekrosis.                    |
| Perlakuan 3        | Normal            | Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen jelas.                                                                                        |

Keterangan: +: kerusakan sel mencapai 25% dalam satu bidang pandang; ++: kerusakan sel mencapai 50% dalam satu bidang pandang; +++: kerusakan sel mencapai 75% dalam satu bidang pandang.

Untuk mengetahui dampak kerusakan pada sel epitel tubulus terhadap tinggi epitel tubulus tersebut, maka dilakukan pengukuran terhadap tinggi epitel tubulus kontortus proksimal (Tabel 10).

**Tabel 10.** Rata-rata tinggi epitel tubulus proksimalis setelah perlakuan menggunakan akuades, Pb asetat dosis 0,52 mg/g bb/hari mencit dan 3 variasi dosis brokoli secara oral.

| Kelompok perlakuan | Rata-rata tinggi epitel tubulus proksimalis $\pm$ SD ( $\mu$ m) |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Kontrol plasebo    | 5,250 $\pm$ 0.289 <sup>a</sup>                                  |
| Kontrol negatif    | 6,375 $\pm$ 0.144 <sup>b</sup>                                  |
| Perlakuan 1        | 5,500 $\pm$ 0.204 <sup>a</sup>                                  |
| Perlakuan 2        | 5,375 $\pm$ 0.323 <sup>a</sup>                                  |
| Perlakuan 3        | 5,312 $\pm$ 0.125 <sup>a</sup>                                  |

Keterangan: huruf yang sama di belakang angka dalam 1 kolom menunjukkan tidak berbeda nyata.

Tinggi epitel tubulus kontortus proksimalis untuk kontrol plasebo, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 setelah dianalisis dengan uji DMRT pada taraf signifikansi 5% tidak menunjukkan beda nyata dengan kata lain identik. Beda nyata hanya ditunjukkan oleh kontrol negatif, terbukti bahwa pemberian Pb asetat sangat mempengaruhi tinggi epitel tubulus proksimalis.

Kecenderungan perubahan epitel tubulus kontortus proksimalis dengan menggunakan Pb asetat terjadi akibat adanya degenerasi sel penyusun tubulus tersebut yang berupa pembengkakan sel-sel epitel karena tidak

berfungsinya pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Menurut Himawan (1996) kenaikan konsentrasi  $\text{Na}^+$  di dalam sel menyebabkan influx air yang berlebihan dan sel-sel membengkak, pembengkakan kemungkinan terjadi di mitokondria dan retikulum endoplasma.

Hasil analisis data kualitatif berbeda dengan data kuantitatif. Pada penampang melintang tubulus ren bagian korteks, tingkat kerusakan berat ditunjukkan oleh kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan kontrol negatif. Sedangkan kelompok perlakuan 3 menunjukkan struktur normal sama halnya dengan kontrol plasebo. Data kualitatif diperoleh dengan mengklasifikasikan kerusakan-kerusakan yang terjadi pada sel-sel tubulus baik proksimal maupun distal.

#### *Pengaruh ekstrak brokoli pada proses regenerasi hepatosit dan ren*

Proses perbaikan struktur jaringan setelah keadaan patologi dapat dikarakterisasi melalui dua mekanisme yaitu perbaikan bagian yang rusak (*regeneration*) atau penggantian dengan jaringan yang baru (*repair*) (Minckler *et al.*, 1971).

Regenerasi hepatosit dan sel epitel tubulus proksimalis terlihat pada kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak brokoli dengan dosis paling tinggi, di duga proses regenerasi tersebut dibantu oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak brokoli. Sayuran kelompok kubis-kubisan (*Cruciferae*), terutama brokoli mengandung beberapa senyawa, diantaranya glukobrasisin (glukosinolat indol). Glukobrasisin merupakan glukosinolat indol yang banyak ditemukan dalam familia *Brassicaceae*. Glukobrasisin mengalami hidrolisis bertahap secara kimiawi dan enzimatis (enzim *myrosinase*) menghasilkan senyawa indol dan lebih lanjut dapat meningkatkan aktivitas enzim oksidase fungsi campur atau sitokrom P-450, tergantung monooksigenase, glutathion S-transferase atau epoksi hidrolase (Nugroho, 2002).

Kelompok sitokrom P-450 sebagian besar merupakan enzim yang terlibat dalam proses detoksifikasi. Enzim ini terdapat pada selaput retikulum endoplasma agranular (REA). Senyawa-senyawa yang berbahaya dan bersifat racun dapat diubah menjadi tidak berbahaya. Pengubahan atau proses detoksifikasi ini berlangsung sebagian besar di hepar, tetapi juga dapat terjadi di intestinum, ren, pulmo dan kulit. Kadar sitokrom P-450 paling tinggi pada hepar terdapat di daerah sentrolobular, sedang pada ren terdapat di tubulus proksimalis (Lu, 1995). Sitoplasma podosit (sel penyusun lapisan viseral simpai Bowman) mengandung REA, dimungkinkan pada selaputnya terdapat enzim sitokrom P-450.

Proses detoksifikasi pertama terjadi pada organ hepar. Enzim fase I yang di produksi oleh hepar, berperan di dalam pengubahan prokarsinogen yang masuk ke dalam tubuh menjadi senyawa karsinogen yang dapat merusak sel, dan juga mengubah senyawa tertentu yang stabil secara kimia menjadi metabolit yang reaktif secara kimia. Reaksi ini biasanya dikatalisis oleh sistem monooksigenase

yang bergantung pada sitokrom P-450. Enzim fase II yang juga dihasilkan oleh hepar berfungsi mendetoksifikasi senyawa yang dihasilkan pada fase I dan mengangkutnya keluar sel. Apabila proses yang terjadi pada fase I berhasil tetapi pada fase II tidak, hal ini akan mengakibatkan peningkatan potensial karsinogen di dalam sel (Conant, 2002; Lu, 1995).

Mekanisme utama kemopreventif kerusakan sel oleh senyawa-senyawa yang terkandung dalam brokoli dijelaskan melalui dua cara penurunan karsinogenitas yang dilakukan oleh kedua enzim tersebut yaitu memblok aktivitas pembentukan metabolit karsinogen dan meningkatkan detoksifikasi karsinogen. Senyawa isotiosianat diketahui mampu berperan pada langkah pertama dan kedua. Paul Talalay, farmakologis dari John Hopkins menegaskan bahwa sulforafan yang terdapat pada brokoli diketahui mampu meningkatkan produksi enzim fase II di dalam hepar (Yulianto, 2003)

Bahan-bahan karsinogen dan senyawa toksik lainnya yang tereliminasi oleh hepar akan terbawa aliran darah keluar dari hepar dan sampai pada kapiler-kapiler glomerulus serta daerah tubulus ren (tubulus kontortus proksimalis). Adanya REA pada sitoplasma podosit dan sel epitel tubulus kontortus proksimal memungkinkan terjadinya bioaktivasi kembali oleh sitokrom P-450. Dalam hal ini diduga terjadi proses detoksifikasi yang sama seperti pada organ hepar dan kerja senyawa indol yang terkandung pada brokoli di dalam proses tersebut.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak brokoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) pada dosis 3,5 mg/g bb/hari selama 15 hari dapat membantu proses perbaikan struktur jaringan baik pada hepar yaitu: hepatosit, maupun ren yaitu: glomerulus dan sel epitel tubulus proksimalis mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi oleh Pb asetat. Pemberian ekstrak brokoli dengan dosis 2,8 mg/g bb/hari dan 2,1 mg/g bb/hari selama 15 hari tidak mampu memperbaiki sel yang telah rusak menggunakan zat toksikan Pb asetat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriadi. 2001. *Menimbang Keunggulan Sayuran Daun*. [www.ekafood.com/sayuran.htm](http://www.ekafood.com/sayuran.htm)
- Burkitt, H.G. 1995. *Histologi Fungsional*. Penerjemah: Tambalong, J. Jakarta: EGC.
- Conant, R. 2002. *Sulforaphane Stimulates the Body's Cancer-Fighting Enzymes Secret Weapon Against Cancer Found in Broccoli Sprouts*. [www.route2health.com/cancer/Broccoli.html](http://www.route2health.com/cancer/Broccoli.html)
- Darmono. 1995. *Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta: UI Press.

- Donatus, I.A. 1999. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi.
- Gufron, M. 2001. Gambaran Struktur Histologi Hepar dan Ren Mencit setelah Perlakuan Infus Akar Rimpang Jahe (**Zingiber officinale**) dengan Dosis Bertingkat. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 9 (1): 72-88.
- Hariono, B. 1991. Dampak polusi timah hitam (Pb) pada kesehatan lingkungan. *Buletin FKH-UGM* 10 (1): 35-45.
- Himawan, S. 1996. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: UI Press.
- Husein, A.T.T. dan Trihono. 1996. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Jilid 2. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia.
- Jed, W.F., Z. Yuesheng, and T. Paul. 1997. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogen. *Medical Science* 94: 10367-10372.
- Junquiera, L.C., Carnerio, and R.O. Kelley. 1997. *Histologi Dasar*. Penerjemah: Tambalong, J. Jakarta: EGC.
- Katzung, B.G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: EGC.
- Klaasen, C.D. 1985. *Heavy Metals Antagonist in Pharmacological Basic of Therapeutik*. New York: Mac Millan Publishing Company
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Penerjemah: Nugroho, E. Edisi 2. Jakarta: UI Press.
- Minckler, J., H.M. Anstall dan T.M. Minckler 1971. *Pathology and Introduction*. London: The CV Mosby Co.
- Nugroho, A.E. 2002. Uji efek hipoglikemik perasan brokoli (**Brassica oleracea** var **botrytis** L.) pada tikus putih jantan galur sprague dawly. *Majalah Obat Tradisional*. 7 (20): 7-13.
- Osweiler, G.D., T.L. Carson, W.B. Buck, and G.W. Gelder. 1985. *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology*. 3<sup>rd</sup> ed. Iowa: Publishing Company Dubuque.
- Plaa, G.L. 1986. *Toxicology the Basic Science of Poisons*. New York: Macmillan Publishing Company.
- Santoso, E.B., B. Hariono, I. Tjahjati, B. Sutrisno, dan S. Widyarini. 1995. Pengaruh pemberian senyawa Pb asetat terhadap kadar Pb dan Mg tulang burung merpati (**Columba livia**). *Buletin FKH-UGM* 14 (2): 29-35.
- Shurlan, V.P. 1999. *Seaweed (Alginat) Orthopaedics, Sport Medicines, and Rehabilitation*. Pasific Standard Distributors Inc. [www.stopcancer.com/seewed.htm](http://www.stopcancer.com/seewed.htm).
- Stine, K.E. dan T.M. Brown. 1996. *Principles of Toxicology*. New York: Lewis Publishers.
- Suntoro, H.S. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.
- Thomas, C. and G.W. Richter. 1984. *Sandritter's Color Atlas and Text Book of Histopathology*. 7th edition. Chicago: Year Book Medical Publ. Inc.
- WHO (World Health Organization). 1980. *Recommended Health-Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals*. Geneva: WHO Technical Report Series.
- Yulianto, W.A. 2003. *Kubis sebagai Kemoprotektif Kanker*. [www.sinarharapan.co.id/ipetek/kesehatan/2005/0304/kes1.html](http://www.sinarharapan.co.id/ipetek/kesehatan/2005/0304/kes1.html).

## Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap Kualitas Fillet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) selama Penyimpanan Suhu Dingin

### *The effect of Ocimum basilicum L. essential oils toward quality of Oreochromis niloticus fillet in the cold storage*

RIKHAYATI RATIH WIDATI, SURANTO\*, ARTINI PANGASTUTI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 3 Desember 2005. Disetujui: 14 Januari 2006.

**Abstract.** The aims of this research were to study the effect of *Ocimum basilicum* L. essentials oils toward quality of *Oreochromis niloticus* fillet during cold storage by examining in the physical, chemical, and microbiological treatments respectively. The research was conducted using the complete random design of factorial consisting of 2 factors: (i) the variation of *O. basilicum* essential oils treatment, there were without essential oils, 0.025%, 0.05%, and 0.075%; (ii) the duration of fish storage: 0, 3, and 6 days. The observed parameters were: the physical freshness of fish, *total volatile base* (TVB), pH, water value, total plate count and organoleptic test. The data were analyzed by determining treatment effect toward all variable and Duncan's multiple range test (DMRT) on the level 5%. The results showed that based on the physically testing control become deterioration on the third day, while fillet added with *O. basilicum* essential oils become deterioration in six days. Based on TVB test, the control fillet and fillet treated with 0.075% of *O. basilicum* essential oils become deterioration on the day of six. Fillet treated with 0.025% and 0.05% of *O. basilicum* essential oils still fresh in six days. The highest increasing of water value was on the control of fillet. Based on the microbiological test, the addition of *O. basilicum* essential oils reduced the bacterial number, fillet still fresh on the third day

**Key words:** quality, essential oils, cold temperature, *Oreochromis niloticus* fillet.

## PENDAHULUAN

Semua bahan makanan semula merupakan bahan organik, yang mudah mengalami penguraian atau kerusakan oleh mikrobia. Salah satu cara untuk meningkatkan daya simpan (menghambat pertumbuhan mikrobia) adalah dengan penambahan pengawet makanan. Saat ini penggunaan pengawet alami terus dikembangkan, salah satunya dengan rempah-rempah (Ahn *et al.*, 2004). Penambahan rempah-rempah dapat memperpanjang daya simpan makanan, karena adanya aktivitas bakteriostatik atau bakterisidal dari rempah-rempah tersebut (Shareef *et al.*, 2001).

Rempah-rempah akan minyak atsiri dan metabolit sekunder lain yang diyakini mempunyai aktivitas antimikrobia. Penambahan rempah-rempah dalam jumlah tertentu dapat memperpanjang kesegaran ikan selama penyimpanan. Seperti yang telah dilakukan oleh Harpaz *et al* (2003) melakukan percobaan pengawetan ikan dengan penambahan minyak atsiri thyme (*Thymus vulgaris*) dan oregano (*Origanum vulgare*). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa penambahan rempah-rempah dapat memperpanjang kesegaran ikan selama penyimpanan.

Menurut Hadiwiyoto (1993), ikan dan hasil perikanan lainnya mudah sekali rusak. Beberapa jam setelah ikan mati kesegarannya akan menurun

sampai akhirnya busuk. Tingkat kesegaran ikan merupakan parameter utama untuk membedakan ikan yang masih baik (layak dikonsumsi) atau tidak layak dikonsumsi. Tingkat kesegaran ikan dapat dinilai secara fisik, kimia dan mikrobiologi (Koutsoumanis *et al.*, 1999). Ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) karena banyak dikonsumsi, harganya relatif murah, mudah diperoleh. Ikan nila mempunyai arti ekonomis yang cukup penting karena menjadi komoditi ekspor (Suyanto, 1994). Dari data sertifikat ekspor 1999-2001, hasil perikanan ikan nila dalam bentuk utuh maupun *fillet* ditujukan ke negara seperti Amerika, Inggris, Perancis, dan Jerman (Djazuli, 2002).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi. Daun Kemangi biasa digunakan sebagai pelengkap makanan atau bahan lalap, selebihnya daun kemangi belum banyak dimanfaatkan. Daun kemangi mengandung cineol (Manuputty dkk., 1990) dan linalool yang diketahui mempunyai aktivitas anti bakteri dan antifungal (El gayyar *et al.*, 2001).

