

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 10
NOMOR 2
AGUSTUS 2012
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: <http://biosains.mipa.uns.ac.id/C/index.htm>

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
Tetri Widiyani

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.

Efek antipiretik ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantiifolium*) pada tikus putih

Antipyretic effect of key lime (*Citrus aurantiifolium*) leaf extract on white rats

AMELIA KARTIKA WIDOWATI, NUR HAFIDHA HIKMAYANI, ETI PONCORINI PAMUNGKASARI

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 8 Juli 2012. Revision accepted: 14 Agustus 2012.

Abstract. Widowati AK, Hikmayani NH, Pamungkasari EP. 2012. Antipyretic effect of key lime (*Citrus aurantifolia*) leaf extract on white rats. *Biofarmasi* 10: 35-39. The objective of this study was to evaluate the antipyretic effect of key lime (*Citrus aurantifolia* L.) leaf extract on white rats (*Rattus norvegicus*) induced fever by using DPT vaccine. Thirty male white rats with the body weight of ± 200 grams and the age of 2-3 months old were used in this study. Those rats were grouped equally into five groups, consisted of a negative control group (2 mL aquabidest), a positive control group (acetaminophen 6.3 mg/100 g of body weight), the first dose of key lime leaf extract (1.26 mg/100 g of body weight), the second dose (2.52 mg/100 g of body weight) and the third dose (5.04 mg/100 g of body weight). The measurement of rat temperature was conducted before and 2 hours after getting DPT vaccine, and every 30 minutes post-treatment until 120 minutes. Data at the 120th minute were analyzed by using *One-Way Anova* test. The results of *One-Way Anova* test showed that there were significant differences ($p < 0.05$) among treatment groups. The results of post-hoc test analysis showed that the significant differences ($p < 0.05$) were found between a negative control group and four other groups. There was no significant difference ($p > 0.05$) between a positive control group and three groups of key lime leaf extract. It concluded that the key lime leaf extract has an antipyretic effect on white male rats.

Keywords: acetaminophen, antipyretic, key lime leaf extract

PENDAHULUAN

Saat ini dengan meningkatnya taraf pendidikan masyarakat yang menuntut cara berpikir rasional maka obat dan cara pengobatan tradisional perlu dikaji secara berkesinambungan. Permasalahan yang ada saat ini diantaranya adanya kesenjangan persepsi antarpemerhati obat dan pengobatan tradisional dengan pengobatan modern. Dalam upaya mempersempit kesenjangan tersebut maka perlu dilakukan penelitian dan tindak lanjutnya.

Obat tradisional yang merupakan kekayaan Indonesia, menuntut masyarakat untuk menggalakkan penggunaan obat tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berasal dari bahan alam seperti tumbuh-tumbuhan yang dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit dan telah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat (Hargono 1992). Beberapa keunggulan obat tradisional antara lain memiliki efek samping yang lebih ringan jika dibandingkan obat sintetik. Selain itu, obat tradisional juga terjangkau oleh semua kalangan masyarakat, karena harganya relatif lebih murah (Afdhal 1996).

Penggunaan obat tradisional oleh masyarakat antara lain sebagai obat penurun demam atau antipiretik (Wijayakusuma 1995). Penggunaan obat tradisional sebagai antipiretik menduduki urutan kedua setelah penggunaan obat tradisional untuk mengatasi pusing. Hal ini dikarenakan demam merupakan gejala penyakit yang sering terjadi. Demam menempati urutan kedua dari gejala

yang sering dikeluhkan masyarakat setelah nyeri (Notosiswoyo et al. 1998).

Obat kimia yang biasa digunakan untuk menurunkan demam adalah parasetamol dan asetosal. Sekitar 175 juta tablet parasetamol dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia setiap tahunnya ketika gejala demam muncul, karena obat tersebut dianggap cukup aman, mudah didapat, dan harganya relatif terjangkau. Namun, beberapa penelitian tentang parasetamol akhir-akhir ini menemukan bahwa meskipun cukup aman, parasetamol ternyata memiliki banyak efek samping (Sajuthi 2003).

Salah satu jenis bahan tradisional yang sering digunakan sebagai pereda demam adalah daun jeruk nipis. Penggunaan daun jeruk nipis sebagai obat tradisional berhubungan erat dengan kandungan zat aktif yang dimilikinya. Salah satu zat aktif tersebut adalah flavonoid. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek antipiretik. Flavonoid mampu menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam metabolisme asam arakidonat menjadi prostaglandin (Amili et al. 2008). Peningkatan prostaglandin akan menginduksi terjadinya kenaikan *set point* suhu tubuh, sehingga menimbulkan demam (Sherwood 2001; Guyton 2007). Oleh karena itu, tanaman yang mengandung flavonoid, seperti jeruk nipis, berpotensi sebagai antipiretik. Penelitian mengenai potensi ekstrak daun jeruk nipis sebagai antipiretik belum pernah dilakukan, oleh karena itu diperlukan suatu pengujian secara ilmiah untuk membuktikan kebenaran dari dugaan tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antipiretik ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) pada tikus putih.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Universitas Setia Budi, Surakarta dan Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang, timbangan, termometer digital, arloji/*stopwatch*, jarum suntik, spuit pencekok, *beaker glass*, dan pengaduk kaca. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun jeruk nipis, akuabides, asetaminofen dalam bentuk tablet, vaksin DPT, alkohol 70%, dan kapas.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat kuasi eksperimental dengan rancangan penelitian berupa *the post-test only with control group design*.

Subjek penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipilih berdasarkan kriteria sebagai berikut: berjenis kelamin jantan, galur Wistar, berat badan ± 200 gram, berumur 2-3 bulan, sehat, dan belum kawin.

Teknik sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini menggunakan metode *purposive sampling* untuk menentukan subjek penelitian. Jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer yaitu: $(k-1)(n-1) \geq 15$ (Smith dan Mangkoewidjojo 1998). Terdapat 5 kelompok pada penelitian ini, dengan demikian perhitungan dengan rumus Federer dalam menentukan jumlah sampel tiap kelompok adalah $n \geq 5$.

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus Federer didapatkan jumlah sampel untuk tiap kelompok yaitu sebanyak 5 sampel. Dengan demikian, jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 25 sampel. Namun untuk mengantisipasi jika terdapat tikus yang mati di tengah percobaan berlangsung maka disediakan 30 ekor tikus, dengan 5 ekor tikus sebagai cadangan.

Cara kerja

Penentuan dosis ekstrak daun jeruk nipis

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan secara per oral pada tikus putih adalah 5 mL/100 g BB. Disarankan takaran dosis tidak sampai melebihi setengah kali volume maksimalnya (Imono dan Nurlaila 1986). Takaran daun jeruk nipis yang biasa digunakan adalah 10 g. Uji pendahuluan atau orientasi dosis perlu dilakukan karena belum ada riset tentang dosis standar daun jeruk nipis untuk pengobatan secara per oral.

Faktor konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus putih dengan berat badan 200 g

adalah 0,018. Adapun berat rata-rata manusia Indonesia adalah 50 kg (Ngatidjan 1991). Dengan demikian, dosis daun jeruk nipis untuk tikus yaitu sebesar: 126 mg/100 g BB.

Persentase dari daun jeruk nipis segar ke ekstrak daun jeruk nipis dengan kandungan yang sama yaitu sebesar 2%. Dosis ekstrak daun jeruk nipis untuk tikus putih jantan yaitu:

$$= (126 \times 2\%) / 100 \text{ g BB}$$

$$= 2,52 / 100 \text{ g BB} / 2 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis I} = 1,26 \text{ mg ekstrak} / 100 \text{ g BB} / 2 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis II} = 2,52 \text{ mg ekstrak} / 100 \text{ g BB} / 2 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis III} = 5,04 \text{ mg ekstrak} / 100 \text{ g BB} / 2 \text{ mL}$$

Penentuan dosis asetaminofen

Dosis lazim asetaminofen pada manusia adalah 500 mg. Konversi dosis dari manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Adapun berat rata-rata manusia Indonesia adalah 50 kg (Ngatidjan 1991). Dengan demikian, dosis asetaminofen untuk tikus adalah: 6,3 mg/100 g BB.

Pembuatan ekstrak daun jeruk nipis

Ekstrak daun jeruk nipis dibuat dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, pelarut sempurna untuk flavonoid. Ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental. Setelah diadaptasikan selama 6 hari di tempat percobaan, tikus putih dipuasakan selama 6 jam sebelum perlakuan. Tikus putih kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus putih. Suhu rektal tikus putih diukur terlebih dahulu untuk mengetahui suhu tubuh normal, kemudian tikus putih disuntik dengan vaksin DPT 0,4 cc secara intramuskuler. Penentuan dosis tersebut berdasarkan hasil orientasi dosis pada tikus putih jantan. Untuk mengetahui derajat peningkatan suhu tubuh setelah penyuntikan vaksin maka 2 jam setelah dilakukan penyuntikan, suhu rektal tikus putih diukur terlebih dahulu.

Pemberian perlakuan

Dua jam setelah pemberian vaksin, masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut: (i) Kelompok 1 diberi 2 mL larutan akuabides secara per oral, (ii) Kelompok 2 diberi larutan asetaminofen secara per oral, (iii) Kelompok 3 diberi ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 1,26 mg/100 g BB/2 mL, (iv) Kelompok 4 diberi ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 2,52 mg/100 g BB/2 mL, dan (v) Kelompok 5 diberi ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 5,04 mg/100 g BB/2 mL.

Setelah perlakuan

Tiga puluh menit setelah perlakuan, suhu rektal diukur lagi, sampai percobaan pada menit ke-120 dengan interval pengukuran 30 menit.

Analisis data

Data ditabulasi dan ditampilkan dalam bentuk grafik. Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* dan uji *post-hoc*. Uji *Anova* adalah uji untuk membandingkan perbedaan rerata suhu

pada kelima kelompok, sedangkan uji *post-hoc* adalah uji untuk membandingkan perbedaan *mean* antara dua kelompok dengan nilai $\alpha=0,5$ (Murti 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Penelitian ini dilakukan terhadap 5 kelompok perlakuan, terdiri dari 3 kelompok dengan pemberian ekstrak daun jeruk nipis dosis 1,26 mg/100 g BB/2 mL, dosis 2,52 mg/100 g BB/2 mL, dan dosis 5,04 mg/100 g BB/2 mL, satu kelompok dengan pemberian 2 mL larutan akuabides secara per oral sebagai kontrol negatif, serta satu kelompok dengan pemberian larutan asetaminofen secara per oral sebagai kontrol positif. Pengamatan dilakukan sebanyak 6 kali. Pengamatan pertama dilakukan sebelum eksperimen untuk mengetahui suhu normal tikus putih. Pengamatan kedua dilakukan 2 jam setelah pemberian vaksin DPT 0,4 cc untuk mengetahui peningkatan suhu tubuh. Adapun empat pengamatan lainnya adalah pengukuran suhu tubuh untuk mengetahui efek perlakuan yang dilakukan 30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit setelah perlakuan.

Gambar 1 merupakan hasil pengamatan suhu tubuh tikus putih untuk mengetahui perbandingan efek antipiretik ekstrak daun jeruk nipis dengan 3 macam dosis dan dua jenis kontrol yaitu larutan akuabides dan asetaminofen. Berdasarkan hasil pada Gambar 1 dapat diketahui perubahan suhu tubuh tikus putih dalam 6 waktu pengamatan. Kelompok tikus putih yang mendapat perlakuan kontrol negatif (diberi 2 mL larutan akuabides secara per oral) mengalami peningkatan suhu tubuh sejak awal (kondisi normal sebelum eksperimen) hingga pengamatan terakhir (120 menit setelah perlakuan). Adapun 4 kelompok tikus putih yang lain secara umum mengalami peningkatan suhu tubuh dari awal hingga 30 dan 60 menit setelah perlakuan, setelah itu penurunan suhu tubuh mulai tampak pada menit ke-90 dan selanjutnya 120 menit setelah perlakuan.

Data pengamatan terakhir suhu tubuh (120 menit setelah perlakuan) selanjutnya dianalisis dengan uji *Anova* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan (pengaruh perlakuan terhadap suhu tubuh). Apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilakukan uji lanjut (*post hoc-test*) untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing pasangan kelompok perlakuan.

Hasil analisis data

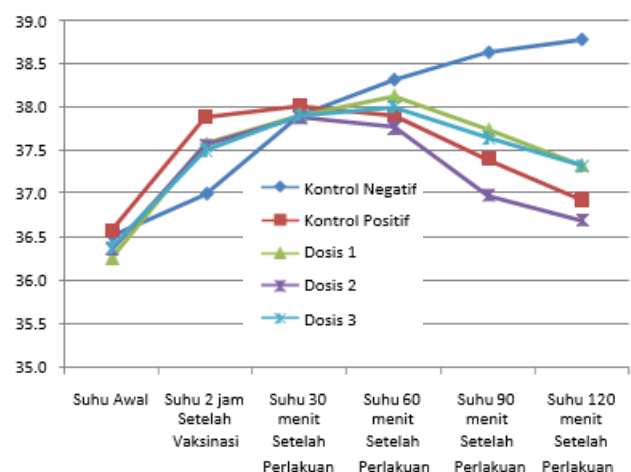
Uji *Anova* dilakukan untuk membandingkan rerata suhu tubuh antar lima kelompok perlakuan. Uji *Anova* merupakan metode komparasi parametrik yang mensyaratkan asumsi normalitas dan homogenitas variansi. Uji normalitas dilakukan terhadap data pada masing-masing kelompok, sedangkan uji homogenitas variansi dilakukan terhadap variansi antarkelompok. Hasil uji normalitas disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil pada Tabel 1 diperoleh hasil uji normalitas dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk. Metode tersebut dipilih karena ukuran sampel yang sangat kecil ($n=6$).

Metode Shapiro-Wilk biasanya digunakan pada ukuran sampel yang kecil ($n<25$). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa pengujian terhadap data dari kelima kelompok dihasilkan $p>0,05$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data pengamatan terdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas variansi data suhu pada menit ke-120 dengan uji Levene menunjukkan $p=0,453$, hal ini berarti $p>0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa variansi antarperlakuan termasuk homogen. Dengan terpenuhinya syarat normalitas dan homogenitas variansi maka dapat dilakukan analisis dengan uji *Anova* kemudian dilanjutkan dengan *post hoc-test* menggunakan teknik *Least Significant Different* (LSD) apabila hasil uji *Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *Anova* pada data suhu pada menit ke-120 memberikan nilai $p<0,05$, sehingga H_0 ditolak atau H_a diterima. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan suhu tubuh yang signifikan antar kelompok pada 120 menit setelah perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan *post-hoc test*, dan hasilnya disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil pada Tabel 2 dapat diketahui hasil perbandingan antar dua kelompok perlakuan dari 5 perlakuan dalam eksperimen. Kelompok dengan perlakuan kontrol negatif (diberi larutan akuabides) adalah satu-satunya kelompok yang berbeda secara signifikan dengan 4 kelompok lainnya ($p<0,05$). Dosis 1 berbeda secara signifikan dengan dosis 2 dan 3. Dosis 2 dan 3 tidak menunjukkan perbedaan rerata suhu yang signifikan. Namun demikian, ketiga kelompok yang diberi ekstrak daun jeruk nipis tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif ($p>0,05$).



Gambar 1. Rerata suhu tubuh (dalam °C) tikus putih pada berbagai perlakuan dalam 6 kali pengamatan. Keterangan: I = Kelompok kontrol negatif diberi 2 mL larutan akuabides secara per oral, II = Kelompok kontrol positif diberi larutan asetaminofen secara per oral, III = Kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun jeruk nipis dosis 1,26 mg/100 g BB/2 mL, IV = Kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun jeruk nipis dosis 2,52 mg/100 g BB/2 mL, V = kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun jeruk nipis dosis 5,04 mg/100 g BB/2 mL.

Tabel 1. Hasil uji normalitas data suhu tubuh pada menit ke-120

Kelompok perlakuan	Nilai p
Kontrol negatif	0,331
Kontrol positif	0,126
Dosis 1	0,421
Dosis 2	0,619
Dosis 3	0,865

Tabel 2. Hasil *Post-Hoc Test* dengan LSD pada data suhu menit ke-120

Perbandingan antar kelompok perlakuan	Rerata suhu tubuh (°C)	Interval signifikansi	Taraf kepercayaan 95%
Kontrol negatif vs kontrol positif	1,850	0,000*	1,400-2,300
Kontrol negatif vs dosis 1	1,450	0,000*	1,000-1,900
Kontrol negatif vs dosis 2	2,083	0,000*	1,633-2,534
Kontrol negatif vs dosis 3	1,900	0,000*	1,450-2,350
Kontrol positif vs dosis 1	0,400	0,079	-0,850-0,500
Kontrol positif vs dosis 2	0,233	0,296	-0,217-0,684
Kontrol positif vs dosis 3	0,050	0,821	-0,400-0,500
Dosis 1 vs dosis 2	0,633	0,008*	0,183-1,084
Dosis 1 vs dosis 3	0,450	0,050	0,000-0,900
Dosis 2 vs dosis 3	0,183	0,410	-0,634-0,267

Keterangan: *Terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$)

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengukuran suhu rektal tikus putih, suhu awal pada semua kelompok relatif sama. Setelah dilakukan induksi demam dengan vaksin DPT, suhu tubuh meningkat pada setiap kelompok. Hal tersebut membuktikan bahwa pemberian vaksin DPT dapat menimbulkan demam. Menurut Tumbelaka dan Hadinegoro (2005), vaksin DPT terdiri atas kuman difteri yang dilemahkan atau toksoid difteri (*alumprecipitated toxoid*), toksoid tetanus, dan vaksin pertusis dengan menggunakan fraksi sel (selular) yang berisi komponen spesifik dari *Bordetella pertusis*. Komponen tersebut merupakan pemicu terjadinya demam.

