

Saintek

JURNAL PENELITIAN SAINTEK

Volume 25, Nomor 1, April 2020

Volume 25, Nomor 1, April 2020

P-ISSN : 1412-3991
E-ISSN : 2528-7036

**JURNAL PENELITIAN
Saintek**

LPPM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA

SAINTEK	Volume 25	Nomor 1	Halaman 1 - 102	YOGYAKARTA	P-ISSN : 1412-3991 E-ISSN : 2528-7036
---------	--------------	------------	--------------------	------------	--

JURNAL PENELITIAN Saintek

Penerbit:

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Negeri Yogyakarta

Pemimpin Umum/Penanggung Jawab:

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Negeri Yogyakarta

Redaksi:

Penanggung Jawab : Ketua LPPM
Ketua : Prof. Dr. Sri Atun
Sekretaris : Retno Arianingrum, M.Si
Anggota Redaksi : Dr. Heru Kuswanto
Dr. Agus Budiman
Dr. Sri Handayani
M. Khairudin, Ph.D.
Dr. Suyanta
Sativa, M.T.
Dr. Pramudi Utomo
Sunar Rochmadi, M.S.
Sekretariat : Poni Pujiati, M.Pd
Setting dan Tata Letak : Rini Astuti, S.I.P.

Alamat Redaksi/Tata Usaha:

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM)
Universitas Negeri Yogyakarta
Gg. Guru, Kampus Karangmalang, Yogyakarta 55281
Telepon (0274) 550840, Fax. (0274) 550839
Website: <https://journal.uny.ac.id/index.php/saintek>
Email: saintek@uny.ac.id

Jurnal Penelitian Saintek merupakan lanjutan dari Jurnal Penelitian Iptek
dan Humaniora
Frekuensi terbit: setiap bulan April dan Oktober

Semua tulisan yang ada dalam Jurnal Penelitian Saintek bukan
merupakan cerminan sikap dan/atau pendapat Dewan Redaksi.
Tanggung jawab terhadap isi dan/atau akibat dari tulisan tetap terletak
pada penulis.

DAFTAR ISI

Daftar Isi

i

Pemupukan dan Induksi *Curcuma mangga* Val. untuk Peningkatan Zat Antikanker dan Uji Sitotoksitasnya pada T47D

(*Increasing Antikanker Substances and The Cytotoxicity Test on T47D Using Fertilization and Induction on Curcuma Mango Val.*)

Retno S. Sudibyo dan Taryono

1 - 10

Modifikasi Kain Aktif Antibakteri Berbasis Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid

(*Modification of Antibacterial Fabric from Mn(II) Schiff Base Chitosan - Salicylaldehyde Complex*)

Ismiyarto, Sesika Novari, Ngadiwiyan, Purbowatiningrum Ria Sarjono, dan Noor Basid Adiwibawa Prasetya

11 - 23

Pengaruh Variasi Tanaman Barier sebagai *Natural Pest Control* terhadap Populasi Hama dan Produktivitas Padi

(*The Effect of Barrier Plant Variation as Natural Pest Control on Pest Population and Rice Production*)

Tien Aminatun, Budiwati, Lili Sugiyarto, Amin Khusnadiyah, Anisa Setya Hidayah dan Ema Imtihana

24 - 35

Respons Fisiologis dan Anatomi Akar Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Cekaman NaCl

(*physiological Response and Anatomy of Rooty Plant [Amaranthus tricolor L.] Against NaCl*)

Ian Prabowo dan Diah Rachmawati

36 - 43

Pemodelan 2D Lapisan Bawah Permukaan Berdasarkan Data Gaya Berat Mikro

(*2D Modeling Subsurface Layer Based on Microgravity Data*)

Supriyadi, Khumaedi, Fajar Setiawan, dan Teguh M.M

44 - 52

Uji Antibakteri Masker Kefir Susu Kambing pada *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro

(*Antibacterial of Goat's Milk Kefir Mask on Staphylococcus epidermidis In Vitro*)

Ajeng Desti Ningsih dan Nur Khikmah

53 - 61

DAFTAR ISI

- Keaneicaragaman Acarina di Pusat Inovasi Agro Teknologi Mangunan
(*The Diversity of Acarina in Agro Technology Innovation Center Mangunan*)
Soenarwan Hery Poerwanto, Anggun Handiani, dan Dila Hening Windyaraini 62 - 71
- Produksi Pigmen dan Asam γ -Aminobutirat (GABA) oleh Monascus purpureus
(*Production of Pigments and γ -Aminobutyric Acid (GABA) by Monascuspurpureus*)
Maria Sarah Fadillah, Endang Kusdiyantini, dan Wijanarka 72 - 83
- Pengaruh Jenis Inokulan dan Dosis Kompos dalam Fitoremediasi Menggunakan Tanaman Rami
(*The Effect of Inoculant Type and Compost Dosage in Phytoremediation Process Using Ramie Plant*)
Desvia Diyanti Nursyabani, Pudjawati Suryatmana, dan Rija Sudirja 84 - 94
- Electricity Production from Food Waste Leachate Using Double Chamber Microbial Fuel Cell*
Willie Prasidha and Akmal Irfan Majid 95 - 102

PEMUPUKAN DAN INDUKSI *Curcuma mangga* Val. UNTUK PENINGKATAN ZAT ANTIKANKER DAN UJI SITOTOKSITASNYA PADA T47D

(INCREASING ANTICANCER SUBSTANCES AND THE Cytotoxicity TEST ON T47D USING FERTILIZATION AND INDUCTION ON *Curcuma Manggo* Val.)

Retno S. Sudibyo¹ dan Taryono²

¹Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

²Pusat Inovasi Agroteknologi Terpadu, Universitas Gadjah Mada
Bulaksumur Caturtunggal Depok Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta 55281
email: retno.sudibyo @ugm.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan zat antikanker dan uji sitotoksitasnya pada T47D dengan menggunakan metode pemupukan dan induksi pada tanaman *Curcuma mangga* Val. Penelitian dilaksanakan di *greenhouse* milik Pusat Inovasi Agroteknologi Terpadu (PIAT) Universitas Gadjah Mada di Kalitirto, Kecamatan Berbah, Sleman, Yogyakarta. Waktu pelaksanaan awal Januari-Oktober 2019. Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi 3 tahap. Tahap *pertama*, penanaman dan pemupukan *C. mangga* Val. Pemupukan dilakukan menggunakan nitrogen (N) organik dari kompos daun-daun legume, fosfor (P) organik dari pupuk SP36, Kalium (K) dari KCl, dan kombinasi pupuk NPK. Tahap *kedua* adalah ekstraksi dan penetapan kandungan zat aktif menggunakan alat *vaccum-rotavapor* dan densitometer. Tahap *ketiga* adalah uji sitotoksitas (*MTT Assay*) menggunakan bahan Sel T47D, media RPMI, MTT, PBS, SDS, dan bahan-bahan *disposable*, serta *ELISA reader*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemupukan N organik pada *C. mangga* Val. mampu meningkatkan produksi minyak dalam rimpang dan sitotoksitas minyak terhadap sel kanker payudara T47D. Penghentian pemberian air menjelang masa dorman dan suhu lingkungan yang panas (>37°C) mampu menginduksi majunya masa dorman pada tanaman *C. mangga* Val.

Kata kunci: *Curcuma mangga* Val., sitotoksitas, T47D

Abstract

This study was aimed at increasing the anticancer agent and conducting a cytotoxicity test on T47D by using fertilization and induction methods on Curcuma Val mango plant. The study was conducted at the Greenhouse of Agro-technology Innovation Center (AIC), Gadjah Mada University in Kalitirto, Berbah, Sleman, Yogyakarta. The study was conducted from January to October 2019. The research was divided into 3 stages. The *first* stage of planting and fertilizing *C. mango* Val. Fertilization was carried out using organic nitrogen (N) from compost of legume leaves, organic phosphorus (P) from SP36 fertilizer, Potassium (K) from KCl and NPK fertilizer combination. The *second* step is the extraction and the determination of the active ingredient using a vacuum-rotary evaporator and a densitometer. The *third* stage is the cytotoxicity test (MTT Assay) using T47D cell material, RPMI media, MTT, PBS, SDS, and disposable materials, and ELISA reader. The results showed that organic N fertilization on *C. mango* Val. able to increase oil production in rhizomes and cytotoxicity of oil against T47D breast cancer cells. Discontinuation of water delivery prior to dormancy and hot ambient temperature (> 37°C) is able to induce the advancement of dormancy in *C. mango* Val plants.

Keywords: *Curcuma mangga* Val., cytotoxicity, T47D

PENDAHULUAN

Curcuma mangga Val. atau dikenal sebagai kunir mangga banyak digunakan oleh masyarakat Yogyakarta dan sekitarnya sebagai antikanker. Ekstrak kloroform dan metanol rimpang juga menunjukkan potensi sitotoksik pada 7 macam sel kanker (Khasanah, 2002; Wahyuningsih, Mubarika, Bolhuis, Nooter, & Oostrum, 2003). Uji sitotoksik *in vitro* rimpang *C. mangga* Val. telah dilakukan pada komponen protein (Lestariana, Triandiyasih, Sismindari, & Mubarika, 2000; Sismindari, Sudibyo, & Astuti, 2004) dan minyak atsiri rimpang (Astuti, Sudibyo, Jenie, Mubarika, & Sismindari, 2015; Astuti, 2014; Budiman, 2001; Rumiyati, *et al.*, 2007), dan menunjukkan hasil yang positif pada sel kanker Raji, Hela, Myeloma, MCF7, dan T47D.

Uji *in vitro* penelusuran mekanisme aksi antikanker minyak atsiri telah dilakukan melalui ekspresi beberapa protein yang berperan dalam apoptosis, proliferasi dan/atau daur sel kanker (Astuti *et al.*, 2015; Nurrokhman, 2004; Rumiyati *et al.*, 2007; Wahyuningsih dkk., 2003). Hasil uji menunjukkan bahwa kemampuan sitotoksik *in vitro* komponen minyak atsiri memiliki aktifitas sitotoksik yang lebih kuat daripada komponen lain (Astuti, 2014). Uji *in silico* komponen minyak atsiri juga telah dilakukan terhadap reseptor ER α dan EGFR (Sudibyo & Purnomo, 2019) yang merupakan resep-

tor yang berperan pada perkembangan kanker payudara (Song *et al.*, 2014). Berdasarkan potensi sitotoksik antikanker dan penelusuran mekanisme aksinya dari kandungan minyak atsiri rimpang *C. mangga* Val. tersebut di atas, perlu dilakukan penelitian peningkatan produksi minyak atsiri *C. mangga* Val. mengingat kandungan minyak atsiri tersebut dalam rimpang sangat sedikit. Penelitian ini melakukan pemberian empat macam pemupukan dengan nitrogen (N) organik, fosfor (P) organik, kalium (K) anorganik, dan kombinasinya; serta induksi pengurangan pemberian air pada tanaman *C. mangga* Val. dalam masa tertentu untuk peningkatan kandungan minyak atsiri rimpang tanaman tersebut.

METODE PENELITIAN

Penanaman dan pemupukan *C. mangga* Val. Bibit rimpang *C. mangga* Val. dari petani di Kecamatan Dlingo, Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Pupuk N organik (daun klereside, lamtoro, orok-orok, dan turi), P organik (pupuk SP3) dan K anorganik (KCl). Ekstraksi dan penetapan kandungan zat aktif: n-Heksan, TLC plates (SilicaG₆₀F₂₅₄), alat *vaccum-rotavapor*, Densitometer. Uji sitotoksitas (MTT Assay): Sel T47D, media RPMI, MTT, PBS, SDS, dan bahan-bahan *disposable*, serta ELISA reader.

Kelompok pemupukan. Tiap kelompok terdiri atas 4 pot. Kelompok 1: N organik,

kelompok 2: P organik, kelompok 3: K anorganik, kelompok 4: kombinasi NPK, dan kelompok 5: kontrol (tanpa pupuk). Masing-masing pupuk diberikan 100 g per tiga bulan dan air 100 ml per hari. Untuk menginduksi tanaman memasuki metabolisme sekunder, menjelang masa dorman (sekitar tanaman umur 8 bulan) pemberian air dihentikan.