Selain penggunaan bahan aditif makanan, salah satu cara pengawetan ikan adalah dengan penyimpanan pada suhu dingin. Suhu dingin atau rendah dapat menghambat reaksi kimia serta dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikrobia

merugikan dalam tubuh ikan, tanpa harus mengurangi penampilan fisik ikan (Frazier dan Westhoff, 1978). Kombinasi pengawetan ikan dengan penambahan bahan aditif dan penyimpanan dalam suhu dingin diharapkan lebih meningkatkan keawetan dan kesegaran ikan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap kualitas fillet ikan nila (*Oreochromis niloticus*) selama penyimpanan suhu dingin ditinjau dari uji fisik, kimiawi, mikrobiologis, dan organoleptik.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: ikan nila (*Oreochromis niloticus*), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.), asam borat, alkohol 96%, alkohol 70%, NaOH, *bromocresol-green*, *methylred*, HCL, asam trikloro asetat,  $K_2CO_3$ , vaselin, *Plate Count Agar* (PCA), dan akuades.

**Ekstraksi minyak atsiri daun kemangi.** Daun kemangi dipetik pada saat tanaman berbunga untuk menyeragamkan pengambilan sampel daun. Daun kemangi sebanyak 200 g dimasukkan dalam labu penyulingan dan diisi air  $\frac{3}{4}$  bagian dari labu (500 mL). Kemudian labu yang telah terisi air dan daun kemangi dipanaskan di atas kompor listrik (pemanas) pada suhu  $\pm 80^\circ C$  hingga penyulingan berlangsung secara lambat dan teratur dan minyak atsiri menguap sempurna (Guenther, 1987).

**Pengolahan ikan.** Ikan nila dibeli dalam keadaan hidup dengan berat 300-500 g per ekor. Ikan segera dibersihkan, isi perut dan insang dikeluarkan dengan cara membelah perut ikan. Setelah itu ikan dicuci hingga bersih dengan air mengalir agar darah yang menempel di tubuh ikan hilang. Ikan yang telah dicuci dibuat *fillet*, yaitu sayatan daging tanpa tulang dan kulit.

**Perlakuan.** *Fillet* ikan dibagi menjadi empat kelompok dan diletakkan pada styrofoam. Kelompok pertama sebagai kontrol, *fillet* ikan tanpa perlakuan. Kelompok kedua, hingga ke empat, masing-masing *fillet* ikan ditambahkan 0,025%; 0,05%; 0,075% (v/v) minyak atsiri kemangi sebanyak  $\pm 3$  mL untuk setiap *fillet* ikan. Kemudian semua kelompok *fillet* ikan dibungkus dengan menggunakan plastik *wrap* dan disimpan dalam suhu  $5^\circ C$ .

**Uji fisik.** Pengamatan secara fisik meliputi perubahan warna, lendir, bau, dan keadaan daging ikan. Daging ikan segar memiliki ciri-ciri sebagai berikut: warna terang, lendir bening atau tidak ada lendir, bau segar, daging kenyal. Sedangkan untuk daging ikan yang busuk ciri-cirinya sebagai berikut: warna pudar, lendir kelabu, bau busuk, daging lembek atau lembek (Murniyati dan Sunarman, 2000).

**Uji total volatile base (TVB).** Uji TVB dilakukan untuk menghitung kadar basa-basa volatil yang terkandung dalam daging ikan. Prosedur uji TVB yang digunakan oleh Santoso (1999) adalah sebagai berikut: Sampel daging ikan sebanyak 25 g

dimasukkan ke dalam blender dan ditambah 75 mL larutan 7% asam trikloro asetat, kemudian sampel ikan diblender selama 1 menit. Larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring sehingga filtrat yang diperoleh jernih. Satu mL larutan filtrat dimasukkan ke dalam *outer chamber* dan 1 mL asam borat dimasukkan ke dalam *inner chamber*. Tutup cawan Conway diposisikan hampir menutup, kemudian ditambahkan 1 mL  $K_2CO_3$  jenuh ke dalam *outer chamber* dan cawan Conway segera ditutup. Sebelumnya bagian pinggir cawan Conway diolesi vaselin sehingga cawan Conway dapat ditutup rapat. Selanjutnya cawan Conway digoyang perlahan-lahan selama 1 menit dan diinkubasi selama satu malam ( $\pm 12$  jam) pada suhu kamar. Di samping itu, dibuat blanko dengan cara mengganti sampel ikan dengan larutan asam trikloro asetat 5% dan dilakukan prosedur seperti di atas. Setelah inkubasi, blanko dan sampel dititrasikan dengan larutan 1/70 N HCL hingga warna larutan asam borat menjadi merah muda (pink).

Perhitungan: Kadar TVB = (mL titrasi sampel - mL titrasi blanko)  $\times 80$  mg N/100 g daging ikan.

**Uji kadar air.** Prosedur uji kadar air menurut Santoso (1999) adalah sebagai berikut: Botol timbang yang bersih beserta tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu  $102-105^\circ C$  selama 10-12 jam. Botol timbang dikeluarkan dari oven kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit atau sampai dingin. Botol ditimbang dan dicatat beratnya. Sampel daging ikan sebanyak 1-4 g dimasukkan ke dalam botol timbang dan dikeringkan dalam oven pada suhu  $102-105^\circ C$ . Pengeringan dalam oven dilakukan sampai dicapai berat konstan pada penimbangan setelah dikeringkan dalam desikator.

Perhitungan: Kadar air =  $\frac{A - B}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$

A = Berat botol timbang dan sampel sebelum dikeringkan

B = Berat botol timbang dan sampel setelah dikeringkan

**Uji pH.** Penentuan nilai pH menurut Santoso (1999) sebagai berikut: Sampel daging ikan sebanyak 20 g dimasukkan ke dalam blender dan ditambahkan 40 mL akuades, kemudian sampel diblender selama 1 menit pada putaran cepat. Campuran tersebut dituangkan ke dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian diukur pHnya dengan menggunakan pH meter.

**Uji total bakteri mesofil aerob.** Prosedur penghitungan jumlah total bakteri mesofil aerob yang mengacu pada Fardiaz (1993), yaitu: Satu gram sampel ikan yang telah diblender dimasukkan ke dalam 9 mL akuades. Pengenceran dibuat bertingkat yaitu  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ . Masing-masing pengenceran diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri, dan medium PCA dituangkan ke dalam cawan petri tersebut. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^\circ C$ . Jumlah koloni yang dihitung menurut *standart plate count* yaitu antara 30-300 koloni pada setiap cawan petri.

**Uji organoleptik.** Prosedur uji organoleptik menurut Kartika (1998) dilakukan dengan meminta panelis tidak terlatih yang berjumlah 25 orang untuk mengemukakan tiga penilaian bau, rasa dan warna pada *fillet* ikan nila. Skala penilaian yang digunakan dalam uji organoleptik ini antara 1 sampai 7, yaitu:

- 1: Sangat tidak suka
- 2: Tidak suka
- 3: Agak tidak suka
- 4: Biasa
- 5: Agak suka
- 6: Suka
- 7: Sangat suka

**Analisis data.** Untuk menguji pengaruh perlakuan terhadap variabel pengamatan maka data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (uji F). Untuk mengetahui beda rata-rata pengaruh perlakuan dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Hasil uji fisik.** Pada penelitian ini *fillet* ikan nila pada hari ke-0, baik perlakuan kontrol maupun perlakuan dengan penambahan minyak atsiri kemangi, menunjukkan bahwa *fillet* dalam keadaan segar atau baik. Hal ini disajikan dari ciri-ciri fisik yang tampak, yaitu warna *fillet* putih terang dengan bagian di sekitar *septum horizontale* berwarna merah cerah, daging *fillet* tidak berlendir, bau segar, dan daging padat atau kenyal. Kondisi ini disebabkan belum terjadinya perubahan-perubahan biokimiawi.

Pada hari ke-3, untuk *fillet* kontrol tingkat kesegarannya mulai berkurang, sedang *fillet* yang diberi perlakuan dengan penambahan minyak atsiri kemangi memperlihatkan keadaan yang masih segar. Pada hari ke-6, semua perlakuan memperlihatkan ciri-ciri daging sudah tidak segar. *Fillet* tersebut dikategorikan tidak segar berdasarkan ciri-ciri yang tampak, yaitu warna *fillet* tidak lagi putih tetapi menjadi putih kelabu bahkan kekuning-kuningan, lendir keruh, bau busuk, dan daging lunak atau lembek.

Berdasarkan pengujian secara fisik, dapat diketahui bahwa perlakuan pemberian minyak atsiri kemangi dapat mempertahankan kesegaran *fillet* ikan nila lebih lama dibanding kontrol. Hal ini sehubungan dengan kandungan senyawa yang terdapat dalam minyak atsiri kemangi, antara lain ceneol dan linalool. Adanya senyawa ini diduga dapat menghambat kerja enzim dan mikrobia yang bersifat merugikan.

Meskipun minyak atsiri kemangi terbukti mampu mempertahankan kesegaran *fillet* ikan nila, namun penambahan minyak atsiri kemangi tidak cukup untuk menghambat proses kerusakan secara menyeluruh. Penambahan minyak atsiri kemangi dapat meningkatkan fungsinya dalam memperpanjang kesegaran *fillet* ikan nila, jika disertai dengan penyimpanan pada suhu dingin.

**Nilai total volatil bases (TVB).** Hasil pengukuran kadar TVB disajikan pada Tabel 1. Analisis statistik menunjukkan kadar TVB yang dihasilkan pada perlakuan kontrol dan pemberian minyak atsiri kemangi berbeda nyata. Selama penyimpanan dari hari ke-0 hingga hari ke-6 terjadi peningkatan kadar TVB.

Ikan dikategorikan masih segar apabila kadar TVB di bawah 30 mgN% (Ben-gigirey *et al.*, 1999). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *fillet* kontrol dan *fillet* yang diberi penambahan minyak atsiri kemangi sebesar 0,075% berdasarkan kadar TVB-nya dikategorikan busuk pada hari ke-6 karena kadar TVB-nya telah melebihi 30 mgN%. Untuk *fillet* yang diberi penambahan minyak atsiri kemangi 0,025% dan 0,05% hingga akhir pengamatan (hari ke-6) berdasarkan kadar TVB-nya belum dinyatakan rusak, karena belum melebihi 30 mgN%.

Kenaikan kadar TVB erat kaitannya dengan aktivitas mikrobia yang terdapat dalam daging ikan. Semakin tinggi aktivitas mikrobia, kadar TVB juga akan semakin meningkat. Hal ini disajikan pada *fillet* kontrol, kadar TVB-nya jauh lebih tinggi dibanding *fillet* dengan perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi. Senyawa-senyawa kompleks pada *fillet* kontrol terus menerus didegradasi oleh mikrobia karena tidak adanya senyawa penghambat laju pertumbuhan mikrobia. Akibatnya, pembentukan basa volatil terus berlangsung. Sementara *fillet* dengan penambahan minyak atsiri kemangi, kenaikan TVB lebih lambat. Hal ini ada hubungannya dengan senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri kemangi. Kandungan senyawa ceneol dan linalool mampu menghambat pertumbuhan mikrobia, sehingga laju metabolisme terutama proses degradasi yang menghasilkan produk samping seperti senyawa-senyawa basa volatil dapat dihambat, dan kenaikan TVB lebih lambat.

**Kadar air.** Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa adanya perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air *fillet* ikan nila. Hasil pengukuran kadar air terlihat dalam Tabel 2. Peningkatan kadar air pada semua perlakuan sangat berkaitan dengan proses pembusukan yang merupakan akibat dari aktivitas mikrobia. Semakin tinggi kadar air, aktivitas mikrobia terutama bakteri semakin meningkat, karena kebanyakan mikrobia terutama bakteri tumbuh baik pada bahan dengan kadar air tinggi (Tranggono, 1991). Pada saat ikan mengalami fase rigor mortis, pH pada tubuh ikan mengalami penurunan yaitu pada waktu pemecahan glikogen dan nukleotida. Hal ini menyebabkan kelarutan dan sifat mengikat air dari protein dalam otot menurun hingga penyimpanan air atau *water retention* dari otot ikan menurun pula (Rahayu dkk., 1981).

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa peningkatan kadar air terbesar pada perlakuan kontrol. Sedangkan pada perlakuan dengan penambahan minyak atsiri kemangi kadar air terlihat lebih rendah. Hal ini erat kaitannya dengan senyawa antimikrobia dalam minyak atsiri kemangi

**Tabel 1.** Kadar TVB *fillet* ikan nila pada penambahan minyak atsiri kemangi selama penyimpanan suhu dingin.

| Perlakuan                    | Lama penyimpanan      |                       |                        | Rata-rata             |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
|                              | 0                     | 3                     | 6                      |                       |
| Kontrol                      | 16,3639 <sup>ab</sup> | 23,0995 <sup>bc</sup> | 35,4724 <sup>e</sup>   | 24,9786 <sup>b</sup>  |
| Minyak atsiri kemangi 0,025% | 12,5075 <sup>a</sup>  | 18,3687 <sup>ab</sup> | 27,0565 <sup>cd</sup>  | 19,3109 <sup>a</sup>  |
| Minyak atsiri kemangi 0,05%  | 11,5675 <sup>a</sup>  | 18,5690 <sup>ab</sup> | 28,7941 <sup>cde</sup> | 19,6434 <sup>a</sup>  |
| Minyak atsiri kemangi 0,075% | 13,6928 <sup>a</sup>  | 21,5611 <sup>bc</sup> | 30,5618 <sup>de</sup>  | 21,9386 <sup>ab</sup> |
| Rata-rata                    | 13,5328 <sup>a</sup>  | 19,5555 <sup>b</sup>  | 29,6353 <sup>c</sup>   |                       |

**Tabel 2.** Kadar air *fillet* ikan nila pada perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi selama penyimpanan suhu dingin.

| Perlakuan                    | Lama penyimpanan (hari) |                        |                        | Rata-rata             |
|------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
|                              | 0                       | 3                      | 6                      |                       |
| Kontrol                      | 81,1969 <sup>ab</sup>   | 81,6040 <sup>ab</sup>  | 84,0857 <sup>c</sup>   | 82,2955 <sup>b</sup>  |
| Minyak atsiri kemangi 0,025% | 80,0714 <sup>a</sup>    | 80,2391 <sup>a</sup>   | 81,2647 <sup>ab</sup>  | 80,5251 <sup>a</sup>  |
| Minyak atsiri kemangi 0,05%  | 81,3285 <sup>ab</sup>   | 80,7844 <sup>ab</sup>  | 82,3418 <sup>abc</sup> | 81,4849 <sup>ab</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,075% | 80,8820 <sup>ab</sup>   | 82,0456 <sup>abc</sup> | 82,7085 <sup>bc</sup>  | 81,8870 <sup>b</sup>  |
| Rata-rata                    | 80,8697 <sup>a</sup>    | 81,1758 <sup>a</sup>   | 82,6001 <sup>b</sup>   |                       |

**Tabel 3.** Nilai pH *fillet* ikan nila pada perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi selama penyimpanan suhu dingin.

| Perlakuan                    | Lama penyimpanan (hari) |                       |                       | Rata-rata           |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
|                              | 0                       | 3                     | 6                     |                     |
| Kontrol                      | 6,2733 <sup>a</sup>     | 6,8500 <sup>abc</sup> | 7,0867 <sup>c</sup>   | 6,7367 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,025% | 6,3667 <sup>ab</sup>    | 6,8600 <sup>abc</sup> | 6,9533 <sup>abc</sup> | 6,7267 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,05%  | 6,3700 <sup>ab</sup>    | 6,7600 <sup>abc</sup> | 7,0133 <sup>bc</sup>  | 6,1744 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,075% | 6,4367 <sup>abc</sup>   | 6,8300 <sup>abc</sup> | 7,0600 <sup>bc</sup>  | 6,7756 <sup>a</sup> |
| Rata-rata                    | 6,3617 <sup>a</sup>     | 6,8250 <sup>b</sup>   | 7,0283 <sup>b</sup>   |                     |

**Tabel 4.** Angka log *Total Plate Count fillet* ikan nila pada perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi selama penyimpanan suhu dingin.

| Perlakuan                    | Lama Penyimpanan (hari) |                       |                      | Rata-rata           |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
|                              | 0                       | 3                     | 6                    |                     |
| Kontrol                      | 6,1638 <sup>ab</sup>    | 7,2953 <sup>de</sup>  | 8,2726 <sup>f</sup>  | 7,2439 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,025% | 5,8572 <sup>a</sup>     | 6,8956 <sup>bcd</sup> | 7,9588 <sup>ef</sup> | 6,9039 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,05%  | 6,3020 <sup>abc</sup>   | 7,5139 <sup>def</sup> | 8,1365 <sup>ef</sup> | 7,3174 <sup>a</sup> |
| Minyak atsiri kemangi 0,075% | 6,2497 <sup>abc</sup>   | 7,0528 <sup>cd</sup>  | 8,1489 <sup>ef</sup> | 7,2616 <sup>a</sup> |
| Rata-rata                    | 6,1432 <sup>a</sup>     | 7,2727 <sup>b</sup>   | 8,1292 <sup>c</sup>  |                     |

Keterangan Tabel 1-4: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia penyebab kerusakan komponen daging. Semakin sedikit jumlah bakteri pada daging ikan, kerusakan pada komponen-komponen jaringan daging juga lebih kecil, sehingga kandungan air yang terdapat atau terikat dalam sel-sel daging lebih lama dipertahankan.