Variasi dalam suatu kelompok perlakuan menunjukkan adanya faktor endogen dari masing-masing tikus putih jantan yang bersifat individual terhadap agen pencetus demam dan banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor nonfisik dan lingkungan. Stres pada tikus akibat pengukuran suhu rektal yang dilakukan secara berulang-ulang diduga merupakan salah satu faktor pengganggu yang menyebabkan kenaikan suhu tubuh tikus.

Menurut Aiache (1993), variasi suhu hasil pengukuran diduga disebabkan adanya keragaman kepekaan setiap hewan uji yang merupakan akibat dari perbedaan kondisi biologis, yaitu ketersediaan hayati dan perubahan hayati suatu obat. Penurunan efek obat diduga merupakan akibat dari penyerapan yang tidak optimal pada saluran pencernaan, pembuluh darah, atau adanya peningkatan ekskresi melalui ginjal.

Sebagaimana yang diperlihatkan pada Gambar 1, suhu tubuh meningkat secara signifikan dari pengamatan awal hingga 2 jam setelah pemberian vaksin DPT. Secara umum, peningkatan suhu tubuh terus terjadi hingga pengamatan keempat, yaitu pada menit ke-60 setelah perlakuan, meskipun tidak sedrastis sebelum diberi perlakuan. Peningkatan suhu tubuh tersebut diduga akibat efek antipiretik kelompok perlakuan belum bekerja dan/atau efek pirogen dari vaksin DPT masih bekerja lebih dominan. Efek antipiretik mulai terlihat pada pengamatan kelima, yaitu pada 90 menit setelah perlakuan. Suhu terus mengalami penurunan hingga pengamatan terakhir, yaitu menit ke-120 setelah perlakuan. Analisis variasi suhu (*Anova*) dilakukan berdasarkan data pengamatan terakhir.

Pada kelompok perlakuan yang diberi asetaminofen, penurunan suhu tubuh sudah mulai tampak pada menit ke-60 tetapi sangat kecil, baru pada menit ke-90 terjadi penurunan suhu yang cukup signifikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Ganiswara (2003), bahwa kadar puncak parasetamol dalam plasma darah dicapai dalam waktu 60-90 menit.

Pada kelompok perlakuan yang diberi larutan akuabides, kenaikan suhu tubuh terjadi sejak sebelum diberi vaksin DPT hingga pengamatan terakhir. Hal ini berarti pada penelitian ini akuabides dianggap tidak memiliki efek antipiretik sehingga digunakan sebagai kontrol negatif.

Uji *Anova* dilakukan untuk menguji ada tidaknya perbedaan yang signifikan di antara lima kelompok perlakuan. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan pada akhir waktu penelitian (menit ke-120). Selanjutnya, letak perbedaan diketahui berdasarkan uji lanjut setelah uji *Anova*, yaitu *post-hoc test*. Dengan demikian, terlihat bahwa perbedaannya terletak pada suhu kelompok kontrol negatif dengan empat kelompok yang lain. Apabila dibandingkan satu per satu, terdapat beberapa kelompok yang menunjukkan perbedaan yang signifikan, namun secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan ekuipotensi (daya antipiretik yang setara/sebanding) antara ketiga dosis ekstrak daun jeruk nipis dengan asetaminofen.

Perbedaan yang signifikan terlihat antara kelompok yang diberi ekstrak daun jeruk nipis dosis 1 dengan dosis 2, dimana dosis 2 lebih efektif dalam menghasilkan efek antipiretik dibandingkan dosis 1. Hal tersebut diduga disebabkan oleh perlakuan dosis 1 masih belum optimal, sehingga reseptor- reseptor dari tubuh belum semua terikat. Selain itu, teknik pemberian ekstrak daun jeruk nipis secara oral yang kurang tepat, daya serap obat secara oral yang lambat, dan terhambatnya tahapan pada penyerapan obat sampai ke pembuluh darah juga dapat mempengaruhi hasil percobaan.

Hasil uji *post-hoc* menunjukkan bahwa dosis 3 tidak berbeda secara signifikan, baik dengan dosis 2 maupun dosis 1. Dosis 3 adalah perlakuan yang memberikan hasil paling mirip dengan asetaminofen. Pada penelitian ini, dosis 2 (2,52 mg/100 gr BB) dapat dikatakan sebagai dosis yang memberikan hasil optimal, karena memberikan rerata suhu yang paling mendekati normal. Secara umum, semua kelompok perlakuan dapat mengembalikan suhu tubuh

dalam batas normal (36,5-37,2°C), kecuali kelompok kontrol negatif.

Adanya efek antipiretik tersebut diduga disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid dalam daun jeruk nipis. Menurut Robinson (1995), flavonoid dapat menghambat enzim siklooksigenase, khususnya siklooksigenase-2 yang berperan dalam biosintesis prostaglandin, sehingga demam terhambat.

Hasil penelitian ini juga mendukung penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa tanaman yang mengandung flavonoid memiliki efek antipiretik, seperti tanaman bayam duri (Kumar et al. 2009), semak bunga putih (Owoyele et al. 2008), umbi bawang merah (Setiyawan 2005), dan brotowali (Ernitawati 2004).

Pada penelitian ini tidak terlihat adanya efek samping ekstrak daun jeruk nipis terhadap tikus percobaan. Meskipun daun jeruk nipis bersifat asam, tidak ada tikus yang mengalami diare atau muntah, hal ini menunjukkan bahwa dosisnya diduga sudah tepat. Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak dilakukan randomisasi (pembagian kelompok secara acak).

KESIMPULAN

Ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) memberikan efek antipiretik pada tikus putih yang telah diinduksi demam menggunakan vaksin DPT. Efek antipiretik yang ditimbulkan oleh ekstrak daun jeruk nipis setara dengan efek antipiretik asetaminofen. Ekstrak daun jeruk nipis dosis 2,52 mg/100 g BB merupakan dosis yang paling efektif dibandingkan dosis 1,26 mg/100 g BB dan 5,04 mg/100 g BB.

DAFTAR PUSTAKA

- Afdhal A. 1996. Pengembangan dan prospek industri jamu di Indonesia. *Warta Tanaman Obat Indonesia* 3(1).
- Aiache JM. 1993. *Farmasetika 2*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Amili, Rusnaldi, Lukmayani Y. 2008. Uji efek antipiretik jus jeruk nipis pada tikus putih galur Sprague Dawley sel kelamin. *MIMBAR* 24(1): 27-35.
- Ernitawati B. 2004. Efek Antipiretik Air Rebusan Batang Brotowali (*Tinospora crispa* Miers.) pada Tikus Putih. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Ganiswara SG. 2003. Farmakologi dan terapi. Bagian Farmakologi, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Guyton AC. 2007. Suhu tubuh, pengaturan suhu tubuh, dan demam. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-11. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hargono D. 1992. Tumbuhan obat dan pelayanan kesehatan. Antropologi Kesehatan Indonesia. Jilid ke-1. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Imono AD, Nurlaila. 1986. Obat tradisional dan fitoterapi uji toksikologi. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Kumar BSA, Lakshman K, Jayaveera KKN et al. 2009. Antinociceptive and antipyretic activities of *Amaranthus viridis* Linn. in different experimental models. *Avicenna J Med Biotechnol* 1(3): 167-171.
- Murti B. 1994. Penerapan metode statistik non parametrik dalam ilmu kesehatan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Ngatidjan. 1991. Petunjuk laboratorium, metode laboratorium dalam toksikologi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Notosiswoyo M, Supardi S, Winarsih. 1998. Pengobatan sendiri terhadap demam, batuk, pilek, dan pusing dengan obat kimia dan tradisional di pedesaan. *Media Litbangkes* 7(2).
- Owoyele BV, Oguntoye SO, Dare K et al. 2008. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities from flavonoid fractions of *Chromolaena odorata*. *J Med Plants Res* 2(9): 219-225.
- Robinson T. 1995. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Penerbit ITB, Bandung.
- Sajuthi D. 2003. Efek antipiretik ekstrak cacing tanah. www.kompas.com. [4 September 2009].
- Setiyawan D. 2005. Efek Antipiretik Air Perasan Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* Linn.) pada Tikus Putih Jantan. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sherwood L. 2001. Keseimbangan tubuh dan pengaturan suhu. Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem. Edisi ke-2. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1998. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. Indonesia University Press, Jakarta.
- Tumbelaka AR, Hadinegoro SRS. 2005. Difteria, pertusis, tetanus. Pedoman Imunisasi di Indonesia. Edisi Kedua. Satgas Imunisasi Ikatan Dokter Anak Indonesia, Badan Penerbit Pengurus Pusat Ikatan Dokter Anak Indonesia, Jakarta.
- Wijayakusuma H. 1995. Tanaman berkhasiat obat di Indonesia. Pustaka Kartini, Jakarta.

Pengaruh ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap penurunan kadar trigliserida darah tikus putih

Effect of salam leaf extract (*Syzygium polyanthum*) to decrease blood triglyceride white rats

ANDHIKA AJI NUGROHO, NUR HAFIDHA HIKMAYANI, SUTARMIADJI DJUMAGA

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 25 November 2011. Revision accepted: 9 Maret 2012.

Abstract. Nugroho AA, Hikmayanti NH, Djumaga S. 2012. *Effect of salam (Syzygium polyanthum) leaf extract to decrease blood triglyceride level on white rats. Biofarmasi 10: 40-45.* This study aimed to determine the effect of bay [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.] leaf extract to decrease the blood triglyceride level of white rats (*Rattus norvegicus*). This research was an laboratory experimental research with pre and post-test design with control group. This research used 30 Wistar white rats, with ± 200 g body weight and the age of ± 2 months, divided into 5 groups by a random sampling, six rats per group. Group I was a negative control, group II was a positive control, groups III, IV and V was treated with the bay leaf extract in the doses of I, II and III. All groups were fed of hyperkolemia, group II was treated by Gemfibrozil 20 mg/200 g BW/day, while groups III, IV and V were treated by the bay leaf extract with the doses of 0.18 g, 0.36 g and 0.72 g/200 g BW/day. The study was conducted for 35 days. On the 28th and 35th day, the blood of all rats was taken from orbital vein for blood triglyceride levels measured in pre-test and post-test. The data were statistically analyzed with One-Way ANOVA test and a post-hoc test. There were significant differences between pre-test and post-test in the levels of blood triglycerides of white rats ($p < 0.001$), in which a post-hoc test results showed the comparison between negative control and Gemfibrozil was $p < 0.001$, and the comparison between the groups of the bay leaf extract with Gemfibrozil was $p > 0.05$, and the comparison of three doses of bay leaf extract was $p > 0.05$. The provision of bay leaf extract could reduce the blood triglyceride levels of white rats significantly compared with the negative control, whereas the effects of three doses of bay leaf extract was comparable with the effects of Gemfibrozil.

Keywords: Bay leaf extract, *Syzygium polyanthum*, triglyceride, white rats

PENDAHULUAN

Sejak zaman dahulu, masyarakat Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi. *World Health Organization* (WHO) menetapkan bahwa pengobatan tradisional pada masa kini dan mendatang akan tetap digunakan oleh dua per tiga penduduk dunia dengan memanfaatkan tanaman berkhasiat obat (Wijayakusuma 2007).

Salah satu jenis tanaman berkhasiat obat yang ada di Indonesia adalah salam [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.]. Salam merupakan salah satu jenis tumbuhan yang diduga memiliki khasiat antioksidan karena kandungan flavonoidnya (Dalimartha 2008). Penyakit aterosklerosis dapat diperlambat atau bahkan dicegah dengan cara mengonsumsi antioksidan (Zino 1997). Kandungan flavonoid dapat memberikan efek penghambatan aktivitas oksidasi LDL, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengobatan aterosklerosis (American Heart Association 2009). Kandungan flavonoid dan senyawa lain dalam herba salam dapat dipisahkan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut etanol, sehingga dihasilkan senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak herba salam (Voigt 1994).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Dalimartha (2007) belum diketahui dosis yang efektif dari ekstrak daun

salam, sehingga perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan potensi ekstrak daun salam dalam menurunkan kadar trigliserida darah, dan menetapkan dosis efektif dari perlakuan dosis bertingkat ekstrak daun salam.

Dalam penelitian ini dipilih metode ekstraksi dengan maserasi karena lebih efektif dalam memisahkan zat-zat aktif pada daun salam yang digunakan sebagai penurun kadar trigliserida. Adapun pada penelitian sebelumnya hanya digunakan rebusan daun salam yang hasilnya kurang efektif karena masih tercampurnya zat-zat lain yang dapat mengacaukan hasil penelitian.

Pada era globalisasi saat ini, kemajuan teknologi dan sistem informasi memungkinkan orang dengan mudah mencapai tujuannya, antara lain adanya fasilitas layanan makanan cepat saji yang sangat tinggi lemak, tinggi kalori, dan rendah serat, penggunaan kendaraan bermotor, *lift*, serta *remote control* televisi, yang cenderung mengubah gaya hidup masyarakat (terutama di perkotaan) menjadi *sedentary lifestyle*. Apalagi dengan adanya tuntutan pekerjaan, membuat orang kurang dapat meluangkan waktu untuk berolahraga dan kurang memperhatikan pola makan yang sehat (Hellerstein dan Parks 2001).

Kondisi tersebut berpotensi membahayakan kesehatan, sebab kelebihan kalori dari asupan makanan yang tidak digunakan akan diubah oleh tubuh dan disimpan sebagai cadangan lemak. Lemak utama dalam makanan adalah

berupa trigliserida, sehingga semakin banyak kelebihan kalori tersebut maka semakin banyak kadar trigliserida serum dalam tubuh. Apabila berlangsung secara terus-menerus, kondisi tersebut dapat menimbulkan dislipidemia, sindrom metabolik, bahkan penyakit kardiovaskular yang fatal (Dalimartha 2007).

Trigliserida dibentuk oleh tubuh di dalam hepar dari gliserol dan asam lemak yang berasal dari makanan atau dari kelebihan kalori akibat konsumsi makanan yang berlebihan. Peningkatan kadar trigliserida dalam plasma darah dapat menyebabkan hipertrigliseridemia (American Heart Association 2010). Hipertrigliserida berhubungan langsung dengan obesitas. Hormon leptin, yang berfungsi menginformasikan otak agar dapat berhenti makan saat kenyang, dapat dihambat oleh trigliserida untuk mencapai otak, sehingga keinginan untuk makan sulit dikendalikan dan apabila kondisi tersebut berlangsung secara kronis maka dapat menyebabkan obesitas (Stankus 2009).

Para peneliti juga mengungkapkan bahwa kadar trigliserida dapat digunakan untuk mengidentifikasi risiko seseorang mengidap stroke iskemik (American Heart Association 2010). Tingginya kadar trigliserida dan kolesterol dalam tubuh dapat menimbulkan aterosklerosis, yang selanjutnya dapat memicu timbulnya penyakit jantung koroner dan stroke, yang merupakan penyakit penyebab kematian nomor satu di dunia (Mayo Clinis 2008). Kolesterol yang menempel pada permukaan dalam dinding pembuluh darah semakin lama akan mengeras membentuk plak aterosklerosis yang dapat menyumbat pembuluh darah jantung, sehingga menyebabkan penyakit jantung koroner (Jacobson et al. 2007). Penyumbatan yang terjadi pada pembuluh darah otak dapat menyebabkan pecahnya pembuluh darah, sehingga mengakibatkan stroke (Brown 2006).

Saat ini, banyak sekali pengobatan terhadap kelebihan kolesterol dengan menggunakan obat-obatan modern, pengobatan tersebut sangat efektif dalam menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah. Akan tetapi, tidak sedikit efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan obat-obatan modern yang menggunakan zat kimia, selain itu pengobatan dengan terapi tersebut membutuhkan biaya yang cukup mahal.

Dalam penelitian ini, hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), karena tikus putih dan manusia mempunyai kondisi fisiologis dan anatomi yang hampir sama. Berdasarkan kesamaan fungsi fisiologisnya, proses biokimia antara manusia dan tikus juga mirip (Koeman 1987), sehingga metabolisme trigliserida dalam tubuh tikus putih juga serupa dengan metabolisme manusia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun salam dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang hewan percobaan, sentrifuge, pipa kapiler/hematokrit, tabung sentrifuge, spuit, *Beaker glass*, timbangan digital, spektrofotometri Stardust, sonde lambung, pipet ukur, dan cawan petri. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi ekstrak daun salam, makanan standar pelet Broiler II (BR II), makanan hiperkolesterolemik, tablet Gemfibrozil, dan akuades yang ditambah dengan propiltiourasil 0,01%.

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium murni karena terdapat randomisasi perlakuan, dengan rancangan penelitian berupa *pre-test and post-test with control group design* (Taufiqurahman 2009).

Subjek penelitian

Subjek dalam penelitian ini berupa tikus putih (*R. norvegicus*) jantan, strain Wistar, dengan berat badan ± 200 gram, dan berumur ± 2 bulan. Tikus putih diperoleh dari Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Teknik sampling

Pengambilan sampling dilakukan dengan *Purposive Sampling* sesuai kriteria hewan uji yang digunakan.

Penentuan jumlah sampel

Jumlah sampel untuk tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

Dimana:

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel dalam tiap kelompok

Oleh karena terdapat 5 kelompok perlakuan maka jumlah sampel minimal yang dibutuhkan tiap kelompok adalah $n > 4,75$ ($n > 5$).

Dalam penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan sebanyak 6 ekor tikus putih per kelompok, sehingga jumlah total sampel adalah 30 ekor tikus putih. Pembagian sampel ke dalam kelompok perlakuan dilakukan dengan teknik randomisasi melalui pengundian (Mustafa 2000).

