

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 12
NOMOR 1
FEBRUARI 2014
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.

Uji mutagenisitas ekstrak kloroform daun ambre (*Geranium radula*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* serta profil kandungan kimia bagian teraktif

Mutagenic test of chloroform extract partition result of ambre leaves (*Geranium radula*) to *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of chemical compound

MITA MUTIA RAHMAN, ARTINI PANGASTUTI, RITA RAKHMAWATI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126, Jawa Tengah.

Manuscript received: 14 Mei 2013. Revision accepted: 5 Oktober 2013.

Abstract. Rahman MM, A Pangastuti, R Rakhmawati. 2011. Mutagenic test of chloroform extract partition result of ambre leaves (*Geranium radula*) to *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of chemical compound. *Biofarmasi* 12: 1-10. The purpose of the research was to know the mutagenic effect of partition chloroform extract of Ambre leaves to the tested bacteria *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of bioactive showing the biggest mutagenic characteristic. The research used Ames method with mutated bacteria *S. typhimurium* TA98 as frameshift mutation indicator and *S. typhimurium* 100 and 1535 as substitution mutation of base pair indicator. Tested sample was the result of partition chloroform extract of Ambre leaves of the dissolved and non dissolved part in wash-benzene at concentration of 10, 100, 500, and 1000 µg/ml. Mutagenic test result showed chloroform extract of Ambre leaves of the dissolved part in wash-benzene used *S. typhimurium* TA100 and 1535 could cause substitution mutation of base pair in concentration 100 µg/mL and 500 µg/mL and used *S. typhimurium* TA98 could cause frameshift mutation in concentration 10 µg/mL. Mutagenic test result showed chloroform extract of Ambre leaves of non dissolved part in wash-benzene used *S. typhimurium* TA100 and 1535 couldn't cause substitution mutation of base pair and used *S. typhimurium* TA98 could cause frameshift mutation in concentration 10 µg/mL. Result of detection on result compound of partition chloroform extract of Ambre leaves of dissolved part in wash-benzene on KLT plat with various detection of sprayed compound showed a positive result for detection of terpinoid used vanillin-H₂SO₄ and flavonoid used FeCl₃. Terpenoid and flavonoid presumed as compound that causing mutation.

Keywords:: *Geranium radula*, Ames method, frameshift mutation, substitution mutation of base pair, partition

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian terbesar di dunia terutama di negara-negara maju (Pato 2003). Kanker merupakan penyakit sel yang ditandai dengan adanya perubahan (transformasi) pada sel sehingga bentuk, sifat dan kinetiknya berubah. Sel tumbuh menjadi autonom, liar, tidak terkendali, terlepas dari koordinasi pertumbuhan normal, dan bersifat ganas (Aulia et al. 2002; Maliya 2004). Kejadian dan jenis penyakit kanker erat hubungannya dengan berbagai faktor antara lain adalah jenis kelamin, usia, ras dan paparan terhadap beberapa zat yang bersifat karsinogenik (Katzung 1994). Zat yang bersifat karsinogenik dapat berupa zat kimia organik maupun anorganik. Selain itu, virus dan radiasi sinar dapat pula menyebabkan kanker (Dalimartha 2004).

Dalam pengobatan kanker dibutuhkan pendekatan sistemik melalui kemoterapi kanker, disamping pembedahan, radiasi, dan kemoterapi ajuvan (Nafrialdi dan Gan 1995). Tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial sehingga

pencarian obat-obatan kemoterapi dari tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan (Sukardiman et al. 2006). Berdasarkan penelitian skrining toksisitas beberapa tanaman di kawasan Tawangmangu Surakarta dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dari daun ambre (*Geranium radula* Cavan.) memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 40,63 µg/mL (Wahyuni dan Rakhmawati 2008). Suatu ekstrak berpotensi sebagai kandidat antikanker berdasarkan metode BST jika harga LC₅₀ kurang dari 1000 µg/mL dan hasil uji toksisitas menggunakan metode BST ini dapat diasosiasikan dengan sifat sitotoksik yang digunakan sebagai prasyarat antikanker (Erma et al. 2004).

Berdasarkan penelitian, Ames (1973a,b) telah membuktikan bahwa 90% senyawa yang bersifat mutagenik juga bersifat karsinogenik. Disisi lain banyak teori yang menyebutkan bahwa mekanisme kerja dari beberapa senyawa yang digunakan sebagai obat antikanker mirip dengan mekanisme kerja senyawa karsinogen terhadap protein, DNA atau sel normal (Foye 1996). Ini membuktikan bahwa senyawa antikanker dapat pula

menyebabkan mutasi. Hal ini dapat dimengerti mengingat ada beberapa obat antikanker yang berasal dari tanaman dapat secara langsung menghambat perkembangan siklus sel kanker dan menyebabkan terjadinya kerusakan DNA (Katzung 1994). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu adanya penelitian untuk melihat efek mutagenik dari daun ambre dengan melakukan uji mutagenisitas terhadap hasil partisi dari ekstrak kloroform daun ambre menggunakan metode Ames. Pada uji mutagenisitas ini digunakan bakteri *S. typhimurium* TA98, 100 dan 1535. Daun ambre diperiksa untuk melihat efek mutagenik dengan melakukan pengamatan terhadap ada tidaknya pertumbuhan bakteri dalam media. Selanjutnya dicari profil kandungan senyawa kimia teraktif dari hasil partisi yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui efek mutagenik dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, 100 dan 1535. (ii) Mengetahui profil kandungan kimia teraktif dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta selama bulan Juli-Desember 2009.

Alat dan bahan penelitian

Bahan utama untuk pemisahan adalah simplisia kering daun ambre (*Geranium radula* Cavan.), kloroform (untuk maserasi), pelarut *wash-benzene* untuk partisi, plat silika gel 60 GF254 sebagai fase diam dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform.

Bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, 100 dan 1535 beserta *growth medium* yang diperoleh dari *Enviromental Bio-Detection Products inc.* (EBPI) California. Media yang digunakan adalah media Luria Bertani (LB), media histidin-biotin, dan media minimal yang ditambah glukosa. Bahan kimia yang digunakan adalah d-biotin, l-histidin, amonium sulfat, dextrose, dipotasium fosfat, magnesium fosfat, monopotassium fosfat, sodium sitrat, *sodium azide* (EBPI), *2-nitrofluorene* (EBPI) dan *Dimethyl sulfoxide* (DMSO). Plat silika gel 60 GF254, kloroform, pereaksi kimia $\text{Ce(IV)(SO}_4)_2$, FeCl_3 , vanilin H_2SO_4 , dan Lieberman-Burchard.

Cara kerja

Pengambilan sampel

Sampel berupa simplisia kering daun ambre sebanyak 290 gram dan telah dideterminasi yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) pada bulan Mei tahun 2009.

Pemisahan komponen bioaktif

Ekstraksi. Serbuk daun ambre dimaserasi menggunakan kloroform selama 24 jam disertai pengadukan, maserasi

dilakukan hingga 3 kali. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan corong *buchner*, ampasnya dipisahkan dan filtrat I yang diperoleh diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak kloroform yang kemudian dikeringkan dengan bantuan kipas angin dan disimpan di eksikator. Ampas dimaserasi kembali dengan kloroform seperti cara diatas sehingga diperoleh filtrat II dan III lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, ekstrak yang didapat digabung dengan ekstrak kloroform yang pertama. Profil hasil senyawa pada ekstrak dimonitor dengan kromatografi lapis tipis.

Partisi. Ekstrak kloroform daun ambre dipartisi dengan cara partisi padat-cair dengan pelarut *wash-benzene* menggunakan *sentrifuge* sehingga dihasilkan dua bagian yaitu bagian larut dan tidak larut *wash-benzene* untuk kemudian pelarut diuapkan. Kedua bagian yang telah diuapkan dimonitor hasil pemisahannya dengan kromatografi lapis tipis, apabila hasil pemisahan tidak tumpang tindih antara keduanya, maka dilakukan uji mutagenisitas dengan uji Ames.

Uji Mutagenisitas. Uji mutagenisitas dilakukan dengan menggunakan uji Ames tanpa aktivator metabolik S-9 mix.

Penanganan bakteri uji. Masing-masing bakteri yang akan diuji disimpan pada *frezer* -4°C dan *growth media* disimpan pada lemari pendingin 4°C .

Pembuatan biakan semalam. Bakteri yang disimpan pada *frezer* -4°C kemudian dihidrasi dengan menambahkan *growth media* kedalam tempat yang berisi bakteri, divortex dan diinkubasi selama 16-18 jam. Sebanyak 50-100 μL bakteri tersebut diinokulasi pada media LB dan diinkubasi selama 16-18 jam. Dalam proses pengujian kondisi harus dalam keadaan *fresh* yaitu antara jam ke 16-18 setelah proses inokulasi, karena pada periode jam tersebut bakteri berada pada fase eksponensial sampai awal fase stasioner, lewat dari itu bakteri tidak boleh digunakan.

Uji mutagenesitas larutan uji. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan larutan uji sesuai konsentrasi, medium tersebut dituangkan pada cawan petri yang berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium yang mengandung histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Uji kontrol positif. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan masing-masing sebanyak 17,1 μL *sodium azide* untuk *S. typhimurium* TA100 dan 1535 dan *2-nitrofluorene* untuk *S. typhimurium* TA98 sebagai kontrol positif. *Sodium azide* dan *2-nitrofluorene* sebagai kontrol positif karena keduanya telah digunakan sebagai mutagen standar untuk masing-masing bakteri. Medium histidin-biotin tersebut dituangkan ke dalam cawan petri berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Uji kontrol negatif. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan sebanyak 100 μL DMSO sebagai kontrol negatif. Medium tersebut dituang ke dalam cawan

petri berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Larutan uji. Konsentrasi larutan uji yang digunakan 1000, 500, 100, dan 10 µg/mL. Larutan uji dibuat dengan menimbang sebanyak 50 mg sampel hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre, dilarutkan dengan 100 µL DMSO dan air suling steril hingga volumenya 5 mL. Selanjutnya larutan uji disaring dengan penyaring bakteri. Data hasil uji mutagenisitas diperoleh dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada masing-masing cawan petri

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Penentuan Profil Kandungan Senyawa Kimia

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Proses pemisahan pada tahap ekstraksi dan partisi dimonitor profil kandungan senyawa kimianya dengan kromatografi lapis tipis. Hasil setiap tahapan tersebut dilarutkan di pelarut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT yaitu silika gel 60 GF254 menggunakan pipa kapiler. Pengembangan dilakukan dalam bejana pengembang menggunakan fase gerak kloroform. Hasil KLT dideteksi dengan sinar UV254 nm, UV366 nm dan disemprot dengan serum (IV) sulfat untuk mendeteksi keberadaan senyawa organik secara umum dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi coklat.

Penentuan profil kandungan senyawa kimia. Penentuan golongan senyawa dilakukan setelah diketahui bagian teraktif dari hasil partisi yang telah dimonitor dengan kromatografi lapis tipis dan uji mutagenisitas dengan uji Ames. Profil kandungan kimia teraktif yang menunjukkan sifat mutagenik kemudian ditentukan dengan menggunakan pereaksi semprot khusus yaitu FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa flavonoid dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning. Vanilin H₂SO₄ untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru sampai ungu setelah pemanasan pada suhu 110°C selama 10 menit. Lieberman-Burchard untuk mendeteksi keberadaan senyawa triterpenoid (steroid) dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah untuk triterpenoid dan biru untuk steroid setelah pemanasan pada suhu 110°C selama 10 menit.

Analisis Data

Data hasil uji mutagenisitas diperoleh secara kuantitatif dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada konsentrasi yang diberikan. Analisis data uji mutagenisitas dilakukan dengan menghitung pertumbuhan koloni bakteri dimana jumlah koloni yang tumbuh dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif. Apabila hasilnya: 1,8-2 kali atau lebih dari kelompok kontrol negatif maka sampel yang di uji bersifat sangat mutagen, 1,6 – 1,7 kali dari kelompok kontrol negatif maka sampel yang di uji kemungkinan bersifat mutagen dan 1 < -1,5 kali dianggap tidak mutagen. Batas suatu bahan uji dikatakan bersifat mutagen jika konsentrasi sampel yang memberikan hasil positif kurang dari 10.000 µg/mL (Radji 2004; Suprastiwi 2009).

Profil kandungan kimia teraktif yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar dimonitor kromatografi lapis tipis dengan fase gerak dan fase diam yang sesuai serta pereaksi semprot yang spesifik. Profil kromatografi lapis tipis hasil deteksi semprot spesifik dianalisis secara kualitatif dengan analisis deskriptif berdasarkan bercak warna yang terbentuk dan nilai R_f yang ditentukan dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak perambatan bercak dari titik awal}}{\text{Jarak perambatan fase gerak dari titik awal}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek mutagenik dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, 100 dan 1535 beserta profil kandungan kimia teraktif dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar. Uji mutagenisitas dilakukan dengan menggunakan metode Ames.

Ekstraksi dan partisi

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai selama periode waktu tertentu pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya matahari, tujuannya adalah mencegah terjadinya reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau mencegah terjadinya perubahan warna.

Metode maserasi dipilih dalam penelitian ini karena proses pengerjaannya mudah dan peralatan yang digunakan sederhana, selain itu karena metode maserasi termasuk metode ekstraksi tanpa pemanasan sehingga senyawa yang diharapkan tidak menjadi rusak akibat pemanasan. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah kloroform untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar sampai semi polar (Ristiningsih 2009). Selain alasan tersebut, penggunaan kloroform sebagai pelarut dalam proses ekstraksi mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wahyuni dan Rakhmawati (2008) yang menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun ambre memiliki aktivitas toksisitas pada uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Berat ekstrak yang diperoleh adalah 11 gram dari 290 gram serbuk daun ambre yang diekstraksi.

Proses pemisahan pada tahap ekstraksi dimonitor profil kandungan senyawa kimianya dengan kromatografi lapis tipis, kemudian dilakukan deteksi terhadap keberadaan senyawa kimia organik secara umum yang ada di dalamnya menggunakan pereaksi semprot serum (IV) sulfat dengan bercak yang terbentuk berwarna coklat setelah pemanasan. Warna coklat terbentuk disebabkan karena dalam serum (IV) sulfat terdapat H₂SO₄ 10% yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga serapan panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang (UV menjadi VIS) dan noda menjadi tampak oleh mata. Deteksi UV digunakan untuk

mengetahui senyawa yang tidak terlihat atau dengan sinar tampak (Tim Pengajar Teknik Laboratorium 2009).

Profil senyawa pada ekstrak kloroform daun ambre hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 5. Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat menunjukkan adanya beberapa bercak yang terlihat pada masing-masing deteksi. Deteksi kromatogram dengan sinar tampak (Gambar 5.A) memperlihatkan bercak berwarna hijau tua dan kuning. Deteksi kromatogram dengan sinar UV254 (Gambar 5.B) memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap pada latar belakang yang berfluoresensi hijau yang menunjukkan adanya senyawa.

Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 5.C) memperlihatkan bercak yang berpendar menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran UV gelombang panjang. Deteksi dengan pereaksi serum (IV) sulfat (Gambar 5.D) memperlihatkan beberapa bercak berwarna coklat gelap. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak kloroform daun ambre tersebut terdapat senyawa organik.

Partisi

Tahapan partisi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan pelarut *wash-benzene*. Partisi bertujuan untuk memisahkan ekstrak kloroform daun ambre menjadi dua bagian yaitu bagian non polar dan bagian polar. *Wash-benzene* bersifat non polar, sehingga berdasarkan prinsip *like dissolve like* (Harbone 1987) bagian non polar akan larut *wash-benzene*, sedangkan bagian yang polar tidak larut *wash-benzene*. Berat hasil partisi ekstrak kloroform bagian larut *wash-benzene* yang diperoleh adalah 5,9 gram dan hasil partisi ekstrak kloroform bagian tidak larut *wash-benzene* adalah 3,6 gram.

Analisis profil kandungan kimia pada hasil partisi dilakukan untuk mengetahui kesempurnaan pemisahan senyawa dengan partisi. Hasil dari KLT partisi ekstrak kloroform daun ambre dilihat pada Gambar 6.

Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat terlihat adanya bercak-bercak pada posisi yang berbeda antara bercak yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform bagian larut *wash-benzene* dengan bercak yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform bagian tidak larut *wash-benzene*. Hal ini menunjukkan bahwa partisi yang dilakukan dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat ekstrak kloroform daun ambre.

Uji mutagenisitas

Uji mutagenisitas dilakukan untuk mengetahui apakah suatu senyawa bersifat mutagenik atau tidak. Uji mutagenisitas dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya dengan menggunakan bakteri yang dikenal dengan uji Ames seperti yang dilakukan dalam penelitian ini. Prinsipnya bakteri yang digunakan sudah dimutasi sehingga tidak mampu mensintesis salah satu jenis asam amino esensial misalnya histidin untuk pertumbuhannya, oleh karena itu bakteri butuh media yang mengandung histidin agar bisa tumbuh normal. Bila bahan uji yang

diperiksa bersifat mutagen, maka bakteri uji akan mengalami mutasi balik ke fungsinya yang semula. Dengan demikian gen *his* yang termutasi akan mengalami mutasi balik, gen *his* tersebut kembali normal sehingga bakteri uji dapat mensintesis sendiri histidin yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya, ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri di dalam media yang kekurangan histidin (Radji et al. 2004).

Bahan uji berupa hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yaitu bagian larut dan bagian tidak larut *wash-benzene*, masing-masing dilarutkan dengan DMSO dan aquades. Tujuan penambahan DMSO adalah untuk mempermudah proses pelarutan sampel uji. Pemberian DMSO tidak boleh melebihi 2% total pelarut, karena DMSO dapat merusak senyawa jika terlalu banyak diberikan. Selain itu DMSO bersifat tidak membunuh bakteri sehingga cocok digunakan sebagai pelarut sampel.

Pengujian dilakukan menggunakan 3 bakteri uji dengan 4 seri konsentrasi bahan uji dengan 3 ulangan. Bakteri dan bahan uji dimasukkan pada media yang mengandung histidin-biotin. Medium yang mengandung histidin-biotin sangat dibutuhkan oleh bakteri karena bakteri uji kehilangan kemampuan dalam mensintesis histidin dan biotin sehingga bakteri membutuhkan histidin dan biotin dari luar untuk pertumbuhannya (Radji et al. 2004). Medium yang mengandung histidin-biotin tersebut dituang pada cawan petri berisi media minimum yang ditambahkan glukosa, diinkubasi selama 72 jam dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Bakteri dihitung dengan prinsip satu bakteri akan membentuk satu koloni tanpa memperdulikan besar kecilnya koloni yang terbentuk.

Sebagai kontrol positif digunakan *sodium azide* untuk *S. typhimurium* TA100 dan 1535 serta *2-nitrofluorene* untuk *S. typhimurium* TA98. *Sodium azide* dan *2-nitrofluorene* adalah mutagen standar untuk masing-masing bakteri. *Sodium azide* dapat menyebabkan terjadinya mutasi pasangan basa, sedangkan *2-nitrofluorene* dapat menyebabkan terjadinya *frameshift mutation*. Kontrol positif bertujuan untuk melihat kemampuan mutagenisitas bakteri uji (Suprastiwi 2009). Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO untuk melihat bahwa mutasi yang terjadi bukan disebabkan karena pengaruh DMSO, melainkan dari sampel yang diuji.

Rata-rata hasil uji mutagenisitas partisi ekstrak kloroform daun ambre dengan menggunakan tiga bakteri uji *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA 1535 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Berdasarkan hasil uji mutagenisitas hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535, terlihat bahwa bagian larut *wash-benzene* relatif lebih bersifat mutagenik dibandingkan bagian yang tidak larut *wash-benzene*. Hal ini dapat dilihat dari rata-rata hasil uji yang menunjukkan bahwa jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri yang berisi sampel bagian larut *wash-benzene* lebih banyak bila dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif dan jumlahnya rata-rata melebihi 1,8 kali jumlah bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif. Ini menunjukkan pada bagian larut *wash-benzene* terdapat senyawa mutagenik karena mampu membalikkan mutasi substitusi

pasangan basa pada bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535. Senyawa mutagenik tersebut bersifat non polar karena dapat larut dalam pelarut *wash-benzene*.

Pada bagian tidak larut *wash-benzene* dengan menggunakan *S. typhimurium* TA 1535 sebagai bakteri ujinya, terdapat jumlah koloni bakteri yang tumbuh lebih banyak bila dibandingkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif yaitu 1,9 kali jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif. Hal ini terjadi karena pada bagian tidak larut *wash-benzene* terdapat senyawa yang bersifat mutagenik, namun tidak begitu kuat sehingga senyawa tersebut bisa bersifat mutagenik pada konsentrasi tinggi. Ini dapat dilihat dari hasil uji yang menunjukkan bahwa hanya pada konsentrasi 1000 µg/mL bagian tidak larut *wash-benzene* yang menunjukkan sifat mutagenik. Senyawa mutagenik tersebut bersifat polar karena tidak dapat larut dalam pelarut *wash-benzene*.

Pada pengujian sampel dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98 menunjukkan bagian larut *wash-benzene* maupun tidak larut *wash-benzene* bersifat mutagenik. Keduanya menunjukkan jumlah pertumbuhan koloni bakteri yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu rata-rata jumlahnya melebihi 1,8 kali jumlah bakteri pada kontrol negatif. Hasil uji ini menunjukkan bahwa terdapat senyawa non polar pada bagian larut *wash-benzene* dan senyawa polar pada bagian tidak larut *wash-benzene* hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang mampu membalikkan *frameshift mutation* pada bakteri *S. typhimurium* TA98.

Dilihat jumlah koloni bakteri yang tumbuh, senyawa atau zat aktif yang terdapat pada bagian larut *wash-benzene* dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa dan *frameshift mutation* karena bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535 merupakan indikator jenis mutasi substitusi pasangan basa, sedangkan *S. typhimurium* TA98 yang merupakan indikator jenis mutasi *frameshift mutation* dapat tumbuh pada pengujian ini. Berbeda dengan hasil uji bagian larut *wash-benzene*, untuk bagian tidak larut *wash-benzene* hanya dapat menyebabkan terjadinya mutasi *frameshift* saja, hal ini terbukti dengan banyaknya bakteri *S. typhimurium* TA98 yang tumbuh.

Sifat mutagenik yang terdapat pada bagian larut *wash-benzene* yang dapat menyebabkan *frameshift mutation* lebih kuat bila dibandingkan sifat mutagenik yang menyebabkan substitusi pasangan basa, karena pada konsentrasi 10 µg/mL sudah mampu membalikkan *frameshift mutation* pada bakteri *S. typhimurium* TA98. Sementara itu, hasil partisi bagian larut *wash-benzene* yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 sudah mampu membalikkan mutasi pasangan basa pada konsentrasi 100 µg/mL dan galur TA 1535 pada konsentrasi 500 µg/mL.

Perbedaan hasil antara galur TA100 dan TA 1535 disebabkan karena galur TA 1535 tidak memiliki plasmid pKM101. Gen *his46* yang dimiliki oleh galur TA100 bekerjasama dengan plasmid pKM101 dalam mengkodekan gen *mucAB* yang analog dengan gen *umuDC* pada *E.coli* K-12 yang berperan dalam SOS-repair, sehingga galur TA100 secara umum lebih sensitif bila

dibandingkan dengan TA 1535 (Little et al. 1989; Prival dan Zeiger 1998). Ini dapat dilihat dari jumlah bakteri yang tumbuh pada galur TA100 jumlah bakteri tidak terhingga muncul pada sampel dengan konsentrasi 100 µg/mL dan pada galur TA 1535 muncul pada konsentrasi 500 µg/mL.

Mutagen adalah segala sesuatu yang dapat menyebabkan mutasi, baik berasal dari alam maupun sintetik. Mutasi adalah perubahan dalam materi genetik, dapat diturunkan dan mencakup mikrolesi dan makrolesi. Mikrolesi adalah perubahan pada struktur DNA (*point of mutation*), sedangkan makrolesi adalah perubahan kromosom atau aberasi kromosom (Isnawati dan Alegantina 2004). Mutasi bisa bersifat merugikan bisa juga bersifat menguntungkan. Menurut Ames menyatakan bahwa 90% senyawa yang menyebabkan mutasi dapat pula bersifat karsinogenik (Lehninger 1982). Namun tidak semua senyawa yang menyebabkan mutasi dapat menyebabkan kanker, bahkan sebaliknya dapat menghentikan aktivitas sel kanker dengan mekanisme tertentu.

Mutasi yang dapat menyebabkan kanker adalah mutasi yang menyebabkan kelainan fungsi genetik yang merupakan akibat dari peristiwa-peristiwa mutasional berganda. Mutasi-mutasi tersebut mengubah fungsi normal suatu sel sehingga sel itu memiliki ciri-ciri berikut: (i) gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan akibat sel yang menjadi *immortal*, (ii) sel menjadi independen dari kontrol-kontrol selular normal yang membatasi pertumbuhan dan pembelahan sel, (iii) sel menjadi invasif dengan menyebar ke jaringan-jaringan lain dalam sebuah proses yang disebut metastasis, (iv) dan adanya pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Nafrialdi dan Gan 1995; Elrod dan Stansfield 2002). Selain itu, senyawa mutagen yang dapat menyebabkan kanker harus memiliki kemampuan menyebabkan mutasi pada sel yang mengarahkan pada pertumbuhan kanker. Diperlukan 5-10 mutasi genetik, untuk menjadi sel kanker (Zakaria 2001). Ada dua tipe mutasi yang berbeda yang bisa mengarah pada pertumbuhan kanker. Tipe pertama adalah mutasi “pemerolehan fungsi” atau “*gain of function*”. Pada sebuah gen yang dalam keadaan normal berfungsi dalam pertumbuhan dan pembelahan sel. Pembelahan sel adalah suatu proses yang amat rumit dan kemungkinan besar dikontrol oleh banyak gen berbeda (sebagian merangsang, sebagian menghambat). Interferensi pada waktu gen-gen tersebut bekerja, pada jumlah produk gen yang dihasilkan, atau pada aktivitas produk gen, bisa mengarah pada kanker (Elrod dan Stansfield 2002).

Kebanyakan sel dalam tubuh telah terdiferensiasi dan tidak membelah secara aktif, dengan demikian gen-gen pembelahan sel biasanya dimatikan. Jika gen-gen itu teraktivasi secara tidak benar, bisa mengakibatkan pembelahan sel yang tidak terkendali, Gen tersebut diantaranya adalah onkogen, yang aktif akibat mutasi akan memicu pertumbuhan sel yang mengarah pada terjadinya kanker (Elrod dan Stansfield 2002; Sofyan 2005).

Tipe mutasi kedua adalah mutasi “hilangnya fungsi” atau “*loss-of-function*” dalam gen supresor tumor. Peran

normal gen supresor tumor adalah sebagai supresor pertumbuhan dan pembelahan sel. Gen supresor tumor diaktifkan dalam sel-sel normal. Jika gen tersebut dinonaktifkan secara tidak benar, sel bisa memasuki siklus sel dan membelah (Elrod dan Stansfield 2002; Sofyan 2005).

Sebaliknya senyawa mutagen juga bisa bersifat sebagai antikanker bisa dilihat dari mekanisme kerja beberapa obat antikanker yang berpengaruh langsung terhadap asam nukleat sebagai target sasarannya. Adanya gangguan replikasi DNA, transkripsi, translasi, dan sebagai zat pengalkil merupakan beberapa mekanisme yang dapat menyebabkan gangguan fungsi dalam sel kanker yang sedang berlipat ganda dengan cepat (Katzung 1994; Myek et al. 1997; Nogrady 1992).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, terlihat bahwa bagian larut *wash-benzene* memiliki sifat mutagenik terbesar dibandingkan bagian tidak larut *wash-benzene* dengan kemampuan dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa dan *frameshift mutation*.

Mutasi substitusi pasangan basa terdiri dari transisi dan transversi. Mutasi ini mengakibatkan terjadinya pergantian asam amino oleh asam amino lain pada urutan polipeptida yang disandi oleh suatu gen. Pada kasus tertentu residu asam amino yang digantikan dapat bersifat kritis dan menyebabkan protein sama sekali tidak dapat melakukan fungsi biologis normalnya. Mutasi tersebut seringkali mematikan sel (Lehninger 1982; Roberts 2000).

Frameshift mutation merupakan peristiwa pergeseran bingkai pembacaan yang disebabkan oleh adanya delesi atau insersi dari satu atau beberapa nukleotida (Elrod dan Stansfield 2002). *Frameshift mutation* dapat menyebabkan perubahan yang ekstensif pada produk gen sehingga produk gen menjadi tidak aktif, terjadi kerusakan kolinearitas diantara kodon-kodon pada urutan DNA dan urutan asam amino polipeptida (Lehninger 1982 ; Roberts 2000).

Senyawa yang dapat menyebabkan *frameshift mutation* memiliki kemampuan melakukan interkalasi atau penyisipan (Lehninger 1982; Roberts 2000). Sifat inilah yang dapat dimanfaatkan sebagai agen antikanker dengan mekanisme yang sama yang dilakukan oleh beberapa obat antikanker. Beberapa obat antikanker yang melakukan mekanisme tersebut adalah daktinomisin yang dikenal dengan aktinomisin D, doksorubisin, adriamisin, dan daunorubisin (Nogrady 1992; Foye 1996; Myek et al. 1997). Mekanisme yang dilakukan oleh daktinomisin adalah dengan cara melakukan interkalasi pada celah kecil heliks rangkap antara pasangan basa DNA guanin dan sitosin, membentuk suatu kompleks daktinomisin-DNA. Kompleks ini mengganggu polimerase RNA dan pada dosis tinggi mampu menghambat sintesis DNA dan menstabilkan kompleks DNA-topoisomerase II (Myek et al. 1997).