**Derajat keasaman (pH).** Hasil pengukuran pH *fillet* ikan nila pada penelitian ini disajikan pada Tabel 3. Pada semua perlakuan, dari awal hingga akhir periode penyimpanan, terlihat adanya kenaikan pH. Kenaikan pH daging sejalan dengan tingkat kerusakan daging ikan terutama berpengaruh pada pertumbuhan mikrobia. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa perlakuan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH *fillet* ikan nila, sedangkan perlakuan

penambahan minyak atsiri kemangi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH *fillet* ikan nila. Peningkatan nilai pH tidak dapat dipisahkan dengan peningkatan kadar TVB. Pada hari ke-6 penyimpanan *fillet* ikan nila pada semua perlakuan terlihat adanya kenaikan nilai TVB, demikian pula dengan nilai pH yang meningkat pada hari ke-6. Lamanya pendinginan atau pembekuan dan rendahnya suhu pendinginan juga mempunyai peranan penting pada perubahan pH daging ikan. Suhu semakin tinggi akan menyebabkan perubahan pH yang cepat (Hadiwiyoto, 1993). Oleh karena itu pada penelitian ini suhu yang digunakan adalah suhu dingin (5°C) sehingga aktivitas mikrobia penyebab pembusukan yang dapat meningkatkan nilai pH dapat terhambat pertumbuhannya.

**Total plate count (TPC).** Hasil perhitungan TPC seperti terlihat pada Tabel 4. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa sejalan dengan proses pembusukan yang terjadi, total mikrobia pada semua perlakuan meningkat selama penyimpanan. Penambahan minyak atsiri kemangi pada *fillet* ikan nila mampu memperlambat laju pertumbuhan mikrobia. Hal ini disajikan dari jumlah mikrobia pada *fillet* kontrol lebih besar dibandingkan jumlah total mikrobia pada *fillet* ikan nila yang diberi perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi. Adanya aktivitas penghambatan mikrobia oleh minyak atsiri kemangi ini berhubungan dengan senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri kemangi. Dengan

penambahan minyak atsiri kemangi yang mengandung senyawa antimikrobia, pertumbuhan mikrobia dapat ditekan, sehingga pemecahan senyawa-senyawa kompleks pada ikan yang didorong oleh adanya aktivitas mikrobia akan berkurang. Hal ini menyebabkan lebih banyak basa volatil yang menguap dibanding dengan pembentukannya. Sedangkan pada *fillet* ikan kontrol, pembentukan basa volatil tersebut berlangsung terus menerus karena tidak adanya faktor yang menghambat pertumbuhan mikrobia, selain oleh suhu dingin sebagai suhu penyimpanan. Mekanisme senyawa antimikrobia yang terkandung dalam minyak atsiri kemangi dalam menghambat laju pertumbuhan mikrobia, adalah dengan merusak membran sel mikrobia. Senyawa ceneol dan linalool

mampu melisiskan membran sel sehingga laju pertumbuhan sel mikrobial dapat terhambat.

**Uji organoleptik.** Uji organoleptik yang dipakai dalam penelitian ini merupakan uji kesukaan. *Fillet* ikan nila yang digunakan adalah *fillet* yang telah disimpan selama dua hari. Pengolahan *fillet* ikan nila dengan cara digoreng. Pada penelitian ini uji organoleptik dilakukan dengan tiga variabel rasa, warna dan bau. Uji organoleptik dilakukan terhadap 25 panelis. Hasil uji organoleptik *fillet* ikan nila disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil uji organoleptik *fillet* ikan nila pada perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi selama penyimpanan suhu dingin.

| Perlakuan                    | Nilai rasa | Nilai bau | Nilai warna |
|------------------------------|------------|-----------|-------------|
| Kontrol                      | 5,1        | 6,5       | 4,6         |
| Minyak atsiri kemangi 0,025% | 5,6        | 5,2       | 5,6         |
| Minyak atsiri kemangi 0,05%  | 5,6        | 5,3       | 5           |
| Minyak atsiri kemangi 0,075% | 5,6        | 5,0       | 5           |

Keterangan: 4 = biasa 5 = agak suka 6 = suka.

Berdasarkan hasil penelitian rata-rata penilaian panelis terhadap *fillet* ikan nila berkisar dari nilai 4 - 6 yaitu biasa, agak suka dan suka. Penilaian rasa berada pada nilai 5 yaitu agak suka artinya penambahan minyak atsiri kemangi tidak banyak berpengaruh pada rasa ikan. Pada penilaian bau, *fillet* kontrol lebih disukai dibandingkan *fillet* dengan perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi. Sedangkan pada penilaian warna *fillet* dengan penambahan minyak atsiri kemangi lebih disukai dibanding dengan *fillet* kontrol.

## KESIMPULAN

Berdasarkan uji fisik, penambahan minyak atsiri kemangi mampu memperlambat proses pembusukan *fillet* ikan nila selama penyimpanan. Penambahan minyak atsiri kemangi pada *fillet* ikan nila mampu menghambat kenaikan TVB, kadar air, nilai pH, dan TPC (*Total Plate Count*) bakteri selama penyimpanan. Hasil uji organoleptik menyatakan bahwa perlakuan penambahan minyak atsiri kemangi tidak banyak berpengaruh terhadap rasa, bau dan warna pada *fillet* ikan nila. Berdasarkan uji fisik, TVB, kadar air, pH, dan *Total Plate Count* bakteri, konsentrasi minyak atsiri kemangi yang paling besar pengaruhnya dalam mempertahankan

kesegaran *fillet* ikan nila selama penyimpanan suhu dingin adalah konsentrasi sebesar 0,025%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J., I.U. Grun, and A. Mustapha. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extract in vitro and in ground beef. *Journal of Food Protein* 67(1):148-155.
- Ben-gigirey, B., J.M.V.B. De Sousa, T.G. Villa, and J.B. Velazquez, 1999. Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related to frozen storage. *Journal of Food Science* 64 (1): 20-24.
- Djazuli, N. 2002. *Pengolahan dan Penanganan Produk Perikanan Budidaya dalam Menghadapi Pasar Global: Peluang dan Tantangan*. [http://rudict.tripod.com/sem1\\_023/nazari\\_djazuli.htm](http://rudict.tripod.com/sem1_023/nazari_djazuli.htm). [14 sept 2004].
- Elgayyar, M., F.A. Draughan, P.A. Golden, and J.R. Mount. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protein* 64 (7): 1019-1024.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology*. 4th edition. Singapore: Mc Graw-Hill Book Co.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I*. Penerjemah: Ketaren, S. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Hadiwiyoto, S. 1993. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Jilid I. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Harpaz, S., L. Glatman, V. Drabkin, and A. Gelman. 2003. Effect of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protein* 66 (3): 410-417.
- Kartika, B., P. Hastuti, dan W. Supartono. 1998. *Pedoman Uji Indrawi Bahan Pangan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Koutsoumanis, K., K. Lampropoulou, and G.J.E. Nychas. 1999. Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial flora of Mediterranean gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) stored aerobically at 0, 8, and 15°C. *Journal of Food Protein* 62 (4):398-402.
- Manuputty, A.H., F. Soumena, H. Widodo, dan H. Widiyanto. 1990. *Pengobatan Tradisional Daerah Maluku*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Murniyati, A.S. dan Sunarman. 2000. *Pendinginan, Pembekuan dan Pengawetan Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Rahayu, K., Kuswanto, M. Gardjito, dan Soehardi. 1981. *Kimia Biokimia Pengolahan*. Jilid II. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian UGM.
- Santoso, U. 1999. *Hand Out Analisis Hasil Pertanian Pokok Bahasan: Metode Analisis Hasil-Hasil Perikanan*. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian UGM.
- Shareef, A.Y. and M.I. Ibraheem, 2002. Antimicrobial activity of essential oils from some spice. *Biota* 7 (2): 57-60.
- Suyanto, S.R. 1994. *Nila*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Tranggono. 1991. *Petunjuk Laboratorium Analisa Hasil Perikanan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.

## **Adsorpsi Zat Warna Remazol Yellow FG pada Limbah Tekstil oleh Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeush)**

### ***The adsorption of Remazol Yellow FG in the textile wastes by cogon grass (Imperata cylindrica (L.) Raeush)***

**TRIANA KUSUMANINGSIH\*, ABU MASYKUR, RONI SUPRIYANTO**

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: triana@mipa.uns.ac.id

Diterima: 11 Nopember 2005. Disetujui: 25 Maret 2006.

**Abstract.** Research of application of cogon grass (*Imperata cylindrica* (L.) Raeush) for adsorption of *Remazol Yellow FG* dye was carried out. This experiment was done to get the optimal condition of adsorption of *Remazol Yellow FG* dye by cogon grass. Adsorption process was performed by variety soaking activation times of cogon grass in NaOH solution were in 0, 6, 12, 18, 24, 30, and 48 hours. The pH variation was 9, 10, 11, 12, and 13. The variation of contact times at 0, 20, 40, 60, 80, 100, and 120 minutes. The interactions between *Remazol Yellow FG* dye in solution and cogon grass were conducted in batch method. The surface area characteristic of cogon grass was analyzed by methylene blue method and the functional groups in the cogon grass were analyzed by infra red spectroscopy. The analysis of adsorption of textile dye was by Ultraviolet-Visible Spectroscopy. The results showed that the optimum condition from adsorption process of *Remazol Yellow FG* dye by cogon grass was reached within 24 hours of activation times, pH 10, and 60 minutes of contact time. Adsorptive capacity of active cogon grass to the textile dye was 5.165 mg/g while to the textile dye waste was 7.851 mg/g.

**Key words:** *Imperata cylindrica* (L.) Raeush, *Remazol Yellow FG* dye.

## **PENDAHULUAN**

Produksi industri tekstil Indonesia yang berupa bahan tekstil, produk tekstil dan industri pakaian jadi merupakan penyumbang devisa nomor satu di sektor non migas dan nomor tiga setelah minyak bumi dan gas alam. Pada masa krisis ekonomi, industri tekstil ini terbukti mempunyai daya tahan cukup tinggi, sehingga diharapkan produksinya terus meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan dalam negeri serta kemudahan-kemudahan ekspor dan impor bahan baku yang diberikan oleh pemerintah. Tuntutan kenaikan produksi tekstil ini diharapkan dapat diikuti dengan pemenuhan kewajiban pihak-pihak terkait untuk setidaknya dapat mereduksi dampak negatif yang mungkin timbul. Akibat teknis yang mungkin timbul adalah meningkatnya kuantitas dan kualitas bahan buangan atau limbah (Atmaji dkk., 1999).

Produksi tekstil dimulai dari pemintalan serat sampai kain jadi (tekstil), melewati beberapa tahap proses yang semuanya berpotensi menghasilkan limbah, baik berupa limbah padat, gas maupun cair. Limbah cair industri tekstil bersumber dari proses pencelupan (*dyeing*), pencucian (*washing*), pengurangan (*sizing*), pencetakan (*printing*) dan penyempurnaan (*finishing*) (Atmaji dkk., 1999). Dampak negatif industri tekstil terutama berasal dari proses pencelupan (*dyeing*). Limbah hasil pencelupan dapat mencemari lingkungan apabila air limbahnya

langsung dibuang ke sungai atau selokan tanpa diolah terlebih dahulu. Air sungai atau selokan menjadi berwarna (Suwarsa, 1998). Warna limbah muncul karena adanya gugus kromofor dalam zat warna tekstil yang digunakan pada proses pencelupan. Limbah hasil pencelupan yang dibuang menyebabkan kualitas air akan menurun sehingga tidak sesuai lagi dengan peruntukannya dan ekosistem lingkungan akan terganggu. Disamping sulit diuraikan, bahan aktif zat warna seperti senyawa azo (monoazo, diazo, triazo) dilaporkan bersifat karsinogen (Henrichi dalam Atmaji dkk., 1999).

Jerami padi komponen utamanya adalah selulosa yang dapat digunakan untuk menyerap zat warna tekstil *BR Red HE 7B* (Suwarsa, 1998). Nizar, 2003 melakukan penelitian dengan menggunakan eceng gondok yang mempunyai kandungan selulosa untuk menyerap zat warna tekstil *Remazol Yellow FG*. Alang-alang (*Imperata cylindrica* (L.) Raeush) mengandung serat dan selulosa. Alang-alang digunakan sebagai adsorben karena alang-alang mempunyai kandungan selulosa yang cukup tinggi meliputi alfa selulosa 56,21% dan holo selulosa 35,41% (Susi, 1983).

Zat warna *Remazol Yellow FG* banyak digunakan dalam industri tekstil terutama sebagai pewarna kain tekstil pada proses pencelupan. Zat warna *Remazol Yellow FG* merupakan salah satu zat warna yang cukup reaktif (Rasjid dkk., 1976). Gugus vinil sulfon yang terdapat dalam zat warna *Remazol*

*Yellow FG* merupakan gugus reaktif dan dapat berikatan secara kimia dengan gugus hidroksil dari selulosa alang-alang. Pada penelitian ini akan diteliti penggunaan alang-alang sebagai adsorben zat warna tekstil *Remazol Yellow FG*.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alang-alang dari daerah Sukoharjo, zat warna tekstil *Remazol Yellow FG*, sampel limbah zat warna tekstil *Remazol Yellow FG* dari pabrik batik Widodo di Laweyan Surakarta, NaOH p.a. (E.merck), HCl p.a. (E.merck), Metilen Biru p.a. (E.merck), dan akuades.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis Single Beam (Spectronic 21 D), spektrofotometer Infra Merah Shimadzu model 8201 PC, neraca analitik (merck: Sartorius, model BP 110), seker (Ika Labor Technik KS250 basic), blender, ayakan 80 mesh, pH meter, stirrer, bar stirrer, kertas saring biasa dan seperangkat alat gelas.