Penentuan dosis

Dosis ekstrak daun salam

Untuk menurunkan kadar kolesterol yang tinggi pada manusia digunakan daun salam sebanyak ± 10 gram (Asiamaya 2007). Konversi dosis untuk manusia dengan berat badan (BB) 70 kg pada tikus dengan BB 200 g adalah 0,018 (Suhardjono 1995).

$$\text{Dosis I} = 0,018 \times 10 \text{ g/hari}$$

$$= 0,18 \text{ g/200 g BB/hari dalam 1 mL suspensi}$$

$$\text{Dosis II} = 2 \times \text{dosis I}$$

$$= 2 \times 0,18 \text{ g/hari}$$

$$= 0,36 \text{ g/200 g BB/hari dalam 1 mL suspensi}$$

$$\text{Dosis III} = 2 \times \text{dosis II}$$

$$= 2 \times 0,36 \text{ g/hari}$$

$$= 0,72 \text{ g/200 g BB/hari dalam 1 mL suspensi}$$

Dosis Gemfibrozil

Dosis Gemfibrozil yang digunakan untuk manusia adalah 1200 mg/hari, setelah dikonversi untuk tikus putih dengan berat badan kurang lebih 200 gram maka dosisnya menjadi:

$$\begin{aligned} &\text{Dosis Gemfibrozil pada tikus putih} \\ &= 0,018 \times 1200 \text{ mg}/200 \text{ gram BB/hari} \\ &= 21,6 \text{ mg}/200 \text{ gram BB/hari} \\ &\approx 20 \text{ mg}/200 \text{ g BB/hari dalam 1 mL suspensi (akuades)} \end{aligned}$$

Dosis Carboxymethyl Cellulose (CMC)

CMC adalah zat yang digunakan untuk mensuspensi larutan. Konsentrasi CMC yang dipakai dalam larutan adalah 1%. Penghitungan dosis agar didapatkan CMC 1% adalah 1 mg CMC dalam 100 mL akuades, sehingga didapatkan 1% CMC.

Cara kerja

Persiapan

Pembuatan ekstrak daun salam dilakukan di LPPT Universitas Gadjah Mada. Daun salam diekstraksi dengan sistem penyarian menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%. Hasil ekstraksi kemudian disimpan di dalam lemari pendingin. Pembuatan ekstrak daun salam dosis I dilakukan dengan cara mencampurkan 18 gram ekstrak daun salam dalam 100 mL akuades dan CMC 1% secukupnya agar serbuk ekstrak daun salam tidak mengendap. Pembuatan ekstrak daun salam dosis II sama dengan dosis I, hanya saja ekstrak daun salam yang dicampurkan sebanyak 36 gram, sedangkan untuk dosis III dicampurkan sebanyak 72 gram ekstrak daun salam. Jadi, 1 mL suspensi mengandung 0,18 g, 0,36 g, dan 0,72 g ekstrak daun salam.

Kandang tikus yang bersih disiapkan. Tikus putih sebanyak 30 ekor diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran UNS Surakarta selama 7 hari, serta diberi makan pelet BR II dan akuades yang ditambah dengan propiltiourasil 0,01% secara *ad libitum*. Subjek penelitian dibagi menjadi 5 kelompok dengan teknik randomisasi. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok yang diberi ekstrak daun salam dosis I, II, dan III.

Pembuatan suspensi pakan hiperkolesterolemik dilakukan setiap tiga hari sekali dengan mencampurkan 5 mL kuning telur bebek, 10 mL lemak babi, 1 mL minyak kelapa, dan 0,1 g serbuk kolesterol, sehingga didapatkan suatu campuran berbentuk cair. Pembuatan serbuk Gemfibrozil dilakukan dengan cara menghaluskan tablet Gemfibrozil 300 mg menjadi serbuk, kemudian dibuat suspensi dalam 15 mL akuades dan ditambah CMC 1% secukupnya, agar serbuk Gemfibrozil tidak mengendap. Dengan demikian, 1 mL suspensi mengandung 20 mg Gemfibrozil.

Pemberian perlakuan

Sebelum perlakuan, tikus putih diadaptasikan selama 7 hari dengan pemberian makanan pelet dan akuades. Setelah itu, tikus putih diinduksi dengan pakan hiperkolesterolemia

selama 28 hari dengan pakan yang sudah disiapkan. Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar trigliserida darah, tikus putih dipuasakan terlebih dahulu selama ± 12 jam. Kemudian tikus diambil darahnya ± 1 mL melalui *saccus medianus orbitalis* dengan menggunakan pipa kapiler. Darah disentrifuge selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan diambil serumnya. Pada serum darah yang telah diambil kemudian dilakukan pengukuran kadar trigliserida *pre-test* dengan metode direk menggunakan spektrofotometer Stardust.

Pada hari ke-29 hingga ke-35, setiap tikus diberi perlakuan yang berbeda menurut kelompoknya masing-masing, yaitu: (i) Kelompok I: Kelompok kontrol negatif, diberi pakan pelet BR II sebanyak 25 mg/hari serta akuades sebanyak 20-40 mL/hari secara *ad libitum* selama 1 minggu. (ii) Kelompok II: Kelompok kontrol positif, diberi pakan pelet pada pagi dan sore hari serta ditambah dengan Gemfibrozil sebanyak 20 mg/200 gram BB/hari yang diberikan dengan menggunakan sonde lambung. (iii) Kelompok III: Kelompok ekstrak daun salam dosis I, diberi pakan pelet BR II sebanyak 25 mg/hari serta akuades sebanyak 20-40 mL/hari secara *ad libitum* selama 1 minggu. Pada pukul 16.00 WIB, tikus putih diberikan suspensi berupa pelet dan ekstrak daun salam sebanyak 0,18 g/200 gram BB/hari yang dibuat suspensi dalam akuades dan CMC 1% secukupnya, dicampur kemudian diaduk sehingga menjadi suspensi yang homogen dan diberikan ke tikus dengan menggunakan sonde lambung. (iv) Kelompok IV: Kelompok ekstrak daun salam dosis II, diberi pakan pelet BR II sebanyak 25 mg/hari serta akuades sebanyak 20-40 mL/hari secara *ad libitum* selama 1 minggu. Pada pukul 16.00 WIB, tikus putih diberikan suspensi berupa pelet dan ekstrak daun salam sebanyak 0,36 g/200 gram BB/hari yang dibuat suspensi dalam akuades dan CMC 1% secukupnya, dicampur kemudian diaduk sehingga menjadi suspensi yang homogen dan diberikan ke tikus dengan menggunakan sonde lambung. (v) Kelompok V: Kelompok ekstrak daun salam dosis III, diberi pakan pelet pada pagi dan sore hari dan ditambah dengan ekstrak daun salam sebanyak 0,72 g/200 gram BB/hari yang dibuat suspensi dalam akuades dan CMC 1% secukupnya, dicampur kemudian diaduk sehingga menjadi suspensi yang homogen dan diberikan ke tikus dengan menggunakan sonde lambung.

Setelah perlakuan

Setelah perlakuan, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama ± 12 jam. Kemudian tikus diambil darahnya ± 1 mL melalui *saccus medianus orbitalis* dengan menggunakan pipa kapiler. Setelah pipa kapiler ditusukkan di daerah *saccus medianus orbitalis*, darah mengalir ke dalam pipa kapiler. Darah disentrifuge selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan diambil serumnya. Serum darah yang telah diambil kemudian dilakukan pengukuran terhadap kadar trigliserida dengan metode direk menggunakan spektrofotometri Stardust.

Kadar trigliserida *pre-test* dan *post-test* tiap kelompok dibandingkan dan dilakukan pengolahan data. Data hasil pemeriksaan kadar trigliserida plasma darah tikus putih selanjutnya ditabulasi.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui apakah memenuhi asumsi uji parametrik. Normalitas data diuji dengan uji Shapiro-Wilk, sedangkan homogenitas varian antarkelompok diuji dengan uji Levens. Apabila asumsi parametrik terpenuhi, yaitu data terdistribusi normal dan varians antarkelompok bersifat homogen, maka data dianalisis dengan uji Anova. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan dari uji Anova, dilanjutkan dengan uji *post-hoc test*. Uji Anova adalah uji untuk membandingkan *mean* lebih dari dua kelompok, sedangkan uji *post-hoc test* bertujuan untuk membandingkan antar kelompok perlakuan. Jika asumsi parametrik tidak terpenuhi, data dianalisis dengan uji alternatif nonparametrik yang sebanding dengan uji Anova, yaitu uji Kruskal-Wallis. Apabila ditemukan perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui letak perbedaan tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

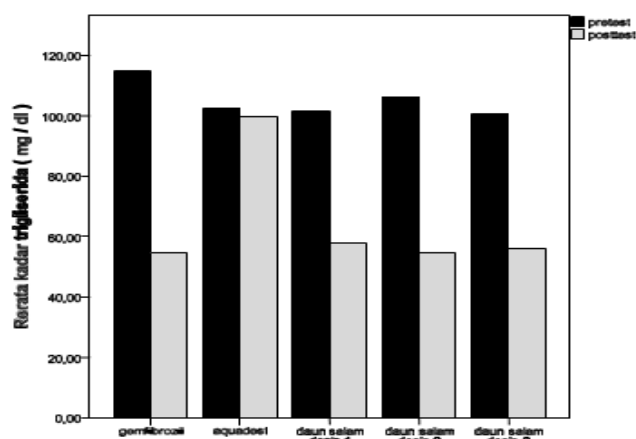
Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan strain Wistar, berumur kira-kira 2 bulan, dan berat badan ± 200 gram. Tikus putih yang digunakan sebanyak 30 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok I (kontrol negatif), kelompok II (kontrol positif), serta kelompok III, IV, dan V (kelompok ekstrak daun salam dosis 0,18 g/200 gram BB/hari, dosis 0,36 g/200 gram BB/hari, dan dosis 0,72 g/200 gram BB/hari). Perlakuan diberikan pada kelima kelompok tikus putih selama 7 hari.

Sebelum diberikan perlakuan, kadar trigliserida darah tikus putih diukur dengan menggunakan spektrofotometer Stardust dengan metode direk. Data yang didapat ditetapkan sebagai data *pre-test*. Penelitian ini menggunakan desain *pre-test* dan *post-test*. Tujuan dilakukan *pre-test* adalah untuk melihat data awal menunjukkan tingkat perbedaan yang signifikan atau tidak. Apabila data awal menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) maka penelitian ini memiliki validitas yang rendah. Namun, apabila data awal (*pre-test*) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) maka penelitian ini memiliki tingkat validitas yang tinggi. Dengan kata lain, nilai p *post-test* (data akhir) dapat dipercaya atau memiliki tingkat kepercayaan yang baik (Tabel 1-3; Gambar 1-2).

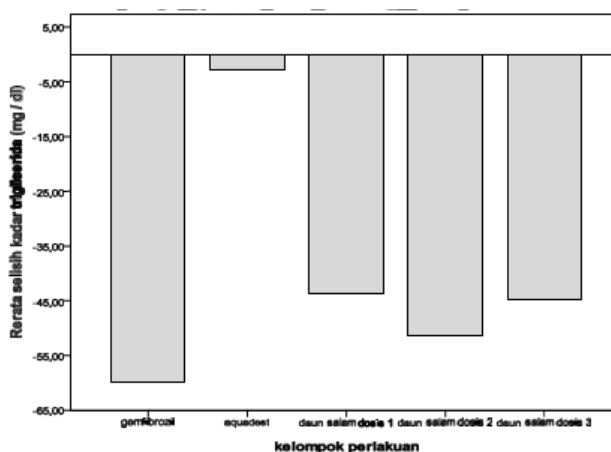
Analisis statistik pada kadar trigliserida darah tikus putih *pre-test* meliputi uji normalitas, uji homogenitas, kemudian uji *One-Way Anova*. Pada data kadar trigliserida darah tikus putih *pre-test* dari kelima kelompok perlakuan dilakukan uji normalitas. Dari uji tersebut diperoleh hasil yaitu kontrol positif menunjukkan nilai $p = 0,499$, kontrol negatif menunjukkan nilai $p = 0,382$, dosis I menunjukkan nilai $p = 0,413$, dosis II menunjukkan nilai $p = 0,390$, dan dosis III menunjukkan nilai $p = 0,656$ ($p > 0,05$). Adapun berdasarkan hasil uji homogenitas dari kelima kelompok perlakuan menunjukkan nilai $p = 0,271$ ($p > 0,05$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan varians data antarkelompok bersifat homogen.

Selanjutnya dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan uji *One-Way Anova*. Hasilnya yaitu nilai $p = 0,071$ ($p > 0,05$), yang artinya tidak terdapat perbedaan kadar trigliserida antar kelima kelompok yang signifikan, sehingga dapat diberikan perlakuan untuk melanjutkan penelitian (Tabel 4).

Kelompok kontrol positif menunjukkan penurunan kadar trigliserida darah tikus putih yang paling banyak di antara kelima kelompok perlakuan, yaitu 60,0 mg/dl. Kelompok kontrol negatif menunjukkan penurunan kadar trigliserida darah tikus putih yang sangat kecil, yaitu 2,0 mg/dl. Kelompok ekstrak daun salam dosis I menunjukkan penurunan kadar trigliserida darah tikus putih sebesar 43,8 mg/dl. Kelompok ekstrak daun salam dosis II menunjukkan penurunan kadar trigliserida darah tikus putih sebesar 51,4 mg/dl. Kelompok ekstrak daun salam dosis III juga menunjukkan penurunan kadar trigliserida darah tikus putih sebesar 44,8 mg/dl, akan tetapi lebih rendah dibandingkan penurunan pada kelompok ekstrak daun salam dosis II. Jadi, di antara ketiga kelompok yang diberi ekstrak daun salam, kelompok ekstrak daun salam dosis II paling banyak menurunkan kadar trigliserida darah tikus putih.



Gambar 1. Perbandingan kadar trigliserida sebelum dan sesudah perlakuan



Gambar 2. Rerata selisih kadar trigliserida darah tikus putih sebelum dan setelah perlakuan

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar trigliserida *pre-test* tikus putih

Kelompok perlakuan	Rerata $\pm$ simpang baku	Median (minimal - maksimal)
Kontrol positif	144,8 $\pm$ 9,8	117,0 (99,0 - 126,0)
Kontrol negatif	102,6 $\pm$ 6,0	100,0 (96,0 - 110,0)
Daun salam dosis I	101,6 $\pm$ 9,0	103,0 (87,0 - 110,0)
Daun salam dosis II	106,2 $\pm$ 9,9	103,0 (97,0 - 120,0)
Daun salam dosis III	100,0 $\pm$ 2,7	100,0 (98,0 - 105,0)

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar trigliserida *post-test* tikus putih

Kelompok perlakuan	Rerata $\pm$ simpang baku	Median (minimal - maksimal)
Kontrol positif	54,8 $\pm$ 6,5	56,0 (45,0 - 61,0)
Kontrol negatif	99,8 $\pm$ 11,6	100,0 (82,0 - 112,0)
Daun salam dosis I	57,8 $\pm$ 5,8	59,0 (48,0 - 63,0)
Daun salam dosis II	54,8 $\pm$ 4,6	57,0 (49,0 - 60,0)
Daun salam dosis III	56,0 $\pm$ 8,3	58,0 (45,0 - 65,0)

Tabel 3. Hasil selisih kadar trigliserida *post-test* dan *pre-test* tikus putih

Kelompok perlakuan	Rerata $\pm$ simpang baku	Median (minimal - maksimal)
Kontrol positif	-60,0 $\pm$ 10,2	-65,0 ([-69,0] - [-43,0])
Kontrol negatif	-2,0 $\pm$ 10,3	-2,0 ([-14,0] - 12,0)
Daun salam dosis I	-43,8 $\pm$ 3,6	-45,0 ([-47,0] - [-39,0])
Daun salam dosis II	-51,4 $\pm$ 9,9	-46,0 ([-64,0] - [-41,0])
Daun salam dosis III	-44,8 $\pm$ 7,7	-41,0 ([-57,0] - [-38,0])

Tabel 4. Rangkuman hasil uji *post-hoc* terhadap data selisih kadar trigliserida

Kelompok perlakuan	Beda rerata selisih kadar trigliserida (mg/dl)	Nilai P
Kontrol negatif vs kontrol positif	57,2	0,000
Kontrol negatif vs dosis I	41,0	0,000
Kontrol negatif vs dosis II	48,6	0,000
Kontrol negatif vs dosis III	42,0	0,000
Kontrol positif vs dosis I	16,2	0,059
Kontrol positif vs dosis II	8,6	0,546
Kontrol positif vs dosis III	15,2	0,084
Dosis I vs dosis II	7,6	0,655
Dosis I vs dosis III	1,0	1,000
Dosis II vs dosis III	6,6	0,758

Pada hasil selisih antara kadar trigliserida *pre-test* dan *post-test* dari kelima kelompok perlakuan, dilakukan uji normalitas. Dari hasil uji tersebut, kontrol positif menunjukkan nilai $p=0,191$, kontrol negatif menunjukkan nilai $p=0,765$, dosis I menunjukkan nilai $p=0,254$, dosis II menunjukkan nilai $p=0,278$, dan dosis III menunjukkan nilai $p=0,279$ ($p>0,05$), sedangkan dari hasil uji homogenitas dari kelima kelompok didapatkan nilai $p=0,303$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data

terdistribusi normal dan varians data antarkelompok bersifat homogen.

Selanjutnya dari hasil analisis statistik menggunakan uji *One-Way Anova*, diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan rerata selisih kadar trigliserida yang signifikan, sehingga perlu dilanjutkan dengan uji *post-hoc* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan selisih kadar trigliserida darah tikus putih *pre-test* dan *post-test* yang signifikan.