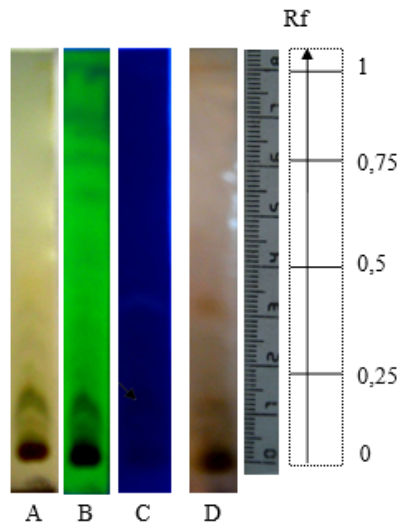
Doksorubisin dan daunorubisin yang maksimal bekerja pada fase S dan G2 melakukan interkalasi pada pasangan

basa yang berdekatan dan mengikat ruas fosfat-gula DNA sampai melingkar, sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA. Interkalasi ini dapat mengganggu reaksi lepas sambung pilah DNA yang dikatalisasi oleh topoisomerase II sehingga pecah dan tidak dapat diperbaiki (Myek et al. 1997).

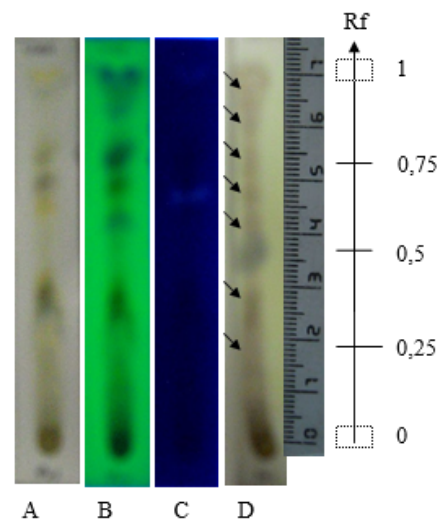
Enzim DNA topoisomerase II mempunyai fungsi yang penting dalam proses intraseluler, yaitu berperan dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proses proliferasi dari sel kanker. Adanya interkalasi yang dilakukan suatu senyawa dapat mengganggu reaksi lepas sambung DNA yang dikatalisasi oleh enzim topoisomerase II. Hal ini disebabkan karena ikatan antara enzim dengan DNA sel kanker menjadi semakin lama. Akibatnya akan terbentuk *Protein Linked DNA Breaks* (PLDB), dan terjadi fragmentasi atau kerusakan DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh terhadap proses di dalam sel khususnya proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker secara apoptosis (Cumming dan Smyth 1993; Myek et al. 1997; Sukardiman et al. 2005; Yuwono 2005).

Contoh obat antikanker lain yang melakukan mutasi dalam membunuh sel kanker adalah cisplatin (cis-diamindikloroplatinum [II]). Cisplatin merupakan obat kemoterapi yang cukup efektif karena dapat membunuh sel kanker pada setiap siklus sel dengan menghambat biosintesis DNA, mengikat DNA melalui pembentukan "*interstrand cross-links*". Tempat ikatan utama adalah pada N7 guanin, tetapi interaksi kovalen dengan adenin dan sitosin juga terjadi (Katzung 1994; Savitri et al. 2008).

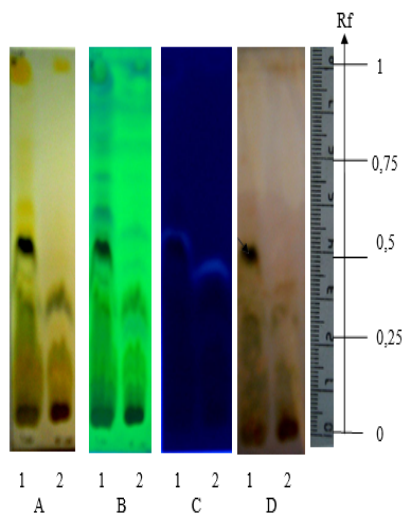
Selain itu terdapat beberapa obat antikanker yang berasal dari tanaman yang saat ini banyak digunakan, salah satunya adalah paclitaxel. Paclitaxel atau yang dikenal dengan nama dagang taxol, merupakan senyawa diterpenoid. Senyawa ini umumnya diproduksi oleh endofit *Pestalotiopsis microspora*, yang diisolasi dari tanaman *Taxus andreanae*, *T. brevifolia* dan *T. wallichiana* yang efektif untuk mengatasi kanker rahim, kanker payudara stadium lanjut, kanker paru-paru, dan sarcoma karposi. Molekul taxol di dalam tubuh akan berinteraksi dengan tubulin. Tubulin merupakan komponen dominan dalam mikrotubulus, berbentuk seperti silinder dan merupakan bagian dari sistem kerangka sel. Interaksi taxol dengan tubulin akan membentuk ikatan taksol-tubulin sehingga menciptakan sel yang stabil yang berakibat terhalangnya perubahan formasi protein. Taxol juga disebut sebagai penstabil mitosis, karena jika taxol membentuk ikatan dengan tubulin maka protein akan kehilangan fleksibilitasnya dan mikrotubulus tidak akan bisa dirombak lebih lanjut. Studi lain memperlihatkan bahwa taxol hanya berikatan dengan tubulin yang telah terpolimerisasi dalam suatu rantai protofilamen yang biasa terdapat pada sel kanker, bukan dengan protein bebas (Katzung 1994; BPOM RI 2003; Strobel dan Daisy 2003; Radji 2005).



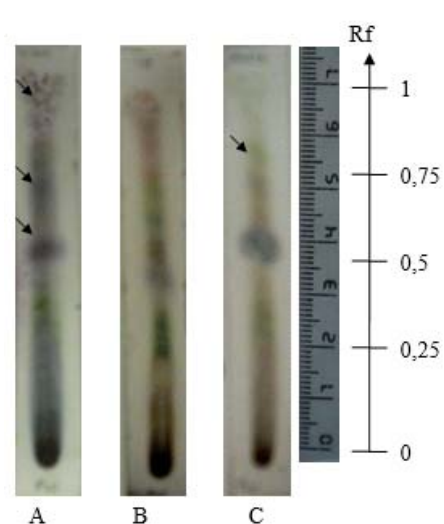
Gambar 5. Kromatogram hasil KLT ekstrak kloroform daun ambre deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254, (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl_3) Jarak pengembangan: 8 cm



Gambar 7. Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut wash-benzene deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254 (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl_3) Jarak Pengembangan: 7 cm



Gambar 6. Kromatogram hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254, (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl_3) Jarak pengembangan: 8 cm. Keterangan: 1. Larut wash-benzene; 2. Tidak larut wash-benzene



Gambar 8. Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut wash-benzene deteksi dengan (A) Vanilin- H_2SO_4 , (B) Liebermann-burchard (C) FeCl_3 . Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl_3) . Jarak Pengembangan: 7 cm

Tabel 1. Rata-rata hasil uji mutagenisitas partisi ekstrak kloroform daun ambre

Strain bakteri uji	Sampel uji	Jumlah rata-rata pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$)			
		1000	500	100	10
<i>S. typhimurium</i> TA98	A	102	99,3	84,3	115
	B	96,7	93,3	76	79,3
<i>S. typhimurium</i> TA100	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	Tidak terhingga	119
	B	81	56	55	50
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	64	41
	B	79,7	28,7	26,7	41

Keterangan: A. Bagian larut wash-benzene ekstrak kloroform daun ambre, B. Bagian tidak larut wash-benzene ekstrak kloroform daun ambre

Tabel 2. Rata-rata hasil uji mutagenisitas kontrol

Strain bakteri uji	Kontrol	Jumlah rata-rata pertumbuhan koloni bakteri
<i>S. typhimurium</i> TA98	DMSO (-)	40
	2-nitroflourene (+)	99
<i>S. typhimurium</i> TA100	DMSO (-)	99,7
	Sodium azide (+)	173
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	DMSO (-)	41,3
	Sodium azide (+)	93,7

Tabel 3. Perbandingan jumlah bakteri yang tumbuh tiap konsentrasi dengan kelompok kontrol negatif

Strain bakteri uji	Sampel uji	Perbandingan jumlah koloni bakteri yang tumbuh tiap konsentrasi dengan kelompok kontrol negatif ($\mu\text{g/mL}$)			
		1000	500	100	10
<i>S. typhimurium</i> TA98	A	2,5	2,5	2,1	2,9
	B	2,4	2,3	1,9	2
<i>S. typhimurium</i> TA100	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	Tidak terhingga	1,2
	B	0,8	0,6	0,5	0,5
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	1,5	1
	B	1,9	0,7	0,6	1

Keterangan:

A. Bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambreB. Bagian tidak larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre**Tabel 4.** Hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan deteksi sinar tampak, sinar UV dan dengan pereaksi sempnot spesifik

Rf	Penampakan bercak						
	visibel	UV254	UV366	SS	VA	LB	FeCl ₃
0,24	Kuning	Peredaman	-	Coklat	Coklat	-	Coklat
0,39	Hijau gelap	Peredaman	-	Coklat	Hijau tua	Hijau	Ungu
0,63	Kuning	Peredaman	-	Coklat	Ungu	Ungu	Ungu
0,69	Hijau gelap	Peredaman	Putih	Coklat	Ungu	coklat	Ungu
0,77	Coklat	Peredaman	-	Coklat	-	Hijau	Kuning
0,84	-	Peredaman	-	Coklat	Coklat	Hijau	-
0,97	Kuning	Peredaman	Putih	Coklat	Ungu	Ungu	-

Keterangan: SS = Serum (IV) sulfat; VA = Vanilin –asam sulfat; LB = Lieberman-Burchard

Berdasarkan beberapa contoh obat antikanker tersebut, sifat mutagenik yang dimiliki suatu senyawa dapat dimanfaatkan sebagai antikanker. Selain itu, senyawa mutagenik dapat juga mencegah terjadinya mutasi. Kaleeswaran et al. (2009) melaporkan hasil penelitiannya tentang senyawa silymarin yang diisolasi dari tanaman *Silybum marianum*. Senyawa ini memiliki sifat mutagenik, dan dapat berfungsi sebagai antimutagenik. Sifat mutagenik yang dimiliki oleh senyawa ini efektif meningkatkan sintesis MGMT (*O6-methylguanine-DNA methyltransferase levels*). MGMT merupakan suatu enzim yang berfungsi dalam proses perbaikan protein DNA, melindungi sel dan oncogen yang dapat aktif jika terkena induksi oleh senyawa mutagenik pengalkil baik yang berasal dari dalam sel (*endogenous alkylating agent*) atau yang berasal dari luar sel (*exogenous alkylating agent*) (Niture et al. 2007).

Deteksi golongan senyawa partisi teraktif

Setelah melakukan uji mutagenisitas dengan menggunakan 3 bakteri uji, diperoleh hasil bahwa hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre bagian larut *wash-benzene* menunjukkan sifat mutagenik yang lebih besar bila dibandingkan bagian yang tidak larut *wash-benzene*, sehingga bagian larut *wash-benzene* dideteksi golongan senyawanya dengan metode KLT dan beberapa pereaksi sempnot.

Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan berbagai deteksi penampak bercak dapat dilihat pada Gambar 7. Deteksi hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan sinar tampak (visibel) (Gambar 7.A) memperlihatkan beberapa bercak berwarna kuning, hijau dan coklat. Deteksi dengan sinar UV254 (Gambar 7.B) memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai

dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap berlatar belakang fluoresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 ini menunjukkan adanya suatu senyawa. Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 7.C) memperlihatkan beberapa bercak yang berfluoresensi. Ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran dengan UV gelombang panjang. Deteksi untuk senyawa organik secara umum dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot serum (IV) sulfat yang memperlihatkan bercak berwarna coklat (Gambar 7. D) dengan nilai R_f 0,24, 0,39, 0,63, 0,69, 0,77, 0,84 dan 0,79.

Deteksi dilanjutkan dengan menggunakan berbagai pereaksi semprot yang spesifik untuk mengetahui jenis golongan senyawa yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre bagian larut *wash-benzene*. Pereaksi semprot yang digunakan diantaranya FeCl_3 untuk mendeteksi senyawa flavonoid dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning (Ristiningsih 2009). Vanilin H_2SO_4 untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru sampai ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Lieberman-Burchard untuk mendeteksi keberadaan senyawa triterpenoid (steroid) dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah untuk triterpenoid atau biru untuk steroid (Ristiningsih 2009).

Hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan deteksi sinar tampak, sinar UV dan dengan pereaksi semprot spesifik disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan data yang diperoleh hasil positif ditunjukkan oleh deteksi dengan vanilin- H_2SO_4 dan FeCl_3 . Hasil positif untuk vanilin- H_2SO_4 ditunjukkan dengan bercak berwarna ungu yang menunjukkan adanya senyawa terpenoid dengan nilai R_f 0,63, 0,69 dan 0,97. Hasil positif untuk FeCl_3 ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna kuning yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan nilai R_f 0,77. Senyawa terpenoid dan flavonoid ini diduga merupakan senyawa yang menyebabkan mutasi.

Senyawa terpenoid golongan diterpenoid dan senyawa flavonoid dari beberapa tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antimutagenik dan antikanker dengan berbagai metode penelitian. Sotto et al. (2009) melaporkan, senyawa diterpenoid *secoisopimarane* dari tanaman *Salvia cinnabarina* yang diteliti dengan uji mutagenisitas, memiliki aktivitas sebagai antimutagenik dengan menghambat senyawa mutagen. Senyawa diterpenoid andrografolida dari tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), senyawa clerocidin dari jamur dan senyawa kuinon salvicina mampu membunuh sel kanker dengan mekanisme apoptosis (Sukardiman et al. 2005; Jamora et al. 2001; Miao et al. 2003).

Senyawa silymarin yang merupakan salah satu jenis flavonoida dari tanaman *Silybum marianum* dilaporkan memiliki aktivitas antimutagenik terhadap beberapa mutagen dengan uji mutagenisitas (Kaleeswaran 2009). Isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrothoe*

petandra) mampu menghambat pertumbuhan kanker pada mencit yang diinduksi dengan benzopirena (Sukardiman et al. 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun ambre mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker dengan sifat mutasi yang dimilikinya. Diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui apakah sifat mutasi yang dimiliki daun ambre benar-benar bersifat selektif atau tidak, sehingga dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia khususnya dalam mengobati penyakit kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98 dapat menyebabkan *frameshift mutation* pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ dan yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan galur TA 1535 dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 500 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan bagian tidak larut *wash-benzene* hanya dapat menyebabkan *frameshift mutation* pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$. Pada bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames BN, Lee FD, Durston WE. 1973a. An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. *Proc Nat Acad Sci USA* 70 (3): 782-786.1
- Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. 1973b. Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection. *Proc Nat Acad Sci USA* 70 (8): 2281-2285.2
- Aulia Y, Sugiyanto J, Aida Y. 2002. Efek klorambusil terhadap perkembangan fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dowley. *Biota* 7 (3): 101-108.
- BPOM RI. 2003. Beberapa Tanaman yang Berkhasiat Sebagai Antikanker. InfoPOM. Vol. 6. BPOM RI, Jakarta
- Cumming J, Smyth JF. 1993. DNA topoisomerase I and II as target of rational design of new anticancer drugs. *Ann Oncology* 3(7): 533-534.
- Dalimartha S. 2004. Deteksi Dini Kanker dan Simplotis Antikanker. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Erma NNS, Sundari T, Susanty AI, Palupi DRO, Isnaeni, Sukardiman. 2004. Kajian pendahuluan uji toksisitas ekstrak air miselia dan tubuh buah jamur shiitake (*Lentinus edodes*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). *Berk Penel Hayati* 10: 13-18.
- Erold SL, Stansfield WD. 2002. Genetika. edisi keempat. Erlangga, Jakarta.
- Foye W. 1996. Prinsip-prinsip Kimia Medisinal Edisi II. UGM Press, Yogyakarta.
- Harbone J.B. 1987. Metode Fitokimia. ITB, Bandung.
- Isnawati A, Alegantina S. 2004. Efek mutagenik ekstrak etanol daun kajibeling (*Strobilantus crispus*). *Bul Penel Kesehatan* 32 (3): 112-118.
- Jamora C, Theodoraki MA, Malhotra V, Theodorakis EA. 2001. Investigation of the Biological Mode of Action of Clerocidin Using Whole Cells Assay. *Bioorgan Med Chem* 9: 1365-1370.
- Kaleeswaran S, Sriram P, Prabhu D, Vijayakumar C, Mathuram LN. 2009. Anti-and pro-mutagenic effects of silymarin in the ames bacterial reverse mutation assay. *Phytother Res* 23: 1378-1384.

- Katzung BG. 1994. Basic and Clinical Pharmacology, 6th ed. Prentice Hall International Inc, London.
- Lehninger AL. 1982. Dasar-dasar Biokimia Jilid 3. Erlangga, Jakarta
- Little CA, Tweats DJ, Pinney RJ. 1989. Relevance of plasmid pKM101-mediated mutagenicity in bacteria to genotoxicity in mammalian cells. *Mutagenesis* 4 (5): 371-376.
- Maliya A. 2004. Perubahan sel menjadi kanker dari sudut pandang biologi molekuler. *Infokes* 8 (1): 22-26.
- Miao ZH, Tao T, Xiang ZY, Sheng ZJ, Jian D. 2003. Cytotoxicity, Apoptosis Induction and Downregulation of MDR-1 Expression by the Anti-Topoisomerase II Agent, Salvicine, in Multidrug-Resistant Tumor Cells. *Intl J Cancer* 106 (1): 108-115.
- Myek MJ, Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. 1997. Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2. Widya Medika, Jakarta.
- Nafrialdi, Gan S. 1995. Farmakologi dan Terapi. Fakultas Kedokteran UI, Depok.
- Niture SK, Velu CS, Smith QR, Bhat GJ, Srivenugopa KS. 2007. Increased expression of the MGMT repair protein mediated by cysteine prodrugs and chemopreventative natural products in human lymphocytes and tumor cell lines. *Carcinogenesis* 28 (2): 378-389.
- Nograpy T. 1992. Kimia Medisinal Pendekatan secara Biokimia. ITB, Bandung.
- Pato U. 2003. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih untuk menurunkan resiko penyakit kanker. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2): 162-166.
- Prival MJ, Zeiger E. 1998. Chemicals mutagenic in *Salmonella typhimurium* Strain TA1535 but not in TA100. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. Vol. 412. Elsevier, New York.
- Radji M, Sumiaty A, Indani N. 2004. Uji mutagenisitas dan anti kanker ekstrak aseton dan n-heksana dari kulit batang sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(2): 69-78.
- Radji M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 113-126.
- Ristiningsih T. 2009. Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L var. *hortensis* Back.) terhadap *Staphylococcus aureus* Rosenbach. dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Roberts G. 2000. Bacterial Genetics. University of Wisconsin, Madison. <http://lecturer.ukdw.ac.id/dhira/BactGenetics/TOC.html> [1 Januari 2010].
- Savitri E, Eryadi D, Nur Q. 2008. Audiology figures for nasopharynx carcinoma patients from Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar before and after treatment with cisplatin. *Indon J Med Sci* 1 (1): 17-21.
- Sofyan R. 2005. Terapi Kanker pada Tingkat Molekuler. *Cermin Dunia Kedokteran* 127: 5-10.
- Sotto AD, Mastrangelo S, Romussi G, Bisio A, Mazzanti G. 2009. Antimutagenic activity of a secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* M. Martens et Galeotti in the bacterial reverse mutation assay. *Food Chem Toxicol* 47: 2092-2096.
- Sukardiman, Santa IGP, Rahmadhany. 1999. Efek antikanker isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*). *Cermin Dunia Kedokteran* 122: 5-8.
- Sukardiman, Rahman A, Ekasari W, Sisimandari. 2005. Induksi apoptosis senyawa andrografolida dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan* 21 (3): 105-110.
- Sukardiman, Ekasari W, Hapsari PP. 2006. Aktivitas antikanker dan induksi apoptosis fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap kultur sel kanker mieloma. *Media Kedokteran* 22 (2): 104-111.
- Sulistijowati A, Gunawan D. 2001. Efek ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* 130: 32-36.
- Suprastiwi E. 2009. Analisis Mutagenisitas Tiga Jenis Semen Ionomer Kaca (SIK). Departement of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Suzuki M, Matsui K, Yamada M, Kasai H, Sofuni T, Nohmi T. 1997. Construction of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in 8-hydroxyguanine DNA glycosylase and their sensitivities to oxidative mutagens and nitro compounds. *Mut Res* 393 (3): 233-246.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev* 67 (4): 491-502.
- Tim Pengajar Teknik Laboratorium. 2009. Mata Kuliah Teknik Laboratorium. Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Wahyuni DSC, Rakhmawati R. 2008. Skrining Toksisitas Beberapa Tanaman di Kawasan Tawangmangu Surakarta dan Profil Kandungan Kimianya. Laporan Penelitian LPPM, Universitas Sebelas Maret.
- Yuwono T. 2005. Biologi Molekuler. Erlangga, Jakarta.
- Zakaria FR. 2001. Pangan dan pencegahan kanker. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*. 12 (2): 171-177.

Pengaruh penggunaan ampas teh (*Camellia sinensis*) dalam ransum terhadap produksi karkas kelinci *New Zealand White* jantan

Effect of tea dregs (*Camellia sinensis*) in rations on carcass production of *New Zealand White* male rabbits

ROBERTUS YULI WIBOWO, JOKO RIYANTO, YBP SUBAGYO

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

Manuskrip diterima: 29 Januari 2013. Revisi disetujui: 7 April 2013.

Abstract. Wibowo RY, J Riyanto, YBP Subagyo. 2014. *Effect of tea dregs (Camellia sinensis) in rations on carcass production of New Zealand White male rabbits.* Biofarmasi 12: 11-17. The purpose of this research is to know the effect of the tea waste utilization into the ration towards the carcass production of male New Zealand White rabbit. This research occurred as long as six weeks started from July 11th until August 22nd, 2007 at Kp. Pucangsawit, Jebres, Surakarta. The materials are 16 male New Zealand White rabbits, they are about 500-1500 g weight. They divided into four types of treatments in two groups; it's groups consist of two rabbits. The treatments were P0 (70% rendeng + 30% concentrate), P1 (67,5% rendeng + 27,5% concentrate + 5% tea waste), P2 (65% rendeng + 25% concentrate + 10% tea waste), P3 (62,5% rendeng + 22,5% concentrate + 15% tea waste). The variable encloses the final weight, carcass weight, carcass percentage, non-carcass weight, non-carcass percentage, meat weight, and meat bone ratio. The data was analyzed using randomised group pattern variance analysis. The result of this research showed that the average of these four kind of treatment these are P0, P1, P2, and P3 in a row for final weight 1827,5; 1679,5; 1514 and 1568 g, for carcass weight 880,5; 820; 714 and 688 g, for carcass percentage 48,12; 48,16; 46,46 and 43,92%, for non carcass weight 947; 859,5; 827 and 880 g, for non carcass percentage 51,89; 51,84; 53,54 and 56,08%, for meat weight 646; 569,5; 507,5 and 500 g, for meat bone ratio 2,75; 2,30; 2,58 and 2,88. The result of analysis of variance showed that the use of tea waste into the ration is not significantly affected for the final weight, carcass weight, carcass percentage, non-carcass weight, non-carcass percentage, meat weight, and meat bone ratio. The conclusion of this experiment is the use of tea waste had not been increasing carcass production of male New Zealand White rabbits yet.

Keywords: Carcass production, male New Zealand White rabbit, tea waste

PENDAHULUAN

Protein sangat penting manfaatnya, diantaranya untuk menggantikan sel-sel tubuh yang rusak dan membentuk jaringan tubuh (Sugeng 1987). Kelinci mempunyai potensi sebagai bahan pangan untuk mencukupi kebutuhan protein hewani di dalam tubuh manusia, dalam hal ini sebagai ternak penghasil daging. Kelinci adalah salah satu ternak penghasil daging sehat yang dapat dijadikan sumber protein alternatif di negara berkembang (Khotijah 2006).

Menurut Kartadisastra (1994) manfaat utama ternak kelinci adalah daging dan bulu, disamping hasil ikutan lainnya seperti kotoran untuk pupuk serta kulitnya untuk bahan kerajinan. Juarini et al. (2005) memaparkan bahwa kelinci termasuk hewan prolifrik, mampu memproduksi anak dalam jumlah besar dengan waktu relatif singkat, dan jumlah anak cukup banyak perkelahiran. Idealnya seekor induk mampu menghasilkan 80 kg daging pertahun. Menurut Whendarto dan Madyana (1983) kelinci *New Zealand White* merupakan salah satu tipe kelinci pedaging, cepat dewasa, dan anak cepat disapih.

Daging merupakan salah satu bagian penyusun karkas, oleh karena itu untuk menentukan besarnya produksi daging dapat dilihat dari besarnya produksi karkas yang dihasilkan. Untuk memperoleh karkas yang berkualitas,

diperlukan bahan pakan yang mempunyai kandungan energi yang tinggi untuk penggemukan, serta protein diperlukan untuk pertumbuhan dan pembentukan jaringan otot.

Pakan merupakan salah satu faktor yang sangat penting bagi kelangsungan hidup ternak, mengingat bahwa pakan merupakan komponen biaya terbesar yang dikeluarkan oleh usaha peternakan. Pada pola pemeliharaan intensif, biaya produksi ternak terbesar adalah untuk pakan sebesar 60-70%. Oleh karena itu perlu upaya meningkatkan efisiensi pakan atau menurunkan biaya pakan (Murtisari 2005). Menurut Basuki dan Ngadiyono (1982) bahan ransum yang dapat dimakan oleh kelinci antara lain konsentrat, dedaunan, rerumputan, umbi-umbian, dan pelbagai limbah pertanian. Ranjhan (1981) menambahkan bahwa pakan yang diberikan pada kelinci terdiri atas 50-70% hijauan dan 30-50% konsentrat, tergantung pada kondisi fisik kelinci. Mahalnya harga pakan menyebabkan terjadi persaingan antara manusia dan hewan dalam memperebutkan bahan pangan, antara lain seperti jagung, kacang kedelai dan kacang tanah. Oleh karena itu, perlu mencari alternatif pengganti bahan pakan yang potensial. Menurut Handayanta (2005) limbah industri hasil pertanian berpotensi sebagai bahan pakan penyusun ransum yang

belum dimanfaatkan secara optimal dan diharapkan tidak berkompetisi dengan manusia.

Ampas teh limbah industri pembuatan minuman kemasan merupakan salah satu bahan pakan alternatif untuk ternak kelinci, karena ketersediaan dan nilai nutrisinya (Khotijah 2006). Menurut Krisnan (2005), dilihat dari kandungan protein yang mencapai 27,42% serta zat-zat makanan yang terdapat di dalamnya, ampas teh mempunyai potensi yang cukup besar untuk dijadikan bahan baku ransum. Hasil penelitian Fiberty (2002) yang menggunakan ampas teh dalam ransum bentuk pelet yang diberikan kepada kelinci melaporkan bahwa kelinci dapat memanfaatkan ampas teh sebagai sumber protein alternatif sampai taraf 30 persen dalam ransum. Penelitian yang dilakukan Khotijah (2006) menunjukkan ransum komplit yang mengandung ampas teh baik yang ditambah maupun yang tidak ditambah mineral Zn dapat dimanfaatkan untuk pakan tanpa mengganggu reproduksi kelinci betina. Penelitian yang dilakukan oleh Krisnan (2005) mengenai pengaruh penggunaan ampas teh (*Camellia sinensis*) fermentasi dengan *Aspergillus niger* pada ayam broiler dengan taraf 2,5%; 5%; 7,5% dan 10% menunjukkan hasil bahwa 2,5% kandungan ampas teh fermentasi dalam ransum memberikan pengaruh paling baik terhadap semua pengaruh yang diukur, untuk penggunaan sampai 7,5% memberikan respon yang sama dengan ransum kontrol, sedangkan penggunaan sampai taraf 10% dapat menurunkan pertambahan bobot hidup, namun masih mempunyai nilai efisiensi protein dan persentase karkas yang setara dengan ransum kontrol. Dalam penelitian yang dilakukan Juarini et al. (2005) juga melaporkan bahwa penyertaan 40% ampas teh dalam ransum kelinci, meningkatkan bobot badan lebih baik daripada ransum kontrol.

Untuk mendukung pengembangan kelinci dan mengatasi masalah pakan tersebut terutama dalam upaya penyediaan daging kelinci, penulis tertarik melakukan penelitian tentang pengaruh penggunaan ampas teh dalam ransum terhadap produksi karkas kelinci *New Zealand White* jantan.

Penelitian ini bertujuan untuk: Mengetahui pengaruh penggunaan ampas teh terhadap karkas produksi kelinci *New Zealand White* jantan. Mengetahui tingkat penggunaan ampas teh dalam ransum kelinci *New Zealand White* jantan.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian tentang pengaruh penggunaan ampas teh dalam ransum terhadap produksi karkas kelinci *New Zealand White* jantan ini dilaksanakan di Kandang Kelinci yang beralamatkan di Kp. Pucangsawit, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah. Pelaksanaan penelitian dilakukan mulai tanggal 11 Juli-22 Agustus 2007. Analisis ampas teh dilakukan di Laboratorium Uji Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dan analisis rendeng dilakukan di

Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.

Alat dan bahan

Kelinci yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci *New Zealand White* jantan berjumlah 16 ekor dengan bobot badan antara 500-1500 g diperoleh dari Balai Pembibitan dan Budidaya Ternak Kelinci, Dinas Pertanian Kota Surakarta, Balekambang, Surakarta.

Ransum yang digunakan dalam penelitian ini antara lain hijauan jerami kacang tanah (rendeng), konsentrat 201 C yang diproduksi oleh PT. Gold Coin dan ampas teh dari PT. Sinar Sosro, Ungaran. Kandungan nutrisi bahan pakan ditunjukkan pada Tabel 2.

Rendeng merupakan limbah pertanian yang telah diambil kacangnya sehingga menyisakan batang dan daunnya, yang digunakan sebagai pakan pada penelitian ini adalah batang bagian atas dan daunnya.