### Cara kerja

**Pengolahan alang-alang.** Alang-alang dicuci dengan air, kemudian dipotong-potong. Alang-alang ini digiling dengan blender hingga diperoleh bubuk alang-alang, kemudian diayak lolos 80 mesh. Bubuk alang-alang 20 g direndam dalam 600 mL larutan NaOH 2% dengan waktu aktivasi 0, 6, 12, 18, 24, 30, dan 48 jam. Rendaman tersebut dicuci dengan akuades hingga air cucian terakhir netral, setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C. Berat akhir alang-alang hasil pengeringan ditimbang.

**Karakterisasi luas permukaan.** Luas permukaan alang-alang ditentukan dengan menggunakan metilen biru. Dalam penelitian ini alang-alang diujikan untuk mengadsorpsi larutan metilen biru. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengamati absorbansi larutan metilen biru 4 ppm sebanyak 25 mL yang diukur pada panjang gelombang antara 500 nm sampai 700 nm. Kurva standar metilen biru dibuat berdasarkan pengukuran absorbansi dari berbagai konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm pada panjang gelombang maksimum. Waktu kontak optimum ditentukan dengan cara 0,100 g alang-alang ditambahkan ke dalam 20 mL larutan metilen biru 100 ppm kemudian dikocok dengan seker kecepatan 200 rpm dengan waktu kontak yang divariasi 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 dan 40 menit. Larutan hasil pengocokan kemudian disaring dan diukur absorbansinya. Daya serap maksimum (mg/g) diperoleh dengan menghitung konsentrasi yang terserap ke dalam rumus:

$$X_m = \frac{(C_a - C_i) \times V}{M} \quad (1)$$

$C_a$  = Konsentrasi awal (ppm)

$C_i$  = Konsentrasi akhir (ppm)

$V$  = Volume larutan metilen biru (L)

$M$  = Massa adsorben alang-alang (g)

Luas permukaan ( $m^2/g$ ) ditentukan dengan memasukkan harga ( $X_m$ ) kedalam rumus (Kaewprasit dkk., 1998):

$$S = \frac{X_m \cdot N \cdot a}{M_r} \quad (2)$$

$S$  = Luas permukaan ( $m^2/g$ )

$X_m$  = Daya serap maksimum (mg/g)

$N$  = Bilangan Avogadro  $6,0225 \cdot 10^{23}$  molekul/mol

$a$  = Ukuran 1 molekul adsorbat metilen biru ( $197 \cdot 10^{-20} m^2/molekul$ )

$M_r$  = 320,5000 g/mol

**Penentuan gugus fungsi alang-alang alam dan alang-alang aktif.** Gugus fungsi yang terdapat pada alang-alang ditentukan dengan cara menganalisis 0,100 g sampel alang-alang alam dan alang-alang aktif menggunakan spektrofotometer Infra Merah yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik MIPA UGM Yogyakarta.

**Pembuatan spektrum absorbansi dan kurva standar zat warna Remazol Yellow FG.** (i) *Spektrum absorbansi zat warna.* Larutan zat warna reaktif *Remazol Yellow FG* 20 ppm sebanyak 25 mL diukur absorbansinya dengan UV-Vis pada berbagai panjang gelombang antara 370 nm sampai dengan 470 nm sehingga akan menghasilkan panjang gelombang yang maksimum. (ii) *Pembuatan kurva standar.* Larutan zat warna *Remazol Yellow FG* dibuat dengan konsentrasi 5 ppm; 10; 15; 20; 25; 30; 35 dan 40 ppm, masing-masing volumenya 25 mL, lalu masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

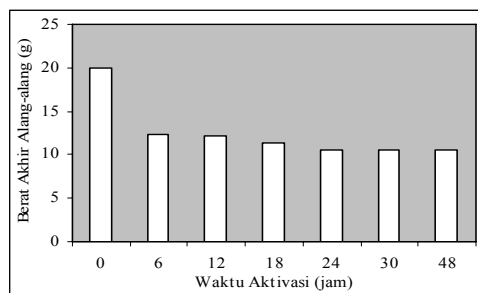
**Penentuan kondisi adsorpsi optimum.** Bubuk alang-alang hasil variasi waktu aktivasi sebanyak 0,050 g ditambahkan ke dalam 25 mL larutan zat warna *Remazol Yellow FG* 20 ppm yang telah diatur pH-nya dengan penambahan HCl dan NaOH sehingga diperoleh pH 9, pH 10, pH 11, pH 12 dan pH 13. Larutan zat warna dan adsorbennya dikocok dengan seker kecepatan 200 rpm dengan waktu kontak 0, 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 menit. Larutan hasil pengocokan kemudian disaring dan diukur absorbansinya. Waktu kontak dan pH optimum yang didapatkan setelah proses adsorpsi digunakan untuk langkah percobaan selanjutnya.

**Aplikasi limbah pabrik batik.** (i) *Adsorpsi.* Limbah yang diambil berasal dari pabrik batik Widodo di Laweyan Surakarta. Pengambilan limbah dari bak penampungan limbah dilakukan setelah proses pencelupan. Limbah yang diambil diperoleh dari bagian atas, tengah, dan bawah (dasar) bak penampungan. Dari masing-masing bagian diambil 25 mL untuk diadsorpsi pada kondisi optimum yang telah didapatkan, filtrat yang didapat disaring dan diukur absorbansinya. (ii) *Desorpsi.* Endapan adsorben yang didapatkan setelah proses adsorpsi ditambah 25 mL akuades, kemudian dilakukan pengadukan pada kondisi waktu kontak yang optimum. Setelah itu disaring kembali dan filtrat yang dihasilkan diukur absorbansinya.

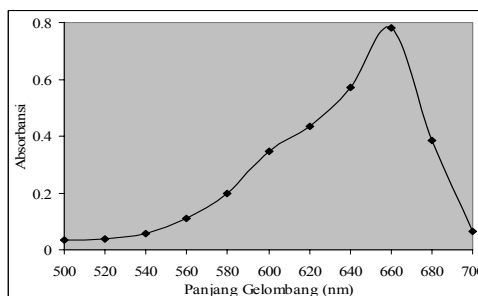
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengolahan alang-alang

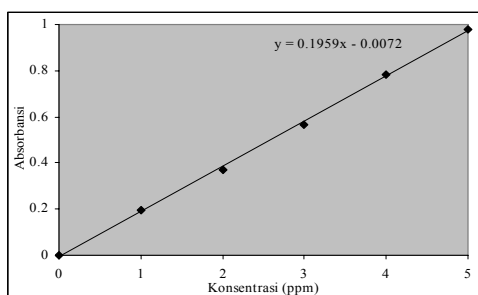
Berat akhir alang-alang yang dihasilkan versus variasi waktu aktivasi ditunjukkan pada Gambar 1. Aktivasi dilakukan dengan merendam bubuk alang-alang kedalam larutan NaOH 2% dengan perbandingan 1 g alang-alang dalam 30 mililiter larutan NaOH. Setelah melalui proses aktivasi larutan rendaman alang-alang menjadi berwarna coklat kehitaman, hal ini menunjukkan bahwa pigmen alang-alang telah terlarut oleh proses aktivasi. NaOH juga dapat mengaktifkan gugus hidroksil pada dinding sel selulosa.



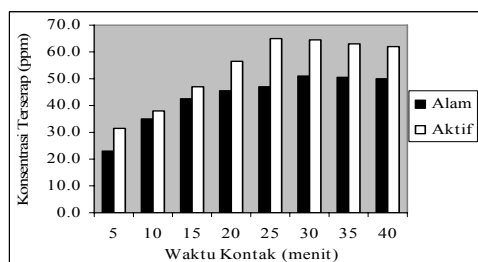
**Gambar 1.** Pengaruh waktu aktivasi pada berat akhir alang-alang.



**Gambar 2.** Spektrum absorbansi larutan metilen biru.



**Gambar 3.** Kurva standar larutan metilen biru.



**Gambar 4.** Penentuan waktu kontak optimum terhadap konsentrasi terserap larutan metilen biru pada alang-alang alam dan alang-alang aktif.

### Karakterisasi alang-alang alam dan alang-alang aktif

#### Penentuan luas permukaan alang-alang

Spektrum penentuan panjang gelombang maksimum larutan metilen biru ditunjukkan pada Gambar 2. Gambar ini menunjukkan panjang gelombang maksimum larutan metilen biru adalah 660 nm. Pembuatan kurva standar metilen biru berdasarkan pengukuran absorbansi dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm pada panjang gelombang maksimum 660 nm. Kurva standar larutan metilen biru ditunjukkan pada Gambar 3.

Luas permukaan dihitung dengan mencari waktu kontak optimum alang-alang alam dan alang-alang aktif. Variasi waktu kontak dari 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, dan 40 menit. Adsorpsi dilakukan dengan menambahkan 0,100 g adsorben alang-alang alam dan alang-alang aktif kedalam 20 mL larutan metilen biru dengan konsentrasi 100 ppm (Tabel 1).

**Tabel 1.** Penentuan waktu kontak optimum alang-alang alam dan alang-alang aktif terhadap metilen biru.

| Waktu Kontak (menit) | Absorbansi (660 nm) |                   | Konsentrasi Terserap (ppm) |                   |
|----------------------|---------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
|                      | Alang-alang Alam    | Alang-alang Aktif | Alang-alang Alam           | Alang-alang Aktif |
|                      | 0,290               | 0,256             | 24,060                     | 32,908            |
| 10                   | 0,242               | 0,231             | 36,311                     | 39,119            |
| 15                   | 0,213               | 0,196             | 43,713                     | 48,222            |
| 20                   | 0,202               | 0,157             | 46,690                     | 58,091            |
| 25                   | 0,195               | 0,123             | 48,477                     | 66,684            |
| 30                   | 0,180               | 0,125             | 52,221                     | 66,173            |
| 35                   | 0,182               | 0,131             | 51,795                     | 64,642            |
| 40                   | 0,183               | 0,135             | 51,370                     | 63,706            |

Dari hasil penelitian diperoleh waktu kontak optimum alang-alang alam adalah 30 menit dengan konsentrasi larutan metilen biru yang terserap sebesar 50,757 ppm. Waktu kontak optimum alang-alang aktif 25 menit dengan konsentrasi larutan metilen biru yang terserap sebesar 65,059 ppm. Waktu kontak alang-alang aktif lebih singkat karena luas permukaan porinya lebih besar dari alang-alang alam sehingga lebih cepat menyerap larutan metilen biru dengan konsentrasi terserap juga lebih besar. Grafik penentuan waktu kontak optimum terhadap konsentrasi terserap larutan metilen biru pada alang-alang alam dan alang-alang aktif ditunjukkan Gambar 4.

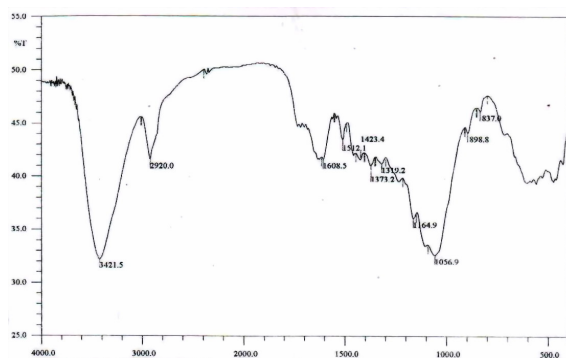
Data luas permukaan alang-alang alam dan alang-alang aktif pada serapan maksimum ditunjukkan Tabel 2. Tabel ini menunjukkan bahwa luas permukaan alang-alang aktif lebih besar daripada alang-alang alam, karena pengotor dalam alang-alang aktif lebih banyak yang terlepas sehingga ukuran porinya semakin besar.

**Tabel 2.** Luas permukaan alang-alang alam dan alang-alang aktif.

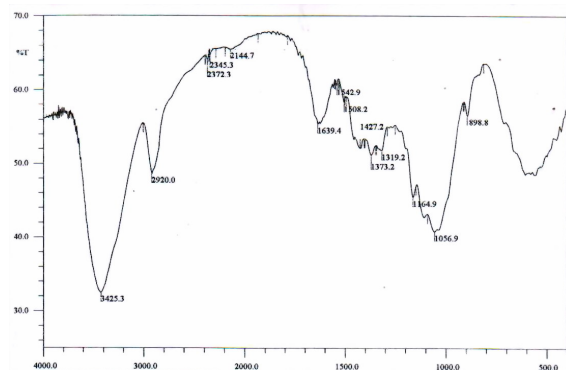
| Adsorben          | Konsentrasi terserap (ppm) | daya serap maksimum (mg/g) | Luas permukaan (m <sup>2</sup> /g) |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| Alang-alang alam  | 52,221                     | 10,444                     | 38,665                             |
| Alang-alang aktif | 66,316                     | 13,337                     | 49,374                             |

### Gugus fungsi alang-alang

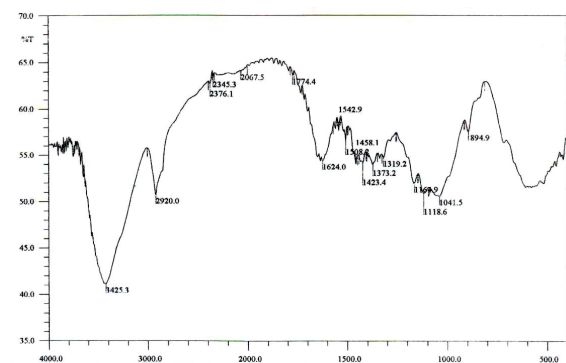
Gugus fungsi yang terdapat dalam selulosa alang-alang dapat diketahui dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer infra merah. Pengukuran dilakukan pada sampel alang-alang tanpa aktivasi, dengan aktivasi, dan setelah dikontakkan dengan limbah pabrik. Spektra infra merah dari alang-alang alam, alang-alang aktif dan alang-alang setelah dikontakkan dengan limbah pabrik ditunjukkan pada Gambar 5, 6, dan 7. Data gugus fungsi alang-alang yang meliputi alang-alang alam dan alang-alang aktif hasil pengamatan ditunjukkan pada Tabel 3.



Gambar 5. Spektra infra merah alang-alang alam.



Gambar 6. Spektra infra merah alang-alang aktif.



Gambar 7. Spektra infra merah alang-alang aktif dikontakkan dengan limbah.

Tabel 3. Spektra gugus fungsi alang-alang alam dan alang-alang aktif.

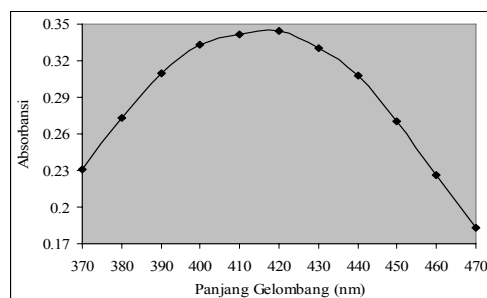
| Gugus Fungsi | $\nu$ (cm <sup>-1</sup> ) | Alang-alang alam          |           | Alang-alang aktif         |           | Alang-alang + limbah pabrik |           |
|--------------|---------------------------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
|              |                           | $\nu$ (cm <sup>-1</sup> ) | Int. (%T) | $\nu$ (cm <sup>-1</sup> ) | Int. (%T) | $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )   | Int. (%T) |
| O-H          | 3900-3000                 | 3421,5                    | 32,218    | 3425,3                    | 32,471    | 3425,3                      | 41,127    |
| C-H          | 3150-2600                 | 2920,0                    | 41,554    | 2920,0                    | 48,573    | 2920,0                      | 50,724    |
| C-O          | 1300-890                  | 1056,9                    | 32,610    | 1056,9                    | 40,839    | 1041,5                      | 50,585    |

Hasil pengamatan dengan spektroskopi infra merah tampak adanya puncak-puncak yang muncul. Spektra yang dihasilkan pada alang-alang alam dan alang-alang aktif tidak ada perbedaan dan hanya sedikit terjadi pergeseran bilangan gelombang. Hasil ini mengindikasikan bahwa dengan adanya proses aktivasi tidak mengakibatkan hilangnya gugus fungsi yang terdapat didalam alang-alang. Spektra setelah dikontakkan dengan limbah juga tidak terjadi perbedaan yang signifikan dikarenakan konsentrasi zat warna dari limbah pabrik yang terserap sangat sedikit sehingga gugus fungsi yang terdapat dalam zat warna tidak terdeteksi oleh spektrofotometer infra merah. Hasil percobaan menunjukkan bahwa daya serap alang-alang terhadap limbah pabrik sebesar 7,851 mg/g, ini berarti bahwa dalam 1000 mg alang-alang terkandung zat warna *Remazol Yellow FG* sebesar 7,851 mg. Konsentrasi zat warna yang terserap sangat kecil mengakibatkan gugus-gugus fungsi dari zat warna tertutupi oleh gugus fungsi dari selulosa sehingga tidak terdeteksi oleh alat spektrofotometer infra merah. Alang-alang alam, alang-alang aktif, dan setelah kontak dengan limbah mempunyai gugus fungsi O-H, C-H, dan C-O.