Berdasarkan hasil uji *post-hoc* didapatkan nilai p untuk perbandingan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* pada kadar trigliserida darah tikus putih antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif yaitu sebesar $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga didapatkan perbedaan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih yang signifikan.

Dari hasil uji *post-hoc* didapatkan nilai p untuk perbandingan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* pada kadar trigliserida darah tikus putih antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak daun salam dosis I, II, dan III dengan nilai $p<0,05$, sehingga didapatkan perbedaan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih yang signifikan. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun salam dosis I, II, dan III dapat menurunkan kadar trigliserida darah tikus putih secara signifikan dibandingkan kelompok yang tidak diberikan ekstrak daun salam.

Dari hasil uji *post-hoc* didapatkan nilai p untuk perbandingan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan ekstrak daun salam dosis I, II, dan III dengan nilai $p>0,05$, sehingga tidak didapatkan perbedaan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih yang signifikan dibandingkan kelompok yang diberikan Gemfibrozil.

Dari hasil uji *post-hoc* didapatkan nilai p untuk perbandingan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih antara kelompok perlakuan ekstrak daun salam dosis I dengan kelompok perlakuan ekstrak daun salam dosis II dan III dengan nilai $p>0,05$. Demikian juga perbandingan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih antara kelompok daun salam dosis II dengan dosis III dengan nilai $p>0,05$, sehingga tidak didapatkan perbedaan rerata selisih antara *post-test* dan *pre-test* kadar trigliserida darah tikus putih yang signifikan antara ketiga dosis ekstrak daun salam.

Pembahasan

Pada penelitian ini, pemberian pakan hiperlipemik selama 28 hari berupa lemak babi dan kuning telur bebek dapat meningkatkan kadar trigliserida darah tikus putih. Peningkatan kadar trigliserida darah tikus putih tersebut disebabkan karena tingginya kandungan asam lemak dan kolesterol dalam lemak babi dan kuning telur bebek. Minyak babi pada usus tikus putih akan diresintesis menjadi trigliserida dan didistribusikan dalam bentuk kilomikron (Gibney et al. 2002). Oleh karena itu, kadar trigliserida darah tikus putih akan meningkat dengan pemberian pakan hiperlipemik. Selain itu, penambahan

propiltiourasil (PTU) ke dalam air minum yang diberikan pada tikus putih yang berfungsi untuk menekan hormon tiroid juga membantu dalam peningkatan kadar trigliserida darah pada tikus putih. Tikus dalam kondisi normal relatif resistan terhadap perubahan profil lipid, karena tikus cenderung memiliki sifat hipertiroid. Hormon tiroid akan mengaktifkan hormon sensitif lipase, sehingga proses katabolisme lipid dalam tubuh tikus menjadi tinggi.

Hasil pengukuran terhadap kadar trigliserida darah tikus putih sebelum (*pre-test*) dan setelah perlakuan (*post-test*) dari kelima kelompok dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova*. Dari hasil pengujian kadar trigliserida darah tikus putih *pre-test* tidak digunakan untuk pengambilan simpulan, melainkan digunakan untuk menentukan layak tidaknya pemberian perlakuan pada hewan percobaan. Pemberian perlakuan tidak dapat dilakukan jika kadar trigliserida darah tikus putih *pre-test* dari kelima kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik. Dalam penelitian ini, pemberian pakan hiperlipidemia berhasil meningkatkan kadar trigliserida *pre-test* pada kelima kelompok perlakuan secara homogen. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan yang signifikan dari uji *One-Way Anova* yang dilakukan terhadap kadar trigliserida *pre-test*. Dengan demikian, diharapkan hasil penelitian ini hanya dipengaruhi oleh pemberian perlakuan ekstrak daun salam terhadap tikus putih, bukan akibat perbedaan kadar trigliserida awal sebelum perlakuan.

Kadar trigliserida darah tikus putih *post-test* dan *pre-test* pada kelompok yang diberi obat Gemfibrozil (kontrol positif) jauh lebih rendah dibanding kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa pemberian Gemfibrozil dapat menurunkan kadar trigliserida darah tikus putih secara signifikan dibandingkan kelompok yang tidak diberi obat tersebut.

Penelitian ekstrak daun salam ini menunjukkan bahwa kadar trigliserida darah tikus putih mengalami penurunan yang signifikan secara statistik pada kelompok yang diberikan perlakuan berupa ekstrak daun salam dosis I, II, dan III dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Dari ketiga dosis ekstrak daun salam yang digunakan, dosis II (0,36 g/200 gram BB/hari) merupakan dosis yang paling banyak menurunkan kadar trigliserida darah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian dosis yang tinggi belum tentu memberikan efek yang maksimal. Hal ini diduga salah satunya diakibatkan karena reseptor mengalami kejenuhan, selain itu juga dapat diakibatkan karena obat yang diberikan dimuntahkan, sehingga penambahan dosis justru tidak efektif dalam menurunkan kadar trigliserida. Meskipun demikian, hasil dari uji statistik menunjukkan bahwa penurunan kadar trigliserida akibat pemberian ekstrak daun salam dosis I, ternyata tidak berbeda secara signifikan dengan penurunan yang diakibatkan pemberian daun salam dosis II dan III.

Oleh karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan maka sulit untuk menentukan dosis minimal yang mampu menurunkan kadar trigliserida, dan dosis maksimal yang dapat ditoleransi.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun salam (*S. polyanthum*) dapat menurunkan kadar trigliserida darah tikus putih (*R. norvegicus*). Penurunan trigliserida akibat pemberian daun salam dosis I, II, dan III sebanding dengan efek penurunan kadar trigliserida akibat pemberian Gemfibrozil. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara ketiga dosis ekstrak daun salam terhadap efek penurunan kadar trigliserida darah tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

- American Heart Association. 2009. Phytochemicals and cardiovascular disease. www.americanheart.org. [8 Februari 2011].
- American Heart Association. 2010. Triglycerides. www.americanheart.org. [2 Maret 2010].
- Asiamaya. 2007. Daun salam. www.asiamaya.com. [17 Februari 2011].
- Brown CT. 2006. Penyakit aterosklerotik koroner. In: Sylvia AP, Lorraine W. Patofisiologi: Konsep klinis proses-proses penyakit. Volume 1, Edisi 6. EGC, Jakarta.
- Dalimartha S. 2007. Atlas tumbuhan obat Indonesia. www.pdpersi.co.id. [26 September 2007].
- Dalimartha S. 2008. Pilih bahan pengikat lemak. www.susukolustrum.com. [22 Agustus 2008].
- Gibney MJ, Vorster HH, Kok FJ. 2002. Introduction to human nutrition. Blackwell Science, Oxford.
- Hellerstein MK, Parks EJ. 2001. Obesity and overweight. In: Greenspan FS, David GG (eds). Basic and Clinical Endocrinology. Lange Medical books/McGraw-Hill, New York.
- Jacobson TA, Miller M, Schaefer EJ. 2007. Hypertriglyceridemia and cardiovascular risk reduction. *Clin Ther* 9(5): 763-777.
- Koeman JH. 1987. Pengantar umum toksikologi. Penerjemah: Yudono RH. UGM Press, Yogyakarta.
- Mayo Clinic. 2008. Triglycerides: Why do they matter. www.mayoclinic.com. [7 Maret 2010].
- Mustafa H. 2000. Teknik sampling. <http://home.unpar.ac.id/>. [24 April 2010].
- Stankus T. 2009. Lowering triglycerides: Dieting, exercise, niacin, statins, fibrates, nuts and fish. <http://sladivisions.typepad.com/>. [7 Maret 2010].
- Suhardjono D. 1995. Percobaan hewan laboratorium. Laboratorium Farmasi dan Taksonomi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Taufiqurahman MA. 2009. Pengantar metodologi penelitian untuk ilmu kesehatan. Cetakan ke-2. LPP UNS dan UNS Press, Surakarta.
- Voigt R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi kelima. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wijayakusuma HMH. 2007. Potensi tumbuhan obat asli Indonesia sebagai produk kesehatan. Prosiding Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi. Himpunan Pengobatan Tradisional dan Akupunktur Indonesia, Jakarta.
- Zino S, Skeaff M, Williams S et al. 1997. Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentration of fats and antioxidant. *BMJ* 314: 1787-1791.

Uji potensi ekstrak daun suren (*Toona sureni*) sebagai insektisida ulat grayak (*Spodoptera litura*) pada tanaman kedelai

The test of suren (*Toona sureni*) leaf extract potential as insecticide of grayak caterpillar (*Spodoptera litura*) on soybean

ESTRI NOVIANA, SHOLAHUDDIN, SRI WIDADI

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 2011. Revision accepted: 23 Juni 2011.

Abstract. Noviana E, Sholahuddin, Widadi S. 2012. The test of suren (*Toona sureni*) leaf extract potential as insecticide of grayak caterpillar (*Spodoptera litura*) on soybean. *Biofarmasi* 10: 46-53. Grayak caterpillar (*Spodoptera litura* F.) is an important pest in the most of food crops (polyphagous). The control of *S. litura* generally still uses the chemical insecticides that negatively affect the environment and ecosystem. One of the ways of environmentally friendly control was with vegetable insecticides. Suren (*Toona sureni* Blume) has an opportunity to be used as plant-based insecticide because of the abundant presence. Suren acts as an insect repellent. Suren contains surenone, surenin and surenolactone that act as repellent, growth inhibitor, insecticide and anti-feedant. This study aimed to determine the effect of suren leaf extract on *S. litura* and soybean (*Glycine max* L.) crops. This research was conducted in February-May 2011 at the Laboratory of Plant Pest and Disease and the Greenhouse of Faculty of Agriculture, Sebelas Maret University, Surakarta. This study used a Completely Randomized Design with five treatments repeated in three times. Data were analyzed by F-test at 5% of significance level and a Duncan test. Suren leaf was extracted with water then made in concentrations of 50%; 25%; 12.5%; 6.25% and 0%. In the laboratory test, it was used a leaf dip method. The treatment was conducted in the first 24 hours, then it was used the feed without the treatment and observed until the next generation. In the field test, larvae was invested in plants one day before the treatment for an adaptation. Observation was conducted up to seven days after application. The results showed that the application of suren leaf extract up to 50% concentration had not been able to cause the death of *S. litura* larvae. The suren leaf extract was toxic to *S. litura*, indicated by the emphasis of eating activity of *S. litura*, so that the damage caused to be lower and reduced the level of fertility and fecundity so that it could reduce the population of *S. litura* in the next generation. The application of suren leaf extract in soybean plant by a spray method showed the results that a low concentration extract (6.25%) was more effective to suppress the damage up to 51%. The texture of a high concentration extract was so thick, so that it was unable to spread to the plant parts and formed clumps that fall to the ground, because the leaves were unable to support the fluid clumps of extract. The application of suren leaf extract caused the phytotoxic symptoms in soybean plants with increasing concentration.

Keywords: Grayak caterpillar, insecticide, soybean, suren leaf extract, *Toona sureni*

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan salah satu komoditas yang banyak dibutuhkan di Indonesia, namun produksinya di dalam negeri belum dapat mencukupi kebutuhan kedelai nasional. Salah satu permasalahan penting yang dialami petani adalah serangan hama. Hama yang banyak merugikan pertanian kedelai salah satu diantaranya adalah ulat grayak, karena selain menyerang daun, hama ini juga menyerang tunas, bunga, bahkan polong kedelai, sehingga petani mengalami kerugian.

Ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabricus) merupakan salah satu hama penting yang menyerang tanaman palawija dan sayuran di Indonesia. *Spodoptera litura* umumnya menyerang tanaman budi daya pada fase vegetatif, yaitu memakan daun tanaman yang masih muda, sehingga tinggal tulang daunnya saja, dan pada fase generatif dengan menyerang bunga dan polong muda. Ulat grayak menyerang tanaman pada malam hari dan biasanya serangan dilakukan secara bersama-sama. Pada siang hari,

ulat grayak bersembunyi di dalam tanah atau di tempat-tempat teduh seperti di balik daun. Serangan *S. litura* menyebabkan kerusakan lebih dari 20% pada tanaman umur lebih dari 20 HST. Serangan *S. litura* biasanya relatif cepat, serentak, dan dalam areal yang cukup luas (Adisarwanto dan Widiyanto 1999).

Pengendalian terhadap *S. litura* di tingkat petani pada umumnya masih menggunakan insektisida yang berasal dari senyawa kimia sintesis yang dapat menyebabkan kematian organisme nontarget, resistensi hama, resurgensi hama, dan menimbulkan efek residu pada tanaman dan lingkungan. Upaya pengendalian tersebut seolah-olah sudah membudaya di kalangan petani dan dilakukan pada frekuensi tertentu. Dari dampak yang dihasilkan akibat penggunaan pestisida kimia secara terus-menerus tersebut maka akhir-akhir ini muncul konsep 'back to nature' yang mengangkat upaya pengendalian hama menggunakan pestisida nonkimia, salah satunya adalah penggunaan pestisida nabati yaitu dengan memanfaatkan tanaman sebagai sumber pestisida. Alasan pengembangan

insektisida nabati tersebut antara lain murah, mudah, dan ramah lingkungan serta dapat diproduksi oleh petani sendiri (Oka 1994).

Suren (*Toona sureni*) merupakan salah satu jenis tanaman yang mempunyai peluang untuk digunakan sebagai insektisida nabati, karena keberadaannya yang cukup melimpah. Pestisida nabati dapat berfungsi sebagai penolak, penarik, antifertilitas (pemandul), dan pembunuh hama (Ware 1985). Berbagai teknologi pengendalian biologi ditawarkan, seperti penggunaan NPV (*Borrelinavirus litura*) dan *Bacillus thuringiensis* (Kalshoven 1981) maupun pemanfaatan parasitoid serta pengendalian hayati menggunakan cendawan parasitik. Pengendalian secara biologi dan hayati tersebut akhir-akhir ini banyak dikaji dan digunakan secara bersama-sama dengan insektisida nabati untuk mengendalikan hama di lapang, karena masing-masing agen pengendali tersebut mempunyai keunggulan dan kelemahan masing-masing.

Secara tradisional, petani memanfaatkan daun suren untuk menghalau hama serangga tanaman. Pohon suren berperan sebagai pengusir serangga (*repellent*) dan dapat digunakan dalam kondisi hidup. Suren memiliki kandungan bahan aktif seperti surenon, surenin, surenolakton, sedrelon, dan beberapa karotenoid yang diduga merupakan trans-beta karoten, zeasantin, dan laktukasantin, yang berperan sebagai penghambat pertumbuhan, insektisida, dan *anti-feedant* (menghambat daya makan) (Salome 1999). Ekstrak daun suren yang diujikan pada ulat kantong mampu menyebabkan kematian (Suhaendah 2006). Melihat potensi daun suren untuk dimanfaatkan sebagai insektisida maka perlu dilakukan pengujian pengaruh ekstrak daun suren terhadap hama *S. litura*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji toksisitas ekstrak daun suren terhadap pertumbuhan dan perkembangan *S. litura*, mengetahui konsentrasi ekstrak daun suren yang efektif dalam mengendalikan *S. litura*, serta mengetahui efek fitotoksik ekstrak daun suren terhadap tanaman kedelai.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Mei 2011 di Rumah Kaca dan Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kurungan kasa ukuran 30x30x60 cm³, kapas, timbangan, gelas ukur, saringan, *hand sprayer*, *loupe*, botol uji, dan alat penumbuk. Sementara itu, bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak daun suren, larva *S. litura* instar 1, larutan madu 10%, tanaman kedelai, pasir, dan detergen.

Rancangan penelitian

Penelitian disusun dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), baik pada pengujian toksisitas di laboratorium maupun pengujian pada tanaman di rumah kaca. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah ekstrak daun suren konsentrasi 0%; 6,25%; 12,5%; 25%; dan 50%.

Cara kerja

Pembiakan massal *Spodoptera litura*

Larva *S. litura* yang dikumpulkan dari lapangan dipelihara dalam stoples. Wadah diberi alas pasir halus sebagai tempat berpupa kemudian ditutup menggunakan kertas. Larva diberi pakan daun kedelai. Ketika memasuki masa pupa, *S. litura* dipindahkan ke dalam kurungan tempat peneluran hingga muncul imago dan bertelur. Pupa ditempatkan di atas pasir dan dijaga kelembapannya setiap hari dengan menyemprotkan air pada pasir. Imago *S. litura* diberi cairan madu 10% sebagai pakan imago dengan cara dioleskan pada gulungan kapas dan diletakkan di atas kurungan. Tempat bertelur imago dibuat dari rumpun daun, sehingga bergerombol dan dijaga kesegarannya sesuai dengan habitat aslinya. Selain itu ditempatkan juga daun kedelai sebagai pakan *S. litura*, sehingga apabila sewaktu-waktu telur menetas langsung dapat menemukan pakan dan menghindarkan larva mati akibat kelaparan. Daun kedelai yang terdapat dalam kurungan setiap hari diganti. Daun yang terdapat telur *S. litura* diletakkan pada stoples dan dipelihara hingga terbentuk larva. Setelah telur menetas dan berumur dua hari, larva siap dipakai untuk pengujian.

Pembuatan ekstrak daun suren

Daun suren yang sudah tua dihaluskan kemudian ditambah air, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100%. Hasil penghancuran tersebut disimpan dalam ruang gelap (Priyono 1999).

Daun suren sebanyak 500 gram ditambahkan 500 mL air atau perbandingan 1:1 kemudian dihaluskan, sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak 100%. Ekstrak yang didapatkan tersebut disaring menggunakan saringan kasa, kemudian disimpan dalam ruang gelap selama 24 jam. Penyimpanan larutan ekstrak dalam ruang gelap bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut tidak mudah terdegradasi. Penyimpanan larutan ekstrak selama 24 jam bertujuan untuk memisahkan endapan yang terdapat dalam ekstrak.