Ekstraksi dan penetapan minyak atsiri. Tiap rimpang hasil panen kelompok dicuci bersih, dirajang tipis, dan dikeringanginkan pada suhu kamar. Rajangan kering dimaserasi dengan n-Heksan (5ml/g rimpang kering) selama 4 hari dengan setiap hari diaduk. Penguapan n-Heksan dari masing-masing maserat menggunakan *vaccum-rotavapor* pada suhu kamar. Ekstrak kental digunakan untuk penetapan kadar minyak melalui perbandingan densitas spot kromatografi lapis tipis (KLT) sampel terhadap spot minyak eugenol yang diketahui kadarnya. Ekstrak kental juga untuk uji sitotoksitas kandungan zat aktif minyak atsiri.

Uji sitotoksitas. Plat 96 sumuran diisi 1×10^4 sel T47D dalam media RPMI dan diinkubasi pada 37°C dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Jumlah kultur sel sesuai jumlah seri kadar ekstrak minyak, kontrol sel dan kontrol media dengan masing-masing tiga replikasi. Pada kultur sel ditambahkan seri kadar ekstrak kental *C. mangga* Val.: 1000, 100, 50, 25, dan 12,5 µg/ml, kemudian diinkubasikan lagi

pada 37°C dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Setelah inkubasi media diambil dan kultur dicuci dua kali dengan larutan PBS, kemudian ditambah 100 µl larutan MTT 0,5 mg/ml dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Terakhir ditambahkan larutan SDS 10% pada masing-masing sumuran untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk serta plat diinkubasi dalam ruang gelap selama semalam. Warna ungu yang terbentuk diukur absorbansinya dengan ELISA reader pada 595 nm. Warna ungu mengindikasikan adanya sel hidup, makin gelap warna ungu makin banyak sel yang hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilaksanakan di *greenhouse* milik Pusat Inovasi Agroteknologi Terpadu (PIAT) Universitas Gadjah Mada di Kalitirto Berbah Sleman. Waktu pelaksanaan awal Januari-Oktober 2019. Pemupukan dilakukan menggunakan nitrogen (N) organik dari kompos daun-daun legume, fosfor (P) organik dari pupuk SP36, Kalium (K) dari KCl, dan kombinasi pupuk NPK (Gambar 1).

Hasil pengamatan perkembangan tanaman *C. mangga* Val., suhu dan kelembaban di dalam dan luar *greenhouse*, efek induksi serta hasil panen rimpang (Gambar 2) dapat diuraikan sebagai berikut. Penanaman dalam pot tampaknya tidak cocok untuk pertumbuhan *C. mangga* Val. karena

Gambar 1. Pupuk yang Digunakan dalam Percobaan



Keterangan: Pupuk N organik, campuran dari: A. Daun klereside, B. Daun lamtoro, C. Daun orok-orok, D. Daun turi, E. P organik dari SP-36, F. Pupuk SP3, G. Pupuk SP3 halus, H. Pupuk K dari KCl, I. Butiran KCl.

pada umumnya tanaman tersebut tumbuh liar di kebun. Selain itu, dalam pot dosis pemupukan menjadi terlalu tinggi, utamanya pupuk Kalium sehingga kelompok K dan kombinasi NPK tidak tumbuh bagus dan bahkan mati saat tanaman menjelang umur 6 bulan (Gambar 2M & 2N). Akibatnya pada akhir percobaan kelompok K dan Kombinasi NPK tidak dapat dipanen (Gambar 2R & 2S). Oleh karena itu, pemanenan rimpang hanya dilakukan pada kelompok Kontrol (tanpa pupuk), N dan P (Gambar 2.5 & 2.6) setelah

tanaman memasuki masa dorman (warna daun menguning kecoklatan dan rebah ke tanah), yaitu saat tanaman berumur 7 bulan (Gambar 2P, 2Q, dan 2T).

Induksi yang terjadi pada tanaman ternyata tidak hanya karena penghentian pemberian air, tetapi juga karena kondisi suhu lingkungan yang terlalu panas karena cuaca panas di pulau Jawa yang maju dan terlalu tinggi. Pada akhir Februari 2019 (tanaman berumur 1 bulan) suhu *greenhouse* mencapai 34,2°C dengan kelembaban air 56% di pagi

Gambar 2. Pengamatan Tanaman *C. Mangga* Val. selama Pemupukan, Induksi, dan Panen



Keterangan:

1. Pot penanaman dan pemupukan tanaman *C. mangga* Val. dalam *greenhouse* (panah biru).
2. Suhu *greenhouse* pagi hari 34,2°C dan kelembaban 56%, saat tanaman umur 1 bulan.
3. Suhu *greenhouse* siang hari 37,3°C dan kelembaban 49%, saat tanaman umur 1 bulan.
- A-E: Tunas kelompok N organik, P organik, K anorganik, Kombinasi NPK dan Kontrol.
- F-J: Kelompok N, P, K, Kombinasi NPK dan Kontrol, umur 3 bulan.
- K-O: Kelompok N, P, K, Kombinasi NPK dan Kontrol, umur 6,5 bulan.
4. Suhu di luar *greenhouse* siang hari 38,0°C, kelembaban 44%, saat tanaman umur 3 bulan.
5. Hasil panen kelompok N pada saat tanaman umur 7 bulan
6. Hasil panen kelompok P pada saat tanaman umur 7 bulan.
- P-T: Kelompok N, P, K, Kombinasi NPK dan Kontrol, umur 7 bulan.

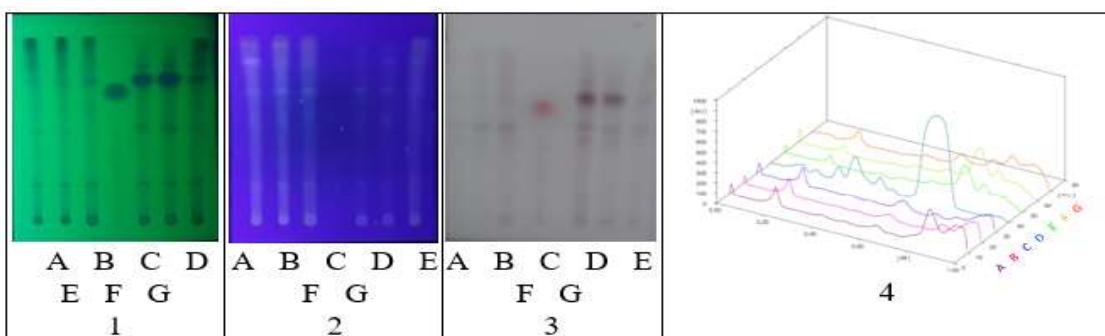
hari dan 37,3°C dengan kelembaban 49% di siang hari sehingga diperlukan 3 kipas angin besar agar dapat mengurangi panas udara *greenhouse* (Gambar 2.2 dan 2.3). Penempatan kipas angin ini ternyata tidak mengurangi suhu dalam *greenhouse* yang pada siang hari 38,0°C dengan kelembaban 44% di saat tanaman berumur 3 bulan (Gambar 2.4). Oleh karena itu, pot dipindah keluar *greenhouse* dan ditempatkan di bawah naungan pepohonan (Gambar 2K-2T). Meski suhu panas tersebut menyebabkan tanaman tidak tumbuh dengan baik (Gambar 2F-2T), tetapi ternyata memperkuat induksi pada tanaman sehingga masa dorman semua kelompok tanaman menjadi maju, dari yang seharusnya yaitu pada umur 9-10 bulan menjadi pada umur 7 bulan (Gambar 2P, 2Q, dan 2T).

Ekstraksi dan penetapan kadar minyak.

Ekstraksi dilakukan pada rimpang hasil panen pertama dan kedua dari 3 kelompok perlakuan, yaitu: kelompok N, P, dan Kontrol (Gambar 2K, 2L, 2O, 2P, 2Q, 2T); kelompok K dan NPK tidak ada hasilnya karena tanaman mati (Gambar 2R dan 2S). Rimpang kelompok N, P, dan Kontrol dimaserasi dengan n-Heksan dan kemudian pelarut diuapkan. Ekstrak kental yang dihasilkan digunakan untuk penetapan kadar minyak *C. mangga* Val. melalui perbandingan densitas spot KLT sampel terhadap spot minyak eugenol yang diketahui kadarnya dengan densitometer (Gambar 3.1, 3.2, 3.3, 3.4). Ekstrak kental juga untuk uji sitotoksitas kandungan zat aktif minyak (Gambar 4).

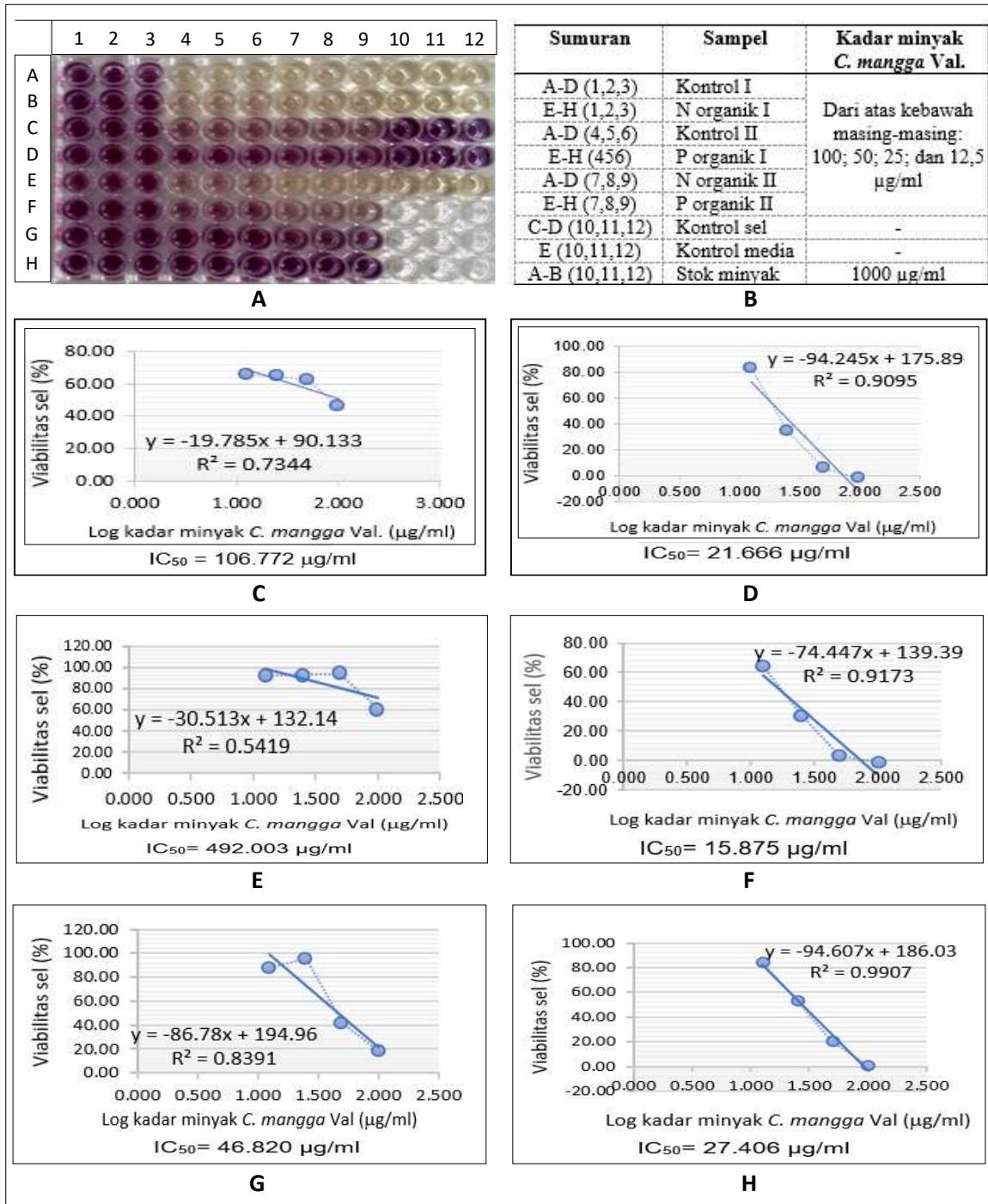
Berdasarkan densito-kromatogram yang disajikan pada Gambar 3.4 terlihat bahwa pemanenan rimpang pertama (umur

Gambar 3. Hasil KLT Ekstrak Minyak *C. Mangga* Val.