*Pembuatan spektrum absorbansi dan kurva standar zat warna Remazol Yellow FG*

### Spektrum absorbansi zat warna *Remazol Yellow FG*

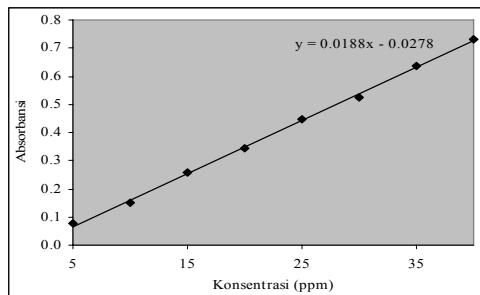
Penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh dengan mengukur absorbansi larutan zat warna *Remazol Yellow FG* 20 ppm sebanyak 25 mL pada panjang gelombang antara 370 nm sampai 470 nm. Spektrum absorbansi larutan zat warna *Remazol Yellow FG* menunjukkan panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 420 nm (Gambar 8).



Gambar 8. Spektrum absorbansi zat warna *Remazol Yellow FG*.

### Pembuatan kurva standar zat warna *Remazol Yellow FG*

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan zat warna *Remazol Yellow FG* pada panjang gelombang maksimum 420 nm dengan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, dan 40 ppm. Dengan menggunakan persamaan garis lurus didapatkan  $y = 0,0188x - 0,0278$  dengan koefisien regresi linier  $r = 0,9987$ . Grafik kurva standar zat warna *Remazol Yellow FG* ditunjukkan pada Gambar 9.

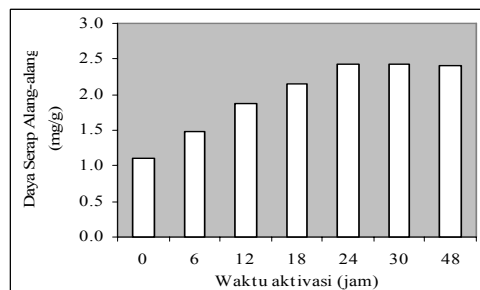


**Gambar 9.** Kurva standar zat warna *Remazol Yellow F*

### Penentuan Kondisi Adsorpsi Optimum

Penentuan kondisi optimum meliputi waktu aktivasi, pH, dan waktu kontak. Kondisi optimum diperoleh dengan cara menambahkan 0,050 g alang-alang aktif dari variasi waktu aktivasi 0, 6, 12, 18, 24, 30, dan 48 jam kedalam 25 mL larutan zat warna *Remazol Yellow FG* pada konsentrasi 20 ppm yang telah diatur pHnya dengan penambahan HCl dan NaOH sehingga dihasilkan pH 9, pH 10, pH 11, pH 12, dan pH 13. Pengadukan dengan seker pada kecepatan 200 rpm dengan variasi waktu pengadukan (waktu kontak) 0, 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 menit. Besarnya daya serap (mg/g) alang-alang dalam menyerap zat warna *Remazol Yellow FG* dapat dihitung dari harga absorbansinya.

Kurva waktu aktivasi optimum didapatkan dengan cara memplotkan antara waktu aktivasi dengan besarnya daya serap alang-alang (mg/g) terhadap zat warna *Remazol Yellow FG*. Kurva pengaruh waktu aktivasi terhadap daya serap alang-alang (mg/g) ditunjukkan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Pengaruh waktu aktivasi terhadap daya serap alang-alang (mg/g).

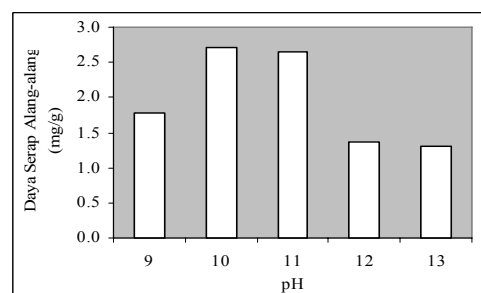
Pada waktu aktivasi 24 jam menghasilkan daya serap yang paling besar dibandingkan dengan yang lainnya. Waktu aktivasi yang lama mengakibatkan pori bubuk alang-alang menjadi lebih luas karena semakin banyak gugus fungsi OH dari selulosa yang menjadi gugus aktif dan juga diikuti semakin banyaknya zat lain yang terlepas. Waktu aktivasi sebelum 24 jam yaitu tanpa aktivasi, 6 jam, 12, dan 18 jam memiliki daya serap yang kurang optimum dikarenakan tanpa aktivasi gugus OH dari selulosa lebih sedikit yang berubah menjadi gugus aktif. Gugus aktif masih sedikit karena larutan NaOH belum masuk kedalam pori bubuk alang-alang sehingga pengotor yang terdapat didalam bubuk alang-alang belum terlepas yang mengakibatkan luas permukaannya masih relatif kecil. Pada waktu aktivasi 6 jam, 12, dan 18 jam gugus OH aktif lebih banyak dibanding tanpa aktivasi karena lebih lama dan juga lebih banyak pengotor yang terlepas dari bubuk alang-alang.

Penentuan pH optimum dilakukan dengan cara mengatur pH larutan zat warna *Remazol Yellow FG*. Pengaturan pH dengan menambahkan HCl atau NaOH sehingga diperoleh pH 9, pH 10, pH 11, pH 12, dan pH 13. Data pengaruh pH terhadap daya serap alang-alang ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Pengaruh pH terhadap daya serap alang-alang.

| No | pH | Daya Serap Alang-alang (mg/g) |
|----|----|-------------------------------|
| 1  | 9  | 1,770                         |
| 2  | 10 | 2,700                         |
| 3  | 11 | 2,656                         |
| 4  | 12 | 1,375                         |
| 5  | 13 | 1,303                         |

Kurva pH optimum didapatkan dengan cara memplotkan antara pH dengan daya serap alang-alang (mg/g) ditunjukkan pada Gambar 11.



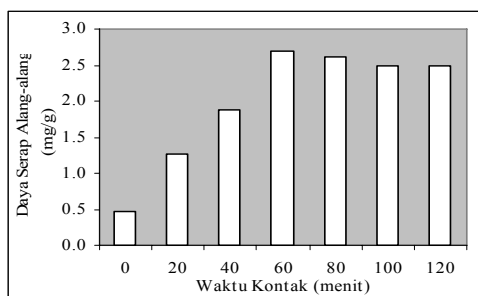
**Gambar 11.** Pengaruh pH terhadap daya serap alang-alang (mg/g).

Penentuan pH optimum dilakukan dengan cara menambahkan alkali atau asam ke dalam larutan yang akan diadsorpsi bertujuan agar reaksi dapat berjalan dengan baik. Proses adsorpsi zat warna *Remazol Yellow FG* dilakukan pada kondisi basa dikarenakan larutan zat warna *Remazol Yellow FG* dalam kondisi pH basa kemungkinan akan membentuk gugus radikal vinil.

Menurut Rasjid dkk. (1976) pada proses pencelupan, alkali ditambahkan ke dalam zat warna hingga mencapai pH antara 10-11. Gambar 11 menunjukkan pH 10 memiliki daya serap terbesar dibandingkan dengan pH yang lain, yang berarti bahwa pada pH 10 kemungkinan telah terjadi reaksi antara gugus radikal vinil dari larutan zat warna dengan gugus hidroksil dari selulosa. Karena gugus  $-SO_2$  pada senyawa vinil sulfon ( $-SO_2-CH=CH_2$ ) menyebabkan terjadinya kepolaran yang kuat pada gugus radikal vinil.

Gugus radikal vinil dari senyawa bereaksi dengan gugus hidroksil dari selulosa. Ikatan kimia yang terjadi antara gugus radikal vinil dari zat warna dengan gugus OH dari selulosa merupakan ikatan kovalen polar sekunder. Kemungkinan yang lebih besar adalah gugus OH dari selulosa terikat pada karboksion sekunder yang menjadikan ikatannya lebih stabil. Dengan terbentuknya ikatan tersebut maka alang-alang aktif mampu mengadsorpsi zat warna tersebut secara optimum. Menurut Rasjid dkk. (1976) proses adsorpsi zat warna oleh serat mencapai kondisi optimum pada pH 10-11. pH 9 menghasilkan penyerapan yang lebih kecil dari pH 10 dimungkinkan gugus radikal vinil yang terbentuk relatif masih sedikit. pH 10 terjadi kondisi penyerapan yang optimum sedangkan pada pH 11 penyerapan cenderung sedikit menurun. Pada pH lebih besar dari 10, terutama pH 12 dan pH 13 dimungkinkan akan terjadi kerusakan ikatan kimia antara zat warna dengan selulosa karena suasana alkali yang kuat, pekat dan panas, sehingga kemampuan alang-alang aktif dalam menyerap zat warna kurang maksimal.

Waktu kontak adalah waktu yang dibutuhkan alang-alang aktif untuk mengadsorpsi zat warna *Remazol Yellow FG*. Penentuan waktu kontak optimum dilakukan dengan memvariasikan waktu pada saat pengontakan antara alang-alang aktif dengan zat warna *Remazol Yellow FG* 20 ppm yang dimulai dari 0, 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 menit. Variasi waktu kontak ini dilakukan pada seluruh variasi waktu aktivasi dan pH. Pengaruh waktu kontak terhadap daya serap alang-alang ditunjukkan pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Pengaruh waktu kontak terhadap daya serap alang-alang (mg/g).

Waktu kontak optimum tercapai pada saat waktu 60 menit yang menghasilkan daya serap rata-rata

sebesar 2,689 mg/g. Waktu kontak kurang dari 60 menit penyerapan belum maksimal dimungkinkan alang-alang aktif dalam mengadsorpsi zat warna belum mencapai titik jenuh, sehingga masih mampu mengadsorpsi zat warna. Waktu kontak lebih dari 60 menit diperkirakan alang-alang aktif setelah digunakan dalam waktu tertentu menyebabkan kereaktifannya akan berkurang sehingga daya serapnya juga akan berkurang.

#### Penentuan isoterm adsorpsi

Penentuan isoterm adsorpsi berfungsi untuk mengetahui jenis adsorpsi yang terjadi sehingga dapat diketahui interaksi yang terjadi pada saat proses adsorpsi terjadi. Untuk mengetahui isoterm yang sesuai, maka data yang diperoleh diuji dengan menggunakan persamaan isoterm adsorpsi Langmuir dan isoterm adsorpsi Freundlich. Penentuan isoterm adsorpsi dilakukan dengan menambahkan 0,050 g alang-alang aktif kedalam 25 mL larutan zat warna *Remazol Yellow FG* dengan memvariasi konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75 ppm. Pengadukan dilakukan dengan seker kecepatan 200 rpm pada kondisi optimum waktu aktivasi 24 jam, pH 10, dan waktu kontak 60 menit.

#### Aplikasi limbah pabrik batik

#### Proses adsorpsi

Aplikasi alang-alang aktif yang digunakan dalam mengadsorpsi limbah industri tekstil bertujuan untuk mengetahui seberapa besar hasil penyerapan dari alang-alang aktif apabila dibandingkan dengan sebelum diaktivasi. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengambil 25 mL limbah industri tekstil yang belum dialirkan ke sungai untuk diadsorpsi dengan 0,050 g alang-alang alam dan alang-alang aktif dan diukur absorbasinya. Pengambilan limbah dilakukan di bak penampungan yang diindikasikan terdapat kandungan zat warna *Remazol Yellow FG*. Proses adsorpsi ini dilakukan pada kondisi optimum yang telah didapatkan sebelumnya. Konsentrasi limbah zat warna sebelum diadsorpsi adalah 34,609 ppm. Data hasil adsorpsi seperti ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Adsorpsi alang-alang alam dan alang-alang aktif terhadap limbah zat warna *Remazol Yellow FG*.

| Adsorben          | Konsentrasi Awal (ppm) | Absorbansi | Konsentrasi Terserap (ppm) | Daya Serap Rata-rata (mg/g) | % Adsorpsi Rata-rata |
|-------------------|------------------------|------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Alang-alang alam  | 34,609                 | 0,438      | 9,833                      | 4,916                       | 28,411               |
|                   |                        | 0,441      | 9,673                      |                             |                      |
|                   |                        | 0,435      | 9,992                      |                             |                      |
| Alang-alang aktif | 34,609                 | 0,324      | 15,897                     | 7,851                       | 48,593               |
|                   |                        | 0,330      | 15,578                     |                             |                      |
|                   |                        | 0,329      | 15,702                     |                             |                      |

Dari data hasil penelitian di atas terlihat bahwa proses adsorpsi alang-alang aktif terhadap limbah zat warna menghasilkan daya serap yang lebih

besar dibandingkan dengan alang-alang alam. Dimana rata-rata persentase adsorpsi untuk alang-alang aktif sebesar 48,59% sedangkan untuk alang-alang alam sebesar 28,41%.

### Proses desorpsi

Proses desorpsi pada alang-alang aktif dilakukan dengan menambahkan 25 mL akuades kedalam adsorben alang-alang aktif setelah digunakan dalam mengadsorpsi limbah industri zat warna. Pengadukan dalam proses desorpsi ini dilakukan dengan seker kecepatan 200 rpm pada waktu kontak optimum 60 menit. Kemudian dari filtrat yang dihasilkan setelah penyaringan diukur absorbansinya. Dari data absorbansi dapat diketahui besarnya zat warna yang terlepas dari adsorben (Tabel 6).

**Tabel 6.** Desorpsi alang-alang aktif terhadap limbah zat warna *Remazol Yellow FG*.

| Adsorben | Konsentrasi awal (ppm) | Absorbansi | Konsentrasi sisa (ppm) | % Desorpsi | % Desorpsi rerata |
|----------|------------------------|------------|------------------------|------------|-------------------|
| Alang-   | 15,897                 | 0,189      | 11,532                 | 27,457     |                   |
| alang    | 15,578                 | 0,192      | 11,692                 | 24,946     | 26,549            |
| Aktif    | 15,631                 | 0,186      | 11,372                 | 27,243     |                   |

Proses desorpsi dilakukan untuk mengetahui besarnya zat warna yang terlepas dari alang-alang aktif. Dari hasil penelitian persentase dari proses desorpsi sekitar 26,55%. Hal ini menunjukkan bahwa ada sebagian zat warna yang terlepas dari alang-alang aktif namun jumlahnya relatif lebih sedikit dibandingkan yang masih tertinggal dalam adsorben.