Pengujian di laboratorium

Pengujian toksisitas ekstrak daun suren didasarkan pada pengamatan pertumbuhan dan perkembangan *S. litura* akibat pemberian ekstrak daun suren.

Pengujian di laboratorium dilaksanakan untuk mengetahui efek toksik ekstrak daun suren terhadap *S. litura*. Pengujian ini menggunakan metode celup daun (*Leaf Deep Bio Essay*) dengan langkah-langkah sebagai berikut.

Pembuatan ekstrak daun suren dilakukan sesuai dengan taraf konsentrasi perlakuan yaitu 0%; 6,25%; 12,5%; 25%; dan 50%. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan mengambil 100 mL ekstrak dengan konsentrasi 100%,

kemudian ditambahkan air sebanyak 100 mL, sehingga didapatkan ekstrak konsentrasi 50%. Untuk mendapatkan ekstrak konsentrasi 25% dilakukan pengukuran kembali terhadap volume ekstrak 50% yang tersisa, kemudian ditambahkan air dengan volume yang sama dengan volume ekstrak terukur. Pengukuran volume ekstrak dilakukan kembali karena volume ekstrak berkurang setelah digunakan untuk merendam pakan perlakuan. Langkah yang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak konsentrasi 12,5% yaitu dengan mengukur kembali ekstrak konsentrasi 25% yang tersisa kemudian ditambah dengan air sesuai volume ekstrak terukur. Begitu pula untuk mendapatkan ekstrak 6,25% yaitu dengan menambahkan air sesuai dengan volume ekstrak 12,5% tersisa. Konsentrasi 0% merupakan air 100%.

Daun kedelai berukuran seragam disiapkan. Potongan-potongan daun kedelai dimasukkan ke dalam ekstrak daun suren dengan taraf konsentrasi yang telah ditentukan selama 10 detik, kemudian dikeringanginkan. Potongan-potongan daun kedelai yang digunakan sebagai pakan *S. litura* tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam botol uji (5 potong/botol uji) atau lebih sesuai taraf perlakuan dan menyesuaikan perkembangan larva. Sebanyak 10 ekor larva *S. litura* berumur dua hari selanjutnya dimasukkan ke dalam botol uji (Priyono 1999). Pakan diganti setiap hari. Pengamatan dilakukan sampai fase imago hingga dihasilkan telur.

Pengujian pada tanaman

Pengujian pada tanaman dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun suren dalam mengendalikan *S. litura* di lapang, serta mengetahui ada tidaknya efek fitotoksisitas ekstrak daun suren. Penyemprotan ekstrak daun suren pada tanaman dilakukan pada umur 10 HST. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0%; 6,25%; 12,5%; 25%; dan 50%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Larva yang digunakan pada pengujian berumur dua hari dan berjumlah 10 ekor per tanaman. Sehari sebelum perlakuan, larva diinfestasikan agar larva beradaptasi dengan tanaman. Sehari kemudian dilakukan *scooring* terhadap tingkat kerusakan tanaman yang disebabkan oleh ulat, kemudian baru disemprot sesuai perlakuan dan diamati setiap hari sampai hari ke-7. Variabel yang diamati adalah fitotoksisitas pada tanaman yang dilihat dengan menghitung jumlah daun yang rusak akibat perlakuan ekstrak daun suren dan dibagi dengan jumlah keseluruhan daun kedelai, mortalitas larva, dan tingkat kerusakan tanaman (akibat aktivitas makan).

Variabel pengamatan

Uji laboratorium. Variabel yang diamati pada uji laboratorium meliputi mortalitas larva, ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati setiap hari serta kebutuhan pakan larva *S. litura* untuk mengetahui aktivitas makannya. Sementara itu, parameter Biologi yang diamati meliputi lama stadium larva, dihitung mulai dari larva yang baru muncul (telur yang baru menetas) sampai masa pra-pupa, lama stadium pupa, dihitung mulai dari awal terbentuknya pupa sampai terbentuknya imago, lama stadium imago, dihitung mulai dari imago muncul pertama

kali sampai imago tersebut mati, serta lama stadium telur, dihitung sejak telur diletakkan oleh imago betina hingga telur tersebut menetas.

Pengamatan terhadap persentase keberhasilan hidup pupa dan imago meliputi persentase terbentuknya pupa, yaitu banyaknya pupa yang mati dari total sampel, serta persentase terbentuknya imago, yaitu banyaknya imago yang terbentuk dari total sampel.

Pengamatan terhadap daya reproduksi meliputi fekunditas, merupakan jumlah telur yang dihasilkan oleh imago betina setelah dibuahi oleh imago jantan yang dilakukan dengan alat bantu menggunakan *loupe* dan mikroskop, serta fertilitas, merupakan jumlah larva yang terbentuk dari telur yang menetas.

Uji pada tanaman. Pada pengujian pada tanaman diamati mortalitas larva dan intensitas kerusakan tanaman, baik akibat serangan larva *S. litura* maupun fitotoksisitas akibat aplikasi ekstrak suren. Intensitas kerusakan tanaman dihitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Norman et al. (1977) sebagai berikut:

$$IK = [\sum(n \times v) : (N \times Z)] \times 100\%$$

Dimana:

IK = intensitas kerusakan

n = jumlah unit sampel dengan skor tertentu

v = skor tertentu yang ditunjukkan oleh unit sampel

N = jumlah seluruh unit sampel yang diamati

Z = skor tertinggi yang digunakan

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf signifikansi 5%, dan apabila terdapat perbedaan nyata maka dilakukan analisis lanjut dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh ekstrak daun suren terhadap pertumbuhan dan perkembangan hama ulat grayak di laboratorium

Mortalitas larva

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun suren tidak menyebabkan kematian pada larva *S. litura* (Tabel 2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua larva mampu bertahan hidup sampai fase instar akhir. Larva yang digunakan adalah larva berumur dua hari. Larva instar I lebih sensitif, namun dalam hal ini ekstrak daun suren belum berpengaruh terhadap mortalitas larva *S. litura*. Ekstrak daun suren tidak mempunyai daya bunuh terhadap larva *S. litura*. Ketahanan larva berkorelasi positif dengan fase instar *S. litura*.

Menurut Poniman et al. (2001), pengujian insektisida nabati di laboratorium lebih efektif menggunakan uji kontak. Pengujian pada ulat grayak dengan ekstrak daun jarak dan biji bengkuang melalui uji kontak dapat menyebabkan mortalitas larva di atas 95%, masing-masing pada konsentrasi 10 cc/l larutan semprot.

Untuk meningkatkan toksisitas pestisida nabati sebaiknya penggunaannya tidak dilakukan secara tunggal,

tetapi dicampur dengan bahan pestisida lain yang efektivitasnya sudah diketahui. Seperti yang telah diteliti oleh Amelia dan Supriyadi (2001) bahwa toksisitas campuran ekstrak biji mimba dengan daun tembakau lebih tinggi daripada toksisitas ekstrak biji mimba secara tunggal tetapi lebih rendah daripada toksisitas ekstrak daun tembakau.

Lama stadium larva, pupa, imago

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun suren hingga konsentrasi 50% mempengaruhi lama stadium pupa maupun imago *S. litura*. Aplikasi ekstrak daun suren mampu memperlama stadium pupa, sehingga waktu munculnya imago juga lebih lambat (Tabel 1).

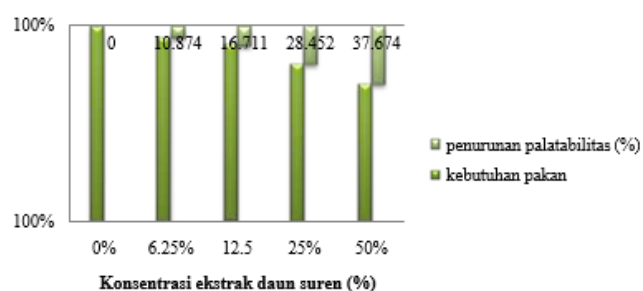
Hasil penelitian juga menunjukkan rata-rata lama stadium larva berkisar antara 11-12 hari (Tabel 1). Ekstrak daun suren tidak menyebabkan larva lebih cepat ataupun lebih lambat memasuki masa pupa. Apabila larva lebih cepat memasuki masa pra-pupa maka terdapat kemungkinan terjadi ledakan *S. litura* karena keturunan yang dihasilkan akan lebih besar jumlahnya. Seekor imago betina dapat bertelur ratusan buah. Sebaliknya, apabila larva lebih lambat memasuki masa prapupa maka ledakan *S. litura* dapat terjadi lebih lambat, sehingga lebih menguntungkan dalam upaya pengendalian.

Larva yang baru menetas berwarna hijau muda dan bagian kepala berwarna cokelat tua (Gambar 1). Larva instar I biasanya hidup secara berkelompok dan beberapa hari kemudian larva menyebar dengan menggunakan benang sutera dari mulutnya. Ciri khusus dari larva *S. litura* adalah adanya bagian berbentuk bulan sabit berwarna hitam yang terletak pada segmen abdomen keempat atau kesepuluh. Pada sisi lateral dan dorsal terdapat garis-garis kuning. Sementara itu, fase akhir instar ulat grayak berwarna kecokelatan atau abu-abu gelap dan berbintik-bintik hitam serta garis keputihan (Gambar 2) (Utami et al. 2010).

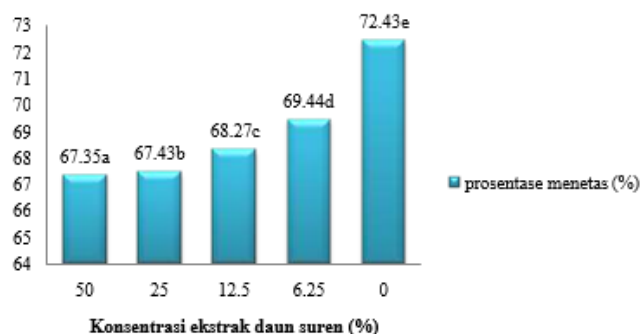
Aplikasi ekstrak daun suren dapat memperlama stadium pupa 1-2 hari, sehingga lama munculnya imago menjadi lebih lambat. Kelompok *S. litura* tanpa perlakuan ekstrak daun suren lebih cepat memasuki stadium imago. Hal ini diduga disebabkan karena ekstrak daun suren yang termakan pada stadium larva menjadi residu, sehingga mengganggu metabolisme dan mempengaruhi lama siklus hidupnya.

Pada akhir stadium larva, larva akan memendek, sehingga ruas-ruas badannya terlihat, atau disebut masa pra-pupa (Gambar 3). Larva yang akan membentuk pupa biasanya mencari tanah untuk bersembunyi. Pada saat memasuki masa prapupa biasanya larva merajut rumah dari tanah dan bersembunyi di dalam gumpalan tersebut. Pupa yang baru saja terbentuk berwarna hijau muda kemudian warnanya akan semakin tua mengikuti umur pupa. Pupa yang siap menjadi imago ditunjukkan dengan warna cokelat tua. Bentuk pupa dapat digunakan untuk mengetahui jenis kelamin imago. Pupa betina mempunyai abdomen yang lebih besar, sedangkan pupa jantan mempunyai abdomen yang ramping dan panjang. Oleh karena itu, biasanya pupa betina mempunyai berat yang lebih besar dari pupa jantan.

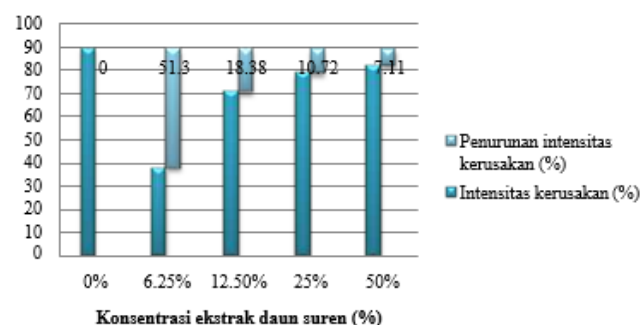
Hasil penelitian menunjukkan rata-rata lama stadium imago pada kelompok perlakuan berkisar antara 10-12 hari, sedangkan pada kelompok yang tidak diberi perlakuan menunjukkan lama stadium imago yang lebih panjang. Aplikasi ekstrak daun suren mampu mempercepat lama stadium imago. Lama stadium imago mempengaruhi kemampuannya dalam menghasilkan telur. Semakin lama umur stadium imago maka peluang telur yang dihasilkan juga semakin banyak. Imago betina memiliki ovipositor yang digunakan untuk meletakkan telur.



Gambar 1. Diagram pengaruh konsentrasi ekstrak daun suren terhadap palatabilitas dan kebutuhan pakan larva *S. litura*



Gambar 2. Diagram pengaruh konsentrasi ekstrak daun suren terhadap persentase telur menetas *S. litura*



Gambar 3. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap intensitas kerusakan tanaman akibat larva *S. litura*

Spodoptera litura termasuk ke dalam ordo Lepidoptera, sehingga mempunyai ciri khusus yaitu mempunyai sayap bersisik. Larutan madu 10% menjadi asupan nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangannya. Perbedaan imago jantan dan betina yang dapat dilihat secara jelas yaitu adanya bintik-bintik pada sisik sayap. Imago betina mempunyai bintik-bintik sayap yang lebih banyak daripada imago jantan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama stadium telur *S. litura* berkisar 3-4 hari. Kelompok telur *S. litura* ditutupi oleh rambut-rambut. Telur muda berwarna hijau muda kekuningan, sedangkan telur yang sudah siap menetas biasanya berwarna hijau kecokelatan. Telur yang tidak mampu menetas akan menjadi kisut kemudian berwarna cokelat kehitaman, sedangkan telur yang menetas meninggalkan cangkang.

Aktivitas makan larva (palatabilitas)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun suren mempengaruhi kemampuan makan larva (palatabilitas) (Tabel 3). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun suren menyebabkan semakin berkurangnya kebutuhan pakan. Larva yang masih kecil merusak daun dengan meninggalkan sisa-sisa epidermis bagian atas (transparan) dan tinggal tulang-tulang daun saja, sedangkan ulat yang besar memakan tulang daun dan bagian buah.

Ekstrak daun suren juga telah diaplikasikan terhadap ulat kantong dalam penelitian Suhaendah et al. (2006). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa larutan daun suren tidak langsung membunuh tetapi mempunyai sifat menghambat daya makan ulat kantong.

Hasil penepisan fitokimia simplisia daun suren menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tanin, dan steroid/tripenoid (Sesilia et al. 2006). Suren mengandung surenon dan surenin (Kraus et al. 1979). Senyawa-senyawa tersebut memiliki rasa yang pahit (Robinson 1991). Mekanisme ekstrak daun suren dalam mengendalikan hama diduga berkaitan dengan mekanisme *repellen*, yaitu dengan menolak kehadiran serangga akibat bau daun suren yang menyengat. Selain itu, apabila dikonsumsi oleh larva *S. litura* akan menyebabkan aktivitas makan larva *S. litura* menjadi terganggu atau terhambat.

Persentase pupa dan imago yang terbentuk

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun suren tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah larva yang mampu membentuk pupa maupun imago (Tabel 4). Ekstrak daun suren tidak mampu mengurangi jumlah pupa maupun imago yang terbentuk. Larva masih mampu membentuk pupa dan mampu melanjutkan siklus hidupnya menjadi imago. Pupa merupakan calon imago yang dapat menghasilkan keturunan secara besar-besaran yang dapat mengakibatkan ledakan hama.

Stadium pupa merupakan transformasi dari fase larva menjadi kupu-kupu dewasa. Hal ini dapat lebih atau kurang ekstensif, tergantung dari derajat perbedaan antara stadium larva dan stadium dewasa, dan merupakan fase akhir dari larva instar. Beberapa gangguan, seperti kegagalan dalam pergantian kulit pada stadium larva, dan gangguan dalam pembentukan organ-organ tubuh kupu dewasa seperti sayap

dan kaki, pada stadium pupa sangat menentukan kecepatan proses menjadi kupu-kupu dewasa (Chapman 1971).

Berat pupa

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun suren mempengaruhi berat pupa. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan meningkatnya berat pupa *S. litura* (Tabel 5). Berat pupa cenderung meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun suren yang diaplikasikan pada pakan. Korelasi tersebut diduga disebabkan larva mampu bertahan hidup dengan mengonsumsi makanan dalam jumlah sedikit atau adanya senyawa yang menyebabkan kematian dalam jumlah sedikit, karena larva mengonsumsi makanan yang mengandung senyawa tersebut sedikit. Larva mampu menahan aktivitas makan hingga pakan tanpa perlakuan diberikan. Ekstrak daun suren yang termakan larva ditranslokasikan ke dalam tubuh, sehingga mempengaruhi metabolisme dan berakibat pada aktivitas larva yang semakin menurun. Penurunan aktivitas larva menyebabkan energi yang digunakan semakin sedikit karena respirasi yang terhambat, sehingga cadangan makanan larva menjadi lebih banyak. Kondisi tersebut menyebabkan berat pupa pada perlakuan dengan konsentrasi tinggi lebih tinggi daripada berat pupa pada perlakuan ekstrak dengan konsentrasi rendah.

Berat pupa dapat digunakan untuk memprediksi imago yang akan terbentuk. Hal tersebut digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan imago yang mempengaruhi kemampuannya dalam menghasilkan telur.