Teh Botol Sosro dibuat dari teh wangi melati yang menggunakan teh hijau sebagai bahan dasarnya. Teh wangi melati, diseduh di dalam tangki ekstraksi dengan air mendidih yang sudah melalui proses filtrasi dan pemanasan. Setelah proses penyeduhan teh selesai, maka Teh Cair Pahit (TCP) hasil seduhan tersebut dilewatkan ke filter cosmos dan ditampung di tangki pencampuran (*Mixing Tank*) kemudian dilakukan proses pembuatan teh botol selanjutnya, ampas teh sisa hasil ekstraksi tersebut disalurkan ke tempat penampungan untuk dibuat kompos. Ampas teh sebagai bahan dasar kompos tersebut yang digunakan sebagai pakan perlakuan dalam penelitian ini.

Jumlah pemberian ransum adalah 8% dari bobot badan, dengan kebutuhan nutrisi merujuk pada de Blass dan Wiseman (1998) (Tabel 1). Pakan diberikan dua kali sehari yaitu pada pagi hari (pukul 07.00-09.00 WIB) dan sore hari (pukul 16.00-18.00 WIB). Perbandingan pemberian pakan pada pagi dan sore hari adalah 40:60.

Penelitian ini menggunakan kandang *battery* berjumlah 16 buah dan satu kandang karantina untuk kelinci yang sakit. Kandang terbuat dari bambu dengan ukuran 0,5 x 0,5 x 0,5 meter, setiap kandang berisi 1 ekor kelinci. Penampung feses terbuat dari kain kasa dan dipasang dibawah kandang. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tempat pakan dan tempat minum. Tempat pakan dan tempat minum terbuat dari plastik dan setiap kandang terdapat satu set. Timbangan yang digunakan adalah *Electronic Kitchen Scale* merk *Heles* kapasitas 5 kg dengan kepekaan 2 g untuk menimbang pakan, sisa pakan dan feses, serta timbangan digital *Electronic Scale* dengan kapasitas 3 kg kepekaan 1 g untuk menimbang getah pepaya dan konsentrat. Termometer sebanyak 2 buah untuk mengukur suhu kandang. Perlengkapan yang lain meliputi sapu untuk membersihkan kandang, ember, sabit untuk mencacah hijauan, dan alat tulis untuk mencatat data.

Kandang dan peralatan

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang sistem panggung. Kandang terbuat dari bambu dengan ukuran 0,5 x 0,5 x 0,5 meter sebanyak delapan petak kandang, dilengkapi dengan tempat pakan dan

minum. Tiap satu kelompok berisi dua ekor kelinci tiap satu petak kandang. Peralatan yang digunakan selama penelitian meliputi lampu pijar, tempat pakan, tempat minum, pisau, nampan plastik, ember, sapu, timbangan digital merk *idealife* dengan kapasitas 5 kg kepekaan 1 g, dan termometer untuk mengukur suhu ruang serta alat tulis untuk mencatat data.

Perencanaan penelitian

Kandang dan semua peralatan sebelum digunakan dibersihkan dahulu. Selanjutnya kandang disucihamakan menggunakan *desinfektan* L 100 dosis 12,5 mL/L liter air. Tempat pakan dan minum yang sudah bersih direndam dalam *antiseptic* dosis 15 mL/L liter air.

Kelinci ditimbang bobot awalnya kemudian dimasukkan ke dalam petak kandang. Pengelompokan kelinci sebanyak 16 ekor dibagi dalam 4 perlakuan. Setiap perlakuan dibagi menjadi dua kelompok dan setiap kelompok terdapat dua ekor kelinci.

Penentuan petak kandang yang digunakan untuk menentukan petak kandang perlakuan dilakukan dengan cara mengelompokkan kelinci menjadi dua kelompok berdasarkan ukuran berat badan 500-1000 g dan 1000-1500 g, kemudian dimasukkan satu persatu dalam tiap petak kandang terdapat dua ekor kelinci secara acak pada tiap satu kelompok.

Ampas teh diambil dari limbah pembuatan teh botol sosro dalam bentuk basah, kemudian ampas teh dijemur dibawah sinar matahari agar kering. Setelah ampas teh menjadi kering, dibuat tepung dengan menggunakan *blender*.

Pencampuran pakan dilakukan secara manual dengan cara mengaduk ampas teh dicampur dengan konsentrat, yang perbandingannya sesuai pakan perlakuan.

Pemeliharaan kelinci dilakukan selama 7 minggu. Pemberian pakan dua kali sehari yaitu jam 07.00-09.00 dan 16.00-18.00 WIB. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Masa adaptasi dilakukan selama 7 hari hingga kelinci dapat memakan ampas teh sampai habis sesuai pakan perlakuan yang diberikan. Adaptasi bertujuan agar kelinci memakan pakan perlakuan sampai normal sesuai dengan perlakuan yang diberikan dan menghilangkan pengaruh perlakuan sebelumnya.

Tatalaksana penelitian

Metode penelitian

Penelitian tentang pengaruh penggunaan ampas teh dalam ransum terhadap produksi karkas kelinci *New Zealand White* jantan dilakukan secara eksperimental.

Rancangan percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat macam perlakuan (P0, P1, P2, P3). Pengelompokan kelinci berdasarkan bobot badan yang terdiri dari dua kelompok, yaitu kelompok pertama dengan bobot badan antara 500-1000 g dan kelompok kedua dengan bobot badan antara 1000-1500 g.

Kelinci yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 16 ekor, tiap perlakuan per kelompok terdapat dua ekor. Jumlah sampel yang dipotong untuk mengamati produksi

karkasnya diambil sebanyak 8 ekor kelinci, dimana tiap satu perlakuan per kelompok diambil satu sampel.

Perlakuan yang diberikan adalah penggunaan ampas teh dalam ransum perlakuan. Perlakuan yang diberikan ditunjukkan pada Tabel 3.

Pelaksanaan penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 42 hari, pemberian pakan sesuai dengan perlakuan dan masa adaptasi selama 7 hari. Menurut Sarwono (2001) mengubah ransum kelinci hendaknya dilakukan secara bertahap selama 7-10 hari, caranya dengan mencampurkan sedikit-demi sedikit pakan baru ke pakan lama.

Preparasi karkas: Sebelum dipotong, kelinci terlebih dahulu dipuasakan selama 7 jam. Menurut Kartadisastra (1994), pemuasaan dilakukan selama 6-10 jam yang bertujuan untuk mengosongkan bagian isi perut (usus) sehingga kulit dan otot-ototnya menjadi lemas karena peningkatan kandungan glikogen. Di samping itu, perlakuan ini akan meningkatkan proporsi daging terhadap bobot hidupnya (persentase karkas).

Tabel 1. Kebutuhan nutrisi kelinci pada masa pertumbuhan

Nutrisi	Kebutuhan
Digestible Energi (Kkal/ kg)	2100-2500
Protein (%)	12-16
Lemak (%)	2-4
Serat Kasar (%)	12-20

Keterangan: Whendrato dan Madyana (1983)

Tabel 2. Kandungan nutrisi ransum untuk percobaan

Bahan pakan	DE ^{a)} (kkal/kg)	Protein kasar (%)	Serat kasar (%)	Lemak kasar (%)
Jerami kacang tanah	2421,72 ⁴⁾	13,11 ¹⁾	28,21 ¹⁾	1,53 ¹⁾
Konsentrat 201C	2682,69 ⁴⁾	20-22 ²⁾	Maks.5,0 ²⁾	Min.5,0 ²⁾
Ampas teh	2325,80 ⁴⁾	29,37 ³⁾	31,14 ³⁾	2,59 ³⁾

Keterangan: 1) Hasil Analisis Laboratorium Ilmu Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang (2007); 2) Label PT. Gold Coin; 3) Hasil Analisis Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Hasil Pertanian UGM Yogyakarta (2007); 4) Berdasarkan hasil perhitungan $DE = \%TDN \times 44$ TDN = 77,07-0,75(PK)-0,07(SK), DE Legume (KKal) = 4340-68 (% SK) (Hartadi et al. 1990).

Tabel 3. Susunan ransum perlakuan untuk kelinci

Bahan pakan	P0	P1	P2
Jerami kacang tanah (%)	70	67,5	65
Konsentrat (%)	30	27,5	25
Ampas Teh (%)	0	5	10
Jumlah	100	100	100
Kandungan nutrisi			
DE (Kkal/kg)	2500,01	2488,69	2361,08
PK (%)	15,48	16,10	16,71
LK (%)	21,25	21,98	22,70
SK (%)	2,57	2,54	2,50

Keterangan: Perhitungan berdasarkan Tabel 2

Penyembelihan dilakukan dengan memotong leher tepat pada trachea, vena jugularis, arteri carotis dan esophagus. Setelah penyembelihan selesai, kelinci langsung digantung dengan kaki belakang di bagian atas agar pengeluaran darah lancar dan untuk mempermudah pengulitan.

Pengulitan segera dilakukan dengan cara kering atau tanpa air. Hal yang pertama dengan memisahkan bagian kepala, kedua kaki depan pada sendi korpus dan ekor pada bagian pangkal. Kemudian menyayat kulit pada kedua kaki belakang secara melingkar di pergelangannya sampai melalui bagian paha dan anus. Kulit dikupas dan perlahan-lahan ditarik ke bawah hingga seluruh kulit terlepas dari kelinci.

Pengeluaran jeroan dengan cara menyayat terlebih dahulu bagian perut secara membujur mulai dari titik pusar ke arah dada, kemudian ke arah ekor. Setelah itu keluarkan seluruh jeroan dengan tangan dan memotong kaki belakang pada sendi tarsus.

Pemisahan daging dengan tulang dilakukan setelah memperoleh karkas kelinci yang bersangkutan. Seluruh daging dipisahkan dari seluruh bagian tulangnya.

Parameter penelitian

Bobot potong diketahui dengan menimbang kelinci sebelum dipotong. Bobot potong diperoleh setelah kelinci dipuasakan selama 7 jam. Bobot potong dinyatakan dalam g/ekor.

Berat karkas diperoleh dengan cara menimbang kelinci yang telah disembelih, dikurangi darah, kepala, keempat kaki, kulit, ekor dan jeroan. Berat karkas dinyatakan dalam g/ekor.

Persentase karkas dihitung dengan cara membagi berat karkas dengan bobot potong kelinci yang bersangkutan kemudian dikalikan 100 persen.

Berat non karkas diperoleh dengan cara menimbang seluruh bagian non karkas (darah, kepala, keempat kaki, kulit, ekor dan jeroan) dari kelinci yang bersangkutan. Berat non karkas dinyatakan dalam g/ekor.

Persentase non karkas dihitung dengan cara membagi berat seluruh bagian non karkas dengan bobot potong kelinci yang bersangkutan kemudian dikalikan 100 persen.

Berat daging diperoleh dengan cara menimbang daging yang sudah dilepaskan dari tulangnya. Berat daging dinyatakan dalam g/ekor.

Rasio daging dan tulang diperoleh dengan cara membandingkan berat daging dengan berat tulangnya.

Analisis data

Data-data penelitian yang meliputi bobot potong, berat karkas, persentase karkas, berat non karkas, persentase non karkas, berat daging, serta rasio daging dan tulang dianalisis dengan analisis variansi (Anava) berdasarkan Rancangan Acak Kelompok (RAK).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter pertumbuhan kelinci selama masa percobaan ditunjukkan pada Tabel 1.

Bobot potong

Rata-rata bobot potong yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 1827,5; 1679,5; 1514; dan 1568 g. Hasil analisis variansi pengaruh perlakuan terhadap bobot potong menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Bobot potong ternak ditentukan oleh bobot hidupnya, bobot potong akan berpengaruh terhadap besarnya penimbunan lemak tubuh, persentase karkas dan kualitas daging. Kenaikan bobot potong cenderung akan meningkatkan persentase karkas, yang diikuti dengan kenaikan persentase tulang dan daging (Suseno 1986 *cit.* Soeparno dan Sumadi 1991).

Penggunaan ampas teh dalam ransum kelinci *New Zealand White* jantan memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap bobot potong karena kandungan serat kasar yang tinggi dalam pakan perlakuan dari P0 sampai P3 relatif sama. Menurut de Blass dan Wiseman (1998) bahwa kelinci kurang efisien dalam mencerna serat kasar hijauan karena gerak laju pakan yang cepat pada *caecum* sehingga tidak mengalami penyerapan nutrisi yang sempurna dan akan terus menuju anus dan keluar dalam bentuk lunak. Kotoran yang lunak ini akan dimakan dan dimanfaatkan kembali (*coprophagy*). Pada penelitian ini tidak terlihat adanya *coprophagy*, sehingga tingginya serat kasar pada pakan perlakuan menyebabkan kelinci tidak sempurna dalam menyerap nutrisi yang terkandung dalam pakan. Ditambahkan oleh Sarwono (2001) walaupun kelinci memiliki *caecum* yang besar ternyata tidak mampu mencerna bahan-bahan organik serat kasar dari hijauan sebanyak yang dapat dicerna oleh ternak ruminansia murni. Daya cerna kelinci dalam mengkonsumsi hijauan daun diperkirakan hanya 10%. Kelinci mempunyai kemampuan rendah dalam mencerna serat kasar dikarenakan waktu transit yang cepat dari bahan-bahan berserat yang melalui pencernaan.

Berat karkas

Rata-rata berat karkas yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 880,5; 820; 714; dan 688 g. Hasil analisis variansi pengaruh perlakuan terhadap berat karkas menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Berat karkas segar adalah hasil penimbangan badan hewan yang telah dipotong, dilepaskan kaki pada sendi karpal dan tarsial, kepala, kulit, ekor dan dikeluarkan jeroannya (Reksohadiprodjo 1995).

Berat dan persentase karkas seekor ternak tidak dapat dipisahkan dengan berat hidupnya. Berat karkas juga dipengaruhi oleh umur ternak, jenis kelamin, kecepatan pertumbuhan, metode pemotongan, lingkungan serta berat bagian tubuh/organ non karkas (Murray et al. 1979; Edey et al. 1981 *cit.* Pamungkas *et.al* 1992). Berat karkas pada penelitian ini menunjukkan hasil berbeda tidak nyata dikarenakan bobot potong yang dihasilkan juga relatif sama. Jadi berat karkas sangat dipengaruhi oleh bobot hidup sebelum dipotong, semakin tinggi bobot hidupnya sebelum dipotong maka semakin tinggi pula berat karkas yang dihasilkan. Ditambahkan oleh Resnawati (1988), produksi karkas erat kaitannya dengan bobot hidup atau

bobot potong, semakin bertambah bobot hidup seekor ternak maka produksi karkas juga akan meningkat.

Tabel 4. Rata-rata parameter pertumbuhan kelinci selama masa perlakuan

Perlakuan	Kelompok berat badan (g)		Rata-rata (g)
	I	II	
Bobot potong (g)			
P0	1714	1941	1827,5
P1	1312	2047	1679,5
P2	1617	1411	1514
P3	994	2142	1568
Berat karkas (g)			
P0	806	955	880,5
P1	592	1048	820
P2	751	677	714
P3	438	938	688
Persentase karkas (%)			
P0	47,03	49,20	48,12
P1	45,12	51,20	48,16
P2	44,94	47,98	46,46
P3	44,06	43,79	43,92
Berat non karkas (g)			
P0	908	986	947
P1	720	999	859,5
P2	920	734	827
P3	556	1204	880
Persentase non karkas (%)			
P0	52,98	50,80	51,89
P1	54,88	48,80	51,84
P2	55,06	52,02	53,54
P3	55,94	56,21	56,08
Berat daging (g)			
P0	576	716	646
P1	418	721	569,5
P2	497	518	507,5
P3	337	663	500
Rasio daging dan tulang			
P0	2,50	2,99	2,75
P1	2,40	2,20	2,30
P2	1,89	3,26	2,58
P3	3,34	2,41	2,88

Keterangan: I: 500-1000 g, II: 1000-1500 g

Pengaruh perlakuan yang berbeda tidak nyata ini juga berhubungan dengan tingginya serat kasar pada ransum perlakuan dalam kisaran yang tidak berbeda. Menurut Nurhayati dan Marsadayanti (2005) pada serat kasar yang ada dalam ransum melebihi kebutuhan ternak maka ternak akan membutuhkan lebih banyak energi untuk mencernanya sehingga energi yang dapat digunakan untuk mencerna protein dan zat makanan lainnya menjadi berkurang. Hal ini mengakibatkan protein pencernaan yang dapat dimanfaatkan oleh ternak untuk membentuk dan memperbaiki jaringan urat daging menjadi berkurang. Hal ini diperkuat oleh Anggorodi (1990) dalam bukunya, bahwa serat kasar dalam ransum berpengaruh besar terhadap pencernaan energi, makin tinggi serat kasar maka energi yang dapat dicerna makin rendah. Hal tersebut

disebabkan karena tingginya kandungan serat berarti semakin rendah kandungan pati, gula dan lemak.

Persentase karkas

Rata-rata persentase karkas yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 48,12; 48,16; 46,46 dan 43,92%. Hasil ini lebih rendah dari hasil penelitian Amin (2007) bahwa persentase karkas kelinci antara 46,93-49,81%, lebih tinggi dari hasil penelitian Prasetyo (2007) yang menghasilkan persentase karkas kelinci antara 36,30-41,03%. Hasil analisis varians pengaruh perlakuan terhadap persentase karkas menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Persentase karkas yang dihasilkan tersebut sudah sesuai dengan pendapat Kartadisastra (1994) bahwa berat karkas ternak kelinci yang baik berkisar antara 40-52% dari berat badan hidupnya.

Persentase karkas dipengaruhi oleh bobot karkas dan bobot hidup. Presentase karkas merupakan nilai penting untuk menentukan produksi ternak pedaging. Faktor yang menentukan presentase karkas adalah umur, berat badan, perlemakan, dan isi saluran pencernaan (Brown et al. 1982 cit. Soeparno 1994). Berarti semakin tinggi bobot hidup dan berat karkasnya, semakin tinggi pula persentase karkas yang dihasilkan. Dalam penelitian ini, bobot potong dan berat karkas semua perlakuan relatif sama, jadi tidak berpengaruh pada persentase karkas yang dihasilkan menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata. Hal ini sesuai dengan pendapat Abubakar dan Nataamijaya (1999) bahwa persentase karkas merupakan perbandingan antara bobot karkas dengan bobot hidup, sehingga nilainya dipengaruhi langsung oleh bobot karkas dan bobot potong.

Berat non karkas

Rata-rata berat non karkas yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 947; 859,5; 827 dan 880 g. Hasil analisis varians pengaruh perlakuan terhadap berat non karkas menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Bagian non karkas pada kelinci merupakan seluruh bagian yang meliputi darah, kepala, kedua kaki depan, kedua kaki belakang, ekor dan jeroan yang sudah dipisahkan dari karkas yang bersangkutan.

Berat karkas juga dipengaruhi oleh umur ternak, jenis kelamin, kecepatan pertumbuhan, metode pemotongan, lingkungan serta berat bagian tubuh/organ non karkas. (Murray et al. 1979; Eddy et al. 1981 cit. Pamungkas et al. 1992). Berat non karkas sangat mempengaruhi berat karkas, karena jikalau berat non karkas semakin meningkat maka perolehan karkas yang dihasilkan akan semakin menurun. Hal ini disebabkan jumlah non karkas yang dihasilkan lebih banyak daripada jumlah karkas dari ternak yang bersangkutan.

Pamungkas et al. (1992) menambahkan pula bahwa perkiraan berat karkas kurang tepat bila hanya berdasarkan berat hidup tanpa diikuti dengan berat organ tubuh non karkas, baik eksternal maupun internal. Berat organ tubuh non karkas eksternal antara lain kepala, kedua kaki depan, kedua kaki belakang dan ekor. Sedangkan untuk bagian internal antara lain darah dan seluruh bagian jeroan.

Persentase non karkas

Rata-rata persentase non karkas yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 51,89; 51,84; 53,54 dan 56,08%. Hasil analisis varians pengaruh perlakuan terhadap persentase non karkas menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Persentase non karkas merupakan angka banding antara berat non karkas (darah, kepala, kedua kaki depan, ekor, jeroan dan kedua kaki belakang) dengan bobot potong, dikalikan 100 persen.

Karkas pada ternak kelinci adalah bagian tubuh yang sudah dipisahkan dari kepala, jari-jari kaki, kulit, ekor dan jeroan. Sebagai patokan, berat karkas ternak kelinci yang baik berkisar antara 40-52% dari berat badan hidupnya (Kartadisastra 1994). Jika berat karkas berkisar 40-52%, berarti kisaran berat non karkasnya sebesar 48-60%. Persentase non karkas yang didapat dalam penelitian ini sudah sesuai dengan pendapat diatas, karena besarnya antara 51,84-56,08%. Organ non karkas sangat mempengaruhi produksi karkasnya. Semakin rendah persentase non karkas kelinci, semakin besar persentase karkas dihasilkan dari kelinci yang bersangkutan.

Berat daging

Rata-rata berat daging yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 646; 569,5; 507,5 dan 500 g. Hasil analisis varians pengaruh perlakuan terhadap berat daging menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Daging didefinisikan sebagai semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan-jaringan tersebut yang sesuai untuk dimakan serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang memakannya (Soeparno 1994). Protein yang masuk ke tubuh kelinci akan diubah menjadi asam amino, asam amino kemudian diserap oleh usus kecil dan terus dibawa ke seluruh tubuh sehingga membentuk jaringan tubuh (Anggorodi 1990). Daging merupakan jaringan penyusun tubuh yang terbentuk oleh protein, dalam hal ini berasal dari protein pakan.

Protein khususnya asam amino diperlukan untuk membentuk jaringan otot daging yang merupakan komponen utama dari karkas (Amin 2007). Berarti bahwa daging merupakan salah satu bagian penyusun karkas, sehingga dengan terbentuk daging yang banyak, produksi karkas pun juga akan meningkat. Ditambahkan oleh Lawrie (1995) bahwa otot mempunyai peranan yang sangat penting, selain mempunyai nilai ekonomis yang tinggi, otot sekaligus merupakan penentu kualitas karkas. Seperti yang kita ketahui bahwa daging tersusun atas salah satu jenis otot, yaitu otot skeletal.

Adanya tanin sebagai faktor pembatas yang masih terdapat di dalam ampas teh juga diduga menjadi penyebab mengapa penggunaan ampas teh tidak mempengaruhi berat daging. Menurut Widodo (2005) bahwa tanin merupakan zat anti nutrisi yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol yang dapat mengikat protein pakan pada bagian intestinum sehingga menurunkan daya cerna dan absorpsi protein.

Rasio daging dan tulang (meat bone ratio)

Rata-rata rasio daging dan tulang yang dihasilkan pada penelitian ini P0, P1, P2 dan P3 masing-masing adalah 2,75; 2,30; 2,58 dan 2,88. Hasil ini hampir sama dengan hasil penelitian Amin (2007) bahwa rasio daging dan tulang kelinci antara 2,44-2,63, lebih tinggi dari hasil penelitian Prasetyo (2007) yang menghasilkan rasio daging dan tulang kelinci antara 1,73-1,82. Hasil analisis varians pengaruh perlakuan terhadap rasio daging dan tulang menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$).

Meat bone ratio atau yang disebut dengan rasio daging dan tulang merupakan perbandingan antara berat daging dengan berat tulang dari kelinci yang bersangkutan, ini adalah angka pembanding untuk mengetahui seberapa banyak daging yang dihasilkan daripada tulangnya. Menurut Murtiyadi (1996) cit. Widodo (2005) perbandingan daging dan tulang dipengaruhi oleh dua komponen yaitu bobot daging dan bobot tulang karkas.

Rasio daging dan tulang yang dihasilkan adalah 2,96:1 untuk kelinci albino dan 3,21:1 untuk kelinci bukan albino (Rismaniah et al. 1976). Kelinci *New Zealand White* tergolong kelinci albino karena tidak mempunyai pigmen warna pada bulunya. Hasil rasio daging dan tulang pada penelitian ini lebih rendah yaitu berkisar antara 2,30 sampai 2,88. Menurut Soeparno (1994) selama pertumbuhan, tulang tumbuh secara kontinu dengan kadar laju pertumbuhan yang relatif lambat, sedangkan pertumbuhan otot relatif lebih cepat, sehingga rasio otot dengan tulang meningkat selama pertumbuhan.

Menurut Berg dan Butterfield (1976), tulang dapat mencerminkan produksi daging suatu ternak dan diharapkan mempunyai proporsi yang sekecil mungkin. Dalam hal ini berarti jika berat tulang lebih besar daripada berat daging, akan dihasilkan rasio daging dan tulang yang rendah. Sebaliknya jika berat tulang lebih rendah daripada berat daging, akan dihasilkan rasio daging dan tulang yang tinggi.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah penggunaan ampas teh dalam ransum belum mampu meningkatkan produksi karkas kelinci *New Zealand White* jantan. Dengan perlakuan khusus pada ampas teh (seperti fermentasi), dimungkinkan dapat menurunkan kandungan serat kasar, sehingga pemanfaatan ampas teh sebagai bahan pakan penyusun ransum kelinci akan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, Nataamijaya AG. 1999. Persentase Karkas Dan Bagian-bagiannya Dua Galur Ayam Broiler Dengan Penambahan Tepung Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Dalam Ransum. Buletin Peternakan Edisi Tambahan. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Amin JA. 2007. Pengaruh Pemberian Ransum Dengan Rasio Hijauan dan Konsentrat yang Berbeda Terhadap Bobot Potong, Persentase Karkas dan Non Karkas Kelinci Lokal Jantan. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. UNS. Surakarta.
- Anggorodi R. 1990. Ilmu Makanan Ternak Umum. PT. Gramedia. Jakarta.

- Basuki P, Ngadiyono. 1982. Pengaruh Perbedaan Pemberian Makanan Secara Tradisional dan Rasional Terhadap Performan Produksi dan Reproduksi Kelinci. Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian UGM. Yogyakarta.
- Berg RT, Butterfield RM. 1976. New concepts of cattle growth. Sydney University Press, Sydney.
- De Blass C, Wiseman J. 1998. The Nutrition of Rabbit. CABI Publishing, New York.
- Fiberty E. 2002. Pengaruh Beberapa Tingkat Penggunaan Ampas Teh dalam Ransum Bentuk Pelet Terhadap Performans Kelinci Persilangan Lepas Sapih. Skripsi. Jurusan. Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Handayanta E. 2005. Manajemen pemberian pakan pada penggemukan sapi potong. Pembekalan Magang Kewirausahaan. Pusat Pengembangan Kewirausahaan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hartadi H, Reksohadiprodjo S, Tillman AD. 1990. Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Juarini E, Sumanto, B Widodo. 2005. Ketersediaan Teknologi Dalam Menunjang Perkembangan Kelinci di Indonesia. Dalam: Lokakarya Nasional Potensi dan Peluang Pengembangan Usaha Kelinci. Bandung: 30 September 2005. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor.
- Kartadisastra HR. 1994. Kelinci Unggul. Kanisius. Yogyakarta.
- Khotijah L 2006. Penambahan urea atau DL-metionina ke dalam ransum komplit biomasa ubi jalar pada kelinci. Media Peternakan 29: 89-95.
- Krisnan R. 2005. Pengaruh pemberian ampas teh (*Camellia sinensis*) fermentasi dengan *Aspergillus niger* pada ayam broiler. JITV 10(1): 1-5.
- Lawrie RA. 1995. Ilmu Daging. Edisi kelima. Penerj.: Parakkasi A, Rydha. UI Press. Jakarta.
- Mulyono S. 1998. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Murtisari T. 2005. Pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan untuk menunjang agribisnis kelinci. Lokakarya Nasional Potensi dan Peluang Pengembangan Usaha Kelinci. Bandung: 30 September 2005.
- Nurhayati N, Marsadayanti. 2005. Pengaruh Penggunaan Tepung Buah Mengkudu dalam Ransum terhadap Bobot Karkas Ayam Broiler. Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis. Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Jambi.
- Pamungkas D, Uum U, Yusran MA. 1992. Analilis berat dan persentase karkas domba ekor gemuk berdasarkan berat hidup dan berat bagian tubuh non karkas pada dua tingkatan umur. Jurnal Ilmiah Penelitian Ternak Grati. Vol. 3. No. 1.
- Prasetyo A. 2007. Pengaruh Penggunaan Campuran Onggok, Bokhasi Ayam Petelur dan Konsentrat Dalam Ransum Terhadap Karkas Kelinci Lokal Jantan. Skripsi Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ranjhan SK. 1981. Animal Nutrition in Tropic. Vicas Publishing House PVT. LTD. New Delhi.
- Reksoadiprodjo, S. 1995. Pengantar Ilmu Peternakan Tropik Edisi 2. BPFE. Yogyakarta.
- Resnawati H. 1988. Pengaruh umur terhadap persentase karkas dan efisiensi penggunaan ransum. Karya Ilmiah. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rismaniah, Riswantiyah I, Ning TR. 1976. Produksi Ternak Kelinci. Makalah Seminar Penelitian Peternakan Fakultas Peternakan. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- Sarwono. 2001. Kelinci Potong dan Hias. Authors Press. Jakarta.
- Soeparno. 1994. Ilmu dan Teknologi Daging. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Soeparno, Sumadi. 1991. Pertambahan Berat Badan, Karkas dan Komposisi Kimia Daging Sapi Kaitannya Dengan Bangsa dan Macam Pakan Penggemukan. Jurnal Ilmiah Penelitian Ternak Grati 2 (1):.
- Sugeng Y. 1987. Beternak Domba. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Whendarto I, Madyana IM. 1983. Beternak Kelinci Secara Populer. Eka Offset. Semarang.
- Widodo W 2005. Tanaman Beracun dalam Kehidupan Ternak. UMM Press, Malang.

Pengaruh ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap residu nitrit daging curing selama proses curing

Effect of lime extract (*Citrus aurantifolia*) on curing meat nitrite residues during curing process

DYAH ERMAWATI, M.A.M. ANDRIANI, ROHULA UTAMI

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 19 September 2013. Revisi disetujui: 4 Januari 2014.