### KESIMPULAN

Kondisi optimum waktu aktivasi adalah pada waktu perendaman 24 jam. Alang-alang aktif mempunyai luas permukaan sebesar 49,374 m<sup>2</sup>/g sedangkan alang-alang alam sebesar 38,665 m<sup>2</sup>/g. Gugus fungsi yang terdapat dalam selulosa alang-alang alam dan alang-alang aktif meliputi gugus O-H, C-H, dan C-O. Kondisi optimum yang didapatkan untuk mengadsorpsi zat warna reaktif *Remazol Yellow FG* menggunakan alang-alang yang diaktivasi dengan NaOH 2% adalah pada kondisi pH 10, dan waktu kontak 60 menit. Alang-alang dengan aktivator NaOH 2% memberikan daya serap maksimum sebesar 7,851 mg/g terhadap larutan limbah zat warna *Remazol Yellow FG*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Atmaji, P., P. Wahyu, dan P. Edi. 1999. Daur ulang limbah hasil pewarnaan industri tekstil. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 1 (4): 1-5.
- Kaewprasit, C., E. Hequet, N.A. Abidi, J.P. Gourlot. 1998. *Quality Measurement Application of Methylenne Blue Adsorption for Cotton Fibir Specific Sueface Area Measurement: Part 1 Methodology*. Washington, D.C.: The Cotton Foundation.
- Nizar. 2003. *Adsorpsi Remazol Yellow FG oleh Eceng Gondok Aktif*. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA UNS.
- Rasjid D., G.A. Kasoenarno, S. Astini, L. Arifin. 1976. *Teknologi Pengelantangan, Pencelupan dan Pencapan*, Bandung: Institut Teknologi Tekstil.
- Susi, S. 1983. Penentuan pektin secara spektrofotometri dalam bahan baku bukan kayu. *Berita Selulosa* 19 (1): 1-4.
- Suwarsa S. 1998. Penyerapan zat warna tekstil BR red HE 7B oleh jerami padi. *Jurnal Matematika dan Sains* 3 (1): 1-4.

## **REVIEW: Senyawa Bioaktif Penghambat Sistem *Quorum Sensing* pada Bakteri Gram Negatif**

### ***Bioactive compound that inhabit quorum sensing system in gram negative bacteria***

**NUR AINI, AHMAD DWI SETYAWAN\***

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: unsjournals@yahoo.com

Diterima: 27 Desember 2005. Disetujui: 2 Pebruari 2006.

---

**Abstract.** Bacteria communicate using chemical signaling molecules as words. They release, detect, and respond to the accumulation of these molecules, which are called autoinducers. Detection of autoinducers allows bacteria to distinguish between low and high cell population density, and to control gene expression in response to changes the cell number. This process is termed quorum sensing. Many bacterial behaviors are regulated by quorum sensing, including virulence factors on Gram-negative bacteria. Quorum sensing is a novel target for antimicrobial therapies. Many eukaryotes including plants, fungus, and animals produce molecules that can interfere bacteria communication, such as halogen furanone from alga *Delisea pulchra*, N- (heptylsulfanylacetyl)-L-homoserine-lactone from *Allium sativum*, and flustramine from bryozoan *Flustra foliacea*.

**Key words:** quorum sensing, inhibitors, bioactive compounds.

---

### **PENDAHULUAN**

Sistem *quorum sensing* merupakan sistem komunikasi interseluler pada suatu populasi bakteri dengan menggunakan *autoinducer* atau molekul sinyal sebagai bahasa. Konsentrasi *autoinducer* di lingkungan sebanding dengan jumlah bakteri yang ada. Dengan mendeteksi *autoinducer*, suatu bakteri mampu mengetahui keberadaan bakteri lain di lingkungannya (Taga dan Bassler, 2003). Selain sebagai alat komunikasi, sistem *quorum sensing* juga mengontrol perilaku tertentu dari bakteri melalui perubahan ekspresi gen oleh molekul sinyal. Perilaku bakteri yang diatur oleh sistem *quorum sensing* antara lain: bioluminescen, sekresi virulensi, sporulasi, konjugasi, pembentukan biofilm, dan produksi pigmen (Taga dan Bassler, 2003).

Banyak bakteri yang menggunakan *quorum sensing* dalam mengontrol virulensinya terhadap organisme lain, sehingga *quorum sensing* merupakan target untuk agen kemoterapeutik (Rasch *et al*, 2004). Menurut Keivit dan Iglewski (2000), bakteri gram negatif yang virulen dapat dijadikan nonpatogen dengan menghambat sistem *quorum sensing*nya. Hal ini dapat dijadikan sebagai cara pencegahan infeksi kronis yang merusak tanpa menggunakan agen yang menghambat pertumbuhan seperti antibiotik, disinfektan yang dapat menyebabkan resistensi organisme.

Bermacam-macam organisme eukariot termasuk tumbuhan, fungi dan hewan mengeluarkan senyawa

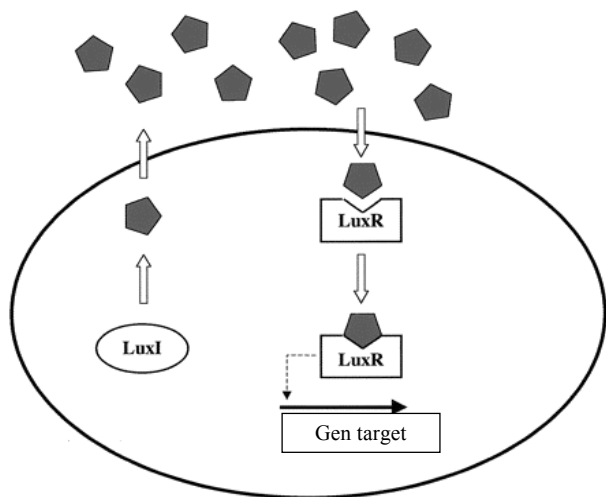
yang mampu berinteraksi dengan komunikasi interseluler bakteri (Peter *et al.*, 2003). Berdasarkan penelitian Allison *et al.* (2005), telah teridentifikasi sejumlah tumbuhan yang mampu mengontrol sistem *quorum sensing*, sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif cara pencegahan infeksi kronis yang merusak tanpa menggunakan agen yang menghambat pertumbuhan seperti antibiotik, disinfektan yang dapat menyebabkan resistensi mikroorganisme.

### **SISTEM QUORUM SENSING**

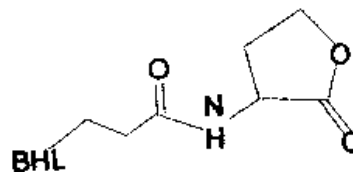
Sistem *quorum sensing* ditemukan pertama kali dalam mengontrol ekspresi bioluminescen pada *Vibrio fischeri* dengan molekul sinyal N- (3-oxo-Hexanoyl)-Homoserine-Lactone, protein regulatornya berupa LuxI dan LuxR (Parsek dan Greenberg, 1997., Suga dan Smith, 2003). Sistem *quorum sensing* merupakan kemampuan bakteri untuk berkomunikasi dan mengatur perilakunya melalui molekul sinyal. Dengan sistem *quorum sensing*, bakteri mampu memonitor kehadiran bakteri lain di sekitarnya dengan memproduksi dan merespon molekul sinyal yang dikenal dengan *autoinducer*. Konsentrasi *autoinducer* sebanding dengan jumlah bakteri yang ada. Jadi dengan mendeteksi *autoinducer*, bakteri mampu mengetahui keberadaan bakteri di sekitarnya (Taga dan Bassler, 2003). *Autoinducer* direspon melalui perubahan ekspresi gen sehingga membentuk

perilaku tertentu, misalnya: Produksi enzim ekstraseluler pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Erwinia carotovora* (Jones *et al.*, 1993), bioluminescen pada *Vibrio fischeri* dan *Vibrio harveyi* (Bassler *et al.*, 1993), produksi antibiotik pada *E. carotovora* (Bainton *et al.*, 1992) dan pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* (Davies *et al.*, 1998). Menurut Eberl (1999) molekul sinyal AHL berfungsi ekologis yaitu untuk berinteraksi dengan populasi bakteri lain atau dengan inang eukariotik.

Sistem *quorum sensing* pada bakteri dibedakan menjadi 2 macam yaitu: gram positif oligopeptida dan gram negatif lux IR. (i) *Gram positif oligopeptida*. Pada bakteri gram positif molekul sinyalnya adalah oligopeptida. Prekursor peptida disintesis, diproses dan dimodifikasi menjadi molekul oligopeptida yang matang, kemudian dikeluarkan melalui kompleks transport *ATP binding cassette*. Konsentrasi *autoinducer* meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah sel. Pada konsentrasi tinggi, *autoinducer* dapat dideteksi oleh *sensor kinase*. Informasi ini dikirim ke dalam sel melalui fosforilasi, dan berhenti pada perubahan yang sesuai untuk ekspresi gen target (Taga dan Bassler, 2003). (ii) *Gram negatif Lux IR*. LuxI merupakan protein yang mengkatalis pembentukan *autoinducer* AHL (*Acyl Homoserine Lactone*) yang tersebar ke dalam dan keluar sel. LuxR adalah tipe protein yang berikatan dengan *autoinducer* yang spesifik ketika konsentrasi *autoinducer* mencapai tingkat tertentu. Ikatan antara LuxR dengan AHL akan mengenali sekuen DNA tertentu sehingga mengaktifkan transkripsi dari sekuen gen tersebut (Gambar 1) (Taga dan Bassler, 2003). Masing-masing bakteri mempunyai molekul sinyal dan protein regulator yang spesifik (Tabel 1) (Hentzer dan Givskov, 2003).



**Gambar 1.** Sistem *quorum sensing* Lux IR pada bakteri gram negatif. Protein Lux I mengkatalis pembentukan molekul *autoinducer* (pentagon hijau). *Autoinducer* berdifusi secara bebas melewati membran sel dan berakumulasi. Pada konsentrasi *autoinducer* tinggi, protein LuxR akan berikatan dengan *autoinducer*. Ikatan antara *autoinducer* dengan LuxR ini akan mengaktifkan transkripsi gen target (Schauder dan Bassler, 2001).



**Gambar 2.** Contoh molekul sinyal: C<sub>4</sub>-HSL – molekul sinyal pada bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Pada bakteri gram negatif, sistem *quorum sensing* berkaitan dengan asosiasinya dengan inang, termasuk metabolit sekunder dan produksi faktor virulen (Finch *et al.*, 1998).

**Tabel 1.** Berbagai molekul sinyal bakteri gram negatif (Voloshin dan Kaprelyant, 2004).

| No | Spesies bakteri                   | Molekul sinyal                          | Perilaku yang diatur                             |
|----|-----------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1  | <i>Agrobacterium tumefaciens</i>  | N- (3-oxooctanoyl)-Homoserine Lactone   | konjugasi                                        |
| 2  | <i>Erwinia carotovora</i>         | N- (3-oxohexanoyl)-Homoserine Lactone   | Sintesis antibiotik karbapenem                   |
| 3  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | N- (3-oxododecanoyl)-Homoserine Lactone | Produksi enzim yang virulen, pembentukan biofilm |
| 4  | <i>Vibrio fischeri</i>            | N- (3-oxohexanoyl)-Homoserine Lactone   | bioluminescen                                    |
| 5  | <i>Vibrio harveyi</i>             | N- (3-hydroxytanoyl)-Homoserine Lactone | bioluminescen                                    |
| 6  | <i>Erwinia stewartii</i>          | N- (3-oxooctanoyl)-Homoserine Lactone   | Sintesis eksopolisakarida                        |
| 7  | <i>Ersinia pseudotuberculosis</i> | N- (3-oxooctanoyl)-Homoserine Lactone   | motilitas                                        |
| 8  | <i>Pseudomonas aureofaciens</i>   | N- (3-Hexanoyl)-Homoserine Lactone      | Produksi antibiotik phenazin                     |
| 9  | <i>Pseudomonas carboxydoflava</i> | Alkyl oxybenzen                         | hipometabolisme                                  |
| 10 | <i>Aeromonas hydrophila</i>       | N-Butanoyl-L-Homoserine Lactone         | Produksi enzim eksoprotease                      |

### MEKANISME PENGHAMBATAN SISTEM QUORUM SENSING BAKTERI GRAM NEGATIF

Banyak bakteri yang menggunakan *quorum sensing* dalam mengontrol virulensinya terhadap organisme lain, sehingga *quorum sensing* merupakan target baru untuk agen kemoterapeutik (Rasch *et al.*, 2004). Menurut Keivit dan Iglewski (2000), bakteri gram negatif yang virulen dapat

dijadikan nonpatogen dengan cara menghambat sistem *quorum sensing*nya. Hal ini dapat dijadikan sebagai cara pencegahan infeksi kronis yang merusak tanpa menggunakan agen yang menghambat pertumbuhan seperti antibiotik, disinfektan yang dapat menyebabkan resistensi organisme.

Pada bakteri gram negatif, sistem *quorum sensing*nya menggunakan molekul sinyal AHL, maka beberapa cara yang dapat mengganggu sistem *quorum sensing* adalah: (i) penghambatan pembentukan sinyal AHL, (ii) penghambatan penyebaran sinyal AHL, dan (iii) penghambatan penerimaan sinyal AHL (Gambar 3).

#### Penghambatan Pembentukan Sinyal AHL

Pembentukan AHL dikatalis oleh protein LuxI. Prosesnya meliputi mekanisme reaksi yang berurutan yang menggunakan *S*-Adenosyl Methionine (SAM) sebagai donor asam amino untuk pembentukan cincin *homoserine lactone*, dan *Acyl Carrier Protein* (ACP) sebagai precursor untuk rantai *acyl* dari molekul sinyal AHL. Beberapa analog SAM seperti *S*-adenosylhomosistein, *S*-adenosylcysteine, dan *sinefungin* dapat digunakan sebagai inhibitor pembentukan AHL yang dikatalis oleh protein RhlI pada *Pseudomonas aeruginosa* (Hentzer dan Givskov, 2003). Antibiotik yang termasuk dalam *macrolide antibiotic* mampu menekan sintesis AHL pada *P. aeruginosa* ketika diberikan pada konsentrasi penghambatan di bawah minimal (Hentzer dan Givskov, 2003).

#### Penghambatan Penyebaran Sinyal AHL

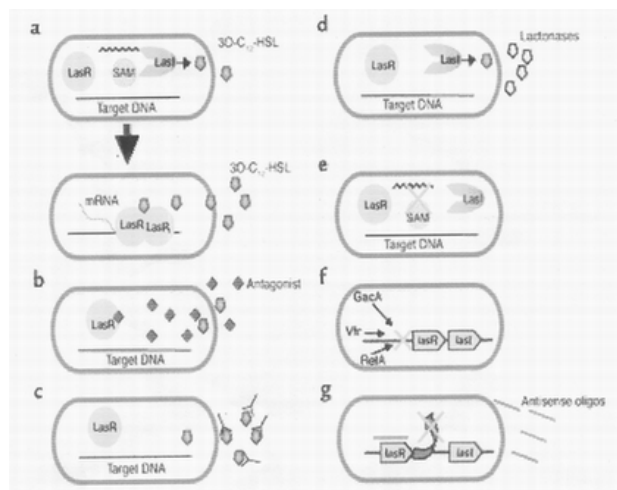
Komunikasi antar sel bakteri dapat dihambat oleh adanya penurunan konsentrasi molekul sinyal yang aktif di lingkungan. Kerusakan AHL dapat terjadi secara nonenzimatik, misalnya molekul sinyal AHL dapat dihidrolisis pada pH tinggi. Beberapa bakteri mampu mendegradasi molekul sinyal AHL secara spesifik. Dong *et al.* (2002) menemukan bahwa *AiiA*, enzim yang diproduksi oleh bakteri *Bacillus* sp dapat mempercepat reaksi hidrolisis molekul AHL. Ekspresi dari gen *AiiA* pada *Erwinia carotovora*, bakteri patogen pada tanaman menunjukkan penurunan pelepasan sinyal AHL, menurunkan aktivitas enzim pektolitik ekstraseluler dan melemahkan gejala infeksi pada tanaman (Hentzer dan Givskov, 2003).