Keterangan: Fase diam Silika $G_{60}F_{254}$ dan fase gerak n-Heksan:Etil-asetat (7:3). Deteksi spot dengan peninjakan (1) UV 254, (2) UV 366, (3) Penyemprotan pereaksi anisaldehid-asam sulfat, kemudian dipanaskan, dan (4) Penetapan kadar dengan densitometer: (A) Sampel Kontrol I, (B) Sampel N organik I, (C) Sampel P organik I, (D) Pembanding Eugenol, (E) Sampel Kontrol II, (F) Sampel N organik II, (G) Sampel P organik II.

Gambar 4. Hasil Uji Sitotoksitas Minyak Atsiri *C. mangga* Val. terhadap Sel Kanker Payudara T47D



Keterangan: A. Uji *in vitro* sitotoksitas minyak pada sel T47D; B. Data uji sitotoksitas minyak *C. mangga* Val. secara *in vitro*; C-H adalah kurva regresi viabilitas sel T47D (%) vs log kadar minyak *C. mangga* Val. ($\mu\text{g/ml}$) dan IC_{50} dari sampel ekstrak minyak berturut-turut: K-I, K-II, N-I, N-II, P-I, dan P-II.

6,5 bulan) tanaman belum memasuki masa dorman secara sempurna sehingga produksi minyak belum maksimal, baik pada kelompok Kontrol, N maupun P. Hal tersebut terlihat pada rendahnya *spot density* minyak dari semua sampel I (Gambar 3.4A, 3.4B, 3.4C); yang kemudian meningkat pada semua sampel II (Gambar 3.4E, 3.4F, 3.4G) saat tanaman umur 7 bulan. Kromatogram juga menunjukkan bahwa pada umur 6,5 bulan (sampel I); kelompok pemupukan N lebih dahulu terjadi peningkatan produksi minyak dibandingkan kelompok P (meski masih lebih rendah daripada Kontrol). Akan tetapi, pada tanaman umur 7 bulan kelompok P memproduksi minyak lebih banyak daripada kelompok N dan Kontrol (Gambar 3.4). Meski produksi minyak pada semua sampel 1 belum optimal, tetapi induksi tanaman telah terjadi (baik karena penghentian pemberian air dan cuaca panas yang panjang dan maju); sehingga masa dorman tanaman maju dari umur 9-10 bulan menjadi pada umur 6,5-7

bulan (terbukti dengan terbentuknya minyak pada masa itu) (Gambar 3.4).

Uji sitotoksik zat aktif pada sel T47D. Dari hasil uji sitotoksitas semua ekstrak kental sampel (K-I dan II, N-I dan II, serta P-I dan II) pada sel kanker payudara T47D didapatkan kurva regresi viabilitas sel T47D (%) versus log kadar minyak atsiri C. mangga Val. ($\mu\text{g/ml}$), beserta IC_{50} -nya (Gambar 4). Sesuai dengan hasil penetapan kandungan minyak secara densitometri (Gambar 3), hasil uji sitotoksik ekstrak minyak.

Gambar 4 juga menunjukkan bahwa panenan rimpang pertama (Sampel K-I, N-I, dan P-I) menunjukkan potensi sitotoksik yang lebih rendah daripada panenan kedua (Sampel K-II, N-II dan P-II). Selain itu, tampak bahwa produksi minyak dalam sampel panenan pertama belum stabil dan maksimal ($R^2 < 0,8$) dibandingkan dengan sampel panenan kedua ($R^2 > 0,9$) (Gambar 4).

Tabel 1 menyajikan perbandingan IC_{50} dan R^2 regresi hasil uji sitotoksitas

Tabel 1
Perbandingan IC_{50} dan R^2 Hasil Uji Sitotoksitas terhadap
Kandungan Minyak C. Mangga Val,

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	R^2 Regresi	Bobot Minyak/ Sampel (mg/g)
Kontrol - I	106,772	0,7344	14,71
N organik - I	492,003	0,5419	4,23
P organik - I	46,820	0,8391	4,99
Kontrol - II	21,666	0,9095	14,78
N organik - II	15,875	0,9173	19,07
P organik - II	27,406	0,9907	14,55

terhadap hasil penetapan kandungan minyak secara densitometri menunjukkan hasil yang sejalan atau sinkron. Terlihat bahwa pada panen pertama tanaman belum memproduksi minyak dengan maksimal, yang terlihat sebagai IC_{50} yang tinggi, R^2 regresi dan kandungan minyak yang rendah (Tabel 1). Berdasarkan data Tabel 1 dapat disimpulkan bahwa pemupukan N organik pada *C. mangga* Val. mampu meningkatkan produksi dan sitotoksitas minyak terhadap sel kanker payudara T47D ($IC_{50}=15,875 \mu\text{g}/\text{ml}$) dibandingkan dengan minyak atsiri dari tanaman Kontrol ($IC_{50}=106,772 \text{ mg/ml}$). Penghentian pemberian air menjelang masa dorman dan suhu lingkungan yang panas ($>37^\circ\text{C}$) mampu menginduksi majunya masa dorman tanaman *C. mangga* Val.

SIMPULAN

Pemupukan N organik pada *C. mangga* Val. mampu meningkatkan produksi minyak dalam rimpang dan sitotoksitas minyak terhadap sel kanker payudara T47D. Penghentian pemberian air menjelang masa dorman dan suhu lingkungan yang panas ($>37^\circ\text{C}$) mampu menginduksi majunya masa dorman pada tanaman *C. mangga* Val.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, E. (2014). *Mekanisme molekuler antikankersenyawa aktif dalam rimpang curcuma mangga Val.* (Disertasi tidak diterbitkan). Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Astuti, E., Sudibyo, R. S., Jenie, U. A., Mubarika, S., & Sismindari. (2015). Impact of curcuma mangga Val. rhizome essential oil to p53, Bcl-2, H-ras and caspase-9 expression of myeloma cell lines. *Indonesian J Biotech*, 19(1), 23-32.
- Budiman, H. (2001). *Uji sitotoksitas kandungan metabolit sekunder rimpang C. mangga Val. pada sel HeLa-S3 dan raji serta identifikasi struktur kimianya* (Thesis tidak diterbitkan). Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Khasanah, N. (2002). *Analisis GC-MS dan uji sitotoksitas ekstrak minyak atsiri rimpang curcuma mangga Val. pada HeLa-S3 dan raji cell line* (Thesis tidak diterbitkan). Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lestariana, W., Triandiyasih, H., Sismindari, & Mubarika, S. (2000). *Identifikasi protein aktif dalam curcuma mangga dan uji aktivitasnya pada DNA Superkoil. Buletin ISF*, 3, 25-30.
- Nurrokhman. (2004) *Efek antiproliferasi dan induksi apoptosis minyak atsiri C. mangga Val. pada epithelial cervical cancer cell lines* (HeLa dan Siha) (Thesis tidak diterbitkan). Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rumiyati, Sudibyo, R. S., Sismindari, Jenie, U. A., Mubarika, S., & Kardono, L. B. (2007). Selective cytotoxicity of essential oil of *C. mangga* Val. on cell lines and its effect on expressions of p53 and Bcl-2. *Proceeding of The International Symposium on Recent Progress in Curcumin Research* (pp. 107-114). Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Indonesia,
- Sismindari, Sudibyo, R., & Astuti, E. (2004). Cytotoxic effects of protein fraction isolated from curcuma mangga

- Val rhizomes and containing ribosome-inactivating proteins on cancer cell-lines and normal cell. *Indonesian Journal of Chemistry*, 4(3), 206-111.
- Song, D., Cui, M., Zhao, G., Fan, Z., Nolan, K., Yang, Y., ... & Zhang, D. Y. (2014). Pathway-based analysis of breast cancer. *American journal of translational research*, 6(3), 302.
- Sudibyo, R. S. (2000). Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the main content of volatile oil isolated from Curcuma mangga. *BMIPA*, 10(2), 55-6.
- Sudibyo, R. S., & Purnomo, H. (2019, September). *Molecular docking compounds of essential oil isolated from curcuma mangga Val. toward EGFR*. Makalah dipresentasikan pada Science and Science Education International Seminar. Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Wahyuningsih, M. S. H., Mubarika, S., Bolhuis, R. L. H., Nooter, K., & Oostrum, R. G. (2003). Sitotoksisitas rimpang temu mangga (Curcuma Mangga Val. & V. Zijp.) dan kunir putih (Curcuma Zedoria i.) terhadap beberapa sel kanker manusia (in vitro) dengan metoda SRB. *Journal of the Medical Sciences (Berkala ilmu Kedokteran)*, 35(4), 197-200.

MODIFIKASI KAIN AKTIF ANTIBAKTERI BERBASIS KOMPLEK Mn(II) BASA SCHIFF KITOSAN–SALISILALDEHID

(MODIFICATION OF ANTIBACTERIAL FABRIC FROM Mn(II) SCHIFF BASE CHITOSAN - SALICYLALDEHYDE COMPLEX)

**Ismiyarto, Sesika Novari, Ngadiwiyyana, Purbowatiningrum Ria Sarjono,
dan Noor Basid Adiwibawa Prasetya**

Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudharto SH., Tembalang, Semarang 50275
email: ismiyarto@live.undip.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kompleks Mn(II)-basa Schiff kitosan-salisaldehid dan menguji aktivitasnya sebagai bahan aktif kain antibakteri. Metode penelitian dilakukan melalui tiga tahapan. Pada tahap *pertama* dilakukan sintesis basa Schiff kitosan–salisilaldehid dengan mereaksikan kitosan dengan variasi mol salisilaldehid menggunakan campuran pelarut asam asetat dan etanol, diaduk pada suhu 50°C selama 6 jam. Pada tahap *kedua*, basa Schiff kitosan–salisilaldehid dijadikan kompleks dengan MnCl₂.2H₂O menggunakan campuran pelarut asam asetat 2% dan etanol, diaduk pada suhu 60°C selama 12 jam. Pada tahap *ketiga* dilakukan pelapisan kompleks pada kain katun menggunakan metode *spray* dan selanjutnya dilakukan uji antibakteri terhadap *E. coli* (G-) dan *S. aureus* (G+) menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa basa Schiff kitosan–salisilaldehid dengan rasio substitusi paling besar (0,122) diperoleh ketika disintesis menggunakan salisilaldehid 0,00227 mol. Senyawa kompleks Mn(II)-basa Schiff kitosan–salisilaldehid yang terbentuk berupa serbuk berwarna hitam dengan rendemen 66%. Kain katun yang telah dilapisi kompleks Mn(II)-basa Schiff kitosan–salisilaldehid efektif menghambat pertumbuhan bakteri dengan persen daya hambat sebesar 16,02% terhadap bakteri *E. coli* (G-) dan 14,02% terhadap bakteri *S. aureus* (G+).