Abstract. Ermawati D, MAM Andriani, R Utami. 2014. *Effect of lime extract (Citrus aurantifolia) on curing meat nitrite residues during curing process.* Biofarmasi 12: 18-26. Meat represents one of food substance having complete nutrient content and has low durability. So that needs an effort handling or pickling to maintain nutrient content of meat. One of way of meat pickling is by curing, that is by add preservatives like salt (NaCl), Na-Nitrite, Na-Nitrate and other substance which can add flavor. However use of nitrite besides as preservative and fix appearance of curing meat product, nitrite can endanger body. Nitrite has potency to form compound of nitrosamine having carcinogenic character if nitrite reaches with amine. Addition of vitamin C can control curing process in order to decrease nitrite residue. Vitamin C used in this research is natural vitamin C that is lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) extract. Various concentration of lime expected can determine better treatment during process of curing meat. Research use complete random device. As the primary factor is lime extract concentration that is 0%, 2%, 4%, 6%. Analysis taken is measurement of degree of acidity (pH), water rate, vitamin C (vitamin C) and nitrite residue of curing meat in observation day 0, 2, 4 and 6. Data obtained analyze with manner examination test at significance level of 5%, if there are real difference continued with test of Duncan Multiple Range Test. Research result indicates that all treatment of use of lime extract concentration variation during curing can control curing process. Influence of use of lime extract to value of pH in this research is 5,233-5,475 that is optimum condition of nitrite reduction become nitrite oxide so that the nitrite residue is low. Accelerate of nitrite reduction become nitrite oxide is quickened by addition of vitamin C of lime extract. More and more lime extract enhanced hence smaller nitrate residue. Treatment of concentration of lime extract 4% at the 4-6th day of observation represents treatment more good in curing process. Cured meat have a pH 5,266 decrease of 5,240. water rate 69,836 (%wb) decrease of 66,212 (%wb) and nitrite residue 28,947 ppm decrease of 19,118 ppm

Keywords: Cured meat, lime extract, nitrite residue

PENDAHULUAN

Daging merupakan salah satu bahan pangan yang mempunyai kandungan gizi yang lengkap, diantaranya kandungan protein, lemak, mineral, air serta vitamin dalam susunan yang berbeda tergantung jenis makanan dan jenis hewan. Hewan yang berbeda mempunyai komposisi daging yang berbeda pula. Komposisi daging terdiri dari 75% air, 18% protein, 4% protein yang dapat larut (termasuk mineral) dan 3% lemak. Ternak rata-rata menghasilkan karkas (bagian badan hewan) 55%, macam-macam hasil sampingan 9%, kulit 6% dan bahan lainnya 30%. Daging segar mempunyai daya awet rendah sehingga mudah mengalami kerusakan apabila tidak diusahakan suatu pengawetan. Penyebab utama kerusakan daging segar adalah tercemarnya daging oleh mikroorganisme. Kerusakan mikroorganisme dapat menimbulkan kerusakan daging berupa terjadinya penyimpangan warna, bau busuk, timbulnya gas, asam dan beracun. Salah satu cara untuk mengurangi kerusakan yang ditimbulkan oleh mikroorganisme tersebut adalah mengurangi perkembangbiakan mikroorganisme dalam daging dengan menambahkan atau memberi zat pengawet (Setiaji et al. 1998). Banyak cara pengawetan, termasuk cara-cara tradisional tergantung

pada penambahan substansi anti mikrobia pada pangan. Salah satu cara pengawetan daging adalah dengan cara curing. Pengawetan dengan cara curing adalah dengan melakukan pemberian bahan preservatif seperti garam (NaCl), Na-nitrit, Na-nitrat dan bahan lain yang dapat menambah cita rasa. Nitrit berperan sebagai pengawet dan stabilisator warna daging curing. Sebagai pengawet nitrit merupakan anti botulisme (mencegah germinasi *Sporobotulinum*). Menurut Winarno (2002) nitrit dapat mencegah pertumbuhan mikrobia yang mekanismenya belum diketahui, tetapi diduga bahwa nitrit bereaksi dengan gugus sulfhidril dan membentuk senyawa yang tidak dapat dimetabolisme oleh mikrobia dalam keadaan anaerob. Selain itu dijelaskan Sofos and Busta (1980) bahwa peranan nitrit yaitu sebagai antioksidan yang dapat menghambat oksidasi lemak.

Di sisi lain, curing daging dengan menggunakan natrium nitrit dapat memberikan akibat yang membahayakan bagi manusia. Residu nitrit yang terdapat dalam daging curing dapat bereaksi dengan amina sekunder atau tersier protein membentuk senyawa nitrosamin yang bersifat karsinogenik (Cassen et al. 1979; Miller 1980). Didalam proses pencernaan residu tersebut dapat bereaksi dengan senyawa amina yang terdapat di

lambung dan akan menghasilkan nitrosamin. Nitrit dalam pencernaan juga tidak dicerna dan akan terakumulasi di ginjal (Cassens et al. 1979). Oleh karena itu, perlu adanya penurunan residu nitrit dan penghambatan pembentukan senyawa nitrosamin dalam proses curing.

Usaha penurunan residu nitrit dan penghambatan pembentukan senyawa nitrosamin ini dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain mengurangi jumlah garam nitrat dan nitrit yang ditambahkan dalam proses curing, mengendalikan proses curing dengan menambahkan senyawa lain yang dapat menurunkan residu nitrit dan menghambat pembentukan senyawa nitrosamin, salah satu contohnya adalah dengan penggunaan asam askorbat (vitamin C).

Penambahan asam askorbat dapat menurunkan residu nitrit, karena asam askorbat dapat menurunkan pH yang merupakan reduktor yang dapat memberikan elektron pada nitrit sehingga terbentuk nitrit oksida (Forrest et al. 1975). Asam askorbat mampu mempercepat proses pembentukan nitrit oksida dari nitrit dan nitrit oksida ini akan bereaksi dengan mioglobin sehingga terbentuk warna merah muda. Semakin banyak nitrit yang diubah menjadi nitrit oksida maka semakin kecil residu nitrit yang tertinggal pada daging curing. Salah satu sumber asam askorbat alami adalah berasal dari Jeruk nipis.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) merupakan salah satu komoditas buah yang mengandung vitamin C (asam askorbat). Anon (2004) menyebutkan kadar vitamin C jeruk nipis adalah 27 mg/100 g buah. Penggunaan jeruk nipis sebagai sumber vitamin C memungkinkan untuk mempercepat pembentukan nitrit oksida sehingga dapat menurunkan residu nitrit. Jeruk nipis mempunyai nilai pH yang rendah ($\text{pH} = 2$). Pada proses curing apabila dikondisikan pada pH yang sangat rendah menyebabkan perubahan kadar air daging karena daya ikat air daging menurun sehingga daging akan mengalami kehilangan cairan daging. Penurunan daya ikat air dapat diketahui dengan adanya eksudasi cairan yang disebut weep pada daging mentah yang belum dibekukan (Soeparno 1994). Hilangnya cairan mengakibatkan penurunan kualitas dan daya terima oleh konsumen. Maka dari itu penelitian ini dilaksanakan guna mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak jeruk nipis terhadap residu nitrit daging curing dalam pembuatan daging curing dengan memperhatikan hilangnya cairan/weep selama proses curing. Konsentrasi jeruk nipis bervariasi diharapkan dapat menentukan perlakuan yang lebih baik dalam pembuatan daging curing.

Penelitian ini bertujuan untuk: Mengetahui pengaruh ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap residu nitrit daging curing selama proses curing. Mengetahui konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang optimal untuk menurunkan residu nitrit daging curing dengan memperhatikan kehilangan cairan/weep selama proses curing.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Pangan dan Gizi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta, dalam jangka waktu 5 bulan, yakni bulan Maret 2008 sampai bulan Juli 2008.

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi : botol timbang, oven, eksikator, gelas beker, blender, pH meter, tabung reaksi, pipet ukur, erlemeyer, kertas saring, spektrofotometer, labu takar, buret, pipet tetes dan neraca analitik.

Bahan yang utama digunakan untuk penelitian adalah daging sapi kualitas prima/pilihan dan jeruk nipis yang digunakan sebagai sumber asam askorbat berasal dari penjualan di pasar lokal. Bahan yang dibutuhkan untuk analisis adalah indikator amilum 1%, larutan iodin 0,01 N, larutan sulfanilamide dalam CH_3COOH 15% dan larutan NED dihidroklorida dalam CH_3COOH 15%. Aquadest dibutuhkan untuk pembuatan chemicalia dan pengenceran dalam penentuan pH, vitamin C dan residu nitrit.

Tahapan penelitian

Preparasi agensia curing

Agensia curing terdiri dari NaCl 4%, gula pasir 1%, NaNO_3 0,1% dan NaNO_2 0,05%. Dan perlakuan ekstrak jeruk nipis 0%, 2%, 4% dan 6% (ml ekstrak jeruk nipis / 100 ml volume larutan curing). Agensia curing tersebut dilarutkan air dan perbandingan larutan curing dengan daging adalah 1:1 (1 bagian daging : 1 bagian larutan curing)

Pembuatan daging Curing

Daging sapi dipilih dari daging segar kualitas prima atau pilihan, kemudian dibersihkan dari jaringan-jaringan yang tidak dikehendaki, diiris dengan tebal 1 cm, dicuci bersih dan ditiriskan kira-kira 20 menit. Kemudian direndam dalam larutan curing dan disimpan pada suhu dingin selama 0 hari, 2 hari, 4 hari dan 6 hari. Analisis yang dilakukan antara lain penentuan pH, kadar air, vitamin C dan residu nitrit daging curing yaitu dilakukan pengamatan pada hari ke-0, 2, 4 dan 6.

Rancangan percobaan

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*) dengan faktor utama konsentrasi ekstrak jeruk nipis yaitu 0%, 2%, 4% dan 6%. Analisis dilakukan selama proses curing yaitu pada hari ke-0, 2, 4 dan 6 yang masing-masing mengalami perlakuan tiga kali. Data yang diperoleh dianalisis dan uji sidik ragam pada tingkat signifikansi 5%, jika ada yang beda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan.

Variasi perlakuan J1 : Konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%, diamati pada hari ke-0, 2, 4 dan 6 J2 : Konsentrasi ekstrak jeruk nipis 2%, diamati pada hari ke-0, 2, 4 dan 6

J3 : Konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4%, diamati pada hari ke-0, 2, 4 dan 6
J4 : Konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%, diamati pada hari ke-0, 2, 4 dan 6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari proses curing yaitu untuk tujuan pengawetan, mempersiapkan daging untuk proses pengolahan selanjutnya dan untuk mendapatkan warna yang stabil, aroma, tekstur dan kelezatan yang baik. Cara curing adalah pengawetan dengan penambahan preservatif kimia seperti garam NaCl, NaNO₃, NaNO₂ dan gula. Namun perlu diperhatikan dalam penggunaan NaNO₃ dan NaNO₂, karena dapat bersifat karsinogenik apabila dikonsumsi berlebihan. Untuk itu perlu adanya pengendalian selama proses curing dengan baik untuk menghasilkan daging curing dengan kadar nitrit yang rendah. Dalam Meat Inspection Regulation; Romans dan Ziegler (1974); Forrest et al. (1975) menyebutkan bahwa kadar nitrit yang diijinkan pada produk akhir daging proses adalah 200 ppm, sedangkan jumlah nitrat tidak boleh melebihi 500 ppm.

Tabel 1. menunjukkan data awal daging segar dan jeruk nipis sebelum diproses. Hasil pengukuran pH daging segar yaitu 5,527. Hal ini sesuai dengan pendapat Lawrie (1985) bahwa pH ultimat normal daging postmortem/ pascamerta sekitar 5,5 yang sesuai dengan titik isoelektrik sebagian besar protein daging termasuk protein miofibril. pH ultimat daging yaitu pH yang tercapai setelah glikogen otot habis atau setelah enzim glikolitik menjadi tidak aktif pada pH rendah atau dengan kata lain pH setelah glikogen tidak lagi sensitif terhadap serangan enzim-enzim glikolitik.

Selama proses curing daging akan mengalami perubahan kadar air. Menurut beberapa sumber menyebutkan bahwa kadar air daging segar 75% (Lawrie 1985), 56-72% (Tabrani 2001), 70% (Romans et al. 2000). Dalam penelitian ini daging segar yang diolah menjadi daging curing mempunyai kadar air 75,24%. Daging curing yang mempunyai kadar air sekitar 75% mempunyai tekstur mirip dengan daging segar.

Penggunaan jeruk nipis dalam proses curing perlu diperhatikan nilai pH dan kandungan asam askorbatnya, karena kedua faktor ini merupakan faktor pengendali proses curing, yang ada hubungannya dengan residu nitrit pada daging curing. Kandungan asam askorbat jeruk nipis dalam Anon (2004) adalah 27 mg dan pada penelitian ini kandungan asam askorbat jeruk nipis yang digunakan adalah 27,28 mg/100g. Sedangkan pH jeruk nipis yang sangat rendah (2,17) disebabkan karena jeruk nipis banyak mengandung asam-asam organik seperti asam sitrat sebesar 55,6 g/kg. Maka dari itu untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak jeruk nipis selama proses curing dalam penelitian ini pengujian dilakukan terhadap nilai pH, asam askorbat (vitamin C), kadar air dan residu nitrit daging curing.

Derajat keasaman (pH) daging curing

Penambahan ekstrak jeruk nipis selama proses curing dimaksudkan untuk mengendalikan proses curing yaitu

dapat menyebabkan perubahan nilai pH daging curing. Derajat keasaman daging segar yang diproses mempunyai pH 5,527 dan setelah diproses menjadi daging curing, pH nya semakin hari semakin menurun. Dapat dilihat pada Gambar 1, rata-rata pengukuran nilai pH semakin hari semakin menurun dan semakin banyak konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan nilai pH semakin rendah. Titik-titik penurunan nilai pH pada penggunaan ekstrak jeruk nipis 2%, 4% dan 6% selama proses curing tidak berbeda nyata dan jelas berbeda nyata dengan pH daging curing konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%.

Gambar 1 merupakan grafik rata-rata analisis pH daging curing selama proses curing selama 6 hari yang diukur setiap 2 hari sekali yakni pengamatan pada hari ke-0, 2, 4 dan 6. Grafik tersebut menunjukkan bahwa proses curing menyebabkan penurunan nilai pH baik dengan atau tanpa penambahan ekstrak jeruk nipis. pH daging curing selama proses curing tanpa ekstrak jeruk nipis relatif lebih tinggi daripada pH daging curing dengan penambahan ekstrak jeruk nipis. Daging curing dengan penambahan ekstrak jeruk nipis 2%, 4% dan 6% menunjukkan penurunan pH yang relatif tidak berbeda nyata.

Rata-rata pengukuran derajat keasaman (pH) daging curing dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil analisis sidik ragam (perhitungan tidak ditunjukkan) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak jeruk nipis selama proses curing masing-masing perlakuan mempunyai pengaruh yang berbeda-beda terhadap derajat asam (pH). Pada pengamatan hari ke-0, penggunaan ekstrak jeruk nipis 2%, 4%, dan 6% menunjukkan nilai pH yang tidak berbeda nyata dan berbeda nyata dengan nilai pH daging curing tanpa ekstrak jeruk nipis (0% ekstrak jeruk nipis). Pengaruh tersebut juga ditunjukkan pada pengamatan hari ke-2, 4 dan 6. Hal ini berarti bahwa variasi penggunaan ekstrak jeruk nipis tersebut tidak menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap nilai pH selama proses curing. Pada pengamatan proses curing dari hari ke-0 sampai hari ke-6 menunjukkan kecenderungan penurunan pH daging curing baik penambahan ekstrak jeruk nipis 0%, 2%, 4% maupun 6%.

Penambahan ekstrak jeruk nipis pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengendalikan proses curing dengan memanfaatkan kandungan asam askorbat (vitamin C) nya dan juga untuk mendapatkan kondisi optimum proses curing. Optimalisasi proses curing sangat ditentukan oleh derajat keasaman (pH) proses daging. Meyer (1973) menjelaskan bahwa pH antara 5,4-6,0 nitrit dalam larutan terdapat dalam bentuk asam nitrit (HNO₂). Pada kondisi sedikit asam, asam nitrit akan mengalami dekomposisi oleh komponen daging sehingga terbentuk nitrit oksida (NO) dan asam nitrat (HNO₃). Pigmen daging curing akan terbentuk dengan segera apabila mioglobin bersinggungan secara langsung dengan nitrit oksida sehingga terbentuk nitrit oksida mioglobin yang berwarna cerah.

Pengaruh pH dalam proses curing juga dijelaskan oleh Buckle et al. (1987), yaitu pengkondisian derajat keasaman proses curing pada pH 5,8 atau lebih rendah dibutuhkan untuk: (i) Menghasilkan struktur terbuka dalam urat daging yang meningkatkan penyerapan garam kedalam jaringan secara lebih cepat dan sempurna. (ii) Membantu

mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme baik pada permukaan dan didalam jaringan dimana bakteri pencemar anaerobic hanya tumbuh secara perlahan pada pH dibawah 5,6. (iii) Membantu mempertahankan warna merah muda yang diinginkan yang dapat dicapai dengan baik bila pH daging dibuat 5,8 atau lebih rendah.

Dari hasil pengujian, semua perlakuan menunjukkan pH yang optimal selama proses curing yaitu pH paling tinggi pada pengamatan hari ke-0 dengan penggunaan ekstrak jeruk nipis 0% (5,475) dan pH paling rendah pada pengamatan hari ke-6 dengan penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6% (5,233). Selain berpengaruh pada proses curing, pH juga dapat berpengaruh pada daya ikat air daging yang hubungannya dengan kadar air. Suatu penurunan pH akan menurunkan daya ikat air daging dan kadar air daging curing. Menurut Forrest et al.,(1975) laju penurunan pH yang cepat dan intensif akan mengakibatkan warna daging menjadi pucat, daya ikat protein daging terhadap cairannya rendah, permukaan potongan daging menjadi basah karena keluarnya cairan, kepermukaan potongan daging yang disebut drip atau weep.

Sebaliknya pada pH ultimat yang tinggi, daging berwarna gelap dan permukaan potongan daging menjadi sangat kering karena cairan daging erat dengan proteinnya. Pendapat tersebut diperkuat oleh Bratzler et al. (1977) dan Lawrie (1985) bahwa pH mempunyai pengaruh terhadap drip. Pada pH ultimat yang tinggi, drip hampir tidak terjadi karena daya ikat air daging meningkat.

Kadar air daging curing

Kadar air daging segar mengalami perubahan setelah diproses menjadi daging curing. Daging segar yang awalnya mempunyai kadar air 75,24 (%wb) akan mengalami penurunan mulai dari pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-6. Tingkat penurunan kadar air daging curing dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa selama proses curing kadar air daging semakin menurun. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak jeruk nipis dengan kadar air daging curing tersebut menunjukkan kadar air tertinggi yaitu daging curing dengan penambahan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0% pada pengamatan hari ke-0 dan selama proses curing kadar air daging curing pun semakin menurun. Penggunaan ekstrak jeruk nipis 2% dan 4% selama proses curing menyebabkan penurunan kadar air yang hampir sama. Dan penggunaan ekstrak jeruk nipis yang paling besar yaitu 6% menyebabkan kadar airnya paling rendah dan semakin turun selama proses curing. Sehingga pada pengamatan hari ke-6 proses curing merupakan kadar air terendah daging curing dibanding semua perlakuan lainnya.

Tabel 1. Data awal daging segar dan jeruk nipis sebelum diproses

Bahan	pH	Kadar air (%wb)	Asam askorbat (mg/100 mL)
Daging segar	5,527	75,24	-
Jeruk nipis	2,17	-	27,28

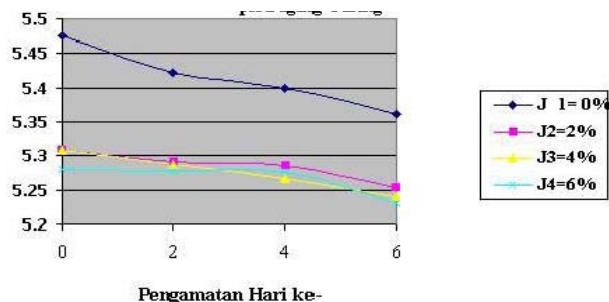
Rata-rata pengukuran kadar air daging curing pada Tabel 2 menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda pada masing-masing perlakuan. Pengaruh konsentrasi ekstrak jeruk nipis selama proses curing pada pengamatan hari ke-0 menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis baik 0%, 2%, 4%, dan 6% menghasilkan kadar air daging curing yang tidak berbeda nyata. Pengaruh tersebut juga ditunjukkan selama pada pengamatan hari ke-2. Hal ini berarti variasi penggunaan ekstrak jeruk nipis 0%, 2%, 4%, dan 6% tidak mempengaruhi perbedaan kadar air yang signifikan terhadap daging curing pada pengamatan hari ke-0 dan ke-2. Nsmun, pada pengamatan hari ke-4, masing-masing penggunaan ekstrak jeruk nipis pada proses curing menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda terhadap kadar air daging curing yang dihasilkan. Kadar air daging curing paling tinggi pada pengamatan hari ke-4 adalah daging curing yang diproses tanpa ekstrak jeruk nipis (konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%). Semakin besar konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan dalam proses curing, kadar air daging curing yang dihasilkan semakin rendah.

Perubahan kadar air daging curing disebabkan oleh derajat keasaman (pH) proses curing. pH yang semakin kecil (asam) maka daya ikat air daging menurun dan daging akan kehilangan cairan, sehingga kadar air daging menurun. Lawrie (1985) berpendapat bahwa penurunan daya ikat air oleh protein daging dapat disebabkan oleh penurunan pH dan konsentrasi dari protein otot pada titik isoelektriknya atau karena denaturasi protein sarkoplasmik. Seperti yang diungkapkan Soeparno (1994) penurunan daya ikat air dapat di ketahui dengan adanya eksudasi cairan yang disebut weep pada daging mentah yang belum dibekukan. Eksudasi cairan ini menyebabkan air dalam daging hilang sehingga kadar air daging menurun.

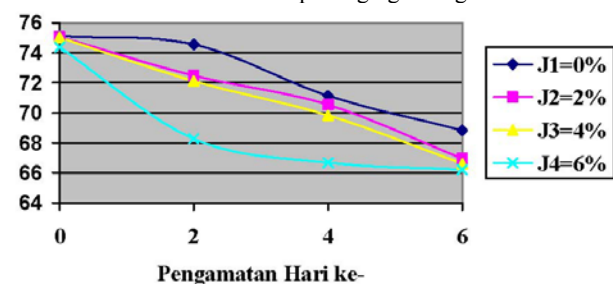
Hilangnya cairan daging sangat berpengaruh pada kualitas daging. Adapun faktor-faktor penentu kualitas daging meliputi warna, keempukan dan tekstur, flavor dan aroma termasuk bau dan cita rasa. Daging yang terlalu banyak kehilangan cairan akan mempunyai tekstur yang lembek dan tingkat kesegarannya menurun. Daging segar rata-rata mempunyai kadar air 75,24% dan setelah diproses menjadi daging curing kadar air nya menurun. Semakin banyak konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan maka semakin rendah kadar air daging curing dan akan terus menurun selama curing berlangsung. Proses curing tanpa penambahan ekstrak jeruk nipis pada pengamatan hari ke-6 menghasilkan daging curing yang tidak berbeda nyata dengan penambahan jeruk nipis 2%, 4% dan 6%.

Asam askorbat (vitamin C) daging curing dan larutan curing

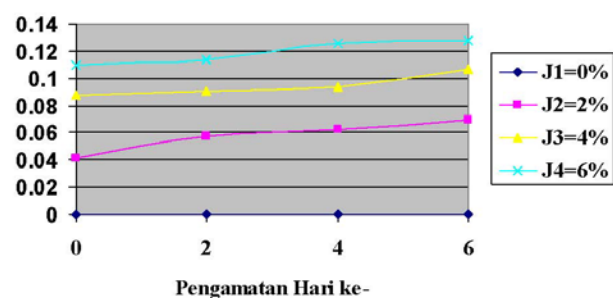
Tabel 2 menunjukkan rata-rata pengukuran residu vitamin C daging curing dan larutan curing. Pengukuran residu asam askorbat (Vitamin C) daging curing dan larutan curing ini dimaksudkan untuk mengetahui selisih penambahan vitamin C dan residu yang tertinggal sehingga diketahui berapa vitamin yang berkurang kemudian diasumsikan sebagai vitamin C yang berperan dalam proses curing. Pengaruh konsentrasi jeruk nipis dan lama curing terhadap residu vitamin C daging curing dan larutan curing dapat dilihat pada hasil analisis sidik ragam.



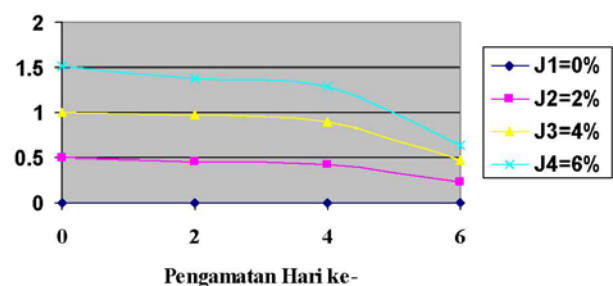
Gambar 1. Rata-rata analisis pH daging curing



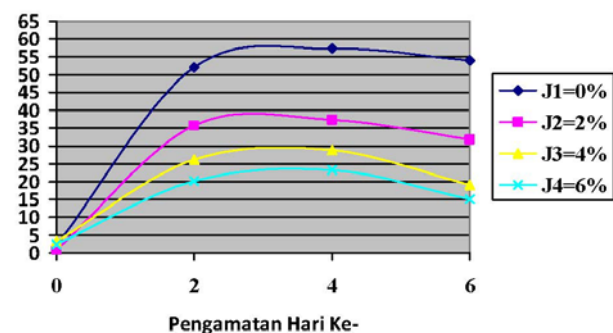
Gambar 2. Rata-rata analisis kadar air daging curing



Gambar 3. Rata-rata analisis residu vitamin C daging curing



Gambar 4. Rata-rata analisis residu vitamin C larutan curing



Gambar 5. Rata-rata analisis residu nitrit daging curing

Tabel 2. Rata-rata analisis berbagai parameter kualitas daging curing

Konsentrasi ekstrak jeruk nipis	Pengamatan pada hari ke-			
	0	2	4	6

pH daging curing

J1 : 0%	5,475 b	5,453 b	5,400 b	5,361 b
J2 : 2%	5,308 a	5,291 a	5,285 a	5,253 a
J3 : 4%	5,308 a	5,288 a	5,266 a	5,240 a
J4 : 6%	5,280 a	5,278 a	5,276 a	5,233 a

Kadar air daging curing (%wb)

J1 : 0%	75,111 a	74,128 a	71,128 d	68,843 ab
J2 : 2%	75,073 a	72,483 a	70,533 c	66,950 a
J3 : 4%	75,036 a	72,106 a	69,836 b	66,616 a
J4 : 6%	74,385 a	68,271 a	68,673 a	66,212 a

Kadar vitamin C daging curing

J1 : 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
J2 : 2%	0,0409 b	0,0572 b	0,0615 a	0,0699 b
J3 : 4%	0,0877 c	0,0909 c	0,0941 a	0,1072 c
J4 : 6%	0,1104 d	0,1146 d	0,1260 a	0,1280 d

Kadar vitamin C larutan curing

J1 : 0%	0 a	0 a	0 a	0 a
J2 : 2%	0,4993 b	0,4540 b	0,4296 b	0,2216 b
J3 : 4%	0,9990 c	0,9676 c	0,8960 c	0,4773 c
J4 : 6%	0,5081 d	0,3783 d	1,2813 d	0,6393 d

Persentase peran vitamin C daging curing (%)

J1: 0%	0	0	0	0
J2: 2%	1,044	6,305	9,989	46,572
J3: 4%	0,412	2,996	9,265	46,435
J4: 6%	1,118	8,791	14,021	53,122

Residu nitrit daging curing (ppm)

J1: 0%	2,193 ab	52,029 d	57,259 d	54,023 c
J2: 2%	0,937 a	35,709 c	37,835 c	31,835 b
J3: 4%	3,357 a	26,197 b	28,947 b	19,118 a
J4: 6%	2,487 a	20,151 a	23,306 a	15,064 a

Persentase penurunan residu nitrit daging curing (%)

J1: 0%	-	0	0	0
J2: 2%	-	31,367	33,923	41,071
J3: 4%	-	49,649	49,445	64,611
J4: 6%	-	61,269	59,297	72,115

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada blok yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji Duncan 5% (berlaku pada kolom yang sama)

Penambahan ekstrak jeruk nipis dimaksudkan untuk mengendalikan proses curing dengan menggunakan asam askorbat (vitamin C) jeruk nipis. Residu yang tertinggal dalam daging curing perlakuan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0% pada pengamatan hari ke-0, 2, 4 dan 6 adalah 0 karena tidak terjadi penambahan asam askorbat (vitamin C) dari jeruk nipis. Pada pengamatan hari ke-0 dan ke-2 proses curing, residu vitamin C daging curing menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada variasi penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis. Kemudian pada pengamatan hari ke-4 residu vitamin C daging curing tidak berbeda nyata pada semua perlakuan.

Tabel 3. Penambahan Vitamin C, residu vitamin C pada daging dan larutan serta Vitamin C yang berperan dalam proses curing

Ekstrak jeruk nipis	Pengamatan Hari ke-	Vitamin C (mg/100g)			
		Awal	Daging	Larutan	Berperan dalam proses curing
J ₁ : 0%	0	0	0	0	0
	2				
	4				
	6				
J ₂ : 2%	0		0,0409	0,4993	0,0057
	2	0,5456	0,0572	0,4540	0,0344
	4		0,0615	0,4296	0,0545
	6		0,0699	0,2216	0,2541
J ₃ : 4%	0		0,0877	0,9990	0,0045
	2	1,0912	0,0909	0,9676	0,0327
	4		0,0941	0,8960	0,1011
	6		0,1072	0,4773	0,5067
J ₄ : 6%	0		0,1104	1,5081	0,0183
	2	1,6368	0,1146	1,3783	0,1439
	4		0,1260	1,2813	0,2295
	6		0,1280	0,6393	0,8695

Dan residu vitamin C daging curing pada pengamatan hari ke-6 menunjukkan bahwa penggunaan variasi konsentrasi ekstrak jeruk nipis masing-masing berbeda nyata sesuai tiap-tiap perlakuan yang berbeda, yaitu residu vitamin C paling tinggi pada konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%. Semakin banyak ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan semakin tinggi pula residu vitamin C pada daging curing.