AHL merupakan suatu senyawa ekstraseluler, sehingga dapat dijadikan sebagai target inaktivasi dan destruksi. Suatu antibody khusus dapat mengikat dan mencegah aktivitas *N*-(3-oxododecanoyl)-L-Homoserine-Lactone atau 3O-C<sub>12</sub>-HSL pada *Pseudomonas aeruginosa*. Pengetahuan ini dapat dijadikan dasar untuk mencari agen kemoterapeutik yang dapat mengikat dan mencegah molekul sinyal yang mengaktifkan faktor transkripsi gen target (Smith dan Iglewski, 2003).

#### Penghambatan penerimaan sinyal AHL

Penghambatan penghantaran molekul sinyal *quorum sensing* dapat dilakukan oleh molekul

antagonis yang mampu bersaing atau bercampur dengan sinyal AHL asli untuk berikatan dengan reseptor LuxR. Inhibitor kompetitif strukturnya mirip dengan molekul sinyal AHL sehingga berikatan dan mengambil tempat berikatan AHL tetapi gagal untuk mengaktifkan LuxR. Inhibitor nonkompetitif mempunyai struktur kurang mirip atau tidak mirip dengan molekul sinyal AHL, molekul ini mengikat pada sisi yang berbeda pada protein reseptor. (Hentzer dan Givskov, 2003).



**Gambar 3.** Penghambatan sistem *quorum sensing* pada *Pseudomonas aeruginosa*. Protein regulator LasI pada *P. aeruginosa* menggunakan *S*-adenosyl methionine (SAM) dan acyl-ACP dalam sintesis 3O-C<sub>12</sub>-HSL. B. Pengikatan AHLs analog pada LasR akan mencegah pengaktifan faktor transkripsi. C. Antibodi khusus mengikat AHLs saat disekresikan ke lingkungan sehingga mencegah masuknya kembali AHLs ke dalam sel bakteri. D. Proses laktonasi akan mendegradasi AHLs saat disekresikan ke lingkungan dan mencegah AHLs mengikat protein regulator LasR. E. Penargetan ekspresi substrat LasI akan mencegah produksi 3O-C<sub>12</sub>-HSL. F. Senyawa obat diketahui dapat menghambat berbagai faktor yang mengontrol ekspresi LasI dan LasR. G. Antisens spesifik oligonukleotida (oligos) dapat berpasangan dengan RNA LasR dan LasI serta menghambat translasi gen yang pada akhirnya menurunkan produksi protein (Hentzer dan Givskov, 2003).

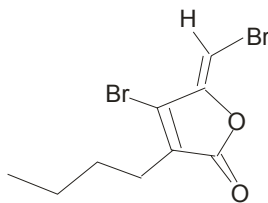
### SENYAWA BIOAKTIF TUMBUHAN PENGHAMBAT SISTEM QUORUM SENSING

Beberapa tumbuhan telah diketahui dapat menghambat sistem *quorum sensing*, sehingga dapat dijadikan sebagai cara pencegahan infeksi kronis yang merusak tanpa menggunakan agen yang menyebabkan resistensi mikroorganisme (Allison *et al.*, 2005). Tumbuhan yang mampu menghambat sistem *quorum sensing* antara lain: *Delisea pulchra* dan *Allium sativum* Linn. Pada bagian berikut dibahas sistem *quorum sensing* pada kedua tumbuhan tersebut sebagai contoh kasus pada dunia tumbuhan.

*Delisea pulchra*

*Delisea pulchra* merupakan makroalga laut dari Australia. Termasuk ke dalam kelompok alga merah. Alga ini menghasilkan halogen furanon yang menunjukkan aktivitas terhadap bakteri yang cukup kuat seperti anti pembusukan dan antimikrobia (De Nys *et al.*, 1993; Hentzer *et al.*, 2002; Kazlauskas *et al.*, 1977). Senyawa furanon *D. pulchra* terdiri dari struktur cincin furan dengan rantai *acyl* pada posisi C3 dan substitusi bromin pada posisi C4, sedangkan pada posisi C5 mempunyai rantai samping yang bermacam-macam dan bersifat halogen seperti *bromin*, *Iodine*, dan *chloride* (Schauer, 1978). *Delisea pulchra* menghasilkan 30 jenis senyawa halogen furanon yang disimpan pada permukaan talus dengan konsentrasi 1-100 ng/cm<sup>2</sup>. Furanon pada permukaan talus ini berhubungan dengan kolonisasi bakteri laut (Maximilien, 1998).

*Delisea pulchra* mempunyai metabolit sekunder, halogen furanon ( (z)-5 (bromomethylene)-Furan-2 (5H)-one) (Gambar 4) yang mampu menghambat sistem *quorum sensing* (Lonn, 2005). Halogen furanon ini mempunyai struktur kimia mirip dengan molekul sinyal *Acyl-Homoserine-Lactone* (AHL) pada bakteri gram negatif sehingga bersaing dengan molekul sinyal AHL untuk berikatan dengan protein regulator LuxR. Apabila yang halogen furanon berhasil berikatan dengan LuxR, maka LuxR gagal mengaktifkan gen target (Hentzer dan Givskov, 2003).



**Gambar 4.** Struktur halogen furanon ( (Z)-5 (bromomethylene)-Furan-2 (5H)-one)

Halogen furanon yang mempunyai struktur yang mirip dengan AHL dapat mencegah molekul sinyal AHL pada *Serratia liquefaciens* untuk berikatan dengan protein regulator LuxR (Rasmussen *et al.*, 2000). Furanon mengontrol transkripsi gen *SwaA* dengan cara berkompetisi dengan molekul sinyal *N-Butanoyl-L-Homoserine-Lactone* (C<sub>4</sub>-HSL) sehingga mengurangi produksi komponen aktif *serrawetin* W2 yang berperan penting untuk translokasi permukaan dari sel yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa furanon berhubungan dengan komunikasi interspesies selama swarming dari kultur campuran, dan bukan melalui penghambatan sintesis *autoinducer* (Rasmussen *et al.*, 2000).

Selain pada *S. liquefaciens*, halogen furanon (brominated furanon) juga menghambat motilitas pada bakteri *Proteus mirabilis* (Gram *et al.*, 1996). Di samping itu, furanon tidak hanya mampu mempengaruhi komunikasi sel-sel bakteri dalam suatu spesies, namun juga antar spesies dalam proses kolonisasi komunitas bakteri (Manefield *et al.*, 2002). Furanon juga dapat menghambat *Acyl Homoserine Lactone* yang mengontrol produksi

faktor virulensi dan patogenitas *Pseudomonas aeruginosa* (Hentzer dan Givskov, 2003). Halogen furanon mampu memodulasi konsentrasi seluler dari protein LuxR yang bertanggung jawab menerima AHL pada *Vibrio fischeri* (Manefield, 2002).

Berdasarkan penelitian Hentzer *et al.* (2002), halogen furanon mampu berinteraksi dengan komunikasi antar sel pada *P. aeruginosa*. Furanon ini mengurangi ekspresi gen yang dikontrol *quorum sensing*, tetapi tidak mempengaruhi sintesis protein dan pertumbuhan. Halogen furanon mengurangi produksi faktor virulensi dan pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* tersebut (Hentzer *et al.*, 2002). Sedangkan penelitian Manefield *et al.* (1999) furanon mampu menghambat AHL yang mengatur bioluminescen *Vibrio fischeri*, faktor virulensi pada *Vibrio harveyi*, *P. aeruginosa*, dan *Erwinia carotovora*.

Senyawa furanon ini juga terdapat secara alami sebagai di alam sebagai *pheromone*, *flavour compound*, dan metabolit sekunder (Martinelli *et al.*, 2004). Butenolids (2 (5H)-Furanon) telah diisolasi dari *Streptomyces* sp. atau dari *Hortonia* sp. Furanon juga diproduksi oleh alga hijau, alga merah, dan alga coklat, sponge, fungi, dan ascidian. Pada kecoa jantan, furanon digunakan sebagai *sex pheromone*. Furanon ini terdapat secara alami pada nanas dan strawberry dan membuat senyawa cita rasa pada keju dan wine (Martinelli *et al.*, 2004; Hauck *et al.*, 2003).

Senyawa furanon alami mempunyai efek yang kecil terhadap sistem *quorum sensing* *P. aeruginosa* sehingga furanon alami dimodifikasi dengan proses sintesis kimia dan diskriminasi untuk meningkatkan efisiensinya (Hentzer and Givskov, 2003). Furanon sintetis misalnya C30 dan C56 berinteraksi dengan aksi AHL dan menghambat ekspresi gen yang dikontrol oleh sistem *quorum sensing* pada *P. aeruginosa* secara in vivo. Furanon sintetis secara signifikan menaikkan ketahanan hidup mencit yang diinfeksi dengan *P. aeruginosa*, sehingga mengurangi pataloginya pada paru-paru mencit. Furanon sintetis C30 dan C56 berhasil menekan transkripsi *lasR-PlasB-gfp* pada paru-paru tikus (Wu *et al.*, 2004).

*Allium sativum* Linn.

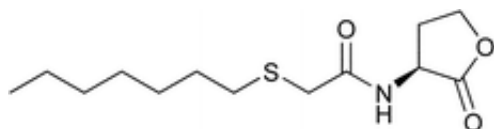
*Allium sativum* Linn. (bawang putih) termasuk dalam familia liliacea (Tjitrosoepomo, 2002). Di beberapa negara, bawang putih dikenal dengan nama yang beragam, di antaranya: *garlic* (Inggris), *Vitlok* (Swedia), *thoam* (Arab), *ajo* (Spanyol), *Commun* (Perancis), dan *Aglio* (Italia). Sedangkan di Indonesia, bawang putih mempunyai nama daerah yang sangat banyak, antara lain disebut *bawang bodas* (Sunda), *bawang* (Jawa), *bhabang pote* (Madura), *Larun* (Gayo), *bawang hdanak* (Lampung), *Dasun putih* (Minang), *Kasuna* (Bali), *Langsuna* (Sasak), *ncuna* (Bima), *Kalfeofolen* (Timor), *bawang pulak* (Tarakan) (Rukmana, 1995).

Bawang putih merupakan tanaman herba perennial yang membentuk umbi lapis, tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak sampai setinggi

30-75 cm, mempunyai batang semu yang terdiri dari pelepah-pelepah daun. Sedangkan batang yang sebenarnya berada di dalam tanah. Akar bawang putih terdiri dari serabut-serabut kecil yang berjumlah banyak (Thomas, 1989). Umbi lapis bawang putih mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang secara biologi sangat beragam (Challem, 1995; Manitto, 1981). Senyawa ini kebanyakan mengandung belerang yang bertanggung jawab atas asa, aroma, dan sifat-sifat farmakologi bawang putih (Ellmore dan Feklderg, 1994; Herbert, 1995).

Berbagai penelitian yang telah dikembangkan untuk mengeksplorasi aktivitas biologi umbi bawang putih yang terkait dengan farmakologi antara lain sebagai antidiabetes, anti hipertensi, anti kolesterol, anti atherosclerosis, antioksidan, anti agregasi sel platelet, pemacu fibrinolisis, antimikrobia dan anti kanker (Hernawan dan Setyawan, 2003). Persson *et al.* (2005) mengemukakan bahwa *Allium sativum* mempunyai aktivitas sebagai penghambat sistem *quorum sensing*.

Berdasarkan penelitian Persson *et al.* (2005), *Allium sativum* mempunyai senyawa aktif yang mampu menghambat sistem *quorum sensing* yang potensial yaitu *N*- (Heptylsulfanylacetyl)-*L*-Homoserine-Lactone (Gambar 5). Dilihat dari struktur senyawa tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekanisme penghambatan *quorum sensing* oleh *Allium sativum* ini melalui penghambatan kompetitif dengan regulator transkripsi LuxR dan lasR sehingga menghambta molekul sinyal untuk berikatan dengan LuxR sehingga gen target tidak terekspresi.



**Gambar 5.** *N*- (heptylsulfanylacetyl)-*L*-homoserine-lactone.

Ekstrak bawang putih efektif menghambat *quorum sensing* pada *Pseudomonas aeruginosa*. Analisis genechip menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih secara spesifik berhubungan dengan ekspresi *quorum sensing* yang mengontrol gen penyandi faktor virulen. Ekstrak bawang putih mampu menghambat pembentukan biofilm dan patogenisitas dari *Pseudomonas aeruginosa*, dan juga mengurangi toleransi biofilm *P. aeruginosa* terhadap tobramisin. Selain itu juga mengurangi virulensi pada *Caenorhabditis elegans* (Rasmussen *et al.*, 2005).

#### SENYAWA BIOAKTIF HEWAN PENGHAMBAT SISTEM QUORUM SENSING

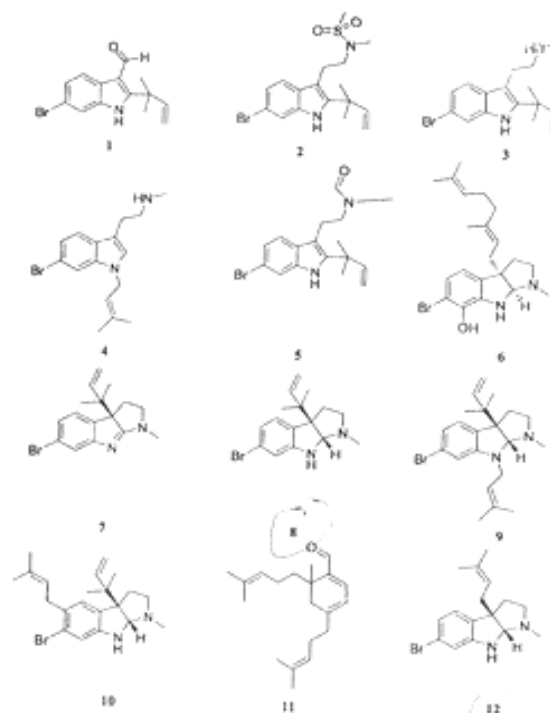
Hewan-hewan tertentu juga mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu menghambat sistem *quorum sensing* pada mikrobia, misalnya *Flustra foliacea*. Pada bagian berikut

dibahas sistem *quorum sensing* pada hewan ini sebagai contoh kasus pada dunia hewan.

#### *Flustra foliacea*

*Flustra foliacea* merupakan Bryozoa laut, bersifat foliaceus, termasuk ke dalam familia Flustridae, ordo Cheilostomatida (Connaughey dan Harlow, 1983). Merupakan invertebrata yang hidupnya bersifat sesil, berasal dari perairan Kanda dan tersebar di Laut Utara. *Flustra foliacea* mempunyai senyawa biologi aktif yaitu *Brominated alkaloid* (senyawa 3) dan monoterpen (senyawa 50. Menurut Dyrinda (1985), ekstrak *F. foliacea* mempunyai efek toksik terhadap larva dari berbagai invertebrata lain, ikan, dan bakteri. Ekstrak *F. foliacea* mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas kuat melawan *Bacillus subtilis*, sedangkan alkaloidnya mampu melawan bakteri gram negatif seperti *Enterobacter cloacae*, *Eschericia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, dan juga melawan kandungan G+C yang rendah pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *S. epidermidis* (Laycock *et al.*, 1986). *Flustra foliacea* juga mengandung flustramine (senyawa 12) yang aktif melawan *Botrytis cinesea* dan *Rhizoctonia solani* (Holst *et al.*, 1994). *Flustra foliacea* menghasilkan *Deformylflustrabromine* yang bersifat sitotoksik pada sel kanker kolon manusia (Anonim., 2004).