Kata kunci: *kitosan, kompleks basa Schiff, rasio substitusi, antibakteri*

Abstract

This study was aimed at obtaining the complex of Mn(II)-Schiff base chitosan-salicylaldehyde and evaluating the activity of antibacterial agent on cotton fabric. The study was conducted through three treatment steps. In the *first* step, chitosan-salicylaldehyde Schiff base was synthesized by reacting chitosan with mole variations of salicylaldehyde and combined with a mixture of acetic acid and ethanol as the solvent which was then stirred at 50°C for 6 hours. In the *second* step, preparation complexes Mn(II)- Schiff base chitosan-salicylaldehyde was conducted by mixing chitosan-salicylaldehyde Schiff base and MnCl₂.2H₂O using acetic acid 2% -ethanol as a solvent at 60°C for 12 h. In the *third* step, the complex was coated onto fabric using spray method and the *E. coli* (G-) dan *S. aureus* (G+) antibacterial test was done to the coated fabric using disk diffusion method. The results showed that 0.00227 mole salicylaldehyde lead to the highest substitution ratio of Schiff base chitosan-salicylaldehyde of 0.122. The Mn(II)-Schiff base chitosan-salicylaldehyde complex was obtained as black powder with a yield of 66%. Cotton fabric that has been coated with the complex, effectively inhibits bacterial growth with a percent inhibition against *E. coli* (G-) and *S. aureus* (G+) bacteria of 16.02% and 14.02%, respectively.

Keywords: *chitosan, Schiff base complex, substitution ratio, antibacterial*

PENDAHULUAN

Tekstil adalah suatu material yang sangat penting karena material tersebut merupakan bahan yang digunakan untuk pembuatan salah satu kebutuhan pokok manusia yaitu pakaian. Berbagai macam tekstil diproduksi sesuai kebutuhan konsumen salah satunya yaitu tekstil antibakteri atau *antibacterial cloth*. Senyawa yang digunakan pada tekstil yaitu triklosan (2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenil eter), namun penggunaannya saat ini sudah dilarang dikarenakan apabila terkena sinar matahari dapat terurai membentuk senyawa dioksin yang bersifat toksik. Salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti triklosan yaitu kitosan. Selain memiliki sifat sebagai antibakteri, kitosan juga memiliki sifat menarik seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas dan produk degradasinya adalah nontoksik, non-imunogenik dan non-karsinogenik (Al-Issa, Abbas, & Matty, 2017). Kitosan terdiri dari unit *N*-asetilglukosamin dan glukosamin yang dihubungkan melalui ikatan β -(1,4) glikosida, adanya gugus amin dan hidroksi bertindak sebagai sisi aktif untuk modifikasi kimia. Modifikasi kimia kitosan salah satunya dibuat menjadi senyawa basa *schiff* (Verlee, Mincke, & Stevens, 2017).

Senyawa basa *schiff* adalah senyawa dengan gugus fungsi $-\text{CH}=\text{N}-$ yang dihasilkan dari reaksi kondensasi antara aldehid dan amina (Rachmawati, Ngadiwiyana,

& Ismiyarto, 2017). Senyawa basa *schiff* merupakan struktur penting yang dibutuhkan untuk aktivitas biologi termasuk antibakteri, antijamur, antimalaria, antioksidan dan aktivitas antitumor sehingga dapat meningkatkan aktivitas kitosan (Barbosa *et al.*, 2017). Sintesis senyawa basa *schiff* dari berbagai senyawa telah dilakukan dan diaplikasikan di bidang medis dan farmasi. Salah satu sintesis senyawa basa *schiff* dari kitosan adalah sebagai antibakteri. Namun, dalam perkembangannya aktivitas antibakteri dari senyawa basa *schiff* yang didapat kurang tinggi. Hal tersebut dapat diatasi dengan pembentukan kompleks senyawa basa *schiff* melalui ikatan koordinasi. Senyawa tersebut bertindak sebagai ligan dengan menyumbangkan elektron bebasnya untuk ion logam pusat sehingga didapatkan senyawa basa *schiff* yang lebih stabil dan aktivitas antibakterinya lebih tinggi. Hal ini dapat digunakan sebagai bahan aktif kain antibakteri.

Penelitian Pervaiz *et al.* (2019) melaporkan sintesis senyawa kompleks basa *schiff* Mn(II) dari leusin dan salisaldehid memiliki aktivitas antibakteri yang cukup tinggi. Penelitian mengenai sintesis senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan-salisaldehid dari kitosan dan salisaldehid sebagai bahan aktif kain antibakteri belum pernah dilaporkan. Dalam penelitian ini dilakukan sintesis basa *schiff* kitosan-salisaldehid dari kitosan dengan tujuh

variasi mol salisilaldehid yaitu 0,0004; 0,00068; 0,00121; 0,00174; 0,00227; 0,0028; 0,00333 mol. Produk yang memiliki rasio substitusi paling tinggi selanjutnya dibuat kompleks dengan ion logam Mn menghasilkan kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid untuk kemudian diuji aktivitas antibakterinya.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat gelas standar penelitian, viskometer Ubbelhode, satu set alat refluks, neraca analitik, *Laminar Air Flow*, inkubator Memert IN55, orbital *shaker*, autoklaf, mikro pipet 10–100 µL, jarum ose, cawan petri, *spreader*, pinset, Shimadzu UV-1280 UV-Vis (*Ultra Violet- Visible*) spectrophotometer, Perkin Elmer 96681 *Frontier Fourier Transform Infrared (FTIR)* spectrophotometer, dan SEM-EDX.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah salisilaldehid p.a (*Merck*), kitosan (DD= 68,42% ,BM= 124926,47 g/mol), asam asetat glasial p.a (*Merck*), NaOH (*Merck*), MnCl₂.H₂O (*Merck*), etanol teknis, akuades, *nutrient agar* (*Merck*), pepton (*Merck*), ekstrak ragi (*Merck*), kain katun, kertas saring Whatmann No. 42, pH indikator universal, amoksilin, dan alkohol 70%.

Sintesis Senyawa Basa Schiff Kitosan–salisilaldehid. Tujuh variasi mol salisaldehid

0,0004; 0,00068; 0,00121; 0,00174; 0,00227; 0,0028; 0,00333 mol masing-masing dilarutkan dalam 10 mL etanol, kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam 1 g kitosan (0,0028 mol) yang telah dilarutkan dengan 50 mL larutan asam asetat 2% (v/v). Campuran larutan di-stirer dan dipanaskan selama 6 jam pada suhu 50°C. Produk yang dihasilkan diendapkan dengan NaOH 5% (w/v) sampai endapan tidak terbentuk lagi. Endapan yang diperoleh kemudian disaring dan dicuci dengan akuades dan etanol, setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C.

Sintesis Senyawa Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–salisilaldehid. Senyawa kitosan–salisilaldehid hasil sintesis sebanyak 0,2 g dilarutkan dalam 10 mL pelarut asam asetat 2% dan 0,15 g MnCl₂ dalam pelarut etanol ditambahkan perlahan-lahan ke dalam larutan kitosan–salisilaldehid. Campuran di-stirer dan dipanaskan selama 12 jam pada suhu 60°C. Produk yang dihasilkan diendapkan menggunakan NaOH 5% kemudian disaring. Hasil penyaringan dicuci dengan akuades dan etanol untuk selanjutnya dilakukan pengeringan dengan oven.

Pengujian Aktivitas Antibakteri. Sebanyak 1 g nutrient agar dilarutkan dalam 50 mL akuades yang telah berisi 0,025 g ekstrak ragi dan 0,125 g pepton. Campuran diaduk kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam bersama dengan jarum

ose dan tabung reaksi. Penanaman bakteri dilakukan dalam *Laminar Air Flow*. Media agar dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diletakkan dengan kemiringan $\pm 30^\circ$. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditanam ke dalam media agar miring dalam tabung reaksi dengan cara digores menggunakan jarum ose. Hasil penanaman bakteri diinkubasi selama 18-24 jam.

Pembuatan Inokulum Bakteri. Sebanyak 0,05 g ekstrak ragi dan 0,25 g pepton dilarutkan dalam 100 mL akuades. Campuran diaduk dan dimasukkan ke dalam tiga buah erlenmeyer kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam bersama jarum ose. Stok bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam disuspensikan ke dalam media nutrien broth. Suspensi bakteri diinkubasi selama 2 jam dalam inkubator *shaker*. Pengukuran absorbansi dilakukan setiap 2 jam sekali pada panjang gelombang 600 nm untuk mendapatkan kekeruhan suspensi bakteri yang sama dengan kekeruhan larutan standar skala 0,5 *McFarland*.

Preparasi Larutan Senyawa Uji. Larutan uji dibuat dengan melarutkan 10 mg tujuh sampel senyawa basa schiff kitosan-salisilaldehid, kitosan dan senyawa kompleks Mn(II) basa schiff kitosan-salisilaldehid dalam 10 mL larutan asam asetat 1% untuk memberikan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Asam asetat 1% digunakan sebagai kontrol negatif

dan amoksilin digunakan sebagai kontrol positif.

Pembuatan Media Uji. Sebanyak 0,05 g ekstrak ragi dan 0,25 g pepton serta 2 g nutrient agar dilarutkan dalam 100 mL akuades. Campuran diaduk hingga homogen, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam bersama cawan petri. Sebanyak 20 mL media nutrient agar dituang ke dalam cawan petri lalu dibiarkan media nutrien agar memadat.

Uji Aktivitas Antibakteri. Suspensi bakteri yang telah memenuhi kekeruhan larutan standar konsentrasi 0,5 *McFarland* diinokulasikan ke media *nutrient agar* yang telah memadat sebanyak 75 μL . Sebanyak 10 μL larutan uji diteteskan pada kertas cakram hingga larutan uji terdifusi sempurna. Kertas cakram kemudian diletakkan pada permukaan media *nutrient agar* sebagai media uji untuk selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Dalam penelitian ini, larutan amoksilin digunakan sebagai kontrol positif dan larutan asam asetat digunakan sebagai kontrol negatif. Zona bening yang terlihat diukur diameternya dalam satuan milimeter.

Pelapisan Kain dengan Metode Spray. Pelapisan senyawa antibakteri pada kain katun dilakukan dengan metode *spray*. Kain katun berukuran $10 \times 10 \text{ cm}^2$ terlebih dahulu dicuci dan dibilas menggunakan akuades, kemudian dengan oven pada suhu 60°C selama 30 menit. Kain yang telah kering ditautkan

pada plat kaca untuk disemprot dengan larutan sampel kompleks Mn(II) basa schiff kitosan–salisilaldehid ±4 mL menggunakan *Air brush* dengan jarak penyemprotan 10 cm, selanjutnya kain dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 30 menit dan dimantapkan pada suhu 150°C selama 3 menit.

Uji Aktivitas Kain Antibakteri. Uji aktivitas kain antibakteri dilakukan dengan metode turbidimetri. Kain tanpa pelapisan, kain yang dilapisi asam asetat 1% dan kain yang dilapisi senyawa kompleks Mn(II) basa schiff kitosan–salisilaldehid berukuran 3×3 cm² masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 25 mL media cair kemudian disterilisasi selama 1 jam menggunakan autoklaf. Bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing sebanyak 1 mL yang telah di-shaker selama 24 jam dimasukkan ke dalam media yang telah berisi sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C untuk selanjutnya diukur absorbansinya pada jam ke 0, 6, 8 dan 12 menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 600 nm. Data absorbansi tersebut digunakan untuk menghitung persen daya hambat kain antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri uji.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_0 - A_t) - (B_0 - B_t)}{(A_0 - A_t)} \times 100\%$$

Keterangan:

A₀ = jumlah bakteri kontrol jam ke-0

A_t = jumlah bakteri kontrol jam ke-t

B₀ = jumlah bakteri sampel jam ke-0

B_t = jumlah bakteri sampel jam ke-t

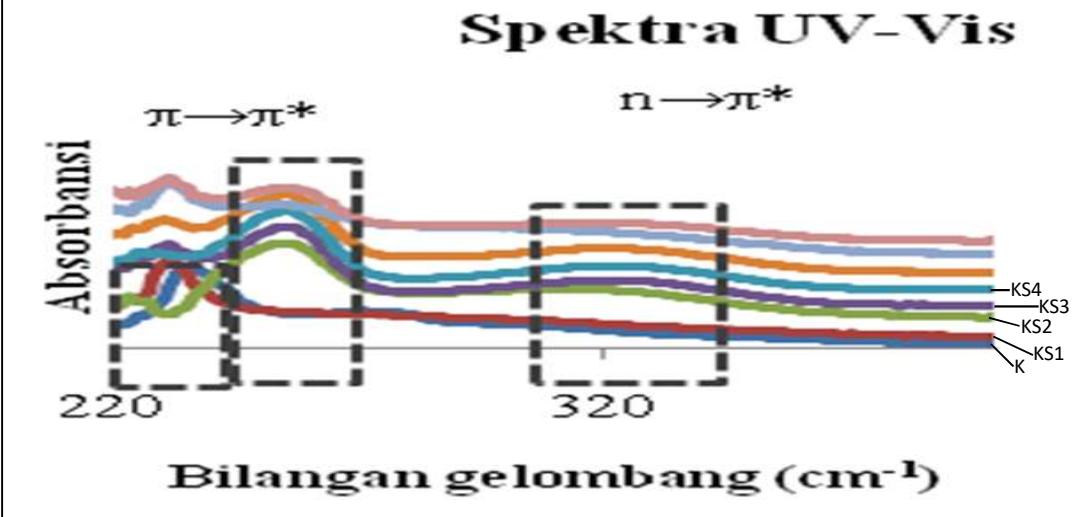
HASIL DAN PEMBAHASAN

Produk reaksi kondensasi dari salisilaldehid dan kitosan menghasilkan padatan berwarna kuning pucat yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum UV-Vis kitosan dan produk reaksi kondensasi dari kitosan dan salisilaldehid dengan tujuh variasi mol salisilaldehid ditunjukkan oleh Gambar 1.