Residu vitamin C larutan curing perlakuan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0% tidak mengandung vitamin C karena tidak terjadi penambahan ekstrak jeruk nipis. Pengaruh konsentrasi ekstrak jeruk nipis selama proses curing terhadap residu vitamin C larutan curing menunjukkan variasi konsentrasi jeruk nipis 2%, 4% dan 6% masing-masing berbeda nyata pada tiap-tiap pengamatan baik pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

Rata-rata pengukuran pengaruh konsentrasi jeruk nipis terhadap residu vitamin C daging curing selama proses curing dapat dilihat pada Gambar 3. Grafik tersebut menggambarkan bahwa pada pengamatan hari ke-0 sampai ke-6, penambahan ekstrak jeruk nipis konsentrasi 2%, 4% dan 6%, menghasilkan daging curing dengan residu vitamin C yang semakin tinggi. Akan tetapi kenaikan residu vitamin C pada daging curing selama proses curing pada masing-masing konsentrasi ekstrak jeruk nipis ini tidak signifikan.

Gambar 4 menunjukkan rata-rata pengukuran residu vitamin C larutan curing selama proses curing. Dapat dilihat bahwa residu vitamin C larutan curing semakin menurun selama proses curing berlangsung. Pada penambahan ekstrak jeruk nipis 2%, 4% dan 6% penurunan residu vitamin C larutan curing dari hari ke-0 sampai ke-4 tidak signifikan, namun pada hari ke-6 penurunan residu vitamin C larutan curing signifikan.

Selama proses curing dengan penambahan ekstrak jeruk nipis, asam askorbat (Vitamin C) jeruk nipis berperan dalam pengendalian proses curing. Peran asam askorbat dalam proses curing ini dapat ditentukan dengan mengetahui vitamin yang berkurang selama proses curing

yaitu selisih penambahan vitamin C dengan residu yang tertinggal. Penambahan vitamin C, residu vitamin C pada daging curing dan larutan curing serta vitamin C yang berperan dalam proses curing dapat dilihat pada Tabel 3.

Vitamin C yang berkurang selama proses curing diasumsikan sebagai sejumlah vitamin C yang berperan dalam proses curing. Pada pengamatan hari ke-6, penggunaan ekstrak jeruk nipis 2%, menunjukkan vitamin C yang berperan dalam proses curing paling rendah dibanding penggunaan ekstrak jeruk nipis 4% dan 6%. Sedangkan peran vitamin C yang paling tinggi dalam proses curing pada pengamatan hari ke-6 ditunjukkan pada penggunaan ekstrak jeruk nipis 6%. Hal ini berarti semakin banyak konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula peran vitamin C dalam proses curing.

Gambar 6 menunjukkan kenaikan peran vitamin C dalam proses curing. Selama proses curing dari pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-6 xlix menggambarkan kecenderungan peran vitamin C dalam proses curing yang semakin meningkat. Sehingga dapat diketahui bahwa pada pengamatan hari ke-6 merupakan vitamin C yang berperan paling tinggi dalam proses curing pada masing-masing variasi penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis.

Tabel 2 menunjukkan presentase peran vitamin C pada variasi penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis selama proses curing pengamatan hari ke-0, 2, 4 dan 6. pada pengamatan hari ke-6, peran vitamin C dalam proses curing adalah 46,572% pada penggunaan ekstrak jeruk nipis 2%; 46,435% pada penggunaan ekstrak jeruk nipis 4% dan 53,122% pada penggunaan ekstrak jeruk nipis 6%. Pengendalian proses curing dengan vitamin C yaitu vitamin C akan mempercepat pembentukan nitrit menjadi nitrit oksida. Vitamin C merupakan agensia pereduksi atau sebagai reduktor yang akan memberikan elektron pada nitrit sehingga terbentuknya nitrit oksida (Forrest et al. 1975). Semakin cepat nitrit diubah menjadi nitrit oksida semakin kecil residu nitrit daging curing yang tersisa. Namun senyawa askorbat juga dapat sebagai zat pereduksi yang dapat mereduksi metmioglobin menjadi mioglobin kemudian bereaksi dengan nitrit oksida menghasilkan nitrit oksida mioglobin yang berwarna merah cerah.

Reaksi pewarnaan pada proses curing adalah reaksi antara pigmen daging (myoglobin) yang bereaksi dengan nitrit oksida membentuk nitrit oksida mioglobin yang berwarna merah cerah. Nitrit oksida ini merupakan hasil konversi dengan nitrit. Menurut Soeparno (1994) konversi nitrit menjadi nitrit oksida dapat melalui beberapa mekanisme. Pada pH daging 5,5-6,0 di dalam larutan air, sebagian nitrit terdapat sebagai asam nitrit (HNO_2). Pada pH ini, asam nitrit mengalami dekomposisi menjadi nitrit oksida: $3\text{HNO}_2 \leftrightarrow \text{HNO}_2 + 2\text{NO} + \text{H}_2\text{O}$ Nitrit juga dapat direduksi menjadi nitrit oksida melalui aktivitas reduksi alami dari jaringan otot postmortem. Prosesnya berlangsung lambat dengan perantara banyak substrat dan enzim di dalam siklus TCA. Substrat dan enzim tersebut dapat memenuhi ekuivalen pereduksi (atom hidrogen dan elektron) sebagai NADH yaitu bentuk reduksi dari NAD^+ (Forrest et al. 1975; Lawrie 1985). Pada kondisi

anaerobik, ekuivalen pereduksi ini dipergunakan untuk rantai transpor elektron mitokondria untuk mereduksi nitrit.

Pembentukan nitrit oksida dari nitrit dan nitrat dalam proses curing berjalan lambat. Hal ini menyebabkan adanya residu nitrit pada produk daging curing, karena tidak semua nitrit yang direduksi menjadi nitrit oksida. Maka dari itu disinilah peran asam askorbat dalam mengendalikan proses curing yaitu mempercepat nitrit menjadi nitrit oksida. Dengan adanya asam askorbat oleh Fiddler et al. (1973) menjelaskan dapat mempercepat pembentukan nitrit oksida dari nitrit. Maka dapat dikatakan bahwa dengan adanya asam askorbat dapat mempercepat reaksi dekomposisi asam nitrit menjadi nitrat dan nitrit oksida. Hal ini akan menurunkan kadar nitrit dalam daging, sehingga residu nitrit dalam daging juga rendah. Meskipun dalam Price dan Schweigert (1971) dikatakan bahwa dengan adanya oksigen dan air dapat menyebabkan nitrit oksida berubah menjadi nitrat dan nitrit lagi, tetapi dalam daging curing nitrit oksida dapat bereaksi dengan senyawa-senyawa yang ada didalamnya, sehingga pembentukan nitrit dari nitrit oksida dapat dihambat. Juga dengan adanya asam askorbat yang dapat bertindak sebagai antioksidan, sehingga reaksi antara nitrit oksida dengan oksigen dapat dihambat. Jadi jelaslah bahwa penambahan asam askorbat dapat menurunkan residu nitrit. Pengaruh penggunaan asam askorbat terhadap residu nitrit daging curing dapat dilihat pada Tabel 2.

Residu nitrit daging curing

Pengaruh penggunaan ekstrak jeruk nipis terhadap residu nitrit daging curing selama proses curing dapat dilihat pada Tabel 2, konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang digunakan yaitu 0%, 2%, 4% dan 6% yang dilihat pengaruhnya terhadap residu nitrit daging curing pada pengamatan hari ke-0, 2, 4 dan 6. Penggunaan ekstrak jeruk nipis selama proses curing terhadap residu nitrit daging curing menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda berdasarkan perbedaan masing-masing perlakuan sesuai yang ditunjukkan pada hasil analisis sidik ragam (perhitungan tidak ditunjukkan).

Rata-rata pengukuran residu nitrit berdasarkan pengaruh konsentrasi ekstrak jeruk nipis baik pada konsentrasi 0%, 2%, 4% dan 6% pada pengamatan hari ke 0 menunjukkan tidak berbeda nyata. Sedangkan pengamatan pada hari ke-2, 4 dan 6 masing-masing variasi konsentrasi ekstrak jeruk nipis tersebut menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata.

Tabel 2 menunjukkan persentase penurunan residu nitrit daging curing dengan perlakuan penambahan konsentrasi ekstrak jeruk nipis terhadap tanpa penambahan ekstrak jeruk nipis pada hari ke-2, 4 dan 6. Pada pengamatan hari ke-0 tidak terjadi penurunan residu nitrit. Hal ini berarti bahwa vitamin C belum berperan untuk mereduksi nitrit menjadi nitrit oksida atau belum mempengaruhi proses curing pada pengamatan hari ke-0. Kemudian pada pengamatan hari ke-2, 4 dan 6 penurunan residu nitritnya semakin besar. Sedangkan pengaruh variasi konsentrasi ekstrak jeruk nipis menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan maka semakin besar pula penurunan residu nitritnya.

Pada hari ke-2 sampai ke-6 proses curing menunjukkan peran vitamin C dalam mengkonversikan nitrit menjadi nitrit oksida. Apabila dilihat dari presentase peran vitamin C selama proses curing pada Tabel 2, menunjukkan bahwa sejumlah vitamin C tersebut berperan menurunkan residu nitrit yang ditunjukkan pada Tabel 2. Penurunan residu nitrit terbesar pada pengamatan hari ke-6 yaitu pada penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6% yang residu nitritnya turun 72,115% dibanding penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0%, 2% dan 4% serta vitamin C yang berperan dalam proses curing tersebut adalah 53,122%.

Hasil pengukuran residu nitrit pada Tabel 2 dapat digambarkan pada Gambar 5 untuk mengetahui pola kenaikan dan penurunan residu nitrit dalam proses curing. Dari semua perlakuan penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis didapatkan kenaikan residu nitrit pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 dan kemudian turun sampai pengamatan hari ke-6. Kenaikan residu nitrit ini disebabkan karena semakin lama perendaman proses curing, semakin banyak nitrit yang terpenetrasi dalam daging. Kemudian pada pengamatan hari ke-4 sampai ke-6 residu nitrit menurun karena nitrit yang terpenetrasi dalam daging berubah menjadi nitrit oksida. Nitrit oksida ini akan bereaksi dengan mioglobin membentuk nitrit oksida mioglobin yang berwarna merah cerah.

Dalam penelitian digunakan 0,05% NaNO_2 dan 0,1% NaNO_3 dan meninggalkan residu nitrit yang berbeda-beda. Pada pengamatan hari ke-0 proses curing, residu nitrit daging curing tidak beda nyata dari pengaruh penggunaan ekstrak jeruk nipis konsentrasi 0%, 2%, 4% dan 6%. Residu nitrit pada pengamatan hari ke-0 ini masih sedikit karena proses perendaman yang cukup singkat dan penetrasi nitrit ke dalam daging sedikit. Penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0% atau tanpa penambahan jeruk nipis menunjukkan residu nitrit terbesar (setiap hari pengukuran) dibanding penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis lainnya. Sedangkan residu nitrit terkecil adalah pada penggunaan ekstrak jeruk nipis konsentrasi 6% pada pengamatan hari ke-6 yaitu 15,064 ppm.

Residu nitrit produk daging curing sangat dipengaruhi oleh banyaknya nitrit atau nitrat yang ditambahkan, pH kondisi proses curing dan adanya zat pereduksi nitrit. Pengendalian jumlah nitrit yang ditambahkan menurut Margono et al. (1993) adalah 0,1% atau 1 g/kg bahan yang diawetkan dan untuk nitrat 0,2% atau 2 g/kg bahan. Apabila berlebihan akan menyebabkan keracunan. Oleh sebab itu pemakaian nitrit diatur dalam Undang-Undang. Meat Inspection Regulation dalam Soeparno (1994) juga menyebutkan untuk kadar nitrit yang diizinkan pada produk akhir daging proses adalah 200 ppm dan jumlah nitrat tidak melebihi 500 ppm. Jadi penggunaan nitrat atau nitrit harus memperhatikan batas aman penggunaan dan juga mampu menghasilkan produk daging curing yang berkualitas.

Dari semua perlakuan dalam penelitian didapatkan produk daging curing yang aman yaitu kandungan residu nitritnya dibawah 200 ppm. Adanya zat pereduksi seperti asam askorbat (Vitamin C) akan menurunkan residu nitrit, karena asam askorbat akan mempercepat reduksi nitrit menjadi nitrit oksida. Penggunaan variasi konsentrasi

ekstrak jeruk nipis (0%, 2%, 4% dan 6%) mengalami penurunan residu nitrit pada pengamatan hari ke-4 sampai hari ke 6. Akan tetapi penurunan hari ke-4 sampai hari ke-6 pada penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 0% relatif sedikit, karena pada perlakuan tersebut reduksi menjadi nitrit oksida merupakan aktivitas reduksi alami dari jaringan otot posmortem. Berbeda dengan penggunaan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 2% dan 4%, penurunan residu nitrit cukup banyak karena dengan penambahan jeruk nipis, asam askorbat jeruk nipis akan mereduksi nitrit menjadi nitrit oksida, sehingga residu nitritnya turun lebih cepat. Konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6% mengalami penurunan residu nitrit yang paling besar karena kandungan asam askorbatnya. Jadi penggunaan asam askorbat ini sangat mempengaruhi penurunan residu nitrit daging curing.

Hasil penelitian ini menunjukkan pengaruh asam askorbat (vitamin C) dalam proses curing yang sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Purwatiningsih (1996) dalam Pengaruh Penggunaan Cabe Merah (*Capsicum annum. L*) pada Proses Curing Terhadap Residu Nitrit Dendeng Sapi. Cabe merah yang digunakan dalam penelitian tersebut mengandung vitamin C sebesar 19,06 mg/100 g buah dan penambahan dalam proses curing 0%, 5%, 10%, dan 15%. Selama perlakuan pendahuluan ebelum dibuat produk dendeng, proses curing dilakukan pada suhu 2-4°C selama 24 jam. residu nitrit berturut-turut 97,22 ppm; 84,24 ppm; 43,41 ppm; dan 27,32 ppm pada penggunaan cabe merah 0%, 5%, 10% dan 15%. Sedangkan penggunaan konsentrasi cabe merah tersebut tidak mempengaruhi kadar air yang beda nyata, yaitu 62,61 (%wb) Dalam penelitian Purwatiningsih (1996) tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi cabe merah yang ditambahkan maka semakin tinggi pula kandungan vitamin C nya untuk mereduksi nitrit menjadi nitrit oksida sehingga semakin kecil residu nitrit daging curing yang kadar air nya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Menurut Fiddler et al. (1973) vitamin C dapat mempercepat pembentukan nitrit oksida dari nitrit. Hal ini akan menurunkan kadar residu nitrit dalam daging curing sehingga kadar residu nitrit daging curing akan rendah.

Derajat keasaman (pH) kondisi curing juga mempengaruhi residu nitrit, yaitu terdapat pH optimum nitrit dikonversikan menjadi nitrit oksida. Dari hasil penelitian bahwa penggunaan berbagai variasi konsentrasi ekstrak jeruk nipis (0%, 2%, 4% dan 6%) tersebut didapatkan pH optimum proses curing yaitu antara 5,233-5,475 (Tabel 2) dan berpengaruh pada penurunan residu nitrit (Tabel 2). Dari masing-masing konsentrasi, pH yang paling rendah adalah pada pengukuran hari ke-6. Pengaruh pH pada pengamatan hari ke-6 ini daging juga mempunyai kadar residu nitrit paling kecil dibanding pada pengamatan hari ke-0, 2 dan 4 (pada konsentrasi yang sama).

Di sisi lain, selain mempengaruhi residu nitrit daging curing, pH juga mempengaruhi kadar air produk daging curing. pH yang semakin asam menyebabkan air daging menurun. Daging kehilangan cairan (weep) dan kadar air daging pun menurun sehingga tekstur daging menurun dibandingkan daging segar. Dari semua perlakuan didapatkan bahwa pada pengamatan hari ke-6 konsentrasi

ekstrak jeruk nipis 6% dan 4% menghasilkan daging curing dengan residu nitrit yang tidak beda nyata. Jadi penggunaan ekstrak jeruk nipis 4% merupakan konsentrasi yang lebih baik dalam proses curing.

KESIMPULAN

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan beberapa hal antara lain yaitu: Penambahan ekstrak jeruk nipis dalam proses curing dapat mengendalikan proses curing karena berpengaruh terhadap pH, kadar air dan residu nitrit daging curing. Nilai pH daging curing yang semakin menurun setiap hari pengamatan menyebabkan kadar air daging curing yang semakin menurun pula, karena pH rendah menyebabkan cairan dalam daging tereksudasi keluar. Semakin banyak ekstrak jeruk nipis yang ditambahkan, semakin besar pula peran vitamin C dalam proses curing, sehingga residu nitrit dalam daging semakin kecil. Pengamatan hari ke-4 dan ke-6 pada penggunaan konsentrasi 4% dan 6% menunjukkan sifat-sifat daging curing yang hampir sama. Residu nitrit dan kadar air daging curing pada hari ke-6 menunjukkan penambahan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4% tidak beda nyata dengan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 6%. Jadi konsentrasi ekstrak jeruk nipis yang lebih baik dalam mengendalikan proses curing adalah dengan penambahan konsentrasi ekstrak jeruk nipis 4% selama pengamatan hari ke-4 sampai ke-6. Nilai pH daging curing dari 5,266 turun menjadi 5,240. Kadar air 69,836 (%wb) turun menjadi 66,616 (%wb) dan residu nitrit daging curing adalah 28,947 ppm menjadi 19,118 ppm. 5. Proses curing dapat dilakukan dengan waktu yang lebih pendek yakni 4-6 hari dengan penggunaan ekstrak jeruk nipis adalah 4% merupakan perlakuan yang lebih baik selama proses curing. Hipotesa awal penelitian yaitu konsentrasi ekstrak jeruk nipis dalam konsentrasi rendah (0%-6%) dapat menurunkan residu nitrit dengan memperhatikan kehilangan cairan daging karena mengandung asam askorbat dapat diterima

DAFTAR PUSTAKA

- Anon. 2004. Jeruk Nipis Cegah Kekambuhan Batu Ginjal. www.tlup12.id. 28 Februari 2008.
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, Wotton M. 1987. Ilmu. Pangan. Penerjemah: Purnomo H, Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Cassens RG, Ito T, Lee M. 1979. Reaction of nitrite on meat. *Food Tech* 33: 46-54).
- Fiddler W, Pensabene JW, Piotrowski EG, Doerr RC, Wasserman AE. 1973. Use of sodium ascorbate or erythorbate to inhibit formation of n-nitrosodimethylamine in frankfurters. *Food Sci* 38 (6): 1084-1086
- Forrest JC, Aberle ED, Hedrick HB, Judge MD, Markel RA. 1975. *Principle of Meat Science*. W. H. Freeman and Company. San Fransisco, CA.
- Lawrie RA. 1985. *Meat Science*. 4th ed. Pergamon Press. New York.
- Margono T, Suryati D, Hartinah S. 1993. Pengawetan dengan Bahan Kimia I. Teknologi Tepat Guna. www.iptek.net.id. 15 Maret 2008
- Meyer LH. 1973. *Food Chemistry*. Chartes. E. Tuttle Co., Tokyo.
- Miller SA. 1980. Balancing the risk regarding the use of nitrite in meat. *J Food Technol* 34 (4): 254-257.
- Price JF, Schweigert BS. 1971. *The Science of Meat and Meat Product*. W. H Freeman and Co., San Fransisco, CA.

- Purwatiningsih E. 1996. Pengaruh Penggunaan Cabe Merah (*Capsicum annum* L.) pada Proses Kyuring Terhadap Residu Nitrit Dendeng Daging sapi. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pangan UGM. Yogyakarta.
- Romans JR, Costello WJ, Carlson WC, Greaser ML, Jones KW. 2000. The Meat We Eat. 14th ed. Interstate Printers and Publishers, Inc. Danville, IL.
- Sarwono B. 1991. Jeruk dan kerabatnya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Setiaji, B., et al., 1998. Kajian Kimiawi Pangan II. Penerbit Tiara Wacana, Yogyakarta.
- Soeparno. 1994. Ilmu dan Teknologi Daging. Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta.
- Sofos JN, Busta FF. 1980. Alternatives to the use of nitrites as an antibotulinal agent. Food Tech 34 (5): 244-251.
- Tabrani. 2001. Pengaruh Proses Pelayuan Terhadap Keempukan Daging. www.tumoutou.net. 13 Maret 2008.
- Winarno FG. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gramedia, Jakarta.

Pengaruh ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium alicenoda* x *Dendrobium tomie* dan *Phalaenopsis pinlong-cinderella* x *Vanda tricolor* pada medium Vacin dan Went

Effect of sweet potato extract and fish emulsion on growth of orchid plantlet *Dendrobium alicenoda* x *Dendrobium tomie* and *Phalaenopsis pinlong-cinderella* x *Vanda tricolor* on medium Vacin and Went

AGNESTASIA DHINI SILVIASARI, SRI HARTATI, NANDARIYAH

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

Manuskrip diterima: 4 September 2013. Revisi disetujui: 6 Januari 2014.

Abstract. Silviasari AD, S Hartati, Nandariyah. 2014. Effect of sweet potato extract and fish emulsion on growth of orchid plantlet *Dendrobium alicenoda* x *Dendrobium tomie* and *Phalaenopsis pinlong-cinderella* x *Vanda tricolor* on medium Vacin and Went. *Biofarmasi* 12: 27-39. The aim of this research was to investigate the influence of sweet potato extract, fish emulsion, and combination of fish emulsion and sweet potato extract on growth of planlet of orchid. The research was arranged in Completely Randomized Design (CRD) with two factors and three replications. The first factor was sweet potato extract: 0 g/L, 150 g/L, and 300 g/L. The second factor was fish emulsion: 0 mL/L, 2 mL/L, and 4 mL/L. Data of *D. alicenoda* x *D. tomie* was analyzed by F test at 5% level, and it would be continued to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at 5% level if there was significant. The result non significant data used the descriptive. *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor* planlet was analyzed by descriptive analysis. The result for *D. alicenoda* x *D. tomie* planlet showed that sweet potato extract could promote time of root growth fast, promote length and number of root. Fish emulsion effective to promote time of root growth fast. For *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor* planlet, sweet potato extract could promoted time of root growth, length of root, number of root, height of planlet, number of leaf, and weight of leaf, and fish emulsion promoted growth of planlet on number of root, height of planlet, number of leaf, and weight of leaf. The combination both of them promoted time of root growth, length of root, number of roots, height of planlet, number of leaves, length of leaf and weight of leaf of planlet *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*.

Keywords: *Dendrobium*, fish emulsion, growth, orchid plantlet, *Phalaenopsis*, sweet potato extract, Vacin and Went, *Vanda*

PENDAHULUAN

Keindahan bunga anggrek menjadikan anggrek mendapat tempat tersendiri di dunia tanaman hias dan tidak tergantikan dengan tanaman hias yang lain. Hal ini pula yang menyebabkan anggrek bernilai ekonomis tinggi. Yusnida et al. (2006) menyampaikan bahwa anggrek memiliki nilai ekonomis yang tinggi bila dibandingkan dengan tanaman hias lainnya, baik untuk bunga potong dan bunga pot. Oleh sebab itu, kelestarian dan mutu bunga anggrek harus selalu dijaga. Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu bunga anggrek atau mendapatkan kultivar baru adalah dengan menyilangkan antar tetua yang mempunyai karakter-karakter tertentu. Dengan demikian semakin luas keragaman dunia anggrek.

Anggrek menempati peringkat tertinggi baik dari segi produksi dan luas panen, tetapi hasil tangkai per satuan luasnya masih rendah. Oleh karena itu selain kualitas diperlukan peningkatan kuantitas dengan cara membentuk hibrida baru yang dapat memproduksi dalam jumlah yang banyak dalam satu satuan waktu. Peningkatan kuantitas ini

juga diperlukan sebagai upaya untuk mengantisipasi impor bibit dan tanaman dewasa anggrek dari berbagai negara senilai \$ 536.566 US pada tahun 1996. Untuk memenuhi kebutuhan bibit, diperlukan jumlah bibit yang banyak dalam waktu yang singkat. Oleh karena itu diperlukan populasi anggrek yang dapat dengan cepat dipanen buahnya, membentuk protokorm, dan memiliki pertumbuhan planlet dan tanaman kompotan dengan cepat (Bety 2004)

Persilangan anggrek yang sering dilakukan adalah persilangan interspesifik dan intergenerik. Salah satu contoh persilangan interspesifik adalah *D. alicenoda* x *D. tomie* sedangkan persilangan intergenerik adalah antara *Phalaenopsis* x *Vanda*, dalam penelitian ini digunakan *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*. Namun persilangan antar genus jarang berhasil karena terdapat kendala, seperti abnormalitas pada meiosis dan rendahnya fertilitas (Tanaka dan Kamaemoto 1961). Keberhasilan persilangan baik antar spesies maupun antar genus akan menambah kekayaan anggrek sehingga perlu dilakukan suatu upaya untuk memelihara dan melestarikan jenis baru yang

muncul dari persilangan tersebut. Namun permasalahan yang muncul kemudian adalah biji anggrek sulit untuk hidup apabila dibudidayakan secara konvensional. Salah satu cara yang efektif untuk menumbuhkan benih anggrek adalah dengan melakukan metode kultur jaringan.

Medium kultur jaringan mengandung unsur-unsur hara makro dan mikro dalam bentuk garam anorganik, gula sebagai sumber energi, vitamin, asam amino, zat pengatur tumbuh, persenyawaan organik, bahan pematidat dan air. Penggunaan senyawa organik adalah untuk merangsang pembelahan sel, mendorong proses diferensiasi dan sumber unsur hara bagi tanaman.

Pada dasarnya, senyawa organik dapat berasal dari macam-macam buah atau sayuran dengan syarat buah dan sayur tersebut tidak mengandung zat yang berbahaya ataupun menghambat pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu, penggunaan senyawa organik dapat dimodifikasi dengan bahan organik lain selain yang telah disebutkan. Salah satu bahan organik yang dapat dimanfaatkan adalah ubi jalar dan emulsi ikan. Ubi jalar tergolong umbi-umbian, dalam kultur jaringan umbi-umbian yang umum digunakan adalah kentang. Namun, dari segi ekonomis ubi jalar lebih murah dan lebih mudah diperoleh. Selain itu, kedua umbi tersebut sama-sama mengandung zat-zat yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman.

Ubi jalar merupakan sumber karbohidrat, protein serta mengandung beberapa macam vitamin seperti vitamin B, niacin, vitamin A, riboflavin, terutama kandungan tiamin sebanyak 0,1 mg/100 g. Tiamin termasuk vitamin B1 yang berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel pada meristem akar (Untari dan Puspitaningtyas 2006).

Emulsi ikan merupakan bahan organik yang berasal dari hewan, emulsi ikan mengandung asam amino triptopan dan vitamin B1. Triptopan dikenal sebagai bahan dasar pembentuk zat pengatur tumbuh golongan auksin dan vitamin B1 termasuk kelompok fitohormon, yaitu suatu zat yang dalam jumlah sedikit mampu memacu pertumbuhan tanaman (Anon 2008). Auksin sendiri di dalam kultur jaringan berfungsi untuk memacu pertumbuhan akar dan merangsang kalus. Aplikasi penggunaan ubi jalar dan emulsi ikan adalah dengan menambahkan ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan ke dalam medium Vacin dan Went (VW).

Medium Vacin dan Went merupakan medium tanam khusus untuk mengkulturkan anggrek. Penambahan ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan pada medium VW diharapkan dapat meningkatkan kualitas dan pertumbuhan anggrek.

Penelitian ini bertujuan untuk: Mengetahui pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap pertumbuhan planlet anggrek Mengetahui pengaruh emulsi ikan terhadap pertumbuhan planlet anggrek. Mengetahui pengaruh kombinasi emulsi ikan dan ubi jalar terhadap pertumbuhan planlet anggrek.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta mulai bulan April-Oktober 2009

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie* (H1) dan *Ph. 'pinlong Cinderella* x *V. tricolor* (H2), medium Vacin and Went (VW), air kelapa 100 mL/L/l, ekstrak ubi jalar putih 0g/L, 150 g/L, 300 g/L, emulsi ikan 0 mL/L/l, 2 mL/L/l, 4 mL/L/l, arang aktif 1 g/L, aquadest steril, sabun cuci, spirtus, alkohol 96 %

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol-botol kultur, rak kultur, *laminar air flow cabinet* (LAFC), bunsen, botol semprot, autoklaf, *magnetic stirrer* atau *hot plate stirrer*, pH meter, gelas ukur, pipet, plastik *prophopilen* (pp) 0,04 mm, karet, tissue, kertas label, kertas aluminium foil, peralatan diseksi (pinset besar dan kecil, pisau scalpel dan pemes, gunting eksplan), timbangan analitik

Cara kerja

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Dua Faktorial

Faktor I adalah ekstrak ubi jalar dengan taraf sebagai berikut: I0: ekstrak ubi jalar 0 g/L; I1: ekstrak ubi jalar 150 g/L; I2: ekstrak ubi jalar 300 g/L. Faktor II adalah emulsi ikan dengan taraf konsentrasi sebagai berikut: F0: emulsi ikan 0 mL/L/l; F1: emulsi ikan 2 mL/L/l; F2: emulsi ikan 4 mL/L/l. Dengan demikian diperoleh 18 kombinasi perlakuan yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali yaitu sebagai berikut:

D. alice-noda x *D. tomie*

H1F0I0 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H1F0I1 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H1F0I2 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 300 g/L
H1F1I0 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H1F1I1 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H1F1I2 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 300 g/L
H1F2I0 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H1F2I1 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H1F2I2 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 300 g/L

Ph. pinlong-cinderella x *V. tricolor*

H2F0I0 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H2F0I1 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H2F0I2 : emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 300 g/L
H2F1I0 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H2F1I1 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H2F1I2 : emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 300 g/L
H2F2I0 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 0 g/L
H2F2I1 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 150 g/L
H2F2I2 : emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 300 g/L

Pelaksanaan penelitian

Sterilisasi alat: Alat-alat yang disterilkan adalah botol kultur, pinset besar dan kecil. Alat-alat tersebut dicuci hingga bersih menggunakan sabun cuci lalu dikeringkan. Setelah kering, di bungkus dengan kertas koran (kecuali botol kultur), kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada tekanan 1,5 kg/cm² selama 45 menit.