Fekunditas dan fertilitas

Fekunditas dapat dilihat dari jumlah telur yang diletakkan oleh imago betina *S. litura*. Imago *S. litura* meletakkan telur secara berkelompok, sedangkan fertilitas dapat dilihat dari jumlah telur yang menetas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun suren hingga konsentrasi 50% mempengaruhi fekunditas maupun fertilitas *S. litura* (Tabel 6).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka fertilitas maupun fekunditasnya semakin menurun meskipun penurunannya tidak tajam. Hal ini berarti bahwa aplikasi ekstrak daun suren hingga konsentrasi 50% yang ditranslokasikan di dalam tubuh *S. litura* menyebabkan terganggunya metabolisme, sehingga menurunkan fertilitas maupun fekunditasnya. Penurunan fekunditas dan fertilitas dapat menekan populasi *S. litura* pada generasi selanjutnya. Meskipun hanya terdapat dua individu *S. litura* namun dapat menyebabkan ledakan dan serangan yang luar biasa apabila dua individu tersebut adalah individu jantan dan betina. Sepasang *S. litura* dewasa mampu menghasilkan keturunan dalam jumlah ratusan.

Ekstrak daun suren yang belum dapat mematikan larva *S. litura* pada penelitian ini diduga disebabkan oleh teknik ekstraksi. Pada penelitian ini digunakan teknik ekstraksi dengan pelarut air. Berdasarkan hasil penelitian, pelarut etanol lebih dapat menarik senyawa yang terkandung dalam daun suren. Hasil penelitian Kusuma (2006) menunjukkan bahwa perlakuan yang paling efektif

terhadap mortalitas ulat grayak yaitu pelarut etanol dan berbeda nyata dengan pelarut air.

Aktivitas makan ulat grayak pada perlakuan bahan nabati yang diekstrak menggunakan pelarut metanol lebih rendah dibandingkan dengan bahan yang diekstrak menggunakan air. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut metanol lebih baik dalam menarik senyawa kimia yang bersifat *anti-feedant* terhadap ulat grayak dibandingkan dengan pelarut air. Perlakuan bahan nabati yang diekstrak menggunakan pelarut metanol berbeda nyata dengan pelarut air dengan penurunan aktivitas makan ulat grayak rata-rata masing-masing 41,30% dan 18,30%. Ekstrak yang digunakan antara lain berupa ekstrak biji sirsak, daun sirsak, daun babadotan, bunga babadotan, biji saga, daun sembung, dan daun melinjo.

Cara ekstraksi bahan nabati dengan pelarut metanol sebagai berikut. Bahan nabati segar sebanyak 25 g dicincang kemudian diekstrak dengan pelarut metanol p.a sebanyak 100 mL selama 15 menit. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan blender. Hasil ekstraksi disentrifusi selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm, kemudian diuapkan menggunakan *freezer dryer* hingga volume ± 1 mL. Larutan tersebut kemudian diencerkan menggunakan

akuades menjadi konsentrasi 5% dan selanjutnya larutan siap digunakan untuk perlakuan (Tohir 2006). Ekstraksi menggunakan pelarut air dapat dilakukan, namun lebih banyak dibutuhkan bahan segar untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang dimaksud.

Hasil penepisan fitokimia simplisia daun suren menunjukkan adanya kandungan senyawa dari golongan flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid. Serbuk simplisia diekstraksi secara maserasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol (Sesilia et al. 2006). Terpenoid adalah komponen tumbuhan yang mempunyai bau yang khas dan dapat diisolasi dengan penyulingan yang disebut sebagai minyak atsiri. Terpenoid mempunyai bioaktivitas dan mampu melindungi tanaman dari serangan hama dan penyakit. Sementara itu, flavonoid merupakan zat warna, sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit, sehingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu (Lenny 2006). Senyawa terpenoid telah diuji bioaktivitasnya terhadap larva *Artemia salina* L. Uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat aktif dengan nilai LC50 masing-masing 79,66 ppm dan 96,33 ppm (Atmojo dan Sutoyo, 2008).

Tabel 1. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap lama stadium larva, pupa, imago, dan telur *S. litura*

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Lama stadium larva (hari)	Lama stadium pupa (hari)	Lama stadium imago (hari)	Lama stadium telur (hari)
0	11-12	6-7	11-13	3-4
6,25	11-12	8-9	10-12	3-4
12,5	11-12	8-9	10-12	3-4
25	11-12	8-9	10-12	3-4
50	11-12	8-9	10-12	3-4

Tabel 2. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap mortalitas larva dan rata-rata kebutuhan pakan setiap larva *S. litura*

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Mortalitas larva (%)
0	0
6,25	0
12,5	0
25	0
50	0

Tabel 3. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap kebutuhan luas pakan setiap larva *S. litura*

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Rata-rata kebutuhan pakan setiap larva (cm ²)
0	25,851 ^a
6,25	23,040 ^b
12,5	21,531 ^c
25	18,496 ^d
50	16,112 ^e

Keterangan Tabel 3-7: Angka-angka pada kolom yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf kesalahan 5%

Tabel 4. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap persentase pupa dan imago *S. litura* yang terbentuk

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Persentase terbentuk pupa (%)	Persentase terbentuk imago (%)
50	100	100
25	100	100
12,5	100	100
6,25	100	100
0	100	100

Tabel 5. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap kebutuhan luas pakan setiap larva *S. litura*

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Berat pupa (gram)
0	0,2685 ^a
6,25	0,2676 ^b
12,5	0,2671 ^c
25	0,2645 ^d
50	0,2469 ^e

Tabel 6. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap fekunditas dan fertilitas *S. litura*

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Jumlah telur (buah)	Jumlah larva (buah)
50	291 ^a	196 ^a
25	307 ^b	207 ^b
12,5	312 ^{cd}	217 ^c
6,25	324 ^d	225 ^d
0	341 ^e	247 ^e

Tabel 7. Pengaruh ekstrak daun suren terhadap mortalitas larva *S. litura* dan intensitas kerusakan tanaman kedelai

Konsentrasi ekstrak daun suren (%)	Mortalitas larva (%)	Intensitas kerusakan tanaman (%)
50	0	81,87 ^a
25	0	78,26 ^b
12,5	0	70,60 ^c
6,25	0	37,68 ^d
0	0	88,98 ^e

Suren paling optimal dilarutkan dalam pelarut metanol, karena kandungan senyawa organik polarnya relatif besar, diikuti berturut-turut oleh ekstrak etil asetat (semipolar) dan n-heksan (nonpolar). Berdasarkan hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapatkan ekstrak yang bersifat toksik yaitu ekstrak n-heksan. Sejauh ini, belum dapat dipastikan jenis senyawa yang bertanggung jawab memberikan sifat toksik dalam ekstrak n-heksan tersebut (Yuhernita dan Juniarti 2009).

Pengaruh ekstrak daun suren terhadap *Spodoptera litura* pada tanaman kedelai

Pengujian pada tanaman bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun suren terhadap mortalitas larva uji, kerusakan tanaman akibat aktivitas makan larva, dan gejala fitotoksisitas. Aplikasi dilakukan dengan konsentrasi ekstrak 0%; 6,25%; 12,5%; 25%; dan 50% (Tabel 7).

Mortalitas *Spodoptera litura* dan intensitas kerusakan tanaman

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun suren tidak berpengaruh terhadap mortalitas larva di lapangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun suren dapat menurunkan aktivitas makan larva *S. litura*, sehingga mengurangi intensitas kerusakan tanaman. Ekstrak daun suren dengan konsentrasi paling rendah yaitu 6,25% memberikan hasil yang paling baik karena menghasilkan intensitas kerusakan tanaman paling rendah. Hal ini disebabkan karena semakin pekat konsentrasi ekstrak daun suren menyebabkan ekstrak tidak dapat menyebar ke seluruh bagian tanaman. Adapun ekstrak daun suren dengan konsentrasi yang rendah mampu menyebar dan mengenai seluruh bagian tanaman. Selain itu, anatomi permukaan daun kedelai yang berbulu (*trichoma*) dan mempunyai lapisan lilin menyebabkan ekstrak yang pekat tidak dapat menempel di seluruh permukaan daun karena membentuk gumpalan besar, sehingga menyebabkan aplikasi kurang efektif. Adapun ekstrak daun suren dengan konsentrasi 6,25% mampu menyebar dengan gumpalan yang diameternya lebih kecil mendekati diameter kabut, sehingga dapat mengenai seluruh bagian tanaman. Aplikasi ekstrak dengan konsentrasi tinggi kurang efektif, karena semakin banyak bahan segar yang dibutuhkan untuk pembuatan ekstrak dan pada saat aplikasi tidak dapat menyebar ke seluruh bagian tanaman.

Fitotoksisitas akibat aplikasi ekstrak daun suren

Gejala fitotoksisitas akibat perlakuan ekstrak daun suren ditandai dengan pada daun tanaman terdapat bintik-bintik berwarna coklat kehitaman pada daun yang terkena aplikasi ekstrak. Gejala fitotoksik berbeda dengan gejala keracunan maupun defisiensi unsur. Gejala fitotoksik yang berkaitan dengan defisiensi unsur hara biasanya berupa kerusakan yang diawali dari pertulangan daun, daun yang tua, maupun daun yang muda. Gejala fitotoksik muncul pada hari ketiga. Larva *S. litura* cenderung tidak memakan daun yang mengalami fitotoksik karena terdapat insektisida dan daun berkurang kesegarannya akibat nekrosis pada daun.

Apabila konsentrasi ekstrak yang efektif ditambahkan dengan *spreading agent* yang mendukung maka dapat dibuat suatu formulasi yang tepat untuk pengendalian *S. litura* dan mungkin juga untuk lepidoptera yang lain. Formulasi adalah campuran bahan aktif dengan bahan lain yang bersifat netral. Formulasi bertujuan agar memudahkan dalam aplikasi, mengurangi daya racun yang berlebihan, serta memudahkan dalam penyimpanan (Natawigena 1982). Formulasi yang tepat untuk insektisida ekstrak daun suren dapat berupa formulasi *liquid* dengan pelarut air sekaligus bahan pembawa yang mudah bagi kalangan petani karena dapat diekstraksi sendiri. Komposisi pestisida cair biasanya terdiri dari tiga komponen, yaitu bahan aktif, pelarut, serta bahan perata.

Secara umum, insektisida nabati mempunyai kelebihan dan kelemahan. Dalam suatu ekstrak tumbuhan, selain beberapa senyawa aktif utama, biasanya juga terdapat banyak senyawa lain yang kurang aktif, namun keberadaannya dapat meningkatkan aktivitas ekstrak secara keseluruhan (sinergi). Serangga tidak mudah menjadi resistan terhadap ekstrak tumbuhan dengan beberapa bahan aktif, karena kemampuan serangga untuk membentuk sistem pertahanan terhadap beberapa senyawa yang berbeda sekaligus lebih kecil daripada terhadap senyawa insektisida tunggal. Selain itu, banyak senyawa tumbuhan yang memiliki cara kerja berbeda dengan insektisida sintetik yang umum digunakan saat ini, sehingga peluang terjadinya resistensi silang cukup kecil. Namun, pestisida nabati mempunyai kelemahan yaitu persistensinya pendek. Insektisida nabati merupakan bahan yang mudah terdegradasi di alam, sehingga tidak dikhawatirkan akan menimbulkan bahaya residu yang besar. Kondisi tersebut juga dapat menekan peluang organisme bukan sasaran terpapar residu. Persistensi insektisida alami yang singkat kurang menguntungkan dari segi ekonomi, karena pada tingkat populasi yang tinggi, untuk mencapai keefektifan pengendalian yang maksimum diperlukan aplikasi secara berulang-ulang. Namun, sifat tersebut memungkinkan insektisida nabati dapat digunakan beberapa saat menjelang panen (Priyono 1999). Selain itu, insektisida nabati tidak tahan disimpan dalam waktu yang lama karena senyawanya yang mudah terurai, sehingga semakin lama disimpan akan menurunkan toksisitasnya (Amelia dan Supriyadi 2001).

KESIMPULAN

Ekstrak daun suren bersifat toksik terhadap *S. litura*, hal ini ditunjukkan dengan kemampuannya dalam menekan palatabilitas *S. litura*, sehingga tingkat kerusakan yang ditimbulkan semakin rendah. Selain itu, ekstrak daun suren juga mampu mengurangi tingkat fertilitas dan fekunditas larva, sehingga dapat mengurangi populasi *S. litura* pada generasi selanjutnya. Ekstrak daun suren pada konsentrasi rendah (6,25%) lebih efektif menekan kerusakan sampai 51% pada tanaman kedelai. Aplikasi ekstrak daun suren menyebabkan gejala fitotoksik pada tanaman kedelai dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, Widiyanto R. 1999. Meningkatkan hasil panen kedelai di lahan sawah-kering-pasang surut. Swadaya, Jakarta.
- Amelia A, Supriyadi. 2001. Pengaruh Lama Penyimpanan dan Kompatibilitas Campuran Ekstrak Biji Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Ulat Kubis (*Plutella xylostella* L.). [Skripsi]. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Atmojo, Sutoyo W. 2008. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Terpenoid Tumbuhan *Litsea chinensis* Lamk. (Adem Ati). [Tesis]. Institut Teknologi Surabaya, Surabaya.
- Chapman RF. 1971. The insect structure and function. American Elsevier Publishing Company, Inc., New York.
- Kalshoven LGE. 1981. Pests of crops in Indonesia. PT Ichtiar Baru-Van Hoeve, Jakarta.
- Kusuma E. 2006. Mortalitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.) dalam Berbagai Pelarut dan Konsentrasi Ekstrak Biji Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus* Urban). [Tesis]. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Kraus W, Kypke K. 1979. Surenone and surenin, two novel tetranortriterpenoids from *Toona sureni* Merrill [1979]. Tetrahedron Lett 20(29): 2715- 2716.
- Lenny S. 2006. Senyawa terpenoid dan steroid. Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Natawigena H. 1982. Pestisida dan kegunaannya. ARMICO, Bandung.
- Norman DJ, Henny RJ, Yuen JMF. 1997. Disease resistance in twenty *Dieffenbachia* cultivars. Hort Sci 32(4): 709-710.
- Oka IN. 1994. Penggunaan, permasalahan serta prospek pestisida nabati dalam pengendalian hama terpadu. In: Sitepu D, Wahid D, Rusli S et al. (eds). Prosiding Seminar Hasil Penelitian dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati. Balitro, Bogor.
- Poniman AI, Hendarwati Y, Harsanti ES. 2001. Penggunaan pestisida nabati dalam usaha pertanian ramah lingkungan. Loka penelitian Tanaman Pangan Jakenan. Pati.
- Prijono D. 1999. Pengembangan dan pemanfaatan insektisida alami. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Robinson T. 1991. Kandungan organik tumbuhan tinggi. 6th edition. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Salome R. 1999. Isolasi Karotenoid dari Daun Surian (*Toona sureni* (Bl) Merr.). [Tesis]. Program Pascasarjana, Universitas Andalas, Padang.
- Sesilia EP, Fidrianny I, Nawawi A. 2006. Telaah kandungan kimia daun suren (*Toona sinensis*). Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Suhaendah E, Hani A, Dendang B. 2006. Uji ekstrak daun suren dan *Beauveria bassiana* terhadap mortalitas ulat kantong pada tanaman sengan. Balai Penelitian Kehutanan Ciamis, Ciamis.
- Tohir AM. 2006. Teknik ekstraksi dan aplikasi beberapa pestisida nabati untuk menurunkan palatabilitas ulat gayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di laboratorium. Buletin Teknik Pertanian 15(1): 37-40.
- Utami N, Anugrawati HN, Busyairi et al. 2010. Laporan praktikum pemeliharaan serangga. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ware GW. 1985. Pesticide: Theory and application. Freeman, San Francisco.
- Yuhernita, Juniarti. 2009. Skrining awal bioaktivitas daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan perendaman 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH). Jurnal Kimia Mulawarman 6(2): 33-36.

Pengaruh pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara terhadap pertumbuhan tunas pegagan (*Centella asiatica*) secara *in-vitro*

The effect of liquid organic fertilizer and pearl grass extract on shoot growth of gotu kola (*Centella asiatica*) in vitro

IRMA PUTRI HAYANTI, RETNA BANDRIYATI AMIPUTRI, PRASWANTO

Prodi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuscript received: 4 Juli 2012. Revision accepted: 7 Agustus 2012.

Abstract. Hayanti IP, Amiputri RB, Praswanto. 2012. The effect of liquid organic fertilizer and pearl grass extract on shoot growth of gotu kola (*Centella asiatica*) in vitro. *Biofarmasi* 10: 54-60. Gotu kola (*Centella asiatica* L.) is a medicinal crop, needed by local industry of pharmacy. Gotu kola in Indonesia is not enough to supply in market requisites. Tissue culture method was used to multiply gotu kola with a combination of medium from liquid organic fertilizer and pearl grass extract. The purposes of the research were to determine the effect of liquid organic fertilizer and pearl grass extract on the shoot growth of gotu kola in vitro, and to obtain the optimal concentration of liquid organic fertilizer and pearl grass extract combination on the shoot formation of gotu kola in vitro. The research was conducted in November 2010 to June 2011 in Plant Physiology and Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, Sebelas Maret University, Surakarta. The experimental design used was a Completely Randomized Design (CRD) with two treatment factors and three replications. The first factor was liquid organic fertilizer concentrations, i.e. 0 mL/L, 2 mL/L, 4 mL/L and 8 mL/L. The second factor was pearl grass extract, i.e. 0 mL/L, 3 mL/L, 6 mL/L and 12 mL/L. Variables observed were the percentage of shoot formation, the time of shoot formation, the number of shoot, the length of shoot, the percentage of leaf formation, the time of leaf formation and the number of leaf. The result of the research showed that not all of treatments provided shoot formation. The combination of liquid organic fertilizer concentrations 0 mL/L and pearl grass extract 12 mL/L showed the best results, in which the average of length of shoot was 2.16 cm, the number of shoot was 8 and the number of leaf was 8.