Senyawa kitosan menghasilkan dua pita serapan pada daerah 235 nm (pita I) yang merupakan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ gugus karbonil ($>\text{C}=\text{O}-$) dan 271 nm (pita II) yang merupakan transisi $n \rightarrow \pi^*$ gugus hidroksi (OH) terisolasi. Pada senyawa basa schiff kitosan–salisilaldehid dengan tujuh variasi mol salisilaldehid menghasilkan dua pita serapan pada daerah 254-255 nm (pita I) yang merupakan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) dan konjugasi cincin benzena tersubstitusi gugus hidroksi (OH) dan 292-323 nm (pita II) yang merupakan transisi $n \rightarrow \pi^*$ gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) dan konjugasi cincin benzena tersubstitusi gugus hidroksi (OH). Data serapan panjang gelombang senyawa basa schiff kitosan–salisilaldehid dengan tujuh variasi mol salisilaldehid ditunjukkan pada Tabel 1.

Karakterisasi lebih lanjut dilakukan menggunakan alat spektrofotometer infra-

Gambar 1. Spektra UV Kitosan dan Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid dengan Tujuh Variasi Mol Salisilaldehid



Tabel 1
Data Serapan Panjang Gelombang Kitosan dan Basa Schiff
Kitosan-Salisilaldehid

Sampel	Variasi mol salisilaldehid	Panjang Gelombang (nm)	
		Pita I	Pita II
K		235	271
KS1	0,0004	232	291
KS2	0,00068	255	313
KS3	0,00121	255	321
KS4	0,00174	255	322
KS5	0,00227	255	322
KS6	0,0028	254	292
KS7	0,00333	255	319

Keterangan:

K = kitosan.

KS1, KS2, KS3, KS4, KS5, KS6, KS7= senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid dengan tujuh variasi mol salisilaldehid 0,0004; 0,00068; 0,00121; 0,00174; 0,00227; 0,0028; 0,00333 mol.

merah untuk mengkonfirmasi perubahan gugus karbonil ($>\text{C}=\text{O}-$) pada kitosan menjadi gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) berdasarkan serapan gelombangnya. Spektrum inframerah

kitosan menunjukkan adanya serapan gugus karbonil ($>\text{C}=\text{O}-$) pada bilangan gelombang 1644,32 cm⁻¹ sedangkan pada senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid dengan tujuh

variasi mol salisilaldehid terjadi pergeseran serapan menuju bilangan gelombang lebih rendah yaitu 1640,08; 1643,15; 1639,14; 1638,39; 1640,83; 1641,69; 1641,86 cm^{-1} yang menunjukkan adanya serapan gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$). Adanya pergeseran tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa basa *schiff* telah terbentuk. Analisis dengan spektrofotometer inframerah memberikan spektra yang ditunjukkan pada Gambar 2.

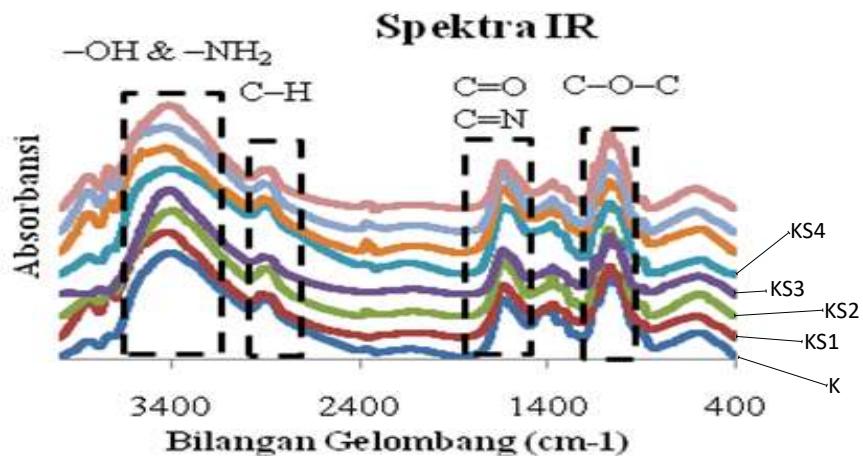
Sintesis senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid diperoleh dengan mereaksikan senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid dengan larutan $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Kompleks basa *schiff* dapat terbentuk karena adanya ikatan koordinasi yang terjadi antara gugus $\text{C}=\text{N}$ dan gugus OH pada basa *schiff* kitosan–salisilaldehid dengan logam Mn. Pasangan elektron bebas yang terdapat pada atom N gugus $\text{C}=\text{N}$ dan atom O pada gugus

OH menyebabkan basa *schiff* bertindak sebagai ligand dengan mendonorkan pasangan elektron bebasnya kepada ion Mn yang bertindak sebagai ion logam pusat. Produk reaksi merupakan padatan berwarna hitam yang diperoleh dari proses pengendapan oleh larutan NaOH disertai pencucian dengan pelarut akuades serta etanol dan pengeringan dengan oven. Massa produk yang diperoleh sebesar 0,2294 g.

Pembentukan senyawa kompleks menyebabkan munculnya *peak* baru pada daerah di sekitar 400 nm yang menunjukkan adanya transisi orbital $d \rightarrow d$ yang terjadi pada logam pusat. Namun, hasil spektra *uv-vis* tidak menghasilkan *peak* pada daerah tersebut sehingga dilakukan dekonvolusi untuk mengetahui adanya transisi orbital $d \rightarrow d$.

Dekonvolusi senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid

Gambar 2. Spektra IR Kitosan dan Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid dengan Tujuh Variasi Mol Salisilaldehid



menghasilkan empat *peak* (Gambar 3b) sedangkan dekonvolusi senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid menghasilkan tiga *peak* (Gambar 3a). Dekonvolusi senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid menghasilkan tiga *peak*. Masing-masing *peak* merupakan transisi dari $\pi \rightarrow \pi^*$ gugus karbonil ($>\text{C}=\text{O}-$), $\pi \rightarrow \pi^*$ gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) dan konjugasi cincin benzena tersubstitusi gugus hidroksi (OH) dan $n \rightarrow \pi^*$ gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) dan konjugasi cincin benzena tersubstitusi gugus hidroksi (OH). Adanya *peak* baru yang muncul pada daerah 412 nm merupakan transisi dari orbital $d \rightarrow d$ pada logam Mn yang merupakan atom pusat.

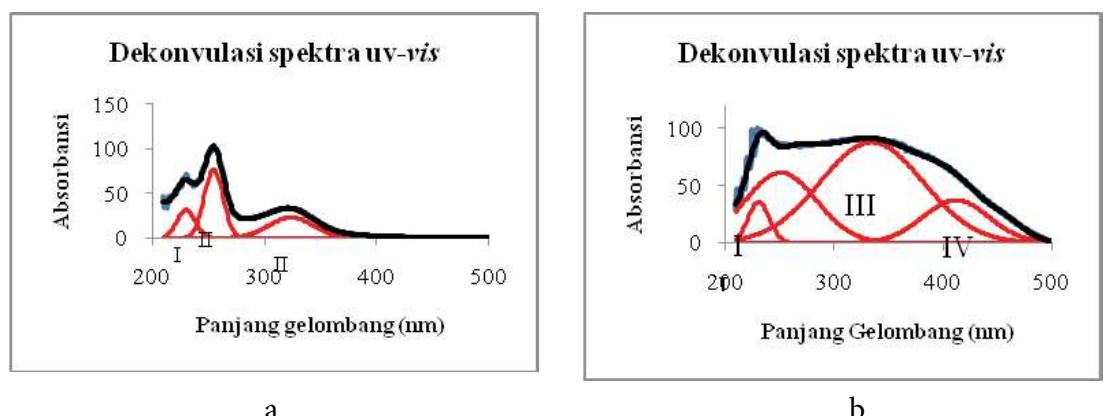
Karakterisasi lebih lanjut dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer inframerah untuk mengonfirmasi terbentuknya senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff*

kitosan–salisilaldehid. Analisis dengan spektrofotometer inframerah memberikan spektra yang ditunjukkan pada Gambar 4.

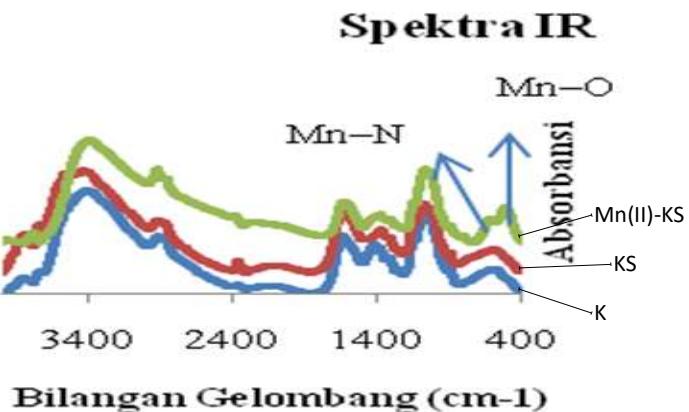
Spektrum inframerah senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid menunjukkan pergeseran serapan gugus imina ($>\text{C}=\text{N}-$) menuju bilangan gelombang yang lebih rendah yaitu $1630,69\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan koordinasi basa *schiff* dengan ion logam pusat. Puncak khas senyawa kompleks terlihat pada daerah gugus fungsi yaitu adanya serapan pada bilangan gelombang $612,92\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan vibrasi ikatan Mn–N dan $516,08\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan vibrasi ikatan Mn–O.