Pembuatan larutan stok: Pembuatan larutan stok dilakukan dengan cara menimbang bahan-bahan kimia sesuai komposisi medium VW dan diencerkan dengan aquades steril. Larutan tersebut distirer hingga benar-benar homogen menggunakan magnetic *stirrer*, lalu dimasukkan ke dalam botol dan disimpan pada lemari pendingin.

Pembuatan medium: Menimbang ubi jalar sesuai dengan perlakuan (0, 150 dan 300 g/L), potong kotak-kotak, menambahkan air aquadest dan diblender kemudian direbus. Setelah itu jus ubi jalar disaring untuk diambil ekstraknya. Mengukur emulsi ikan sesuai dengan perlakuan (0, 2, dan 4 mL/L). Melarutkan larutan stok medium VW ke dalam aquadest. Melarutkan emulsi ikan, ekstrak ubi jalar dan kombinasi dari keduanya ke dalam larutan stok yang telah dicampur dengan aquadest

Memasukkan 20 gram gula ke dalam larutan medium sembari diaduk dengan *magnetic stirrer*; Setelah gula tercampur, memasukkan arang aktif 1 gram; Mengukur pH larutan medium sampai pada angka 5,8 karena pada saat medium di autoklaf maka pH akan turun. Sebelum diautoklaf, pH diukur dengan pH meter dan menambahkan NaOH 1 N apabila pH larutan ingin ditingkatkan dan HCl 1 N apabila ingin diturunkan; Menambahkan 8 gram agar-agar ke dalam larutan medium dipanaskan hingga mendidih

Pembuatan larutan medium VW ini digunakan untuk 40 botol kultur, yang masing-masing botol diisi dengan sekitar 25 ml. Kemudian setelah larutan tersebut mendidih dituangkan ke dalam botol-botol kultur, lalu ditutup dengan plastik pp dua lapis. Botol- botol kultur yang telah diisi dengan larutan tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi pada tekanan 1,5 kg/cm² selama 45 menit. Selanjutnya botol-botol tersebut disimpan pada rak-rak kultur. Selama satu hingga dua hari botol-botol medium kultur tersebut diamati, apabila muncul kontaminasi segera disingkirkan.

Penanaman eksplan: Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Laminair Air Flow Cabinet*. Botol kultur terlebih dahulu dipanasi di bagian mulut dan dalam botol untuk mencegah kontaminasi. Selama penanaman mulut botol selalu didekatkan dengan api bunsen. Selanjutnya eksplan diambil menggunakan pinset steril yang setiap digunakan terlebih dahulu dipanaskan di atas api bunsen. Kemudian eksplan dimasukkan ke dalam botol kultur dan mulut botol kembali dipanasi. Kemudian botol kultur ditutup dengan kertas aluminium foil dan plastik polivenil

Pemeliharaan: Pemeliharaan botol-botol kultur dilakukan dengan cara diletakkan pada rak-rak kultur sesuai dengan perlakuannya yang kondisi ruangnya diatur pada suhu 18-20oC menggunakan pendingin ruangan. Botol-botol tersebut setiap dua hari sekali disemprot dengan spirtus untuk mencegah kontaminasi.

Variabel Penelitian

Saat muncul akar pertama (HST): Pengamatan variabel saat muncul akar pertama dilakukan setiap hari. Penentuannya dilakukan dengan menghitung hari pertama sejak awal penanaman hingga muncul akar pertama.

Jumlah akar: Jumlah akar diamati pada akhir pengamatan, dilakukan dengan menghitung jumlah akar yang muncul pada setiap planlet.

Panjang akar (cm): Panjang akar diamati pada akhir pengamatan, dilakukan dengan mengukur panjang akar dari pangkal akar sampai ujung akar.

Tinggi planlet (cm): Tinggi planlet diamati pada akhir pengamatan. Pengukuran tinggi planlet ditentukan dari pangkal batang hingga ujung daun tertinggi yang ditangkupkan.

Jumlah daun: Jumlah daun diamati pada akhir pengamatan, dilakukan dengan menghitung jumlah daun yang muncul pada setiap planlet.

Panjang daun (cm): Panjang daun diamati pada awal dan akhir pengamatan

Lebar daun (cm): Lebar daun diamati pada akhir pengamatan.

Analisis data

Data hasil penelitian planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie* dianalisis menggunakan uji F pada taraf 5% . Apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan DMRT 5% sedangkan untuk data yang tidak signifikan dianalisis dengan uji deskriptif. Untuk data anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor* dianalisis secara deskriptif sebab terdapat sebagian planlet yang mati fisiologis dan terkontaminasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Anggrek termasuk makhluk hidup yang juga mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Anggrek yang dibudidayakan secara *in vitro* pun turut mengalami pertumbuhan seperti layaknya anggrek yang dibudidayakan secara *in vivo*. Pertumbuhan anggrek *in vitro* meliputi perkecambahan dan pembentukan akar, batang serta daun. Budidaya secara *in vitro* diterapkan sesuai dengan hukum totipotensi yang menyatakan bahwa sel-sel bersifat otonom dan pada prinsipnya mampu beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain 2009)

Teori totipotensi pada tumbuhan mendukung bertambah luasnya media yang dapat dijadikan tempat tumbuhan mengalami proses pertumbuhan. Media agar pada kultur jaringan dikatakan sangat mendukung teori tersebut. Pada media ini dilakukan berbagai modifikasi agar tanaman dapat tumbuh menjadi satu tanaman utuh yang mempunyai akar, batang dan daun. Pada penelitian mengenai kultur anggrek kali ini, modifikasi dilakukan pada media VW dengan penambahan emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar dengan tingkat konsentrasi yang berbeda kemudian diamati pertumbuhan eksplan dengan melihat variabel yang mewakili pertumbuhan guna melihat keefektifan bahan organik

Saat muncul akar

Akar merupakan bagian terpenting dari tanaman karena berkaitan dengan kelangsungan hidup tanaman. Pada sebagian besar tumbuhan tingkat tinggi akar berada di dalam tanah. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa akar berfungsi sebagai alat untuk menyerap unsur hara dan nutrisi serta sebagai penopang tubuh tanaman. Selain itu, akar juga berfungsi sebagai pengangkut dan tempat

penyimpanan makanan seperti pada wortel, bit gula dan ubi jalar. Kehadiran akar sangat dibutuhkan tanaman, oleh karena itu pada pembiakan vegetatif termasuk kultur jaringan, dilakukan berbagai upaya untuk membentuk perakaran.

D. alice-noda x D. tomie

Analisis ragam panjang akar anggrek *D. alice-noda x D. tomie* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap saat muncul akar. Namun, kombinasi antara kedua bahan organik tersebut tidak berpengaruh terhadap saat muncul akar. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Pada Gambar 1, pemberian ekstrak ubi jalar pada konsentrasi 150 g/L mempunyai pengaruh yang berbeda dibandingkan ekstrak ubi jalar 0 dan 300 g/L. Ekstrak ubi jalar 150 g/L mampu mempercepat saat muncul akar. Hal ini diduga karena ubi jalar selain mengandung vitamin B1 (tiamin) jugamengandung gula sebagai sumber energi bagi pertumbuhan tanaman. Gula atau sumber karbon pada media kultur berfungsi sebagai sumber energi utama dan dapat membantu pembentukan akar. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Widyastoeti (2003) bahwa sumber energi yang dibutuhkan dalam kultur jaringan umumnya dalam bentuk gula seperti sukrosa, fruktosa, dan glukosa, senyawa tersebut selain sebagai sumber energi juga sebagai bahan pembentuk sel-sel baru yang dalam konsentrasi cukup tinggi dapat merangsang perakaran.

Gambar 2. menunjukkan bahwa emulsi ikan 4 mL/L memberikan pengaruh yang berbeda dibandingkan emulsi ikan 0 mL/L dan 2 mL/L pada saat muncul akar bagi anggrek *D. alice-noda x D. tomie*. Emulsi ikan 0 dan 2 mL/L memberikan pengaruh yang tidak berbeda satu sama lain. Pemberian emulsi ikan pada kedua konsentrasi tersebut ternyata lebih mempercepat saat muncul akar daripada emulsi ikan 4 mL/L. Berdasarkan Gambar 2 tersebut, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin lama pula waktu yang diperlukan untuk memacu kemunculan pada planlet. Fenomena ini diduga karena kandungan asam amino triptopan pada emulsi ikan. Asam amino ini dapat membantu tanaman membentuk auksin endogen sehingga konsentrasi auksin semakin tinggi. Konsentrasi auksin yang tinggi dapat menghambat pembelahan dan regenerasi sel tanaman. Auksin yang terdapat pada emulsi ikan adalah IAA (Indole acetic acid), IAA terbentuk dari asam amino triptopan (Zainal 1994). Auksin pada emulsi ikan bekerja efektif pada konsentrasi 2 mL/L namun hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan konsentrasi 0 mL/L atau tanpa emulsi ikan.

Meskipun berdasarkan analisis ragam, tidak terjadi interaksi antara emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar namun kombinasi kedua bahan organik tersebut memberikan purata saat muncul akar tercepat pada kombinasi emulsi ikan 0 mL/L dan ekstrak ubi jalar 150 g/L bagi anggrek *D. alice-noda x D. tomie*. Meskipun diperoleh purata saat muncul akar tercepat pada perlakuan kombinasi 0 mL/L dan 150 g/L untuk anggrek *D. alice-noda x D. tomie* namun

hampir semua perlakuan mempunyai waktu yang tidak jauh berbeda untuk memunculkan akar pada planlet (Gambar 3). Hal ini berarti, perlakuan kombinasi tidak memberikan pengaruh pada saat muncul akar planlet anggrek tersebut.

Ph. pinlong-cinderella x V. tricolor

Pengakaran adalah fase dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur (Anon 2009).

Pada Gambar 4, perlakuan ekstrak ubi jalar memperlihatkan perbedaan terhadap saat muncul akar pada setiap konsentrasi begitu juga dengan perlakuan emulsi ikan (Gambar 5). Ekstrak ubi jalar 150 g/L mampu mempercepat saat muncul akar pada planlet anggrek ini dibandingkan ekstrak ubi jalar 0 dan 300 g/L. Sementara itu pemberian emulsi ikan dengan konsentrasi 0 mL/L atau tanpa pemberian emulsi ikan lebih mempercepat saat muncul akar daripada konsentrasi 2 dan 4 mL/L, disamping itu terdapat kecenderungan bahwa semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan yang diberikan pada media maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk pembentukan akar.

Kombinasi emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 300 g/L memberikan saat muncul akar tercepat (Gambar 6). Hal ini dimungkinkan terjadi karena pada kombinasi tersebut, ekstrak ubi jalar secara efektif dapat bekerja untuk pertumbuhan akar sebab ubi jalar mengandung tiamin. Untari dan Puspitaningtyas (2006) mengemukakan bahwa ubi jalar mengandung beberapa macam vitamin seperti vitamin B, niacin, vitamin A, riboflavin, dan terutama kandungan tiamin sebanyak 0,1 mg/100 g. Tiamin termasuk vitamin B1 yang berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel pada meristem akar

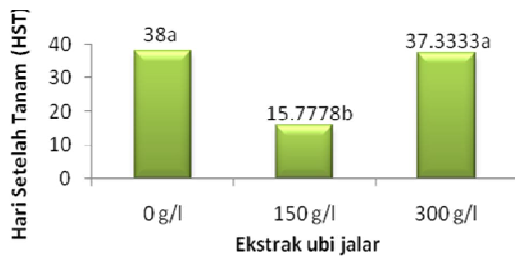
Sedangkan purata saat muncul akar terlama terdapat pada pemberian emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 300 g/L (Gambar 6). Pemberian emulsi ikan dan ubi jalar yang tinggi mengakibatkan saat muncul akar menjadi terhambat.

Panjang akar

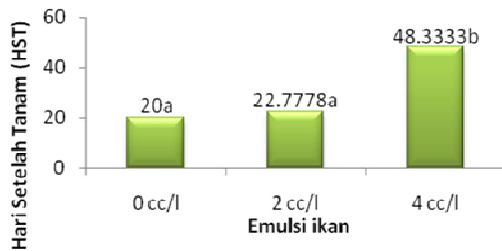
Panjang akar merupakan hasil perpanjangan sel-sel di belakang meristem ujung (Dewi 2007). Panjang akar mengindikasikan kerja zat pengatur tumbuh dan nutrisi yang tersedia dalam media bekerja maksimal. Akar yang panjang menunjukkan luas penyerapan unsur hara oleh tanaman sehingga mampu mencukupi kebutuhan nutrisi tanaman, selain itu semakin panjang akar maka diharapkan planlet sudah kuat untuk diaklimatisasi.

D. alice-noda x D. tomie

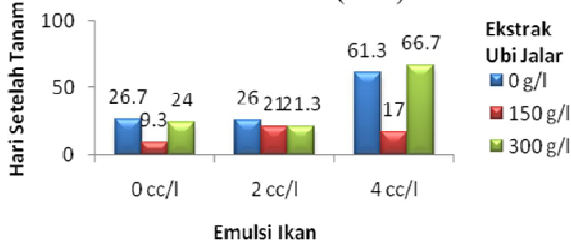
Analisis ragam panjang akar bagi anggrek *D. alice-noda x D. tomie* menunjukkan ekstrak ubi jalar berbeda nyata terhadap panjang akar. Akar terpanjang diperoleh pada perlakuan ekstrak ubi jalar 150 g/L.



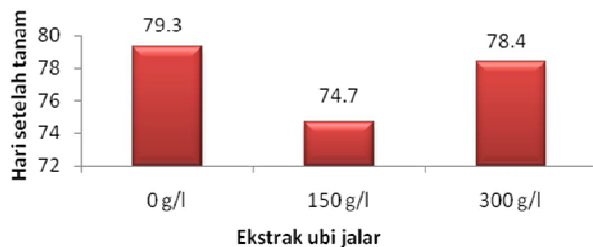
Gambar 1. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap saat muncul akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



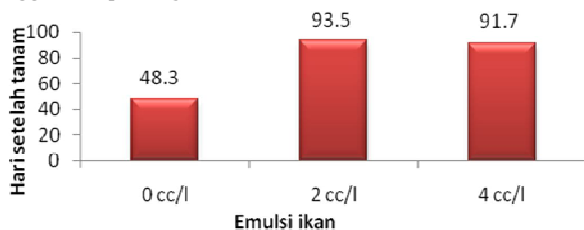
Gambar 2. Pengaruh emulsi ikan terhadap saat muncul akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



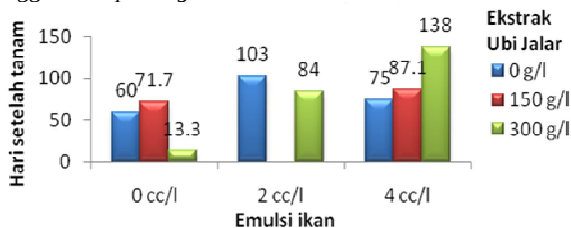
Gambar 3. Pengaruh kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap saat muncul akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



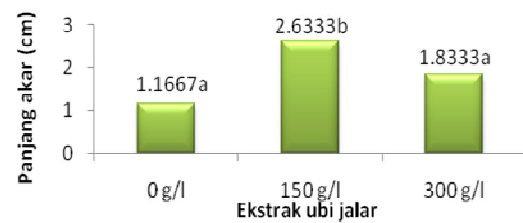
Gambar 4. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap saat muncul akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



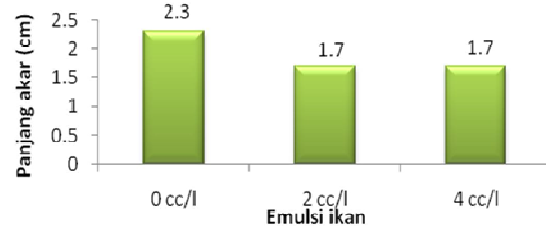
Gambar 5. Pengaruh emulsi ikan terhadap saat muncul akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



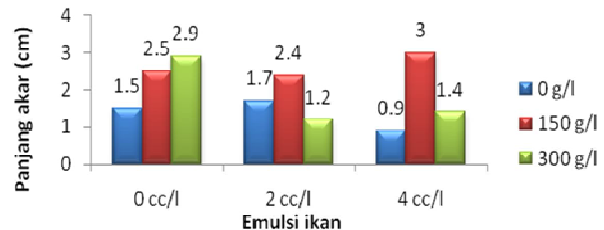
Gambar 6. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap saat muncul akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



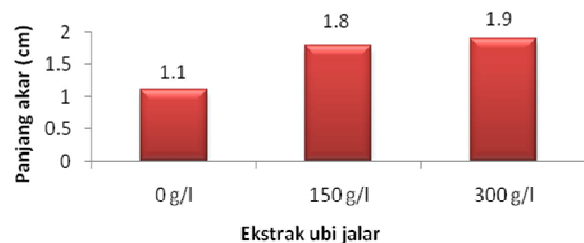
Gambar 7. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap panjang akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



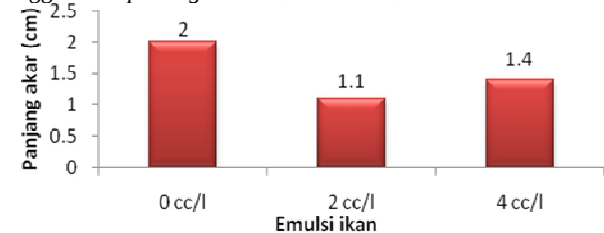
Gambar 8. Pengaruh emulsi ikan terhadap panjang akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



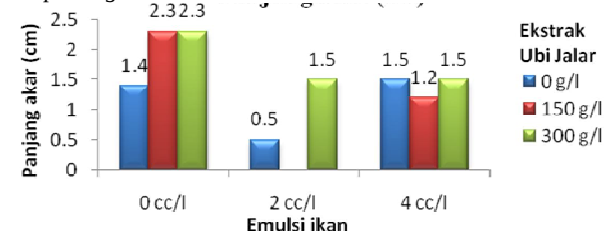
Gambar 9. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap panjang akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



Gambar 10. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap panjang akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



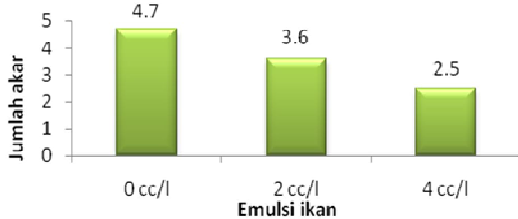
Gambar 11. Pengaruh emulsi ikan terhadap panjang akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



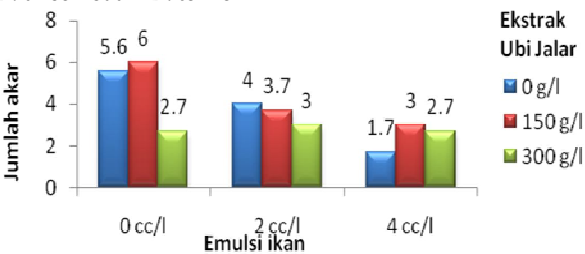
Gambar 12. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap panjang akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



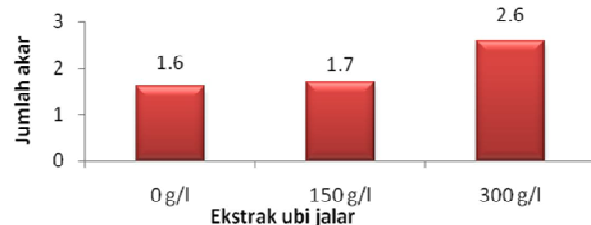
Gambar 13. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap jumlah akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



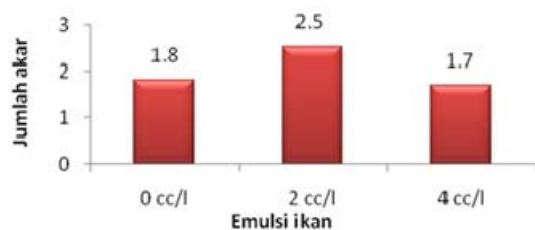
Gambar 14. Pengaruh emulsi ikan terhadap jumlah akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



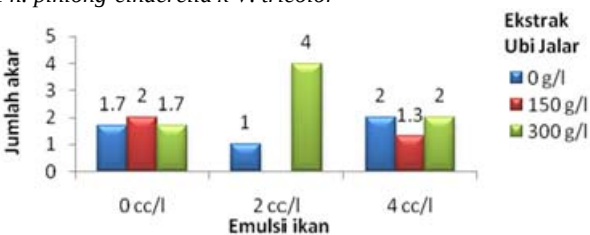
Gambar 15. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap jumlah akar anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



Gambar 16. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap jumlah akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



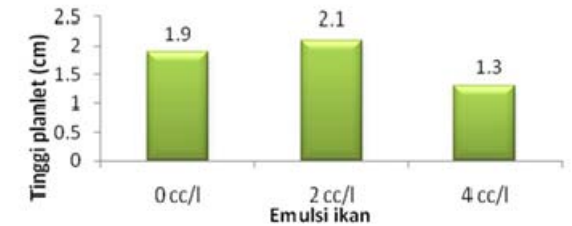
Gambar 17. Pengaruh emulsi ikan terhadap jumlah akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



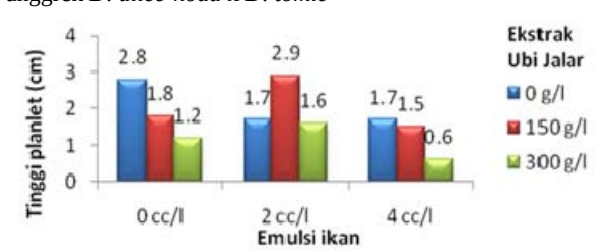
Gambar 18. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap jumlah akar anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



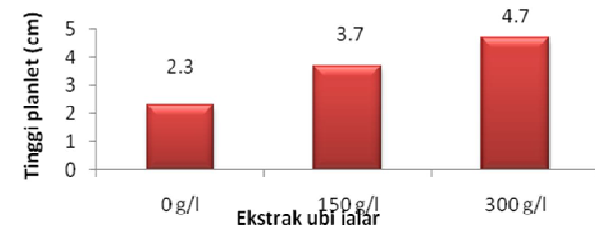
Gambar 19. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



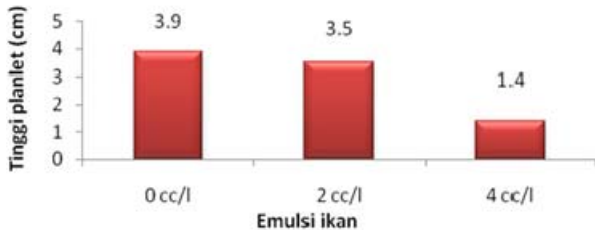
Gambar 20. Pengaruh emulsi ikan terhadap tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



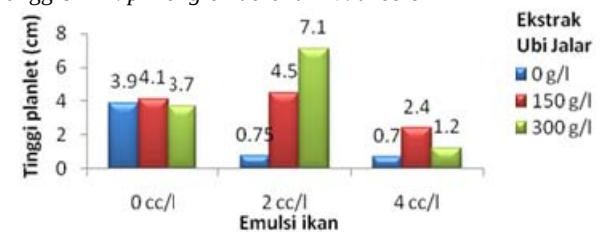
Gambar 21. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



Gambar 22. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap tinggi planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



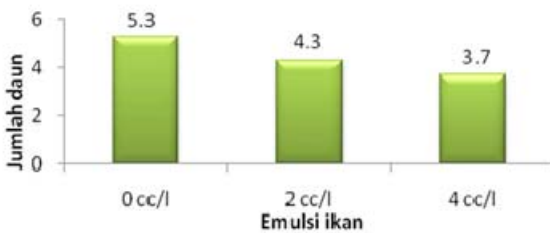
Gambar 23. Pengaruh emulsi ikan terhadap tinggi planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



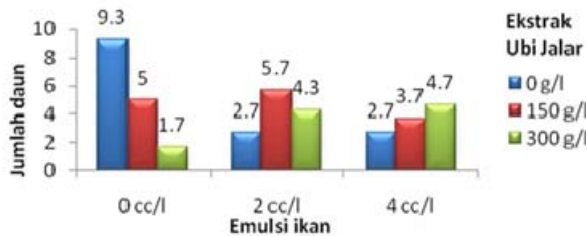
Gambar 24. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap tinggi planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 25. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap jumlah daun anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



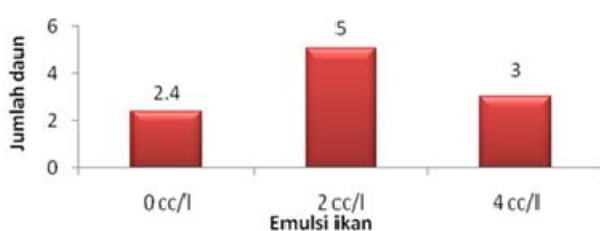
Gambar 26. Pengaruh emulsi ikan terhadap tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



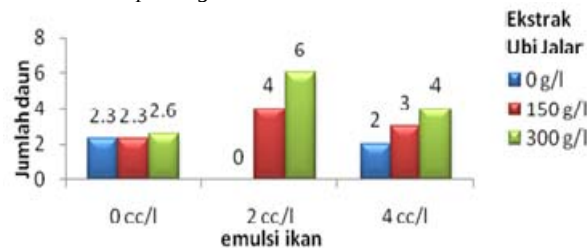
Gambar 27. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



Gambar 28. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap jumlah daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 29. Pengaruh emulsi ikan terhadap jumlah daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



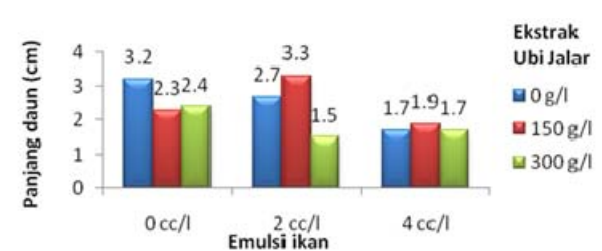
Gambar 30. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap jumlah daun planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 31. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap panjang daun anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



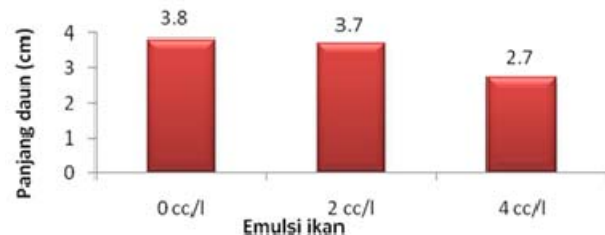
Gambar 32. Pengaruh emulsi ikan terhadap panjang daun anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



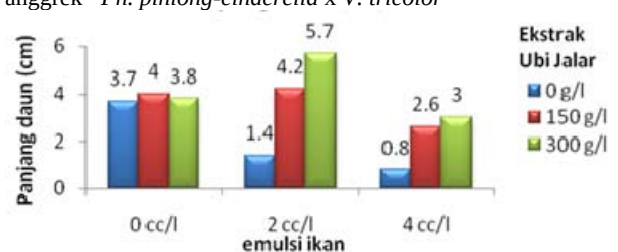
Gambar 33. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap panjang daun planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



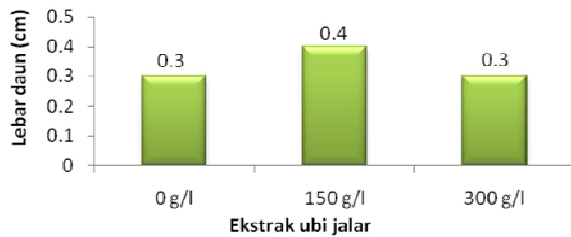
Gambar 34. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap panjang daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



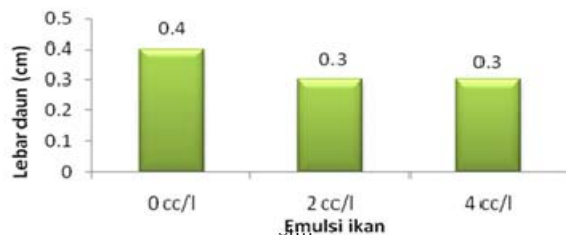
Gambar 35. Pengaruh emulsi ikan terhadap panjang daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



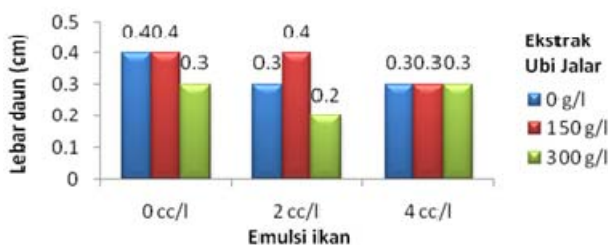
Gambar 36. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap panjang planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 37. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap lebar daun anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



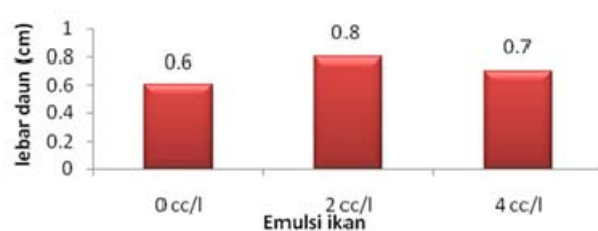
Gambar 38. Pengaruh emulsi ikan terhadap panjang daun anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



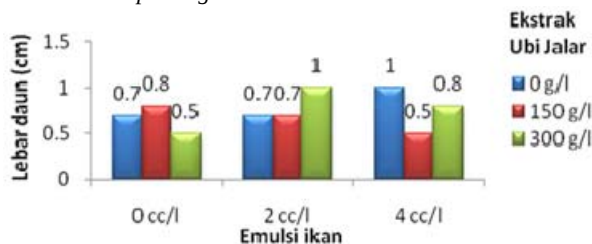
Gambar 39. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap lebar daun planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*



Gambar 40. Pengaruh ekstrak ubi jalar terhadap lebar daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 41. Pengaruh emulsi ikan terhadap lebar daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*



Gambar 42. Purata kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar terhadap lebar daun anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor*

Penambahan ekstrak ubi jalar 150 g/L mampu membantu sel-sel tanaman merangsang perakaran (Gambar 7). Sementara itu pada konsentrasi ekstrak ubi jalar 300 g/L diduga bahwa konsentrasi tersebut terlalu tinggi sehingga menghambat perakaran, sebab selain mengandung tiamin, ubi jalar juga mengandung karbohidrat. Hal ini sesuai dengan pendapat Widiastoety dan Purbadi (2003) bahwa penggunaan sumber karbohidrat yang tinggi akan menyebabkan tekanan osmotik akibat dari akumulasi karbohidrat. Tekanan osmotik ini akan merangsang akumulasi asam absisat (ABA) di dalam jaringan tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman.