Keywords: Gotu kola, in vitro, liquid organic fertilizer, pearl grass extract, shoot growth

PENDAHULUAN

Pegagan atau kaki kuda (*Centella asiatica* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki aktivitas farmakologi. Beragam manfaat yang dapat diambil dari pegagan, diantaranya mampu menyembuhkan infeksi batu saluran kencing, sebagai penyembuh luka, tukak duodenum, dan penghalus kulit (Augusta 2008). Oleh karena itu, jenis tanaman ini banyak diperlukan di berbagai industri maupun perusahaan yang bergerak di bidang farmakologi.

Komoditas pegagan merupakan salah satu jenis herba liar yang jarang dibudidayakan. Tanaman ini banyak dibutuhkan oleh industri lokal kurang lebih 25 ton per tahun. Namun, kebutuhan akan pegagan hanya mampu dipasok sekitar empat ton per tahun. Tidak hanya tanaman liar yang diburu dari alam bebas, beberapa biofarmaka yang telah dibudidayakan pun banyak yang belum mampu memenuhi permintaan pasar domestik (Pusat Studi Biofarmaka 2000).

Metode kultur jaringan dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk memperbanyak pegagan. Sejak tahun 2000, pegagan telah diperbanyak melalui teknik kultur jaringan oleh Kelompok Peneliti Plasma Nutfah dan Pemuliaan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor dari

Januari 2000 sampai Juni 2005 (Kristina dan Surachman 2008).

Guna memacu pertumbuhan tunas pegagan maka perlu ditambahkan berbagai nutrisi. Salah satu nutrisi yang diperlukan pegagan dapat dipenuhi dengan menggunakan pupuk organik cair dan bahan-bahan organik yang berasal dari tanaman. Pupuk organik cair dapat memenuhi kebutuhan tanaman dalam bentuk unsur esensial bagi tanaman, seperti hara makro dan mikro. Penggunaan ekstrak tanaman atau bahan organik dari tanaman, dapat ditambahkan pada media untuk menambah kebutuhan akan nutrisi tanaman. Kandungan glukosida dalam rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) diharapkan mampu memberikan tambahan karbohidrat sebagai sumber energi dalam media kultur in vitro. Rumput mutiara mengandung senyawa aktif, salah satu diantaranya *coumarin* yang memiliki fungsi ganda. Menurut Wattimena (1988), *coumarin* pada konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan antibakteri pada rumput mutiara diharapkan mampu meminimalkan tingkat kontaminasi kontaminasi, sehingga mendukung pertumbuhan tunas pegagan secara in vitro.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara terhadap pertumbuhan tunas pegagan secara in vitro, serta untuk mengetahui konsentrasi optimal dari

kombinasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara dalam pembentukan tunas pegagan secara in vitro.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai November 2010 sampai Juni 2011 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), tisu, kertas label, *autoclave*, rak kultur, *magnetic stirrer*, *hand sprayer*, *hot plate stirrer*, plastik PP (*Polypropilen*), *petridish*, *aluminium foil*, pipet ukur, labu takar, pinset, pisau *scalpel* dan *blade*, timbangan analitik, botol kultur, pH-meter, karet gelang, blender, *beaker glass*, botol semprot, *thermoshaker*, dan lampu bunsen. Sementara itu, bahan yang digunakan meliputi mata tunas pegagan, pupuk organik cair, ekstrak rumput mutiara, media *Murashige and Skoog* (MS), akuades, fungisida, bakterisida, spiritus, *chlorox* 1,5%, formalin, dan alkohol 70%.

Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah penambahan pupuk cair pada berbagai konsentrasi dan faktor kedua adalah konsentrasi rumput mutiara. Konsentrasi pupuk organik cair adalah: (i) P0 : Tanpa penambahan pupuk, (ii) P1: Pupuk organik cair 2 mL/L, (iii) P2: Pupuk organik cair 4 mL/L, (iv) P3: Pupuk organik cair 8 mL/L. Konsentrasi ekstrak rumput mutiara adalah: (i) R0: Tanpa penambahan ekstrak rumput mutiara, (ii) R1: Ekstrak Rumput Mutiara 3 mL/L, (iii) R2: Ekstrak Rumput Mutiara 6 mL/L, (iv) R3: Ekstrak Rumput Mutiara 12 mL/L. Berdasarkan dua perlakuan tersebut, maka ada 16 kombinasi yang terbentuk dan setiap kombinasi dilakukan 3 kali ulangan.

Cara kerja

Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro, vitamin, maupun Fe-EDTA sesuai komposisi media MS untuk dibuat larutan stok. Kemudian bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades dan diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer*, kemudian dimasukkan ke dalam botol yang diberi label pada tiap botolnya sesuai dengan perlakuan dan disimpan dalam lemari pendingin.

Pembuatan ekstrak rumput mutiara

Rumput mutiara diambil dari lapang, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir. Rumput mutiara tersebut ditimbang sebanyak 80 gram kemudian direndam dengan campuran fungisida dan bakterisida selama 10 menit serta detergen selama 10 menit. Kemudian rumput mutiara dibilas dengan air mengalir dan akuades. Ekstrak rumput

mutiara diperoleh dengan cara memblender dan menambahkan akuades 200 mL.

Pembuatan media tanam

Pembuatan media dilakukan dengan mengambil dan menakar masing-masing larutan stok sesuai dengan perlakuan dan ukuran yang telah ditentukan kemudian memasukkannya ke dalam labu takar. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades sampai volume larutan mencapai 1 L, kemudian ditambahkan pupuk organik dan ekstrak rumput mutiara sesuai perlakuan. Larutan media selanjutnya dimasukkan ke dalam *Beaker glass* kemudian ditambahkan gula sebanyak 30 g dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah gula tercampur dan larut, dilakukan pengukuran pH dengan kisaran pH 5,8-6,0. Apabila pH terlalu rendah maka ditambahkan NaOH dan apabila pH terlalu tinggi maka ditambahkan HCl. Kemudian larutan ditambahkan bahan pematat media berupa agar-agar sebanyak 8 g dan dididihkan di atas *hotplate*. Setelah mendidih, larutan dituang ke dalam botol kultur, kurang lebih 25 mL per botol. Botol ditutup dengan plastik PP dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm³ selama 45 menit. Setelah sterilisasi selesai, botol diangkat dari *autoclave* dan ditempatkan di ruang inkubasi supaya media memadat. Apabila media telah memadat maka penanaman eksplan dapat dilakukan.

Sterilisasi alat

Alat-alat yang harus disterilkan diantaranya botol kultur, *petridish*, *scalpel* dan *blade*, pinset, dan plastik PP. Alat-alat tersebut dicuci sampai bersih (kecuali plastik PP), kemudian dikeringkan. Setelah kering, alat-alat tersebut (kecuali botol kultur dan plastik PP) dibungkus dengan kertas koran lalu dimasukkan ke dalam *autoclave* pada tekanan 1,5 psi (kg/cm³) dan pada suhu 121°C selama 45 menit.

Sterilisasi eksplan

Bahan tanaman yang digunakan dicuci sampai bersih dengan menggunakan detergen kemudian direndam dengan fungisida dan bakterisida selama 10 menit untuk membunuh mikroorganisme yang menempel dalam eksplan. Kemudian bahan tanaman direndam dalam campuran larutan bakterisida dan fungisida selama 12 jam, serta digojog dalam *thermoshaker*. Setelah 12 jam, eksplan dibilas dengan akuades steril di dalam LAFC. Eksplan yang telah dibilas dengan akuades steril, selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kultur dan direndam dalam larutan *clorox* 1,5% selama 5 menit sambil digojog. Eksplan yang telah disterilisasi siap ditanam di dalam media kultur.

Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*) yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%, spiritus, dan formalin. Kemudian eksplan dikeluarkan dari botol dengan menggunakan pinset panjang yang telah disterilisasi basah maupun kering. Eksplan dipotong dengan *scalpel*. Sebelum

digunakan untuk mengambil eksplan, pinset terlebih dahulu dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan dibakar di atas lampu bunsen. Eksplan siap ditanam ke dalam botol kultur kemudian botol kultur ditutup kembali dengan plastik PP (*Polypropilen*). Botol-botol kultur yang telah selesai penanaman diberi label sesuai dengan perlakuan dan tanggal penanaman.

Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan untuk meminimalisasi risiko kontaminasi yaitu dengan cara menyemprotkan spiritus ke permukaan botol kultur setiap 2 hari sekali serta mengeluarkan botol kultur yang terkontaminasi dari ruang inkubasi.

Analisis data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif. Hal ini dikarenakan data hasil penelitian tidak sesuai dengan asumsi, dimana data harus menyebar normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase pembentukan tunas

Tunas merupakan salah satu bentuk organ vegetatif dari suatu tanaman. Dalam kultur jaringan, pembentukan tunas merupakan salah satu indikator pertumbuhan dari suatu eksplan. Tingginya persentase pembentukan tunas pada kultur pegagan, mengindikasikan keberhasilan dalam kultur pegagan. Data persentase terbentuknya tunas pegagan dapat dilihat pada Tabel 1.

Penambahan ekstrak rumput mutiara yang dikombinasikan dengan pupuk organik cair (POC), tidak semuanya mampu membantu kemunculan tunas pegagan. Penambahan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L yang dikombinasikan dengan POC 0 mL/L memberikan persentase tunas pegagan yang terbentuk sebesar 100%. Pada perlakuan tanpa penambahan ekstrak rumput mutiara maupun POC, penambahan ekstrak rumput mutiara 6 mL/L dan POC 0 mL/L, penambahan ekstrak 3 mL/L dan POC 2 mL/L, serta penambahan ekstrak 12 mL/L dan POC 8 mL/L memberikan persentase tunas pegagan yang terbentuk sebesar 66,7%. Sementara itu, pada penambahan ekstrak rumput mutiara 0 mL/L dan POC 2 mL/L, penambahan ekstrak 3 mL/L dan POC 4 mL/L, penambahan ekstrak 6 mL/L dengan POC 4 mL/L, serta penambahan ekstrak 12 mL/L dan POC 2 mL/L memberikan hasil sebesar 33,33%.

Pada penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L pada berbagai taraf POC, dapat membantu memunculkan tunas pegagan paling banyak. Hariana (2006) menjelaskan bahwa rumput mutiara mengandung berbagai senyawa kimia, salah satunya *coumaric acid*. Seperti yang dijelaskan oleh Wattimena (1989), *coumaric acid* merupakan senyawa dari golongan asam fenolik dan *coumarin*. Dwidjoseputro (1986) menjelaskan bahwa *coumarin* merupakan salah satu fitohormon, yaitu zat kimia yang dapat mempengaruhi pengembangan sel. Senyawa tersebut terdapat di dalam tanaman. Dalam suatu penelitian

dibuktikan bahwa *coumarin* dapat memperlambat pengembangan sel-sel pada koleoptil dan lembaran-lembaran daun. Oleh karena itu, penggunaan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L, tanpa penambahan pupuk organik cair mampu menyediakan banyak *coumarin* yang dapat membantu pertumbuhan tunas.

Penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L yang dikombinasikan dengan POC 4 mL/L, kombinasi ekstrak 3 mL/L dan POC 0 mL/L, serta kombinasi ekstrak 6 mL/L dan POC 2 mL/L belum mampu memunculkan tunas. Hal ini diduga bahwa eksplan pegagan tidak mampu menyerap dengan baik zat-zat yang terkandung dalam media, sehingga pembentukan tunas menjadi terhambat. Penyerapan unsur hara dari dalam media ke dalam tubuh tanaman, menurut Musyarofah (2006), salah satunya dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara lain yang akan meningkatkan serapan unsur hara tersebut.

Pada penambahan pupuk organik 8 mL/L yang dikombinasikan dengan ekstrak 0 mL/L serta kombinasi antara ekstrak 3 mL/L dan POC 6 mL/L juga belum dapat memicu pembentukan tunas. Hal ini diperjelas oleh Wijayani dan Widodo (2005) *cit*. Satutik (2009) bahwa larutan hara yang terlalu pekat, tidak dapat diserap oleh akar secara maksimum, hal ini disebabkan tekanan karena osmosis sel menjadi lebih kecil dibandingkan tekanan osmosis di luar sel, sehingga diduga justru akan terjadi aliran balik cairan sel-sel tanaman.

Saat muncul tunas

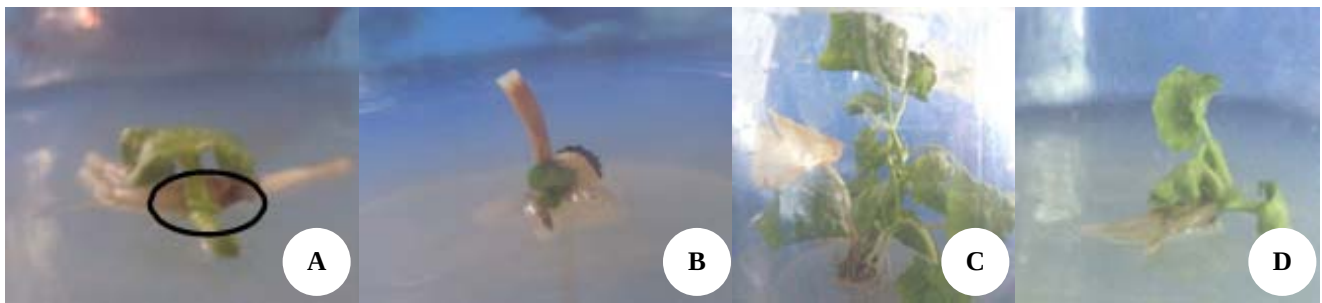
Terbentuknya tunas merupakan salah satu indikator keberhasilan pada perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan. Tunas berfungsi untuk menghasilkan keturunan pada tanaman, karena tunas dapat menjadi sarana dalam pembentukan energi dari proses yang berlangsung pada daun. Semakin awal tunas terbentuk, berarti eksplan menyerap lebih cepat unsur hara yang terkandung di dalam media (Gambar 1.A).

Tabel 1. Persentase pembentukan tunas pegagan (%) pada umur 60 HST pada berbagai konsentrasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara

Pupuk organik cair (mL/L)	Persentase pembentukan tunas pegagan pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput mutiara			
	0 mL/L	3 mL/L	6 mL/L	12 mL/L
0	66,70	0	66,70	100
2	33,33	66,70	0	33,33
4	0	33,33	33,33	0
8	0	0	0	66,70

Tabel 2. Persentase pembentukan daun pegagan (%) pada umur 60 HST pada berbagai konsentrasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara

Pupuk organik cair (mL/L)	Persentase pembentukan tunas pegagan pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput mutiara			
	0 mL/L	3 mL/L	6 mL/L	12 mL/L
0	33,33	0	33,33	33,33
2	33,33	33,33	0	33,33
4	0	33,33	33,33	0
8	0	0	0	66,67



Gambar 1. A. Waktu kemunculan tunas pegagan pada kombinasi perlakuan POC 2 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L. B. Waktu kemunculan daun pegagan pada kombinasi POC 8 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L. C. Daun pegagan yang terbentuk pada perlakuan POC 0 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L. D. Daun pegagan yang terbentuk pada perlakuan perlakuan POC 2 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L

Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata pembentukan tunas pegagan paling cepat dua hari setelah tanam (HST). Kombinasi yang menunjukkan pertumbuhan paling cepat yaitu pada kombinasi pupuk organik cair 8 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L, serta kombinasi pupuk organik cair 4 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 6 mL/L. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan ekstrak rumput mutiara dan pupuk organik cair dengan konsentrasi tinggi, yaitu konsentrasi ekstrak 12 mL/L dan 6 mL/L, serta pupuk cair sebesar 8 mL/L dan 4 mL/L, mampu menginduksi tunas lebih cepat dibanding konsentrasi lain yang lebih rendah. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa penambahan ekstrak rumput mutiara dapat mempercepat pertumbuhan tunas dengan penambahan pupuk organik cair pada konsentrasi tinggi.

Menurut Poerwowidodo (1992), pupuk organik cair selain mengandung nitrogen yang menyusun protein, asam nukleat, dan klorofil, juga mengandung unsur-unsur hara mikro seperti Mn, Zn, Fe, S, B, Ca, dan Mg. Unsur hara mikro tersebut berperan sebagai katalisator dalam proses sintesis protein dan pembentukan klorofil. Protein merupakan penyusun utama protoplasma yang berfungsi sebagai pusat proses metabolisme dalam tanaman yang selanjutnya akan memacu pembelahan dan pemanjangan sel.

Penambahan kombinasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara menunjukkan waktu yang berbeda-beda dalam pembentukan tunas pegagan. Perbedaan saat muncul tunas tersebut diduga terjadi karena masing-masing eksplan memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam penyerapan unsur hara, dimana unsur hara tersebut masuk ke dalam eksplan melalui permukaan eksplan.

Selain perbedaan dalam penyerapan unsur hara, kondisi tersebut diduga juga disebabkan oleh adanya pengaruh dari kandungan senyawa fenolik yang terdapat pada rumput mutiara, yaitu zat yang mampu menghambat pertumbuhan tanaman. Rumput mutiara mengandung *coumaric acid* yang termasuk dalam asam fenolik dan berperan sebagai fungisida dan bakterisida. Selain digunakan sebagai bakterisida, *coumaric acid* juga berfungsi sebagai zat penghambat pertumbuhan, khususnya pada pertumbuhan akar. Akan tetapi, *coumaric acid* yang terdapat pada

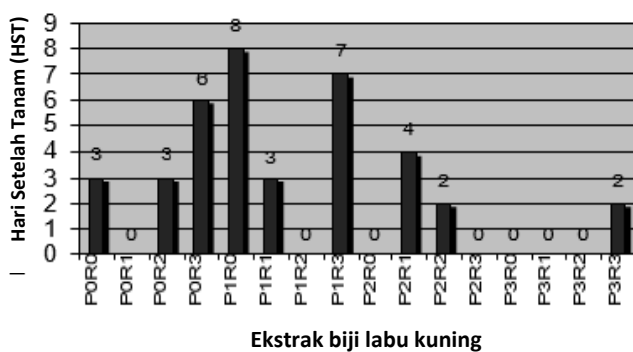
tanaman, tidak sanggup menekan semua proses pertumbuhan. Selama nisbah fitohormon dan inhibitor yang mendorong pertumbuhan berada dalam sistem yang seimbang, pertumbuhan suatu tanaman akan tetap berlangsung (Wattimena 1988). Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa penambahan ekstrak rumput mutiara dapat menghambat ataupun mempercepat pertumbuhan tunas pegagan.