Karakterisasi dilakukan dengan SEM-EDX untuk mengetahui persen komposisi unsur yang ada pada kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid. Analisis SEM-

Gambar 3. Dekonvolusi Spektra UV-Vis (a) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid, (b) Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid



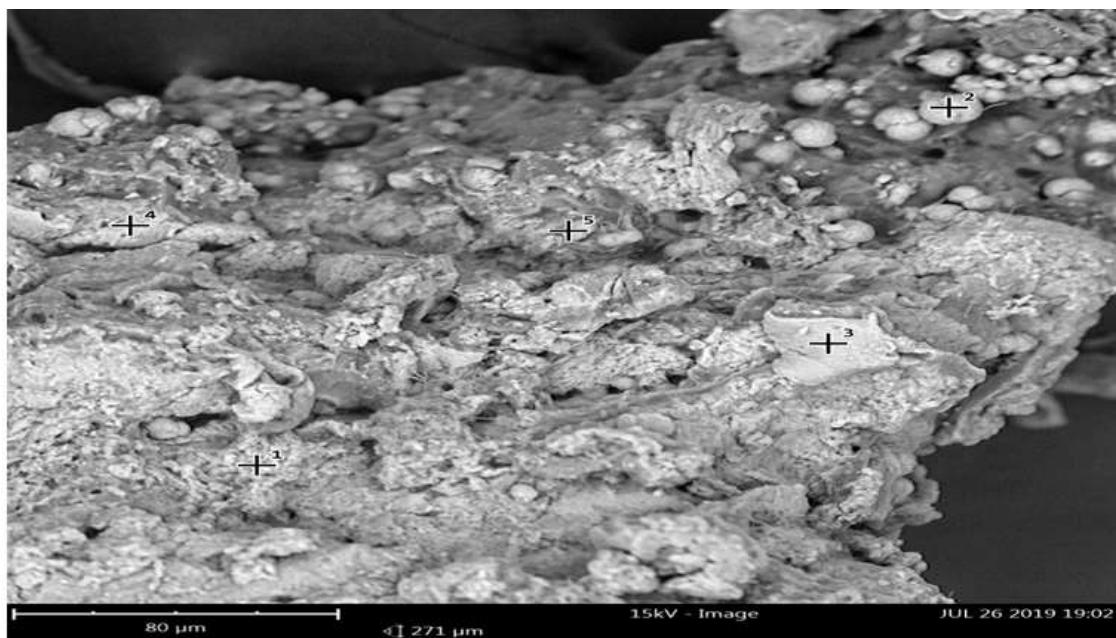
Gambar 4. Spektra IR Kitosan, Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid, Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid



EDX kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid diambil dari lima titik berbeda ditunjukan oleh Gambar 5.

Komposisi unsur yang terdapat pada senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid ditunjukkan pada

Gambar 5. Hasil SEM Senyawa Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid pada Lima Titik Berbeda



Tabel 2
Hasil Analisis EDX Senyawa Kompleks Mn(II) Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid

Unsur	Berat (%)				
	Titik 1	Titik 2	Titik 3	Titik 4	Titik 5
Mn	29,4	48,1	54,1	55,1	24,9
O	49,2	36,3	29,7	28,5	55,3
C	11,6	10,3	10,2	10,1	12,6
N	9,8	5,3	6	6,2	7,2

Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa unsur mangan (Mn) paling dominan pada titik 2,3 dan 4 masing-masing sebesar 48,1%, 54,1% dan 55,3%. Adanya unsur Mn dalam analisis EDX menunjukkan bahwa kompleks sudah terbentuk.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa sampel kitosan, kitosan–salisilaldehid, kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid menghasilkan zona bening yang lebih besar terhadap bakteri *Escherichia coli* (G^-) dibanding bakteri *Staphylococcus aureus* (G^+). Dapat disimpulkan bahwa sampel memiliki sensitifitas lebih tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* (G^-) dibanding bakteri *Staphylococcus aureus* (G^+). Perbedaan sensitifitas tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan struktur membran sel masing-masing bakteri (Lopez-Romero, González-Ríos, Borges, & Simões, 2015).

Perbedaan struktur membran sel bakteri dapat dilihat dari komponen penyusun membran sel luar dan dinding selnya. Bakteri gram positif dikelilingi

oleh dinding sel yang terdiri dari beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku. Oleh karena itu, sel menjadi sulit ditembus (Silhavy, Kahne, & Walker, 2010). Bakteri gram negatif dikelilingi oleh dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tipis (Miller & Salama, 2018). Membran luar bakteri gram negatif tersusun dari fosfolipid dan lipopolisakarida yang memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofilik tersebut dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa basa *schiff* yang memiliki gugus imina sehingga menembus lapisan lipopolisakarida (Joseyphus & Nair, 2008).

Senyawa basa *schiff* memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibanding kitosan. Hal tersebut dikarenakan adanya gugus imina yang terdapat pada senyawa basa *schiff* memiliki elektron bebas pada atom nitrogennya sehingga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan pusat aktif sel yang akan mengganggu proses normal sel. Adanya substituen –OH pada kerangka basa *schiff* juga dapat meningkatkan aktivitas

antibakterinya (Matar, Talib, Mustafa, Mubarak, & AlDamen, 2015).

Aktivitas antibakteri senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid disebabkan oleh meningkatnya kepadatan muatan positif senyawa kompleks yang menyebabkan interaksi antara senyawa dengan muatan negatif bakteri meningkat. Khelat yang terbentuk dari ion logam Mn dan ligan basa *schiff* kitosan–salisilaldehid akan berinteraksi dengan permukaan sel bakteri sehingga pertumbuhan sel bakteri terganggu. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Tabel 3.

Hasil analisis permukaan kain sebelum *coating* maupun setelah *coating* menggunakan mikroskop pada perbesaran 4x maupun perbesaran 10x tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Artinya, serat

kain katun yang telah dilapisi senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid tidak mengalami kerusakan. Hasil analisis dengan mikroskop ditunjukkan pada Gambar 6.

Pada uji antibakteri digunakan bakteri uji *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* karena kedua bakteri tersebut banyak ditemukan pada pakaian pasien yang dirawat di rumah sakit (Callewaert *et al.*, 2014). Hasil persen daya hambat kain antibakteri ditunjukkan pada Gambar 7. Gambar 7 menunjukkan bahwa persen daya hambat kain antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* (G^-) lebih tinggi dibandingkan bakteri *Staphylococcus aureus* (G^+). Hal ini dikarenakan dinding sel bakteri *Eschericia coli* (G^-) yang merupakan bakteri gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan

Tabel 3
Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Kompleks Mn(II)
Basa Schiff Kitosan–Salisilaldehid

Sampel	C (mg/mL)	Zona Hambat (mm)	
		<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>
Kitosan	1	5	4
KS5	1	6	5
Mn-KS	1	8	7
(+)	0,01	6	3
(-)	10	4	4

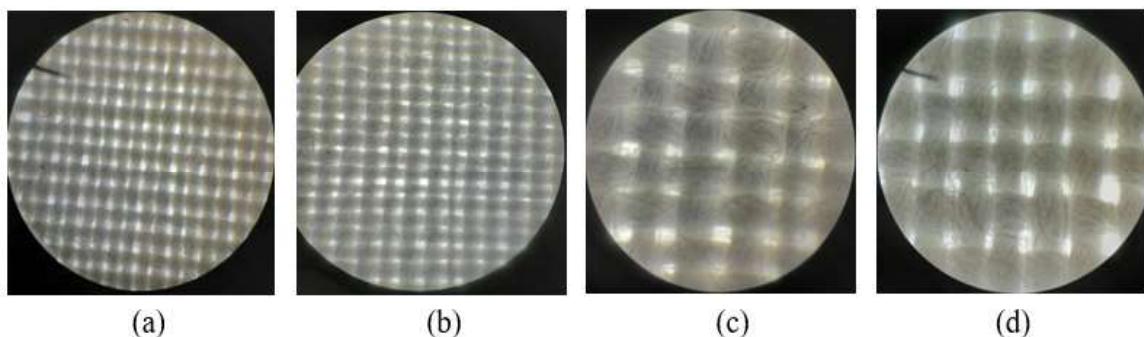
Keterangan:

C : Konsentrasi, (+) : amoksilin, (-) : asam asetat

KS5 : senyawa basa *schiff* kitosan–salisilaldehid variasi 0,00227 mol salisilaldehid

Mn-KS : senyawa kompleks Mn(II) basa *schiff* kitosan–salisilaldehid dengan variasi 0,00227 mol salisilaldehid

Gambar 6. Mikroskop Kain Antibakteri ((a) Noncoating Perbesaran 4x, (b) Coating Perbesaran 4x, (c) Noncoating Perbesaran 10x, (d) Coating Perbesaran 10x)

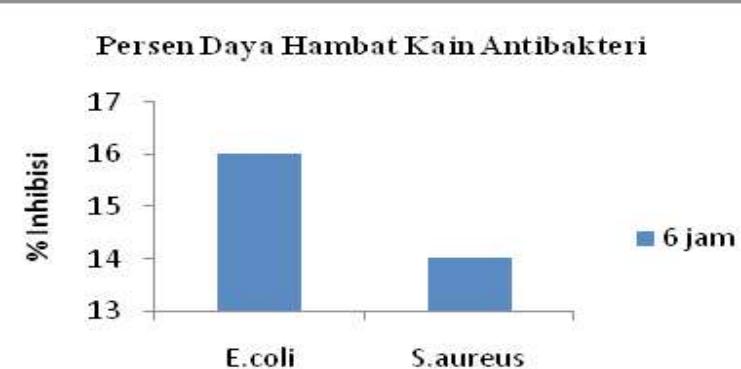


yang tipis. Selain itu, membran luar sel bakteri gram negatif tersusun dari fosfolipid dan lipopolisakarida yang memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofilik tersebut dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus imina pada senyawa basa schiff sehingga dapat menembus lapisan lipopolisakarida bakteri, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* (G^+) yang merupakan bakteri gram negatif dinding

selnya mengandung banyak lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku sehingga lebih sulit ditembus.

Gambar 7 menunjukkan bahwa persen daya hambat kain antibakteri terhadap dua bakteri uji paling tinggi pada pengukuran jam ke-6 sehingga dapat disimpulkan bahwa kemampuan kain antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri efektif

Gambar 7. Grafik Persen Daya Hambat Kain Antibakteri



pada enam jam pertama, karena setelah jam ke-6 bakteri akan tumbuh kembali.

SIMPULAN

Aplikasi senyawa kompleks Mn(II) basa schiff kitosan–salisilaldehid mampu digunakan sebagai kain antibakteri, dan efektif menghambat pertumbuhan bakteri pada jam ke-6 dengan menghasilkan persen daya hambat sebesar 16,02% terhadap bakteri *Eschericia coli* (G⁻) dan 14,02% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (G⁺)

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Issa, M. A., Abbas, A. A., & Matty, F. S. (2017). Synthesis and characterization of schiff base derived from chitosan and its complexes with (Co⁺², Ni⁺² and Cu⁺²). *Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Science*, 29(2), 115-129.
- Barbosa, H. F. G., Attjioui, M., Ferreira, A. P. G., Dockal, E. R., El Gueddari, N. E., Moerschbacher, B. M., & Cavalheiro, É. T. G. (2017). Synthesis, characterization and biological activities of biopolymeric Schiff bases prepared with chitosan and salicylaldehydes and their Pd (II) and Pt (II) complexes. *Molecules*, 22(11), 1987.
- Callewaert, C., De Maeseneire, E., Kerckhof, F. M., Verliefde, A., Van de Wiele, T., & Boon, N. (2014). Microbial odor profile of polyester and cotton clothes after a fitness session. *Applied and environmental microbiology*, 80(21), 6611-6619.
- Joseyphus, R. S., & Nair, M. S. (2008). Antibacterial and antifungal studies on some schiff base complexes of zinc (II). *Mycobiology*, 36(2), 93-98.
- Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., & Simões, M. (2015). Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Matar, S. A., Talib, W. H., Mustafa, M. S., Mubarak, M. S., & AlDamen, M. A. (2015). Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of Schiff bases derived from benzaldehydes and 3, 3'-diaminodipropylamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(6), 850-857.
- Miller, S. I., & Salama, N. R. (2018). The gram-negative bacterial periplasm: Size matters. *PLoS biology*, 16(1), e2004935.
- Pervaiz, M., Ahmad, I., Yousaf, M., Kirn, S., Munawar, A., Saeed, Z., ... & Rashid, A. (2019). Synthesis, spectral and antimicrobial studies of amino acid derivative Schiff base metal (Co, Mn, Cu, and Cd) complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 206, 642-649.
- Rachmawati, I. E., Ngadiwiyana, & Ismiyarto. (2017). Sintesis turunan azomethin sebagai zat aktif inhibitor korosi pada logam menggunakan bahan dasar piperonal dan 2-aminopiridin. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(3), 136-139.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 2(5), a000414.
- Verlee, A., Mincke, S., & Stevens, C. V. (2017). Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 164, 268-283.