Hasil analisis ragam panjang akar menunjukkan bahwa pemberian emulsi ikan pada media tidak memberikan pengaruh apapun terhadap panjang akar. Pada Gambar 8, akar terpanjang diperoleh dari media tanpa pemberian emulsi ikan atau pada konsentrasi 0 mL/L. Berdasarkan gambar justru dengan pemberian emulsi ikan, pertumbuhan akar terhambat. Kondisi demikian diduga karena konsentrasi IAA yang terlalu tinggi untuk suatu jenis tanaman tertentu akan mendorong sintesis etilen yang kemudian menghambat pemanjangan akar (Salisbury dan Ross 1995). IAA disintesis dari asam amino triptopan yang terkandung pada emulsi ikan. Penambahan asam amino pada media diduga mampu meningkatkan konsentrasi IAA yang dibentuk oleh tanaman.

Kombinasi ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan bagi anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie* tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan panjang akar. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 9 dimana panjang akar untuk semua perlakuan hampir sama. Namun purata tertinggi bagi akar terpanjang dihasilkan pada media dengan pemberian ekstrak ubi jalar 150 g/L dan emulsi ikan 4 mL/L.

Ph. pinlong-cinderella x *V. tricolor*

Berdasarkan Gambar 10, perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L menghasilkan planlet dengan akar terpanjang. Hal ini diduga karena ekstrak ubi jalar mengandung beberapa macam vitamin seperti vitamin B, niacin, vitamin A, riboflavin, dan terutama kandungan tiamin sebanyak 0,1 mg/100 g. Tiamin termasuk vitamin B1 yang berfungsi untuk mempercepat pembelahan sel pada meristem akar (Untari dan Puspitaningtyas 2006).

Pada Gambar 11, perlakuan emulsi ikan 0 mL/L memberikan akar terpanjang dibandingkan perlakuan 2 dan 4 mL/L. Maka dapat diartikan pula bahwa tanpa pemberian emulsi ikan, planlet dapat menghasilkan akar terpanjang. Emulsi ikan mengandung asam amino triptopan yang dapat berubah menjadi IAA melalui proses fisiologis pada tanaman. Dengan demikian maka akan semakin tinggi konsentrasi auksin yang disintesis oleh tanaman. Seperti yang dikatakan Zainal (1994) bahwa konsentrasi IAA yang relatif tinggi pada akar, akan menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar.

Berdasarkan pada Gambar 12 diketahui bahwa kombinasi emulsi ikan 0 mL/L dengan ekstrak ubi jalar 150 dan 300 g/L menghasilkan akar terpanjang. Kondisi demikian diduga karena akar pada anggrek ini sudah mampu mensintesis auksin sendiri. Menurut Salisbury dan

Ross (1995), diperkirakan sel akar umumnya mengandung cukup atau hampir auksin untuk memanjang secara normal.

Jumlah akar

Jumlah akar pada tanaman mengindikasikan seberapa luas jangkauan tanaman dalam menyerap nutrisi dan unsur hara. Semakin banyak jumlah akar maka semakin luas jangkauan tanaman tersebut dan semakin banyak hara yang diserap oleh tanaman. Hal ini sering didekati melalui luas permukaan akar dan jumlah unsur hara yang tersedia dalam media, karena kebutuhan tanaman akan unsur hara yang tersedia dalam media perakaran akan saling mengisi (Sitompul dan Guritno 1995). Selain itu, dalam kultur jaringan, jumlah akar menandakan bahwa tanaman eksplan tersebut sehat dan mampu menyerap nutrisi dari media secara optimal.

D. alice-noda x D. tomie

Hasil analisis ragam jumlah akar pada anggrek *D. alice-noda x D. tomie* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan jumlah akar. Berdasarkan Gambar 13 terlihat bahwa untuk setiap konsentrasi ekstrak ubi jalar menghasilkan jumlah akar yang hampir sama jumlahnya, meskipun terdapat kecenderungan jumlah terbanyak dihasilkan pada perlakuan 150 g/L. Sedangkan jumlah akar paling sedikit dihasilkan oleh planlet yang diberi perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L.

Emulsi ikan mengandung asam amino triptopan yang akan berubah menjadi auksin IAA dengan bantuan berbagai enzim yang dihasilkan oleh tanaman sehingga dapat dikatakan penambahan emulsi ikan berarti memberikan asam amino pada media untuk meningkatkan konsentrasi auksin pada media. Pemberian emulsi ikan diharapkan mampu meningkatkan jumlah akar pada planlet anggrek *D. alice-noda x D. tomie*. Namun berdasarkan analisis ragam jumlah akar diketahui bahwa pemberian emulsi ikan tidak berpengaruh terhadap jumlah akar anggrek tersebut. Pada Gambar 14, media tanpa emulsi ikan justru menghasilkan akar terbanyak dan seiring pertambahan konsentrasi emulsi ikan maka jumlah akar semakin sedikit. Kondisi ini, diduga karena auksin yang disintesis oleh planlet sudah mencukupi untuk planlet memproduksi akar.

Meskipun analisis ragam panjang akar menunjukkan bahwa kombinasi antara ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan tidak berpengaruh terhadap jumlah akar namun. Berdasarkan Gambar 15, purata jumlah akar terbanyak diperoleh pada media kombinasi emulsi ikan 0 mL/L dengan ekstrak ubi jalar 150 g/L. Sedangkan jumlah akar paling sedikit diperoleh pada perlakuan ekstrak ubi jalar 0 g/L dan emulsi ikan 4 mL/L.

Ph. pinlong-cinderella x V. tricolor

Perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L memberikan jumlah akar terbanyak pada planlet (Gambar 16). Ekstrak ubi jalar mengandung karbohidrat dan tiamin yang berfungsi memacu pertumbuhan akar. Menurut Widyastoeti (2003), gula selain sebagai sumber energi juga sebagai bahan

pembentuk sel-sel baru yang dalam konsentrasi cukup tinggi dapat merangsang perakaran.

Pemberian emulsi ikan 2 mL/L menghasilkan jumlah akar terbanyak (Gambar 17). Sedangkan jumlah akar paling sedikit diperoleh pada perlakuan emulsi ikan 4 mL/L. Menurut Zainal (1994), pemberian konsentrasi IAA yang relatif tinggi pada akar akan menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar tetapi meningkatkan jumlah akar. Pada pupuk emulsi ikan terdapat triptopan, salah satu bentuk asam amino. Triptopan selama ini dikenal sebagai bahan dasar pembentuk zat pengatur tumbuh golongan auksin (Anon 2008). Namun pemberian auksin dari emulsi ikan tidak direspon oleh tanaman, justru semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan maka jumlah akar semakin sedikit. Hal ini dapat dikarenakan planlet mampu mensintesis auksin, seperti yang dikatakan oleh Salisbury dan Ross (1995) bahwa akar selalu memiliki kemampuan mensintesis auksin dalam jumlah yang cukup bagi pertumbuhannya.

Gambar 18 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak ubi jalar 300 g/L dan emulsi ikan 2 mL/L memberikan jumlah akar terbanyak. Kombinasi kedua bahan organik pada konsentrasi tersebut dikatakan mampu memberikan hasil yang positif pada jumlah akar dibandingkan dengan konsentrasi dari kombinasi bahan organik yang lain.

Tinggi planlet

Pertumbuhan tanaman terlihat dari semakin tinggi tanaman tersebut ketika diberi nutrisi. Penambahan tinggi eksplan disebabkan oleh dua proses yaitu pembelahan dan pemanjangan sel. Kedua proses ini terjadi pada jaringan meristem, yaitu pada titik tumbuh batang (Heddy 1991). Tinggi tanaman merupakan ukuran tanaman yang sering diamati baik sebagai indikator pertumbuhan maupun parameter yang digunakan untuk mengukur pengaruh lingkungan atau perlakuan yang diterapkan. Ini didasarkan atas kenyataan bahwa tinggi tanaman merupakan ukuran pertumbuhan yang paling mudah dilihat (Sitompul dan Guritno 1995).

D. alice-noda x D. tomie

Berdasarkan analisis ragam tinggi planlet *D. alice-noda x D. tomie*, pemberian ekstrak ubi jalar berpengaruh terhadap tinggi planlet. Pada Gambar 19 terlihat bahwa planlet tertinggi dihasilkan pada media dengan pemberian ekstrak ubi jalar 0 dan 150 g/L. Sementara itu planlet terendah dihasilkan pada konsentrasi 300 g/L.

Pada Gambar 19, konsentrasi 0 dan 150 g/L, tinggi planlet tidak berbeda sama sekali. Namun pemberian ekstrak ubi jalar 300 g/L justru menghambat pertumbuhan tinggi tanaman. Hal ini terjadi diduga karena ubi jalar mengandung karbohidrat atau gula namun pemberian dalam jumlah tinggi justru akan menghambat pertumbuhan. Menurut Gandawijaya (1998), konsentrasi sukrosa yang tinggi dalam media kultur dapat menghambat pertumbuhan sel-sel somatik. Hal ini diduga akibat tekanan osmotik yang terlalu tinggi, sehingga menyebabkan kematian sel-sel akibat terjadinya plasmolisis atau pecahnya dinding sel.

Hasil analisis ragam tinggi planlet bagi anggrek *D. alice-noda x D. tomie*, pemberian emulsi ikan pada media

tidak memberikan pengaruh yang berbeda untuk pertumbuhan tinggi planlet. Meskipun demikian, terdapat kecenderungan purata tertinggi tinggi planlet pada konsentrasi 2 mL/L (Gambar 20). Emulsi ikan bagi tanaman menyumbangkan tidak hanya asam amino saja namun juga unsur nitrogen, fosfor dan kalium. Emulsi ikan adalah pupuk emulsi yang dihasilkan dari sisa-sisa cairan ikan yang diproses untuk emulsi ikan dan makanan ikan industri. Emulsi ikan memiliki kandungan NPK (Anon 2009). Menurut Luri (2009), kalium berfungsi untuk pemanjangan sel tanaman, memperkuat tubuh tanaman, memperlancar metabolisme dan penyerapan makanan.

Hasil analisis ragam tinggi planlet, kombinasi kedua bahan organik tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tinggi planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*, namun terdapat kecenderungan purata planlet tertinggi dihasilkan pada kombinasi emulsi ikan 2 mL/L dengan ekstrak ubi jalar 150 g/L. Akan tetapi, kondisi ini tidak jauh berbeda pada perlakuan kombinasi emulsi ikan 0 mL/L dengan ekstrak ubi jalar 0 g/L. Hal ini berarti perlakuan kombinasi emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar bagi planlet anggrek tersebut tidak berpengaruh apapun terhadap tinggi planlet (Gambar 21).

Ph. pinlong-cinderella x *V. tricolor*

Berdasarkan Gambar 22, planlet tertinggi terdapat pada media dengan konsentrasi 300 g/L. Kandungan karbohidrat pada konsentrasi tersebut mendukung pertumbuhan planlet sebab karbohidrat dapat digunakan untuk proses metabolisme dan biosintesis hormon secara endogen seperti hormon auksin, sitokinin dan giberelin. Auksin dan giberelin dapat bekerja sama dalam proses pemanjangan batang (Widiastoety dan Purbadi 2003).

Berdasarkan Gambar 23, planlet tertinggi dihasilkan pada perlakuan emulsi ikan 0 mL/L atau tanpa pemberian emulsi ikan. Kondisi ini mengindikasikan tanpa bahwa pemberian emulsi ikan lebih baik untuk meningkatkan pertumbuhan tinggi planlet. Pada gambar tersebut terlihat bahwa semakin tinggi pemberian konsentrasi maka semakin pendek planlet yang dihasilkan. Hal ini diduga berkaitan dengan ketersediaan hormon auksin alami dalam tanaman yang sudah mampu bekerja efektif meningkatkan tinggi planlet.

Kombinasi ekstrak ubi jalar 300 g/L dengan emulsi ikan 2 mL/L memberikan hasil berupa planlet tertinggi. Kondisi demikian dapat terjadi karena kondisi fisiologis eksplan yang berbeda sebab eksplan merupakan hasil pembiakan dari biji sehingga mempunyai sifat genotip yang berbeda-beda pula dalam merespon perlakuan yang diberikan. Maka hal ini pun sesuai dengan pernyataan Abe dan Futsuhara (1984) bahwa kemampuan kebanyakan kalus dan diferensiasi organ dikendalikan secara genetik, sehingga masing-masing genotip tanaman akan memberikan respon yang berbeda.

Jumlah daun

Daun pada tanaman merupakan tempat berlangsungnya aktivitas fotosintesis yaitu proses pembentukan karbohidrat dari CO₂ dan H₂O serta cahaya matahari dengan bantuan klorofil yang terdapat pada daun. Oleh karena itu, prose

terbentuknya daun sangat penting bagi keberlangsungan kehidupan tanaman. Sitompul dan Guritno (1995) berpendapat bahwa pengamatan daun sangat diperlukan selain sebagai indikator pertumbuhan juga sebagai penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi seperti pada pembentukan biomassa tanaman

D. alice-noda x *D. tomie*

Berdasarkan analisis ragam jumlah daun planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie* diketahui bahwa perlakuan ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun. Meskipun demikian, purata jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan ekstrak ubi jalar 0 g/L. Kondisi demikian dapat dilihat pada Gambar 25.

Sementara itu untuk pemberian emulsi ikan, purata daun terbanyak pun diperoleh pada perlakuan 0 mL/L atau tanpa pemberian emulsi ikan. Hal ini diduga terjadi karena pengaruh sitokinin pada air kelapa yang diberikan secara merata pada setiap perlakuan. Menurut Salisbury dan Ross (1995) fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel. Pada media kultur ini, sitokinin diperoleh dari air kelapa, jadi pertumbuhan daun tidak dipengaruhi oleh emulsi ikan dan ekstrak ubi jalar.

Pada Gambar 25, semakin tinggi konsentrasi ekstrak ubi jalar yang diberikan maka semakin sedikit jumlah daun yang diberikan. Hal ini diduga karena planlet mengalami tekanan osmotik akibat penggunaan karbohidrat yang berasal dari ekstrak ubi jalar terlalu tinggi. Kondisi demikian terjadi pula pada penelitian Widiastoety dan Purbadi (2003) yang menyatakan bahwa penambahan 15,9 g karbohidrat yang berasal dari bubur ubi jalar baik varietas berdaging putih, merah, maupun ungu yang mengandung gula berkisar antara 2,0-6,7 % diduga menyebabkan pertumbuhan jumlah dan luas daun terhambat. Penghambatan tersebut disebabkan oleh pengaruh tekanan osmotik akibat penggunaan sumber karbohidrat dengan konsentrasi yang sangat tinggi.

Hal yang sama terjadi pula pada perlakuan emulsi ikan. Pada Gambar 26 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan yang diberikan terjadi kecenderungan semakin sedikit pula jumlah daun yang dihasilkan. Fenomena ini diduga terjadi karena planlet kelebihan unsur kalium, kalium selain diperoleh dari media dasar juga terdapat pada ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan. Menurut Anon (2008) pertumbuhan tanaman terhambat, sehingga tanaman mengalami defisiensi.

Analisis ragam jumlah daun menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan tidak berpengaruh terhadap jumlah daun. Meskipun demikian berdasarkan Gambar 27 purata jumlah daun terbanyak terdapat perlakuan ekstrak ubi jalar 0 g/L dan emulsi ikan 0 mL/L sedangkan jumlah daun paling sedikit terdapat pada perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L dan emulsi ikan 0 mL/L. Hal ini berarti kombinasi kedua bahan organik tersebut memberikan pengaruh negatif terhadap pertumbuhan jumlah daun planlet anggrek *Dendrobium*.

Ph. pinlong-cinderella x *V. tricolor*

Berbeda halnya dengan planlet anggrek *D. alice-noda* x *D. tomie*, planlet anggrek *Ph. pinlong-cinderella* x *V. tricolor* justru merespon baik penambahan ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan bagi pertumbuhan jumlah daun. Purata jumlah daun terbanyak dihasilkan pada perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L (Gambar 28). Perbedaan tanggapan ini dapat disebabkan oleh perbedaan genetik pada setiap tanaman seperti yang dikatakan Sitompul dan Guritno (1995) apabila bahan tanam yang mempunyai susunan genetik yang berbeda ditanam pada kondisi lingkungan sama maka keragaman tanaman yang muncul dapat dihubungkan dengan perbedaan susunan genetik dengan catatan bahwa faktor lain yang dapat berpengaruh konstan.

Eksrak ubi jalar mengandung karbohidrat yang dapat digunakan untuk proses metabolisme dan biosintesis hormon secara endogen seperti hormon auksin, sitokinin dan giberelin (Widiastoety dan Purbadi 2003). Selain itu karbohidrat merupakan sumber karbon dan energi yang banyak dibutuhkan ketika sel-sel bagian dalam meristem pucuk membelah dan membesar guna penyusunan jaringan baru sebagai pembentuk primordia daun (Sachs (1965).

Sementara itu pada Gambar 29 terlihat bahwa perlakuan emulsi ikan 2 mL/L menghasilkan jumlah daun terbanyak sedangkan jumlah daun paling sedikit dihasilkan pada perlakuan emulsi ikan 0 mL/L. Bagi planlet anggrek ini, ternyata penambahan emulsi ikan pada media memberikan pengaruh yang positif sebab apabila tanpa emulsi ikan, jumlah daun yang dihasilkan sedikit. Kondisi ini berbeda dengan yang dialami oleh planlet *D. alice-noda* x *D. tomie* karena perbedaan genotip pada kedua anggrek tersebut. Menurut Murdaningsih-Haeruman et al. (1999), perbedaan kemampuan regenerasi tidak hanya ditentukan oleh komposisi medium serta zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium dan faktor genetik, tetapi juga dipengaruhi oleh interaksi keduanya.

Gambar 30 memperlihatkan purata jumlah daun terbanyak terdapat perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 300 g/L sedangkan jumlah daun terpendek terdapat pada perlakuan emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 0 g/L. . Sementara itu untuk perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ekstrak ubi jalar 0 g/L jumlah daun berada di angka nol karena pertumbuhan planlet stagnan atau tidak terjadi penambahan jumlah daun. Hal demikian dapat terjadi karena kondisi fisiologis planlet yang berbeda-beda sehingga respon terhadap perlakuan pun berbeda pula

Panjang daun

Pertumbuhan dan perkembangan daun termasuk dalam fase pertumbuhan tanaman sehingga untuk mengetahui pertumbuhan tanaman dapat dilakukan melalui pengukuran daun. Panjang daun merupakan indikasi bahwa planlet tumbuh dan berkembang. Daun yang panjang akan memperluas bidang fotosintesis sehingga hasil fotosintesis semakin banyak untuk memenuhi nutrisi tanaman.

D. alice-noda x *D. tomie*

Hasil analisis ragam panjang daun menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan pada media tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan panjang daun

planlet. Pada Gambar 31, purata daun terpanjang diperoleh pada perlakuan 0 dan 150 g/L sedangkan daun terpendek dihasilkan pada perlakuan 300 g/L.

Menurut analisis ragam panjang daun, pemberian emulsi ikan pun tidak memberikan pengaruh pada panjang daun. Purata daun terpanjang diperoleh pada perlakuan 0 mL/L sedangkan daun terpendek dihasilkan pada perlakuan 4 mL/L (Gambar 32).

Berdasarkan Gambar 30, daun yang terpanjang terdapat pada planlet dengan perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ekstrak ubi jalar 150 g/L. Sedangkan daun yang terpendek terdapat pada planlet dengan perlakuan media emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 300 g/L. Kombinasi kedua bahan organik tersebut tidak berpengaruh pada panjang daun namun setiap konsentrasi menghasilkan rata-rata yang bervariasi. Hartmann et al. (1990) cit. Sumiarsih dan Priadi (2003) menyatakan bahwa setiap jenis tanaman mempunyai tanggap yang berbeda-beda terhadap jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan.

Ph. pinlong-cinderella x *V. tricolor*

Panjang daun merupakan salah satu indikasi pertumbuhan tanaman. Daun yang memanjang pada tanaman merupakan hasil dari proses metabolisme dan biosintesis dalam tubuh tanaman sehingga menghasilkan hormon yang menunjang pertumbuhan serta hasil dari penambahan zat pengatur tumbuh pada media tanam.

Gambar 33 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar 300 g/L mampu menghasilkan daun terpanjang daripada konsentrasi yang lain. Sedangkan daun terpendek dihasilkan pada konsentrasi ekstrak ubi jalar 0 g/L. Hal ini diduga karena kandungan karbohidrat pada ekstrak ubi jalar yang berfungsi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan daun. Karbohidrat memberikan efek positif bagi anggrek ini, seperti yang terjadi pada penelitian Aktar et al. (2008) dimana pada 40 dan 60 hari setelah tanam, daun terpanjang (0.52 and 0.62 cm) terdapat pada interaksi dari Knudson C dan bubur pisang. Hal ini dikarenakan kehadiran karbohidrat dari bubur pisang dengan konsentrasi tinggi. Begitu pula yang disampaikan oleh Wuryan (2008) bahwa hasil penelitian memperlihatkan perlakuan sukrosa 15-20 g/L memberikan hasil yang baik terhadap panjang, lebar dan jumlah daun planlet anggrek Vanda dibandingkan kontrol.

Gambar 34 menunjukkan bahwa pemberian emulsi ikan 0 mL/L memberikan daun terpanjang pada planlet sedangkan daun terpendek dihasilkan pada perlakuan 4 mL/L. Terdapat kecenderungan bahwa semakin tinggi konsentrasi emulsi ikan yang diberikan pada media maka semakin negatif efek yang ditimbulkan yaitu berupa penurunan panjang daun planlet.

Berdasarkan pada Gambar 35 purata daun terpanjang dihasilkan pada perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 300 g/L sedangkan purata daun terpendek dihasilkan oleh perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 0 g/L. Hal ini diduga karena faktor fisiologis dan sifat genotip planlet yang berbeda sehingga respon terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan berbeda-beda. Hal serupa terjadi pada perlakuan kombinasi (Gambar 36).

Lebar daun

Daun memegang peran penting pada tanaman yaitu sebagai tempat fotosintesis.. Fotosintesis merupakan kegiatan produksi makanan di daun atas bantuan klorofil dan cahaya matahari. Lebar daun menjadi indikator pertumbuhan tanaman dan menunjukkan luasnya bidang tempat fotosintesis

D. alice-noda x D. tomie

Analisis ragam lebar daun menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ubi jalar, emulsi ikan dan kombinasi dari kedua bahan tersebut tidak berpengaruh terhadap lebar daun planlet anggrek. Pada Gambar 37 ekstrak ubi jalar menghasilkan lebar daun yang hampir sama untuk setiap konsentrasi.

Berdasarkan pada Gambar 37 terlihat bahwa daun terlebar diperoleh pada perlakuan ekstrak ubi jalar 150 g/L sedangkan daun yang tersempit diperoleh pada perlakuan 0 g/L dan 300 g/L. Ekstrak ubi jalar memberikan sumbangan karbohidrat sebagai sumber energi untuk pertumbuhan daun planlet. Ubi jalar merupakan sumber karbohidrat dan sumber kalori yang cukup tinggi. Oleh karena itu, sangat baik digunakan untuk mendukung pertumbuhan planlet, namun penggunaan karbohidrat dalam konsentrasi yang tinggi (300 g/L) dapat menghambat pertumbuhan daun sebab dapat menimbulkan tekanan osmotik. Seperti yang dikemukakan oleh Widiastoety dan Purbadi (2003) bahwa secara visual tanaman yang mengalami tekanan karena pengaruh osmotik berupa penghambatan pertumbuhan ukuran daun.

Penggunaan emulsi ikan tidak memberikan pengaruh yang positif bagi pertumbuhan lebar daun (Gambar 38). Pada Gambar 38, daun terlebar diperoleh pada perlakuan 0 mL/L sedangkan daun tersempit diperoleh pada perlakuan 2 dan 4 mL/L. Lebar daun yang dihasilkan tidak jauh berbeda untuk setiap konsentrasi. Hal ini berarti bahwa pemberian emulsi ikan tidak berpengaruh terhadap lebar daun.

Berdasarkan hasil analisis ragam, perlakuan kombinasi ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan tidak berpengaruh terhadap lebar daun. Setiap perlakuan menghasilkan lebar daun yang hampir sama (Gambar 39). Daun terlebar dihasilkan pada perlakuan ekstrak ubi jalar 0 g/L dengan emulsi ikan 0 mL/L, ekstrak ubi jalar 150 g/L dengan emulsi ikan 0 mL/L dan ekstrak ubi jalar 150 g/L dengan emulsi ikan 2 mL/L, sedangkan daun tersempit dihasilkan pada perlakuan ekstrak ubi jalar 300 g/L dengan emulsi ikan 4 mL/L

Ph. pinlong-cinderella x V. tricolor

Ekstrak ubi jalar 0 g/L memberikan daun terlebar pada planlet sedangkan daun tersempit dihasilkan pada ekstrak ubi jalar 150 g/L (Gambar 40). Sementara itu emulsi ikan 2 mL/L menghasilkan daun terlebar sedangkan 0 dan 4 mL/L menghasilkan daun tersempit (Gambar 41).

Ekstrak ubi jalar selain mengandung karbohidrat yang dapat dipergunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan juga mengandung phosphor (Anon 2005). Phospor berfungsi dalam pertumbuhan daun. Schultheis and Dufault (1994), mengatakan bahwa penambahan unsur

N dan P dalam media pada tanaman semangka dapat meningkatkan pertumbuhan luas dan jumlah daun. Pada Gambar 40 tanpa pemberian ekstrak ubi jalar, planlet ternyata dapat menghasilkan daun terlebar. Kondisi demikian dapat terjadi karena terjadi penggunaan karbohidrat dalam konsentrasi tinggi dapat menimbulkan tekanan osmotik sehingga menghambat pertumbuhan daun.

Pemberian emulsi ikan menghasilkan daun terlebar pada perlakuan 2 mL/L. Hal ini diduga karena planlet menyerap dengan baik nutrisi yang terdapat pada emulsi ikan dan dipergunakan untuk pertumbuhan lebar daun. Seperti halnya pada ekstrak ubi jalar, emulsi ikan juga mengandung unsur N P K yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan pertumbuhan luas daun.