Jumlah tunas

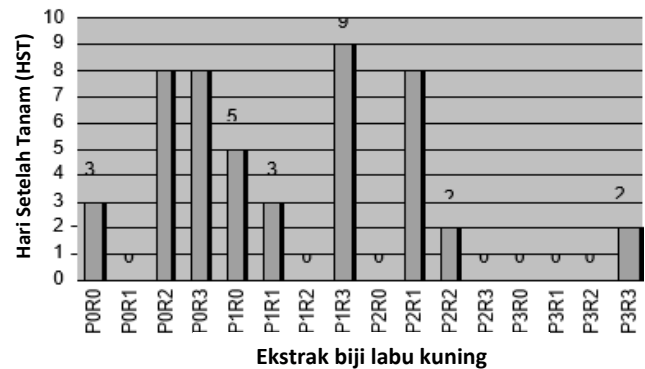
Terbentuknya tunas merupakan salah satu indikator keberhasilan dalam kultur jaringan. Semakin banyak jumlah tunas yang dihasilkan maka tanaman dapat dikatakan tumbuh dengan baik. Data jumlah tunas pegagan dapat dilihat pada Gambar 3. Dilihat dari Gambar 3 dapat diketahui rata-rata jumlah tunas pegagan yang terbentuk dalam berbagai kombinasi perlakuan. Jumlah tunas terbanyak diperoleh pada penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L yang dikombinasikan dengan pupuk organik cair 0 mL/L (tanpa penambahan pupuk), 2 mL/L, dan 8 mL/L.

Perlakuan tanpa penambahan pupuk organik cair (POC) dan POC 2 mL/L pada berbagai taraf konsentrasi ekstrak rumput mutiara menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang lebih banyak jika dibandingkan dengan penambahan POC 4 mL/L dan 8 mL/L pada berbagai taraf konsentrasi ekstrak rumput mutiara. Hal ini diduga media dasar MS (*Murashige and skoog*) telah mengandung sejumlah zat yang diperlukan eksplan untuk tumbuh.

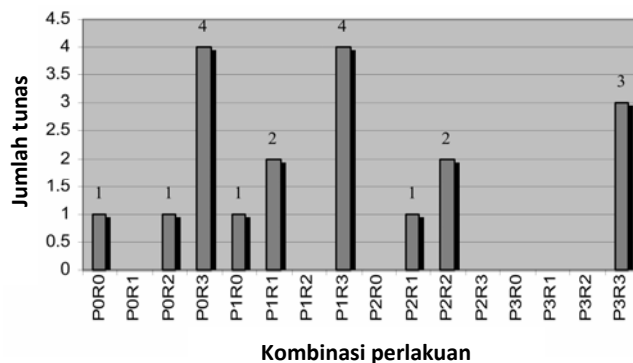
Apabila digunakan konsentrasi pupuk yang lebih besar diduga justru akan menghambat pertumbuhan eksplan pegagan tersebut. Penggunaan pupuk pada dosis tinggi, atau penambahan zat pemicu pertumbuhan yang tinggi dapat menghambat proses pertumbuhan. Hal ini diperjelas dengan pernyataan Satutik (2009), bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur in vitro pada batas-batas tertentu mampu merangsang pertumbuhan, namun dapat bersifat sebagai penghambat apabila digunakan melebihi konsentrasi optimum.



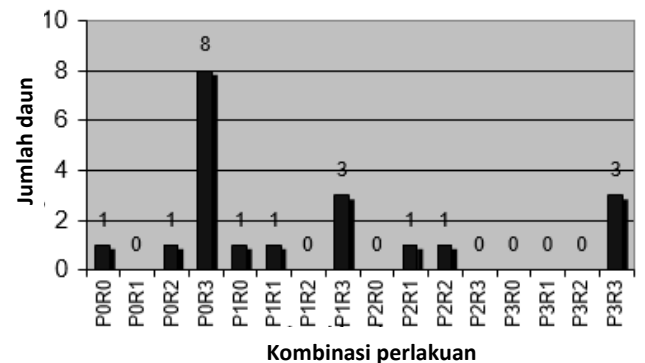
Gambar 2. Waktu kemunculan tunas pegagan pada berbagai konsentrasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara. P0 = POC 0 mL/L, P1 = POC 2 mL/L, P2 = POC 4 mL/L, P3 = POC 8 mL/L



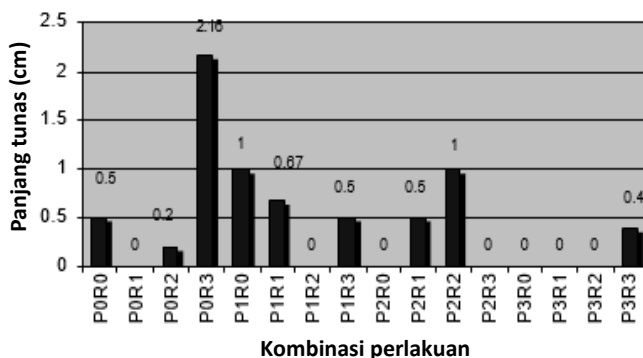
Gambar 5. Waktu kemunculan daun pegagan pada berbagai konsentrasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara. P0 = POC 0 mL/L, P1 = POC 2 mL/L, P2 = POC 4 mL/L, P3 = POC 8 mL/L



Gambar 3. Jumlah tunas eksplan pegagan pada umur 60 HST pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput mutiara dan pupuk organik cair. P0 = POC 0 mL/L, P1 = POC 2 mL/L, P2 = POC 4 mL/L, P3 = POC 8 mL/L



Gambar 6. Jumlah daun pegagan pada umur 60 HST pada berbagai konsentrasi pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara. P0 = POC 0 mL/L, P1 = POC 2 mL/L, P2 = POC 4 mL/L, P3 = POC 8 mL/L



Gambar 4. Panjang tunas eksplan pegagan pada umur 60 HST pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput mutiara dan pupuk organik cair. P0 = POC 0 mL/L, P1 = POC 2 mL/L, P2 = POC 4 mL/L, P3 = POC 8 mL/L

Panjang tunas

Panjang tunas yang terbentuk pada kultur jaringan merupakan salah satu indikator untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak rumput mutiara dan pupuk organik cair. Semakin panjang tunas pegagan yang terbentuk maka dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh dari ekstrak rumput mutiara dan pupuk organik cair dalam budi daya secara in vitro. Rata-rata panjang tunas pegagan yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4. Dilihat dari Gambar 4, dapat diketahui bahwa penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L dapat membantu pertumbuhan panjang tunas pada eksplan. Pada penambahan ekstrak 12 mL/L yang dikombinasikan dengan POC 0 mL/L mampu memberikan efek pada tunas paling panjang, kemudian diikuti dengan penambahan ekstrak 12 mL/L yang dikombinasikan dengan POC 8 mL/L.

Pada kombinasi perlakuan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L dan tanpa menggunakan pupuk organik cair (0 mL/L), ternyata mampu memberikan rata-rata hasil panjang tunas yang paling baik jika dibandingkan dengan kombinasi perlakuan lainnya, yaitu sebesar 2,16 cm. Hal tersebut diduga disebabkan penambahan ekstrak rumput mutiara sebagai tambahan bahan organik sudah mampu mencukupi kebutuhan eksplan akan hara serta ketahanan tanaman, sehingga tanaman dapat tumbuh dengan baik.

Penggunaan media dasar MS juga mempengaruhi pertumbuhan eksplan pegagan. Tanpa penggunaan pupuk organik cair pun, eksplan pegagan ternyata mampu menghasilkan panjang tunas yang terpanjang. Hal tersebut juga didukung dengan pernyataan Masruru (2007) bahwa sumber nitrogen dalam media kultur jaringan, berupa NH_4^+ dan NO_3^- , dan dalam media dasar MS paling tinggi diantara media dasar lainnya. Oleh karena itu, penggunaan MS dapat memacu pertumbuhan organ vegetatif tanaman.

Penggunaan pupuk organik cair dengan konsentrasi 2 mL/L dan 4 mL/L pada berbagai taraf ekstrak rumput mutiara, ternyata memberikan hasil yang baik terhadap panjang tunas. Hal ini terbukti pada kombinasi perlakuan POC 2 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 0 mL/L serta kombinasi POC 4 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 6 mL/L memberikan panjang tunas rata-rata sebesar 1 cm, kemudian diikuti kombinasi perlakuan POC 2 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 3 mL/L memberikan panjang tunas sebesar 0,67 cm. Hal tersebut diduga bahwa kandungan unsur makro, mikro, serta ZPT dalam pupuk organik dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas.

Persentase pembentukan daun

Daun merupakan salah satu organ vital bagi tanaman. Daun berfungsi dalam hal penyediaan makanan. Daun melakukan proses fotosintesis untuk menghasilkan energi, makanan, dan oksigen. Persentase daun yang terbentuk merupakan salah satu indikasi keberhasilan penanaman eksplan pada kultur in vitro. Persentase kemunculan daun pegagan yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Dilihat dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa penggunaan ekstrak rumput mutiara dapat membantu pertumbuhan daun pegagan. Pada konsentrasi ekstrak 12 mL/L yang dikombinasikan dengan POC 8 mL/L mampu menghasilkan persentase kemunculan daun pegagan tertinggi, yaitu sebesar 66,67%. Hal ini diduga rumput mutiara yang mengandung berbagai senyawa-senyawa seperti *coumarin* yang merupakan salah satu fitohormon. *Coumarin* dapat mempengaruhi pengembangan sel dan mempergiat pengembangan sel-sel pada koleoptil dan lembaran-lembaran daun (Dwijoseputro 1986).

Pada perlakuan POC 8 mL/L diperoleh persentase kemunculan daun sebesar 66,7%, akan tetapi apabila dikombinasikan dengan ekstrak rumput mutiara 0 mL/L, 3 mL/L, dan 6 mL/L ternyata belum mampu memberikan pengaruh dalam pembentukan daun pada pegagan. Hal ini diduga karena pemberian nutrisi (pupuk) atau zat pengatur pertumbuhan yang terlalu tinggi, ataupun pada batas-batas tertentu dapat justru bersifat menghambat pertumbuhan tanaman (Satutik 2009).

Waktu kemunculan daun

Tunas yang telah terbentuk dari hasil kultur in vitro, selanjutnya akan tumbuh dan berkembang membentuk daun. Semakin cepat daun terbentuk, membuktikan bahwa tanaman menunjukkan gejala pertumbuhan yang baik. Dalam kultur in vitro, dapat dikatakan bahwa tanaman pegagan mampu menyerap nutrisi pada media dengan baik (Gambar 1.B).

Gambar 5 menunjukkan bahwa kombinasi pupuk organik cair 8 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L, serta kombinasi pupuk organik cair 4 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 6 mL/L mampu membantu eksplan pegagan dalam pembentukan daun paling cepat.

Pada penambahan kombinasi antara pupuk organik cair 8 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L, serta kombinasi antara pupuk organik cair 4 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 6 mL/L mampu membentuk tunas paling cepat dibanding konsentrasi yang lain, yaitu pada 3 HST. Hal ini diduga kandungan unsur makro dan mikro, serta bahan organik, selain berperan dalam membantu pertumbuhan tunas, juga dapat memacu pertumbuhan daun pada eksplan.

Nitrogen yang terkandung dalam pupuk, berperan dalam memacu pertumbuhan tunas. Unsur nitrogen juga sangat berperan dalam pertumbuhan vegetatif tanaman. Keberadaan nitrogen inilah yang mempengaruhi pertumbuhan dan kemunculan daun.

Jumlah daun

Jumlah daun yang terbentuk dalam kultur pegagan, juga merupakan salah satu indikator dalam keberhasilan melakukan budi daya tanaman melalui teknik kultur jaringan. Jumlah daun mengindikasikan serapan nutrisi yang mampu diserap oleh masing-masing eksplan (Gambar 1.C-D). Rata-rata jumlah daun pegagan pada berbagai kombinasi perlakuan pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara dapat dilihat pada Gambar 6.

Semakin banyak tunas yang terbentuk dalam suatu kultur jaringan maka semakin banyak jumlah daun yang muncul. Hal tersebut dikarenakan daun merupakan hasil perkembangan dari tunas. Apabila tanaman mampu menyerap nutrisi-nutrisi di dalam media dengan baik maka pertumbuhan serta perkembangan tanaman dari tunas menjadi daun juga semakin baik.

Gambar 6 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah daun tertinggi diperoleh dari kombinasi POC 0 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L, yaitu sebanyak 8 daun, kemudian diikuti dengan kombinasi perlakuan POC 2 mL/L dan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L, serta kombinasi POC 8 mL/L dengan ekstrak rumput mutiara 12 mL/L. Hal tersebut sejalan dengan variabel jumlah tunas. Jumlah daun yang terbentuk akan sesuai dengan jumlah tunas yang terbentuk dalam suatu kultur jaringan tanaman.

KESIMPULAN

Penggunaan pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara pada berbagai konsentrasi, tidak semuanya mampu memicu pembentukan tunas pada eksplan

pegagan (*C. asiatica*). Penggunaan ekstrak rumput mutiara pada konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan tunas, sedangkan pada konsentrasi tinggi dapat memacu pertumbuhan tunas pegagan secara in vitro. Penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L merupakan konsentrasi terbaik dalam perbanyakan tunas pegagan secara in vitro. Penambahan ekstrak rumput mutiara sebanyak 12 mL/L memberikan rata-rata panjang tunas terpanjang, yaitu sebesar 2,16 cm.

DAFTAR PUSTAKA

- Augusta S. 2008. Pengaruh Penambahan Ion Cu^{2+} dan Metil Jasmonat pada Produksi Asiatikosida Kultur Suspensi Sel Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). [Skripsi]. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Dwidjoseputro D. 1986. Pengantar fisiologi tumbuhan. PT Gramedia, Jakarta.
- Kristina NN, Surachman D. 2008. Multiplikasi tunas dan aklimatisasi pegagan (*Centella asiatica* L.) periode kultur lima tahun. Jurnal Littri 14(1): 30-35.
- Masruru K. 2007. Pengaruh Jenis Eksplan dan ZPT Terhadap Multiplikasi Adenium (*Adenium obesum* Roem & Schult) secara In Vitro. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Musyarofah N. 2006. Respons Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap Pemberian Pupuk Alami di Bawah Naungan. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pusat Studi Biofarmaka. 2000. Pasar domestik dan ekspor produk tanaman obat (biofarmaka). Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.
- Satutik W. 2009. Pengaruh Macam Nutrisi dan Pemberian Buah Pisang Terhadap Pertumbuhan Plantlet Anggrek Dendrobium secara In Vitro. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Wattimena GA. 1988. Zat pengatur tumbuh tanaman. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wijayani A, Widodo W. 2005. Usaha meningkatkan kualitas beberapa varietas tomat dengan sistem budidaya hidroponik. Jurnal Ilmu Pertanian 2(1): 77-83.

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 mm²), 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. **Tata nama 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 butilhidroksitoluen (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⁻², l⁻¹, h⁻¹) 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 berseri, 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 sampel 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 penulis, nama penulis diurutkan berdasarkan kebaruan pustaka. Pada naskah yang ditulis oleh dua penulis, nama keduanya disebutkan, sedangkan pada naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, hanya nama penulis pertama yang 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, Gough KH, Shukla DD et al. 1998. Coat protein sequence of Krish-infecting strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. Arch Virol 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent JI, Sprent P. 1990. Nitrogen fixing organisms: Pure and applied aspects. Chapman and Hall, London.

Bab dalam buku:

Baker CMA, Manwell C. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman CG (ed). Cattle Genetic Resources. Elsevier, Amsterdam.

Abstrak:

Liu Q, Salih S, Ingersoll J et al. 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, FL, 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra HS. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. In: Setyawan AD, Sutarno (eds). 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]. Universitas Indonesia, Jakarta.

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 α , β , χ , 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 masih memegang hak cipta (*copyright*) dan mempertahankan hak penerbitan tanpa pembatasan atas naskah yang diterbitkan **Biofarmasi**. 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.

Efek antipiretik ekstrak daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantiifolium</i>) pada tikus putih	35-39
• AMELIA KARTIKA WIDOWATI, NUR HAFIDHA HIKMAYANI, ETI PONCORINI PAMUNGKASARI	
Pengaruh ekstrak daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) terhadap penurunan kadar trigliserida darah tikus putih	40-45
• ANDHIKA AJI NUGROHO, NUR HAFIDHA HIKMAYANI, SUTARMIADJI DJUMAGA	
Uji potensi ekstrak daun suren (<i>Toona sureni</i>) sebagai insektisida ulat grayak (<i>Spodoptera litura</i>) pada tanaman kedelai	46-53
• ESTRI NOVIANA, SHOLAHUDDIN, SRI WIDADI	
Pengaruh pupuk organik cair dan ekstrak rumput mutiara terhadap pertumbuhan tunas pegagan (<i>Centella asiatica</i>) secara in-vitro	54-60
• IRMA PUTRI HAYANTI, RETNA BANDRIYATI AMIPUTRI, PRASWANTO	