Berdasarkan penelitian Peter *et al.* (1999) terdapat 12 senyawa metabolit sekunder pada *F. foliacea* (Gambar 6).



**Gambar 6.** Senyawa metabolit sekunder *F. foliacea*.

Dari kedua belas metabolit sekunder *F. foliacea*, senyawa yang mampu berinteraksi dengan system komunikasi interseluler bakteri adalah senyawa

3,6,8,9 dan 10. Senyawa 8 dan 10 mempunyai aktivitas antagonis AHL dan mempunyai kemampuan secara spesifik untuk menghambat AHL yang mengatur ekspresi gen. Senyawa 8 dan 10 bersifat antagonis dengan AHL pada *Pseudomonas aeruginosa* yang mengatur produksi enzim eksoprotease ekstraseluler pada *P. aeruginosa* (Passador *et al.*, 1993; Riedel *et al.*, 2001).

## PENUTUP

Sistem *quorum sensing* merupakan sistem komunikasi interseluler bakteri yang juga mengatur produksi faktor virulen dari bakteri gram negatif, sehingga sistem *quorum sensing* ini dapat dijadikan sebagai target baru senyawa antimikrobia dengan cara menghambat sistem *quorum sensing* ini. Berbagai senyawa aktif mampu menghambat sistem *quorum sensing* bakteri gram negatif, diantaranya halogen furanon dari alga *Delisea pulchra*, *N-(Heptylsulfanylacetyl)-L-Homoserine-Lactone* dari *Allium sativum*, dan *flustramine* dari bryozoan *Flustra foliacea*. Dengan ditemukannya berbagai senyawa penghambat sistem *quorum sensing*, dapat digunakan sebagai suatu cara untuk mencegah timbulnya infeksi bakteri gram negatif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allison, A., K. Downum., B. Bennett., and K. Mathee. 2004. *Identification of Quorum sensing Inhibitor in South Florida Medicinal Plant: an Understanding Aspect of Officicacy*. Florida: Center of Etnobotany and Natural Products, Departemen of Biological Science, International University Miami, USA
- Anonim. 2004. **Flustra foliacea**. [http://192.171.163.164/species/adult\\_gen\\_flustrafoliacea.htm](http://192.171.163.164/species/adult_gen_flustrafoliacea.htm)
- Bainton, N.J., B.W. Bycroft., S.R. Chhabra., and 8 Others Author. 1992. A general role for the *lux* autoinducer in bacterial cell signalling: control of antibiotic biosynthesis in **Erwinia**. *Gene* 116: 87-91
- Bassler, B.L., M. Wright., R.C. Showalter., and M.R. Silverman. 1993. Intercellular signalling in **Vibrio harveyi**: sequence and function of gene regulating expression of luminescence. *Molecular Microbiology* 2: 773-786.
- Challem, J. 1995. *The Wonders of Garlic*. [www.jrthorns.com/challem/garlic.htm](http://www.jrthorns.com/challem/garlic.htm)
- Christopersen, and J.S. Carle. 1978. Chemical signals from marine Bryozoa. *Naturwissenschaften* 65: 440-441
- Connaughey, Mc. and B. Harlow. *Pengantar Biologi Laut 2*. Missouri: C.V. Mosby Company
- Davies, D.G., M.R. Parsek, J.P. Pearsson, B.H. Iglewski, J.W. Costerton, and E.P. Greenberg., 1998. The involvement of cell to cell signals in the development of bacterial biofilm. *Science*. 280: 295-298.
- De Nys, R., A.D. Wright, G.M. Konig, and O. Stiecher. 1993. New halogen furanones from marine alga **Delisea pulchra** (*cf* *fimbriata*). *Tetrahedron* 49: 1213-11220
- Dong, Y.H., A.R. Gusti, Q. Zhang, J.L. Xu, and L.H. Zhang. 2002. Identification of quorum quenching N-acyl-homoserine lactone from **Bacillus** species. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (4): 1754-1759
- Dwarjayn, S.A., R. de Nys, and P.D. STEinberg. 1999. Localization and surface quantification of secondary metabolites in the red algae **Delisea pulchra**. *Marine Biology* 133: 727-736.
- Dyrynda, P.E.J. 1985. Functional alleochemistry in temperate waters; chemical defences of bryozoans. In Nielsen, C. and G.P. Larwood. *Bryozoa: Ordovician to Recent*. Fredensborg, Ge.: Olsen and Olsen.
- Eberl, L. 1999. N-Acyl homoserine lactone mediated genes regulation in gram negative bacteria. *Systematics and Applied Microbiology* 22 (4): 493-506.
- Ellmore, G. and R. Feldberg. 1994. Allisin lyase localisation in bundle sheaths of garlic clove (**Allium sativum**). *American Journals of Botany* 81: 89-95.
- Finch, R.G., D.I. Pritchard, B.W.P. Williams, and G.S.A.B. Stewart. 1998. Quorum sensing: a novel target for anti infective therapy. *Jurnal of Antimicrobiology Chemotherapy* 42: 569-571.
- Hauck, T, F. Bruhlmann, and W. Schwab. 2003. Foramation of 4-hydroxy-2,5-dimetil 3 (2H) furanon by **Zygosaccharomyces rouxii** identification of an intermediete. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (7): 3911-3918.
- Hentzer, M. and M. Givskov. 2003. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infection. *Journal of Clinical Investigation* 112: 1300-1307.
- Hentzer, M., K. Riedel, T.B. Rasmussen, A. Heydorn, J.B. Anderson, M.R. Parsek, S.A. Rice, L. Eberl, S. Molin, N. Hoiby, S. Kjelleberg, and M. Givskov. 2002. Inhibition of quorum sensing in **Pseudomonas aeruginosa** biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology* 148: 87-102.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Edisi ke-2. London: Chapman and Hall.
- Hernawan, U.E. and A.D. Setyawan. 2003. Review: Senyawa organosulfur bawang putih (**Allium sativum**) dan aktivitas biologinya. *Biofarmasi* 1 (2): 65-76.
- Holst, P.B., U. Anthony, C. Christophersen, and P.H. Nielsen. 1994. Two alkaloids, flustramine E and debromoflustramine B from the marine bryozoan **Flustra foliacea**. *Canadian Journal of Chemistry* 64: 1312-1316.
- Jones, S., B. Yu, N.J. Bainton, and 11 others authors. 1993. The *lux* autoinducer regulates the production of exoenzyme virulence determinants in **Erwinia carotovora** and **Pseudomonas aeruginosa**. *EMBO Journal* 12: 2477-2482.
- Kazlauskas, R., P. Murthy, R. Quin, and R. Wells. 1977. A new class of halogenated lactones from the red alga **Delisea fimbriata**. *Tetrahedron Letter* 1: 37-40.
- Kievit, T.R and B.H. Iglewski. 2000. Bacterial quorum sensing in phatogenic relationship. *Infect and Immunology* [September 2000]: 4839-4849.
- Laycock, M.V., J.I.C. Wright, J.A. Findlay, and A.D. Patil. 1986. New physostigmine related bromoalkaloids from the marine bryozoan **Flustra foliacea**. *Canadian Journal of Chemistry* 64: 1312-1316.
- Lonn, J. 2005. *May We Fight Bacteria by Inhibitting Cell-Cell Signaling UsingFuranon?* Institute of Oral Biology. Dental Faculty, Universitas of Oslo Norway. [www.odont.uio.no/forsking/uldanning](http://www.odont.uio.no/forsking/uldanning)
- Manefield, M., R. de Nys, N. Kumar, R. Read, M. Givskov, P. Steinberg, and S. Kjelleberg., 1999. Evidence that halogenated furanones from **Delisea pulchra** inhibit acylated homoserine lactone (AHL) mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. *Microbiology* 145: 283-291.
- Manefield, M., M. Welch, M. Givskov, G.P.C. Salmond, and S. Kjelleberg. 2002. Halogenated furanones from the red alga, **Delisea pulchra** inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzym virulence factor

- production in phyttopatogenic **Erwinia carotovora**. *FEMS Microbiology Letters* 205: 131-138.
- Manitto, P. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. New York: John Wiley and Sons.
- Martinelli, D., G.U. Sequin, H. Brdanl, and R. Bachosen. 2004. Effect of natural and chemically synthesised furanones on quorum sensing in **Chromobacterium violaceum**. *BMC Microbiology* 4: 25.
- Maximilien, R. 1998. Chemical mediation of bacterial surface colonisation by secondary metabolites from the red algae **Delisea pulchra**. *Aquatic Microbiology and Ecology* 15: 233-246.
- Parsek, M.R., and E.P. Greenberg. 1997. *Acyl Homoserine Lactone Quorum Sensing in Gram Negative Bacteria: A Signalling Mechanism Involved Association With Higher Organism*.  
www.pnas.org/cgi/content/full/96/16/8789=fn152
- Passador, L., J.M. Coole, M.J. Gambello, L. Rust, and B.H. Iglewski. 1993. Expression of **Pseudomonas aeruginosa** virulence genes require cell to cell communication. *Science* 260: 1127: 1130.
- Persson, T., T.H. Hansen, T.B. Rasmussen, S.E. Skindersoe, M. Givskov, and J. Nielsen. 2005. Rational design and synthesis of new quorum sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactone and natural product from garlic. *Royal Society* 3 (2): 253-262.
- Peters, L., G.M. Konig, A.D. Wright, R. Pukall, E. Stakebrandt, L. Eberl, and K. Riedel. 2003. Secondary metabolites **Flustra foliacea** and their influence on bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 3469-3475.
- Rasch, M., C. Buch, B. Austin, W.J. Slierendrecht, K.S. Ekmann, J.L. Larsen, C. Johansen, K. Riedel, L. Eberl, M. Givskov, and L. Gram. 2004. An inhibitor of bacterial quorum sensing reduces mortality caused by vibriosis in rainbow trout (**Oncorhynchus mykiss wal-baum**). *Sistematic and Applied Microbiology* 24 (3): 350-359.
- Rasmussen, T.B., M. Manefield, J.B. Danerson, L. Eberl, U. Anthoni, C. Christophersen, P. Steinberg, S. Kjelleberg, and M. Givskov. 2000. How **Delisea pulchra** furanones affect quorum sensing and swarming motility in **Serratia liquefaciens** MGJ. *Microbiology* (146): 3237-3244.
- Rasmussen, T.B., T. Bajarnsholt, M.E. Skindersoe, M. Hentzer, P. Kristoffersen, M. Kote, J. Nilesen, L. Eberl, and M. Givskov. 2005. Screening for quorum sensing inhibitor by use of a novel genetic system the quorum sensing selector. *Journal of Bacteriology* 185 (5): 1799-1814.
- Riedel, K., T. Ohnesong, K.A. Krogfit, T.S. Hansen, K. Omeri, M. Givskov, and L. Eberl. 2001. N-Acyl homoserine lactone mediated regulation of the up secretion system in **Serratia liquefaciens** MG1. *Journal of Bacteriology* 183: 1805-1809
- Rukmana, R. 1995. *Budidaya Bawang Putih*. Yogyakarta: Kanisius.
- Santoso, H.B. 2000. *Bawang Putih*. Edisi ke-12. Yogyakarta: Kanisius.
- Schauder, S., and B.L. Bassler. 2001. The language of bacteria. *Journal of Microbiology* 15 (12): 1468-1480.
- Schauer, P.J. 1978. *Produk Alami Lautan dari Segi Kimiawi dan Biologi Jilid 1*. New York: Academic Press.
- Smith, R.S. and B.H. Iglewski. 2003. **Pseudomonas aeruginosa** quorum sensing as a potensial antimicrobial target. *Journal of Clinical Investigation* 112: 1460-1465
- Suga, H. and K.M. Smith. 2003. Molecular mechanisms of bacterial quorum sensing as a new drug target. *Current Opinion in Chemical Biologi* 7: 586-591.
- Taga, M.E. and B.L. Bassler. 2003. Chemical communication among bacteria. *Proceeding of the National Academy of Science USA* 100 (2): 14549-14554.
- Thomas, A.N.S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Kanisius
- Tjitrosoepomo, G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Voloshin, S.A. and A.S. Kaprelyants. 2004. Cell-cell interactions in bacterial populations. *Biochemistry* 69 (11): 1268-1275
- Wu, H., Z. Soang, M. Hentzer, J.B. Anderson, S. Molin, M. Givskov, and N.H.A. iby. 2004. Synthetic furanones inhibits quorum sensing and enhance bacterial clearance in **Pseudomonas aeruginosa** lung infection in mice. *JAC* 53: 1054-1061.

## PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

**Tulisan** diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm<sup>2</sup>), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m<sup>-2</sup>, l<sup>-1</sup>, h<sup>-1</sup>) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

**Judul** ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat bersegi, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan

menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

**Pustaka** dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa pustaka. Naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

**Daftar Pustaka** diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

### Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infected strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

### Buku:

Sprent, J.I. and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

### Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

### Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Fla., 23-26 July 2000.

### Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

### Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

### Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

**Beberapa catatan tambahan.** Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\chi$ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

**Kemajuan Naskah.** Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

**PENTING:** Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan *Biofarmasi, Journal of Pharmacological and Biological Sciences* kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

|                                                                                                                                                                                                                  |              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Potensi Minyak Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.) sebagai Repelen terhadap Nyamuk <i>Culex quinquefasciatus</i> L.</b>                                                                               | <b>1-3</b>   |
| • CR. SRI UTARI, T. WIDYARINI, SUTARMIADJI D., RUBEN DHARMAWAN, DARUKUTNI                                                                                                                                        |              |
| <b>Pengaruh Variasi Metode Pengeringan terhadap Kadar Saponin, Angka Lempeng Total (ALT), dan Bakteri Patogen Ekstrak Simplisia Daun Turi (<i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers.)</b>                           | <b>4-9</b>   |
| • NOOR AFIFAH RACHMAWATI, SURANTO, SOLICHATUN                                                                                                                                                                    |              |
| <b>Toksisitas Temu Lawak dan Temu Putih</b>                                                                                                                                                                      | <b>10-13</b> |
| • SHANTI LISTYAWATI                                                                                                                                                                                              |              |
| <b>Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> var <i>Botrytis</i> L.) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Ren Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) setelah Pemberian Pb Asetat Secara Oral</b> | <b>14-21</b> |
| • RIRIN DIYAH SETYANINGSIH, NOOR SOESANTI HANDAJANI, MARTI HARINI                                                                                                                                                |              |
| <b>Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Daun Kemangi (<i>Ocimum basilicum</i> L.) terhadap Kualitas Fillet Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) selama Penyimpanan Suhu Dingin</b>                              | <b>22-26</b> |
| • RIKHAYATI RATIH WIDATI, SURANTO, ARTINI PANGASTUTI                                                                                                                                                             |              |
| <b>Adsorpsi Zat Warna Remazol Yellow FG pada Limbah Tekstil oleh Alang-alang (<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Raeush)</b>                                                                                        | <b>27-33</b> |
| • TRIANA KUSUMANINGSIH, ABU MASYKUR, RONI SUPRIYANTO                                                                                                                                                             |              |
| <b>REVIEW: Senyawa Bioaktif Penghambat Sistem <i>Quorum Sensing</i> pada Bakteri Gram Negatif</b>                                                                                                                | <b>34-40</b> |
| • NUR AINI, AHMAD DWI SETYAWAN                                                                                                                                                                                   |              |