PENGARUH VARIASI TANAMAN BARIER SEBAGAI *NATURAL PEST CONTROL* TERHADAP POPULASI HAMA DAN PRODUKTIVITAS PADI**(THE EFFECT OF BARRIER PLANT VARIATION AS *NATURAL PEST CONTROL* ON PEST POPULATION AND RICE PRODUCTION)****Tien Aminatun, Budiwati, Lili Sugiyarto, Amin Khusnadiyah, Anisa Setya Hidayah
dan Ema Imtihana**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Jl. Colombo No. 1 Yogyakarta 55281
email: tien_aminatun@uny.ac.id**Abstrak**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap dinamika populasi serangga hama pada tanaman padi dan produktivitas tanaman padi. Penelitian ini dilakukan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian UGM Banguntapan Bantul. Variabel bebas dari penelitian ini adalah perlakuan variasi tanaman barier yaitu kontrol (tanpa *barier*), gulma alami, bunga matahari, dan bunga kenikir. Variabel terikatnya adalah dinamika populasi serangga hama dan produktivitas tanaman padi. Pengamatan serangga hama dan musuh alaminya dilakukan terbatas pada pagi hari antara pukul 08.00-11.00 dengan metode *scan sampling* yang dilakukan pada 3 minggu sekali. Data produktivitas tanaman padi yang diambil meliputi berat kering gabah hasil panen per plot perlakuan. Untuk melihat pengaruh perlakuan variasi jenis tanaman barier terhadap populasi serangga hama tanaman padi dan produktivitas tanaman padi dilakukan uji ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap perbedaan dinamika populasi serangga hama maupun terhadap produktivitas tanaman padi, tetapi perlu diadakan penelitian lanjutan yang dikaitkan dengan variabel lain yang mempengaruhi produktivitas tanaman padi.

Kata kunci: tanaman barier, hama, musuh alami***Abstract***

This study was aimed at analyzing the effect of the barrier plant variation to the population dynamic of rice pest insect and on rice crop productivity. The study was conducted in the experimental Garden of Faculty of Agriculture of Gadjah Mada University in Banguntapan Bantul. The independent variable was the treatment of barrier plant variation, i.e. control (without barrier), natural weed, sunflower and kenikir flower plants, while the dependent variables were population dynamic of pest insect and rice crop productivity. Pest insects and their natural enemies observation was carried out in between 08.00-11.00 am by scan sampling every 3 weeks. The retrieval of crop productivity data was done when the harvest per treatment plot. The data obtained was then tested with ANOVA, to find out the effect of the treatments on population dynamic of rice crop pest, as well as rice crop productivity. The results show that there was no significant difference in the effect of barrier plant variation to the differences in population dynamic of pest insects; as well as in the productivity of rice crop, but it is necessary to conduct advanced research that is associated with other variables that affect rice crop productivity.

Keywords: *barrier plants, pests, natural enemies*

PENDAHULUAN

Tanaman padi merupakan tanaman penting di Indonesia karena merupakan penghasil makanan pokok bagi sebagian besar masyarakat Indonesia. Dalam budidaya tanaman padi banyak jenis serangga hama yang menyerang sehingga mengurangi produktivitas atau hasil panen. Selama ini pengendalian hama banyak dilakukan dengan aplikasi pestisida sintetik yang berdampak negatif bagi lingkungan dan kesehatan. Dengan meningkatnya kesadaran dari banyak kalangan masyarakat, maka mulai dilakukan pengendalian hama yang lebih ramah lingkungan, salah satunya adalah dengan pengendalian hama secara alami.

Pengendalian hama secara alami (*natural pest control*) adalah pengendalian hama yang dilakukan dengan pendekatan ekologis (*ecological approach*) yang mengoptimalkan kerja *ecosystem service* (jasa ekosistem) dalam mengendalikan populasi hama, salah satunya adalah dengan tanaman barier yang memungkinkan interaksi multitolik antara tanaman-tanaman utama, hama, musuh alami, dan berbagai jenis tanaman sekunder yang berfungsi sebagai tanaman barier tersebut (Parolin *et al.*, 2012). Jadi, tanaman barier atau sering juga disebut sebagai tanaman refugia adalah tanaman yang ditanam di sekeliling lahan pertanian tanaman utama, yang diharapkan

berfungsi sebagai tanaman perangkap bagi hama sehingga diharapkan dapat mengurangi populasi hama yang menyerang tanaman utama tersebut.

Hasil penelitian Erdiansyah dan Putri (2018) pada pertanaman padi sawah menyimpulkan bahwa penggunaan refugia kenikir (*Cosmos caudatus*) dan bunga kertas (*Zinnia elegans*) dapat meningkatkan jumlah musuh alami dan menekan pertumbuhan populasi hama wereng hijau poppy (*Niptophetix spp*). Kurniawati (2015) juga telah mempublikasikan hasil penelitiannya yang menemukan bahwa kehadiran tumbuhan berbunga dapat meningkatkan keragaman dan kelimpahan artropoda musuh alami pada tanaman padi gogo sehingga dapat menekan populasi serangga hama.

Tanaman perangkap selain berfungsi sebagai inang alternatif bagi hama, juga dapat berfungsi menarik serangga musuh alami dan polinator untuk datang. Hasil penelitian Mustakim, Leksono, dan Kusuma (2014) menunjukkan bahwa adanya blok tanaman refugia *Ageratum conyzoides*, *Ageratum houstonianum*, *Commelina difussa*, dan *Capsicum frutescens* pada pertanaman apel, mempengaruhi komposisi jenis dan indeks keanekaragaman serangga polinator yang mengunjungi pertanaman apel tersebut.

Horgan *et al.* (2016) telah menguji coba potensi 13 jenis tanaman untuk digunakan dalam rekayasa ekologi, beberapa di antara-

nya adalah kacang hijau, kacang panjang, dan bunga matahari. Tanaman ini ditanam di lokasi pematang sawah dan dipantau selama perkembangan tanaman padi. Tanaman ini kemudian dikenal dengan nama tanaman refugia, yaitu suatu area yang ditumbuhi beberapa jenis tumbuhan yang dapat menyediakan tempat perlindungan, sumber pakan atau sumberdaya yang lain bagi musuh alami seperti predator dan parasitoid. Setelah diamati ternyata tanaman refugia memiliki pengaruh terhadap keanekaragaman dan kelimpahan musuh alami. Pemanfaatan tanaman refugia memberikan dampak positif terutama terhadap pengendalian hama.

Berdasar latar belakang, perlu dilakukan penelitian bagaimanakah pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap dinamika populasi serangga hama dan musuh alaminya pada tanaman padi, dan bagaimana pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap produktivitas tanaman padi. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap dinamika populasi serangga hama dan musuh alaminya pada tanaman padi serta pengaruh variasi jenis tanaman barier terhadap produktivitas tanaman padi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan rancangan acak lengkap 1 faktorial, yaitu variasi jenis tanaman barier

pada pertanaman padi. Masing-masing perlakuan terdiri atas 3 plot ulangan, dengan luas setiap plot adalah $1 \times 1 \text{ m}^2$. Setiap plot berisi masing-masing 16 tanaman padi dengan jarak tanam 20 cm. Di sekeliling plot tanaman padi ditanami dengan tanaman barier dengan jarak dari tepi plot adalah 20 cm, sedangkan pada plot kontrol tanpa tanaman barier di sekelilingnya. Tanaman barier yang digunakan adalah tanaman kenikir, bunga matahari, dan gulma yang tumbuh alami. Jarak antar plot adalah 2 meter. Penempatan plot-plot perlakuan dilakukan secara acak dengan kode-kode sebagai berikut: P1 untuk perlakuan tanpa tanaman barier dan pinggiran bersih dari gulma (kontrol), P2 untuk perlakuan dengan barier gulma tumbuh alami, P3 untuk perlakuan barier tanaman bunga matahari, dan P4 untuk perlakuan barier tanaman bunga kenikir.

Penelitian ini dilakukan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian UGM Banguntapan Bantul. Variabel bebas dari penelitian ini adalah perlakuan variasi tanaman barier, sedangkan variabel terikatnya adalah dinamika populasi serangga hama dan produktivitas tanaman padi (hasil panen). Sebagai variabel tambahan adalah faktor mikroklimatik dan edafik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit tanaman padi, bibit tanaman kenikir, bunga matahari, dan

pupuk organik. Alat-alat yang digunakan adalah peralatan bertani pada umumnya, *insect net*, *thermometer* udara, *hygrometer*, anemometer, *lux-meter*, *soil tester*, buku identifikasi serangga atau arthropoda, dan kamera.

Dalam penelitian ini dibuat 3 plot ulangan untuk masing-masing perlakuan, yaitu 3 plot ulangan untuk perlakuan tanpa tanaman barier dan pinggiran bersih dari gulma sebagai kontrol (kode P1-a, P1-b, P1-c), 3 plot untuk perlakuan dengan barier gulma tumbuh alami (kode P2-a, P2-b, P2-c), 3 plot ulangan untuk perlakuan barier tanaman bunga matahari (kode P3-a, P3-b, P3-c), dan 3 plot untuk perlakuan barier tanaman bunga kenikir (kode P4-a, P4-b, P4-c). Jarak antarplot adalah 2 meter. Penempatan plot-plot perlakuan dilakukan secara acak.

Bibit padi dengan varietas gogo Inpago Unsoed 1 ditanam dalam plot dengan jarak tanam 20 cm. Pemeliharaan tanaman padi dilakukan seperti cara-cara yang dilakukan oleh petani pada umumnya, yang meliputi pengairan, pemupukan, penyiraman, dan pemantauan. Pemupukan dilakukan 3 kali, yaitu 10 hari setelah tanam, 1 bulan setelah tanam, dan 2 bulan setelah tanam. Penyiraman dilakukan setiap satu minggu sekali dan penyiraman dilakukan 2 kali setiap minggu dengan sistem *leb* (lahan direndam dalam waktu 30 menit). Pemeliharaan ini

dilakukan oleh seorang petani yang disewa khusus untuk kepentingan penelitian ini.

Pengamatan serangga hama dan musuh alaminya dilakukan terbatas pada pagi hari, yaitu antara pukul 08.00-11.00 dengan metode *scan sampling* (Martin & Bateson 1993). Pengambilan data arthropoda dilakukan 3 minggu sekali. Data kandungan hara tanah didapat dari hasil analisis sampel tanah yang diambil pada bulan ke-3 setelah tanam. Analisis sampel tanah dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Pangan (BPTP) Maguwoharjo Depok Sleman DIY. Pengambilan data produktivitas tanaman dilakukan saat panen yaitu dengan menimbang berat kering gabah per plot perlakuan.