Berdasarkan Gambar 42 diketahui bahwa lebar daun planlet pada setiap perlakuan mempunyai purata yang hampir sama. Purata daun terlebar terdapat pada perlakuan emulsi ikan 2 mL/L dan ubi jalar 150 g/L serta emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 0 g/L sedangkan rata-rata daun terkecil terdapat pada perlakuan emulsi ikan 0 mL/L dan ubi jalar 300 g/L serta emulsi ikan 4 mL/L dan ubi jalar 150 g/L. Kondisi demikian dapat terjadi karena keadaan fisiologis tumbuhan akan memberikan respon yang berbeda-beda.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh berdasarkan penelitian ini adalah sebagai berikut: Pemberian ekstrak ubi jalar pada konsentrasi 150 g/L efektif mempercepat saat muncul akar baik pada anggrek *D. alice-noda x D. tomie* maupun anggrek *Ph. pinlong-cinderella x V. tricolor*. Pemberian emulsi ikan 2 mL/L menghasilkan akar terbanyak, daun terbanyak dan daun terlebar pada anggrek *Ph. pinlong-cinderella x V. tricolor* sedangkan bagi anggrek *D. alice-noda x D. tomie* efektif memacu tinggi planlet

DAFTAR PUSTAKA

- Abe T, Futsuhara Y. 1984. Varietal difference of plant regeneration from root callus tissues in rice. Japan J Breed 34: 147-155.
- Aktar, Nasiruddin KM, Hossain K. 2008. Effects of diferent media and organic additives interacion on in vitro regeneration of *Dendrobium* Orchid. J Agric Ruval Dev 6 (1&2): 69-74
- Anon. 2009. Fish Emulsion. <http://organicgardening.about.com>
- Anon. 2005. Tanaman Penghasil Pati. <http://www.iptek.net>
- Anon. 2008. Pemupukan dan Penyiraman. <http://adeniumspecies.com>
- Bety YA. 2004. Karakter Kegenjahan Beberapa Populasi F1 Anggrek Vanda. Prosiding Seminar Nasional Florikultura, Bogor, 4-5 Agustus 2004.
- Dewi I R. 2007. Rhizobacteria Pendukung Pertumbuhan Tanaman. Makalah. Fakultas Pertanian Universitas PadJadJaran. Jatinangor
- Gandawijaya D. 1998. Pengaruh sukrosa dan glutamine pada kultur anter *Solanum*. J Ilmiah Biologi 4: 98-102.
- Haryanto B, Marwoto B, Sutater T. 1998. Media kultur in vitro untuk konservasi klon-klon Harapan Krisan. J Hortikultura 8(2): 1060-1067
- Heddy S. 1991. Hormon Tumbuhan. Rajawali, Jakarta
- Luri S. 2009. Faktor-Faktor Penentu Keberhasilan Kultur Jaringan. www.belaJarkulturJaringan.com
- Murdaningsih Haeruman K, Qosim WA, Hadayati W, Darliah. 1999. Laporan hasil penelitian Pengaruh Kombinasi Auksin dan Sitokinin terhadap Multiplikasi in vitro Satu Kultivar Lili. Lembaga Penelitian

- Universitas Padjajajan Bandung dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Bagian Proyek Pengkajian Teknologi Pertanian Partisipatif Pusat, Jakarta.
- Purwanto A; E Ambarwati, F Setyaningsih. 2005. Kekerabatan antar anggrek spesies berdasarkan sifat morfologi tanaman dan bunga. *J Ilmu Pertanian* 12 (1): 1-11
- Sachs RM. 1965. Stem elongation. *Ann Rev Pl Physiol* 16: 73-96.
- Salisbury FB, Ross CW. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Schultheis JR, Dufault RJ. 1994. Watermelon seedling growth, fruit yield, and quality following pretransplant nutritional conditioning. *HortScience* 29: 1264-1268.
- Sitompul SM, Guritno B. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. UGM Press. Yogyakarta.
- Sumiarsih N, Priadi D. 2003. Pertumbuhan stek cabang sungkai (*Peronema canescens* Jack) pada berbagai Konsentrasi zat pengatur tumbuh (GA3) dalam media cair. *Jurnal Natur Indonesia* 6 (1): 53-56.
- Tanaka R, Kamaemoto H. 1961. Meiotic chromosome behavior in some intergeneric: Hybrids of the Vanda alliance. *Am J Bot* 48: 573-583.
- Untari R, Puspitaningtyas D. 2006. Pengaruh bahan organik dan NAA terhadap pertumbuhan anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam kultur in vitro. *Biodiversitas* 7 (3): 344-348.
- Widiastoety D, Purbadi. 2003. Pengaruh bubur ubi kayu dan ubi jalar terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium*. *J Hort* 13(1): 1-6.
- Widoastoety D. 2003. Menghasilkan Anggrek Silangan. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Wuryan. 2008. Pengaruh Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Vanda. www.papandiz.co.cc.htm
- Yusnida, Syafi'i W, Sutrisna. 2006. Pengaruh pemberian giberelin (GA3) dan air kelapa terhadap perkecambahan bahan biji anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) secara in vitro. *J Biogenesis Vol* 2(2): 41-46
- Zainal A. 1994. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa. Bandung.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Jakarta.

Daya hambat madu Sumbawa terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* isolat infeksi luka operasi

The inhibiting effect of Sumbawa honey bee to the growth of *staphylococcus aureus* isolated from surgical wound infection

DINIATI JULIANA ZULHAWA, MARYANI, NANA HOEMAR DEWI

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

Manuskrip diterima: 12 Juli 2013. Revisi disetujui: 20 Desember 2013.

Abstract. Zulhawa DJ, Maryani, Dewi NH. 2014. The inhibiting effect of Sumbawa honey bee to the growth of *Staphylococcus aureus* isolated from surgical wound infection. *Biofarmasi* 12: 40-44. Sumbawa Honey contains a high sugar, acid pH, inhibine, glycosides, polyphenols, and H₂O₂, which could inhibit bacterial growth. This study aimed to determine whether there Sumbawa Honey inhibition effect to the growth of *Staphylococcus aureus* isolated from surgical wound infection of Amal Sehat Hospital Sragen. This research is laboratory research using post test design only. The sampling technique used was quota sampling. The subject of this research are *S. aureus* isolated from surgical wound infection of Amal Sehat Islamic Hospital Sragen. The method used is pitting diffusion method. The pit on Muller Hinton agar was made using tools that created pit 6 mm in diameter. *S. aureus* was obtained standardized with 0.5 Mc Farland standard and then applied using a sterile cotton stick on Muller Hinton media and each of pit filled with aquabides as a negative control, amikacin disc as a positive control, Sumbawa Honey with the concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Incubated for 18-24 hours, then inhibition zone formed was measured. The data obtained were processed with the Statistical Product and Service Solution (SPSS). 15.0 for windows. Data analysis using One-Sample Test and T-Test. The results showed a significant inhibiting power of Sumbawa Honey on the growth of *S. aureus* clinical isolates and standard isolates. However, these effects do not have a statistically significant difference. As the conclusion, Sumbawa Honey has an inhibiting power at a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, 100% on the growth of *S. aureus* bacteria.

Keywords: Inhibiting effect, *Staphylococcus aureus*, Sumbawa honey bee, surgical wound

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab kematian yang tertinggi di Indonesia (Satyaputra, 1993). Kemungkinan terjadinya infeksi bergantung pada karakteristik mikroorganisme, resistensi terhadap zat-zat antibiotika, tingkat virulensi, dan banyaknya materi infeksius (Utama 2006). Rumah sakit adalah bagian integral organisasi pelayanan medik, yang bertugas memberikan layanan kuratif maupun preventif kepada masyarakat beserta lingkungannya (Wichaksana 2000). Seorang penderita yang masuk rumah sakit untuk menjalani perawatan berharap kesembuhan, perbaikan penyakit setidaknya keringanan keluhan. Sebagian besar pasien, terutama pengidap penyakit akut berhasil sembuh, namun adakalanya pada pasien dengan penyakit kronik atau keadaan umum yang buruk sering terkena infeksi baru yang memperberat penyakitnya dan meningkatkan lama menginap dan biaya rumah sakit, bahkan dapat menyebabkan kematian. Infeksi yang didapat di rumah sakit tersebut disebut sebagai infeksi rumah sakit atau infeksi nosokomial (Zulkarnaen 2006).

Infeksi pasca bedah merupakan jenis infeksi nosokomial dengan jumlah kejadian terbanyak kedua setelah infeksi saluran kemih yaitu mencapai 20% dan menyebabkan kerugian material terbanyak ketiga setelah phlebitis dan pneumonia (Wati, 2006). Infeksi stafilocokus

pasca bedah merupakan ancaman potensial bagi penderita pasca bedah. Prosedur pembedahan yang semakin kompleks dengan tindakan manipulasi organ yang lebih besar dan anestesi yang lebih lama akan menunjang masuknya kuman stafilocokus. Infeksi stafilocokus di rumah sakit, poliklinik dan ruang perawatan bedah bervariasi mulai dari lesi dalam bentuk furunkel-furunkel sederhana atau infeksi dekubitus, abses, atau luka bedah yang terinfeksi, *septic phlebitis*, osteomielitis kronis, pneumonia fulminan, meningitis, endokarditis atau sepsis (DITJEN PP&PL 2005).

Insiden penyakit infeksi yang semakin meningkat dalam masyarakat dan angka resistensi bakteri penyebab infeksi yang semakin meningkat mendorong masyarakat untuk kembali memanfaatkan obat tradisional. Selain murah dan mudah didapat, obat tradisional memiliki efek samping yang jauh lebih rendah tingkat bahayanya dibandingkan obat-obatan kimia (Fauziah, 1997). Salah satu produk alam yang digunakan sebagai obat adalah madu. Madu adalah salah satu obat tradisional yang paling banyak dibuat uji klinisnya karena khasiatnya yang beraneka ragam (Lelo 2006). Madu sebagai bahan berkhasiat obat sudah diketahui sejak zaman Yunani dan Mesir. Madu mengandung zat antibiotik yang berguna untuk membunuh bakteri patogen penyebab penyakit infeksi (Ilmiana 2008). Bangsa Yunani dan Mesir

menggunakan madu untuk perawatan luka, dan sejumlah besar perawatan luka di dunia telah menggunakan madu yang belum diproses dari sumber yang berbeda-beda (Simon et al. 2008). Madu mengandung hidrogen peroksida yang dapat diaktifkan melalui proses dilusi. Hidrogen peroksida ini nantinya akan bertindak sebagai antiseptik. pH asam pada madu (3,5-5,0) juga mencegah pertumbuhan bakteri (Sivasubramaniam dan Seshadri 2005).

Madu terbukti dapat bekerja sebagai zat antibiotik apabila digunakan pada daerah luka atau terbakar. Dalam penelitiannya tahun 1937, Dold menunjukkan pengaruh madu sebagai zat antibiotik terhadap tujuh belas macam mikroba. Tahun 1944 Placky mengkaji kandungan madu untuk meneliti kemungkinan pemakaiannya sebagai zat antibiotik. Tahun 1956 Fogwell mengekstraksi kandungan-kandungan madu melalui sejumlah zat pelarut dan ia menemukan bahwa zat pembunuh mikroba yang terkandung di dalam madu dijumpai pula dalam zat-zat yang dapat dilarutkan dalam ether (Ahmad 2008).

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai daya hambat Madu Sumbawa terhadap kuman *Staphylococcus aureus* isolat infeksi luka operasi di RS Islam Amal Sehat Sragen. Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat menjadi acuan penggunaan Madu Sumbawa sebagai obat alternatif antibakteri dalam rangka meningkatkan kesehatan masyarakat.

Tujuan penelitian adalah (i) Untuk mengetahui adanya daya hambat Madu Sumbawa terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat infeksi luka operasi di RS Islam Amal Sehat Sragen. (ii) Untuk mengetahui berapa besar daya hambat Madu Sumbawa terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat infeksi luka operasi di RS Islam Amal Sehat Sragen.

BAHAN DAN METODE

Lokasi penelitian

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

Subjek Penelitian

Kuman *Staphylococcus aureus* isolat infeksi luka operasi RS Islam Amal Sehat Sragen.

Alat dan bahan

Alat untuk uji daya hambat Madu Sumbawa: Tabung reaksi dan rak tabung reaksi, Alat pembuat sumur berdiameter 6 mm, Lampu spiritus, Oshe kolong, Kapas lidi steril, Pipet mikron, Pipet ukur 1 ml, Penggaris, Gelas ukur. Bahan untuk uji daya hambat madu Sumbawa : Isolat kuman *S. aureus*, Muller Hinton agar, Nutrient agar plate, Media MSA, Madu Sumbawa, Aquabides sebagai pengencer, NaCl fisiologis steril 2 ml, Standard 0,5 Mc Farland, Amikacin disc.

Cara kerja

Persiapan awal

Alat-alat yang diperlukan dicuci bersih kemudian dikeringkan dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pengidentifikasian kuman *S. aureus*. Kuman stafilocokus hemolisis (+) pada media nutren agar plate, kemudian diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Bila terbentuk pigmen berwarna kuning hingga kuning keemasan, identifikasi dilanjutkan dengan penanaman kuman pada media MSA, kemudian diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Bila hasil pada MSA + yang ditandai dengan perubahan warna media MSA menjadi kuning, maka kuman teridentifikasi sebagai kuman *S. aureus*.

Persiapan Madu Sumbawa. Madu Sumbawa diperoleh dari Madu Sumbawa yang dijual di pasaran. Madu Sumbawa diencerkan dengan aquabides hingga didapat konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%.

Persiapan antibiotik amikacin. Antibiotik yang digunakan adalah antibiotik amikacin dalam bentuk disc.

Pembuatan sumuran. Media Muller Hinton agar dibuat sumuran dengan alat pembuat sumuran berdiameter 6 mm.

Pembuatan suspensi bakteri. Disiapkan 2 ml NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi. Beberapa oshe bakteri diambil dari isolat kuman. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis steril, dikocok sampai homogen. Kemudian dibandingkan dengan suspensi 0,5 Mc Farland. Bakteri diambil dengan kapas lidi steril, lalu diletakkan pada tepi tabung reaksi kosong kemudian kapas lidi steril tersebut diputar agar bakteri yang akan dioleskan tidak terlalu banyak. Setelah itu dioleskan pada agar Muller Hinton dan diratakan.

Pelaksanaan uji daya hambat Madu Sumbawa. Masing-masing sumuran diberi Madu Sumbawa dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% sebanyak 0,5 ml (rata-rata volume sumuran), aquabides sebagai kontrol negatif sebanyak 0,05 ml, dan Amikacin disc sebagai kontrol positif. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona hambatan yang terbentuk diukur dengan penggaris dalam satuan millimeter.

Analisis data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis dengan menggunakan uji *One-Sample Test* untuk mengetahui apakah ada pengaruh Madu Sumbawa yang signifikan terhadap pertumbuhan kuman pada masing-masing kelompok dan Uji T untuk melihat adakah perbedaan yang signifikan antara dua kelompok populasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Hasil penelitian daya hambat Madu Sumbawa terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* infeksi luka operasi RS Islam Amal Sehat Sragen dilakukan sebanyak 2 sampel dan 1 sampel standar sebagai pembanding, dapat dilihat pada tabel 1. Dari tabel 1 kemudian dibuat rata-ratanya dan dibedakan antara kuman isolat klinis dan kuman isolat standar.

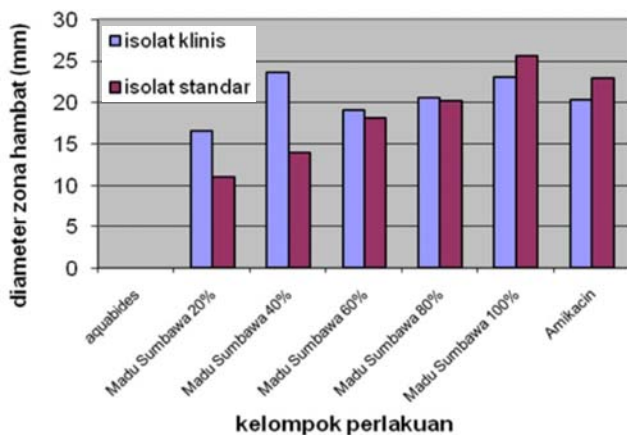
Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambatan pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dalam millimeter pada masing-masing kelompok

Sampel	Perlakuan						(+)	(-)
	20%	40%	60%	80%	100%			
Sampel 1 (post laparotomi)	0	0	10,05	12,60	14,00	18,50	0	
Sampel 2 (close fracture pedis sinistra)	16,50	23,60	28,05	28,40	32,05	22,00	0	
Sampel 3 (standar)	10,95	14,00	18,15	20,10	25,50	22,80	0	

Tabel 2. Hasil rata-rata pengukuran zona hambatan pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* berdasarkan kelompok kuman isolat klinis dan isolat standar dalam satuan millimeter.

Sampel	Perlakuan						(+)	(-)
	20%	40%	60%	80%	100%			
Isolat klinis	16,50	23,60	19,05	20,50	23,02	20,25	0	
Isolat standar	10,95	14,00	18,15	20,10	25,50	22,80	0	

Dari tabel 2 kemudian dibuat grafik seperti di bawah yang menggambarkan rata-rata zona hambatan pada kuman isolat klinis dan isolat standar.



Gambar 1. Rata-rata zona hambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* isolat klinis dan isolat standar oleh Madu Sumbawa.

Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis menggunakan program komputer SPSS (Statistical Product and Service Solution) 15,00 for Window Release. Analisis data menggunakan uji One-Sample Test dan uji T.

Tabel 3. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap kuman *Staphylococcus aureus* isolat klinis

Antibiotik	Diameter zona hambat	R	I	S	Status kepekaan
Amikacin	24	≤ 14	15-16	≥ 17	Sensitif
Gentamicin	6	≤ 11	12-15	≥ 16	Resisten
Amoxicilin	8	≤ 11	12-13	≥ 14	Resisten
Amp/sulbactam	10	≤ 11	12-14	≥ 15	Resisten
Eritromisin	0	≤ 13	14-17	≥ 18	Resisten
Cotrimoxazol	0	≤ 13	14-20	≥ 21	Resisten
Cefotaxim	0	≤ 14	15-22	≥ 23	Resisten
Methicilin	0	≤ 9	10-13	≥ 14	Resisten
Ceftriaxone	0	≤ 13	14-20	≥ 21	Resisten
Chloramphenicol	0	≤ 13	14-18	≥ 19	Resisten
Ampicilin	0	≤ 11	12-13	≥ 14	Resisten
Ceftazidim	0	≤ 13	14-18	≥ 19	Resisten
Ceftizoxim	0	≤ 13	14-15	≥ 16	Resisten
Fosfomycin	30	≤ 13	14-20	≥ 21	Sensitif
Tetracyclin	10	≤ 14	15-18	≥ 19	Resisten
Augmentin	6	≤ 13	14-17	≥ 18	Resisten
Ciprofloxacin	12	≤ 14	15-21	≥ 22	Resisten
Azitromicin	0	≤ 16	17-18	≥ 19	Resisten
Cefuroxim	0	≤ 13	14-18	≥ 19	Resisten

Tabel 4. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap kuman *Staphylococcus aureus* isolat standar.

Antibiotik	Diameter zona hambat (mm)	R	I	S	Status kepekaan
Meropenem	28	≤ 12	13-16	≥ 17	Sensitif
Fosfomycin	22	≤ 13	14-20	≥ 21	Sensitif
Streptomycin	17	≤ 11	12-14	≥ 15	Sensitif
Norfloxacin	22	≤ 12	13-16	≥ 17	Sensitif
Gentamicin	20	≤ 11	12-15	≥ 16	Sensitif
Ampicilin/sulbactam	30	≤ 11	12-14	≥ 15	Sensitif
Ceftrizoxime	19	≤ 13	14-15	≥ 16	Sensitif
Cefotaxime	24	≤ 14	15-22	≥ 23	Sensitif
Amikacin	21	≤ 14	15-16	≥ 17	Sensitif
Augmentin	25	≤ 13	14-17	≥ 18	Sensitif
Trimethoprim	22	≤ 10	11-15	≥ 16	Sensitif
Aztreonam	00	≤ 12	13-17	≥ 18	Resisten
Amoxyciclin	32	≤ 11	12-13	≥ 14	Sensitif
Ceftriaxone	24	≤ 13	14-20	≥ 21	Sensitif
Ofloxacin	22	≤ 12	13-15	≥ 16	Sensitif
Penicilin	30	≤ 14	15-28	≥ 29	Sensitif
Eritromisin	21	≤ 13	14-17	≥ 18	Sensitif
Cotrimoxazole	23	≤ 13	14-20	≥ 21	Sensitif
Chloramphenicol	21	≤ 13	14-18	≥ 19	Sensitif
Cefuroxime	23	≤ 13	14-18	≥ 19	Sensitif
Lomefloxacin	21	≤ 18	19-21	≥ 22	Intermediet
Tetracyclin	25	≤ 14	15-18	≥ 19	Sensitif
Cefoxitin	24	≤ 14	15-17	≥ 18	Sensitif
Kanamycin	20	≤ 13	14-17	≥ 18	Sensitif
Doxycyclin	25	≤ 12	13-15	≥ 16	Sensitif
Imipenem	34	≤ 13	14-15	≥ 16	Sensitif

Tabel 5. Hasil uji *One-Sample Test* kelompok kuman isolat klinik

One-Sample Test				
Test Value = 0				
t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper
Ny. P & 4.6546	.003		14.6964	6.9699 22.4229
Nn.N				

Hipotesis: H0 : Tidak ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik. H1 : Ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik. H0 ditolak apabila $p < 0,05$. Karena $p=0,003$ maka H0 ditolak, jadi ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik.

Tabel 6. Hasil uji *One-Sample Test* kelompok kuman isolat standar

One-Sample Test				
Test Value = 0				
t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper
STANDAR4.9026	.003		15.9286	7.9782 23.8789

Hipotesis: H0: Tidak ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat standar. H1 : Ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat standar. H0 ditolak apabila $p < 0,05$. Karena $p=0,003$ maka H0 ditolak, jadi ada pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat standar.

Tabel 7. Hasil Uji T kelompok kuman isolat klinik dan isolat standar

Independent Samples Test									
Levene's test for equality of variances					t-test for equality of means				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean difference	Std. Error difference	95% confidence interval of the difference	
								Lower	Upper
Kuman Equal variances assumed	.021	.887	.272	12	.790	1.2321	4.53075	-8.63951	11.10379
Equal variances not assumed			.272	11.990	.790	1.2321	4.53075	-8.64040	11.10469

Hipotesis: H0 : Tidak ada perbedaan pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat kelompok kuman isolat klinik dan isolat standar. H1: Ada perbedaan pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat kelompok kuman isolat klinik dan isolat standar. H0 ditolak apabila $p < 0,05$. Karena $p=0,790$ maka H0 diterima, jadi tidak ada perbedaan pengaruh Madu Sumbawa terhadap rata-rata diameter zona hambat kelompok kuman isolat klinik dan isolat standar.

Pembahasan

Penelitian dilakukan dengan Madu Sumbawa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan aquabides sebagai kontrol negatif, serta Amikacin disc sebagai kontrol positif. Pada tabel 1 dapat dilihat hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing kelompok. Pada tabel 2 dapat dilihat rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dan dikelompokkan menjadi kuman *S. aureus* isolat klinik dan isolat standar. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada Madu Sumbawa konsentrasi 20% (16,50 mm pada isolat klinik dan 10,95 mm pada isolat standar), 40% (23,60 mm pada isolat klinik dan 14,00 mm pada isolat standar), 60% (19,05 mm pada isolat klinik dan 18,15 mm pada isolat standar), 80% (20,50 mm pada isolat klinik dan 20,10 mm pada isolat standar), 100% (23,02 mm pada isolat klinik dan 25,50 mm pada isolat standar), pada kontrol positif Amikacin disc (20,25 mm pada isolat klinik dan 22,80 mm pada isolat standar), sedangkan pada kontrol negatif

aquabides tidak ada zona hambatan (0,00 mm pada isolat klinik dan pada isolat standar).

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan uji *One-Sample Test* untuk mengetahui adakah pengaruh yang signifikan oleh Madu Sumbawa terhadap daya hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik dan isolat standar. Kemudian dilanjutkan dengan Uji T untuk melihat adakah perbedaan yang signifikan antara pertumbuhan kuman isolat klinik dan isolat standar setelah diberi perlakuan dengan Madu Sumbawa berbagai konsentrasi. Setelah dilakukan uji *One-Sample Test* didapatkan hasil ada pengaruh Madu Sumbawa yang signifikan terhadap daya hambat pertumbuhan kuman *S. aureus* baik pada isolat klinik maupun isolat standar.

Analisis dilanjutkan dengan Uji T untuk melihat adakah perbedaan yang signifikan antara pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik dan isolat standar setelah diberi perlakuan dengan Madu Sumbawa berbagai konsentrasi. Setelah dilakukan Uji T didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan antara pertumbuhan kuman *S.*

aureus isolat klinik dan isolat standar setelah diberi perlakuan dengan Madu Sumbawa berbagai konsentrasi.

Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa Madu Sumbawa konsentrasi 20% dan 40% belum menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* yang diperoleh dari hasil usap infeksi luka operasi post laparotomi sedangkan pada kuman *S. aureus* yang diperoleh dari hasil usap infeksi luka operasi *close fracture* pedis sinistra sudah menunjukkan daya hambat pada konsentrasi tersebut. Hal ini mungkin disebabkan saat pembuatan suspensi kuman yang mengacu pada standar 0,5 Mc Farland tidak sesuai mengingat kekeruhan yang dibandingkan sangat subjektif. Selain itu, variabel luar berupa strain kuman juga ikut mempengaruhi.

Pada tabel 3 dan 4 dapat dilihat hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap masing-masing kelompok kuman. Pada kuman *S. aureus* isolat klinik hasil uji sensitivitas menunjukkan sensitif hanya pada antibiotik fosfomycin dan amikacin. Hal ini sangat berbeda dengan hasil uji sensitivitas kuman *S. aureus* isolat standar yang menunjukkan hasil sensitif hampir pada semua antibiotik yang digunakan dalam uji sensitivitas. Namun nyatanya perbedaan hasil uji sensitivitas ini tidak bermakna secara statistik setelah masing-masing kelompok kuman diberi perlakuan dengan Madu Sumbawa. Madu Sumbawa mampu memberikan hambatan pertumbuhan yang bermakna secara statistik baik terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik maupun isolat standar.

Dari hasil uji statistik dapat diambil kesimpulan bahwa Madu Sumbawa memiliki pengaruh berupa daya hambat terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat klinik yang diperoleh dari hasil usap infeksi luka operasi RS Islam Amal Sehat Sragen dan kuman *S. aureus* isolat standar dari laboratorium mikrobiologi FK UNS. Namun, jika dibandingkan pengaruh Madu Sumbawa terhadap pertumbuhan kedua kelompok kuman tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik.

Setidaknya ada 4 faktor yang mendukung madu sebagai prebiotik atau antibakteri: (i) Kadar gula madu yang tinggi mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri, (ii) Madu bersifat asam dengan pH sekitar 3-4, dalam kondisi ini bakteri tidak mampu bertahan, (iii) Madu mengandung senyawa organik yang bersifat antibakteri antara lain inhibine dari kelompok flavonoid, glikosida dan polyphenol, (iv) Madu mengandung senyawa radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dapat membunuh bakteri dan mikroorganisme patogen lainnya. Senyawa tersebut secara reaktif merusak gugus fungsi biomolekul pada sel bakteri. Enzim katalase yang terkandung pada madu akan segera merombak hidrogen peroksida (H_2O_2) yang telah digunakan untuk meracuni bakteri menjadi air dan oksigen.

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk membuktikan daya hambat madu. Penelitian yang dilakukan oleh Mulyowati et al. (2005) memperlihatkan adanya daya hambat madu terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian daya hambat madu terhadap *S. aureus* yang dilakukan Hendri Warsito et al. (2008) menunjukkan bahwa madu dengan konsentrasi 1% dan 2,5% belum menunjukkan hambatan pada media pertumbuhan, sedangkan madu dengan konsentrasi 5%, 10%, 25%, 50% menunjukkan diameter zona hambatan berturut-turut 22,80; 26,90; 28,80; 28,70 mm.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tentang daya hambat Madu Sumbawa terhadap pertumbuhan kuman *S. aureus* isolat infeksi luka operasi RS Islam Amal Sehat Sragen, maka dapat diambil simpulan bahwa Madu Sumbawa terbukti dapat menghambat pertumbuhan kuman *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad YA. 2008. Al-Qur'an Kitab Kedokteran. Sajadah Press, Yogyakarta.
- Burke JP. 2003. Infection Control : A Problem for Patient Safety. The New Eng J Med 348 (7): 651-656.
- DITJEN PP&PL. 2005. Infeksi Stafilokokus di Rumah Sakit. Depkes RI, Jakarta.
- Fauziah M. 1997. Tanaman Obat Keluarga. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Ilmiana AR. 2008. Daya Antibakteri Madu Terhadap Infeksi Bakteri dari Inokulat Pasien Abses Secara Invitro. Universitas Jember, Jember.
- Lelo A. 2006. Efek farmakologi madu lebah. Seminar Efek Farmakologi Produk Perlebahan Terhadap Kesehatan Manusia, Jakarta.
- Mulyowati, T. 2005. Uji Daya Antibakteri Madu Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Satya Putra DW. 1993. Surveilans Infeksi Nosokomial Luka Operasi di Bagian Bedah dan di Bagian Kebidanan/ Penyakit Kandungan RSU Bekasi. Kalbe, Jakarta.
- Simon A, Kirsten T, Santos K, Blaser G, Bode U, Molan P. 2008. Medical Honey for Wound Care—Still the 'Latest Resort'?. eCAM 175: 1-9.
- Sivasubramaniam L, Seshadri M. 2005. Medicinal Properties Of Liquid Gold: Honey. Pharmaceut Rev 3 (6):-.
- Utama H. W. 2006. Infeksi Nosokomial. Klikharry, Jakarta.
- Warsito H, Priani SE, Lukmayani Y. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Prodi Farmasi FMIPA Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Wati R.T. 2006. Angka dan Pola Kuman pada Dinding dan Lantai RSUD Pandan Arang Boyolali. [Skripsi]. FK UNS, Surakarta.
- Wichaksana A. 2000. Rekam Medis dan Kinerja Rumah Sakit. Cermim Dunia Kedokteran No.129. Jakarta.
- Zulkarnaen, I. 2006. Infeksi Nosokomial. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

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 butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻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 , γ , 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.

- Uji mutagenisitas ekstrak kloroform daun ambre (*Geranium radula*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* serta profil kandungan kimia bagian teraktif** **1-10**
- MITA MUTIA RAHMAN, ARTINI PANGASTUTI, RITA RAKHMAWATI
- Pengaruh penggunaan ampas teh (*Camellia sinensis*) dalam ransum terhadap produksi karkas kelinci New Zealand White jantan** **11-17**
- ROBERTUS YULI WIBOWO, JOKO RIYANTO, YBP SUBAGYO
- Pengaruh ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap residu nitrit daging curing selama proses curing** **18-26**
- DYAH ERMAWATI, M.A.M. ANDRIANI, ROHULA UTAMI
- Pengaruh ekstrak ubi jalar dan emulsi ikan terhadap pertumbuhan planlet anggrek *Dendrobium alice-noda* x *Dendrobium tomie* dan *Phalaenopsis pinlong-cinderella* x *Vanda tricolor* pada medium Vacin dan Went** **27-39**
- AGNESTASIA DHINI SILVIASARI, SRI HARTATI, NANDARIYAH
- Daya hambat madu Sumbawa terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* isolat infeksi luka operasi** **40-44**
- DINIATI JULIANA ZULHAWA, MARYANI, NANA HOEMAR DEWI