Data yang diperoleh kemudian diuji beda dengan ANOVA, untuk melihat pengaruh perlakuan variasi jenis tanaman barier terhadap dinamika populasi serangga hama tanaman padi, serta produktivitas tanaman padi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis-jenis serangga hama dan musuh alaminya dalam tingkatan takson familia yang ditemukan pada tajuk tanaman padi di plot-plot perlakuan disajikan pada Tabel 1. Berdasar Tabel 1 diketahui bahwa terdapat 13 familia serangga hama dan 10 familia musuh alaminya yang ditemukan selama 1 musim tanam. Jenis hama dan musuh

Tabel 1
Jenis-jenis Serangga Hama dan Musuh Alaminya dalam Tingkatan Takson Familia yang Ditemukan pada Tajuk Tanaman Padi di Plot-plot Perlakuan

No	Familia	Frekuensi Kehadiran dalam 1 Musim Tanam			
		P1	P2	P3	P4
Serangga Hama					
1	Delphacidae	11	9	4	9
2	Acrididae	8	10	5	3
3	Thyreocoridae	34	17	38	14
4	Chrysomelidae	0	0	1	0
5	Alydidae	3	2	0	0
6	Coreidae	1	0	0	0
7	Pentatomidae	0	1	0	0
8	Crambidae	4	1	1	3
9	Lycanidae	3	0	0	0
10	Scarabidae	2	3	0	1
11	Carabidae	0	3	0	0
12	Curculionidae	0	0	0	1
13	Drosophilidae	0	2	0	0
Jumlah Familia		8	9	5	6
Frekuensi Kehadiran Hama		66	48	49	31
Serangga Musuh Alami					
1	Formicidae	22	12	14	13
2	Tomicidae	1	1	1	0
3	Arachnidae	1	0	1	1
4	Coccinellidae	4	2	3	2
5	Staphylinidae	0	1	0	1
6	Libellulidae	0	0	1	0
7	Gryllidae	2	1	1	0
8	Mantidae	0	0	1	0
9	Sarcophagidae	0	0	1	0
10	Vespidae	0	2	1	1
Jumlah Familia		5	6	9	5
Frekuensi Kehadiran Musuh Alami		30	19	24	18

Keterangan:

P1 = Perlakuan tanpa tanaman barier dan pinggiran bersih dari gulma (kontrol)

P2 = Perlakuan dengan barier gulma yang tumbuh alami

P3 = Perlakuan barier tanaman bunga matahari

P4 = Perlakuan barier tanaman bunga kenikir

alami tertinggi ditemukan pada perlakuan kontrol tanpa barier (P1), demikian juga dengan frekuensi kehadiran hama dan musuh alaminya. Frekuensi kehadiran hama maupun musuh alaminya yang terendah terjadi pada perlakuan barier bunga kenikir (P4). Hal ini berarti tanaman kenikir lebih menghalangi kehadiran serangga hama maupun musuh alaminya pada tajuk tanaman padi yang diberi barier tersebut, dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kemungkinan hal ini disebabkan karena bau bunga kenikir yang merupakan *repellent* bagi kehadiran serangga (Untung, 1993).

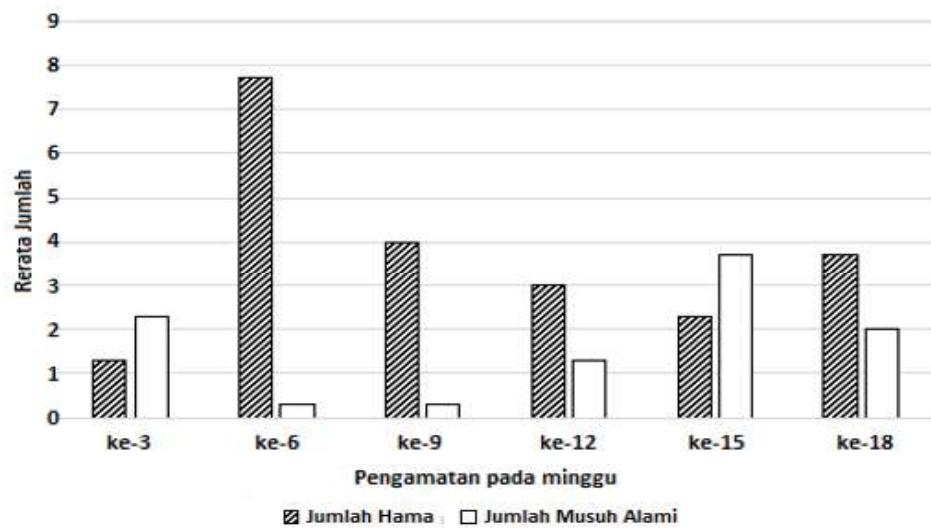
Tumbuhan berbunga menarik kedatangan serangga menggunakan karakter morfologi dan fisiologi dari bunga, yaitu ukuran, bentuk, warna, keharuman, periode berbunga,

serta kandungan nektar dan pollen (Altieri & Toledo, 2011). Kebanyakan serangga lebih menyukai bunga yang berukuran kecil, cenderung terbuka, dengan waktu berbunga yang cukup lama yang biasanya terdapat pada bunga dari famili Compositae atau Asteraceae, contohnya adalah bunga kenikir.

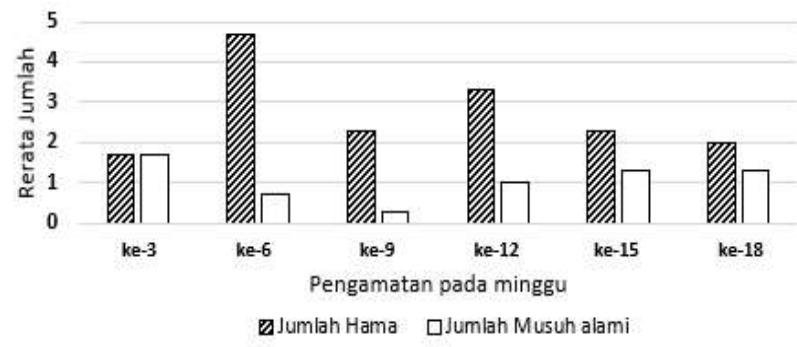
Populasi serangga hama dan musuh alaminya mengalami dinamika selama 1 musim tanam padi, mengikuti perkembangan tanaman padi. Pada Gambar 1, 2, 3 dan 4 berikut ini disajikan dinamika total populasi serangga hama dan musuh alaminya di setiap minggu pengamatan untuk setiap perlakuan.

Berdasar pada Gambar 1, 2, 3 dan 4 diketahui bahwa jumlah total populasi serangga hama maupun musuh alaminya mengalami dinamika di setiap minggu peng-

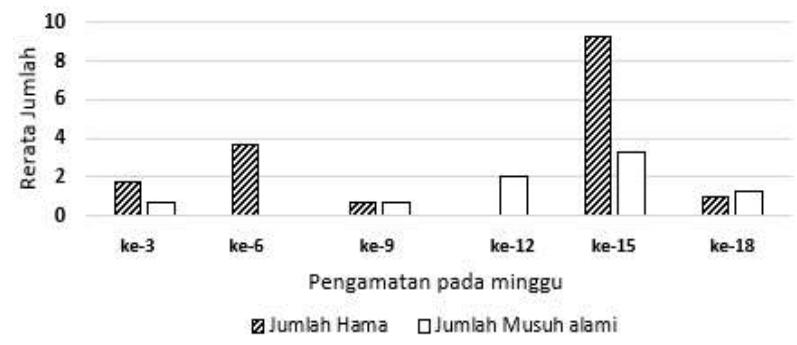
Gambar 1. Grafik Total Populasi Serangga Hama dan Musuh Alaminya di Setiap Minggu Pengamatan dengan Perlakuan Tanpa Barier (Kode P1)



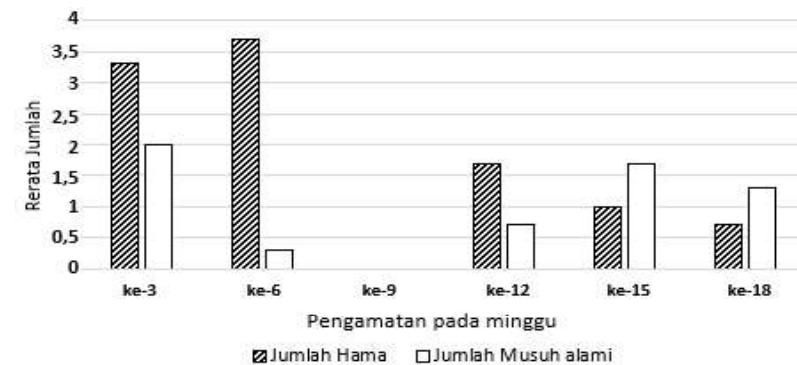
Gambar 2. Grafik Total Populasi Serangga Hama dan Musuh Alaminya di Setiap Minggu Pengamatan pada Perlakuan Barier Gulma Alami (Kode P2)



Gambar 3. Grafik Total Populasi Serangga Hama dan Musuh Alaminya di Setiap Minggu Pengamatan dengan Perlakuan Barier Bunga Matahari (Kode P3)



Gambar 4. Grafik Total Populasi Serangga Hama dan Musuh Alaminya di Setiap Minggu Pengamatan dengan Perlakuan Barier Bunga Kenikir (Kode P4)



amatan, yaitu pada minggu ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15 dan ke-18 setelah tanam. Jumlah populasi musuh alami naik turun mengikuti jumlah populasi mangsa (serangga hama). Semakin tinggi populasi hama, maka semakin tinggi pula populasi musuh alaminya. Hal ini karena predator memiliki suatu respon numerikal yang menyebabkan pertambahan jumlah populasi predator untuk menanggapi kepadatan populasi hama. Peningkatan reproduksi predator alami tergantung pada tingkat predasi. Semakin banyak mangsa yang dikonsumsi, semakin banyak energi pemangsa dapat mengalokasikannya untuk reproduksi (Rahman, Kumar, Azariah, & Perumaisamy, 2012).

Serangga selain ditemukan pada tajuk tanaman padi, juga ada pada tajuk tanaman barier gulma alami, tanaman bunga matahari, dan tanaman bunga kenikir. Jumlah serangga yang ditemukan pada tajuk tanaman barier disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa serangga hama paling banyak ditemukan pada barier gulma alami, hal ini dikarenakan gulma berpotensi dimanfaatkan sebagai tanaman penghalang/barier bagi musuh alami. Dadi (2010) melaporkan bahwa keanekaragaman jenis gulma berpengaruh terhadap kemelimpahan arthropoda pada ekosistem sawah, baik serangga hama maupun musuh alaminya. Jenis serangga hama yang paling sedikit ditemukan adalah pada barier bunga

kenikir. Hal ini disebabkan tanaman kenikir memiliki peranan sebagai *repellent* dan *mask* (penghalau), kamuflase, barier fisik dan pengendalian hayati (Altieri & Letourneau, 1982).

Berdasarkan hasil uji beda dengan ANOVA terhadap dinamika populasi serangga hama antarperlakuan (Tabel 3) diketahui bahwa perbedaan dinamika populasi serangga hama antarperlakuan tersebut tidak signifikan. Hal ini dimungkinkan karena penelitian baru berlangsung selama 1 musim tanam. Serangga hama memerlukan pembiasaan untuk mengenali tanaman inang sebagai habitatnya (Ferdy, Gouyon, Moret, & Godelle, 1998). Oleh karena itu, penelitian ini mungkin belum dapat menunjukkan hubungan yang signifikan dengan adanya perlakuan tanaman barier terhadap dinamika populasi serangga hama pada tanaman padi. Artinya, sistem membutuhkan waktu lebih lama untuk membuktikan bahwa adanya modifikasi habitat dengan penambahan variasi tanaman barier dapat berpengaruh signifikan terhadap dinamika populasi serangga hama pada tanaman padi. Hasil panen padi per plot ulangan dari setiap perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Berdasar pada Tabel 4 diketahui rerata hasil panen tertinggi adalah pada perlakuan P1 atau kontrol (tanpa tanaman barier dan bersih dari gulma), sedangkan terendah adalah pada perlakuan barier tanaman

Tabel 2

Jenis-jenis Serangga Hama dan Musuh Alaminya dalam Tingkatan Takson Familia yang Ditemukan pada Tajuk Tanaman Barier di Plot-plot Perlakuan

No	Familia	Frekuensi Kehadiran dalam 1 Musim Tanam		
		P2	P3	P4
Serangga Hama				
1	Nymphalidae	1	0	6
2	Curculionidae	0	23	8
3	Carabidae	0	0	42
4	Acrididae	15	3	2
5	Thyreocoridae	0	1	1
6	Crambidae	5	0	4
7	Chrysomelidae	22	1	0
8	Drosopillidae	4	4	1
9	Delphacidae	13	2	0
10	Coreidae	0	7	0
11	Flatidae	0	2	0
12	Pseudococcidae	0	9	0
13	Ephydriidae	8	0	0
14	Chloropidae	7	0	0
15	Pyralidae	2	0	0
16	Tephritidae	4	0	0
17	Aleyrodidae	1	0	0
18	Ciccadellidae	4	0	0
19	Pentatomidae	45	0	0
Jumlah familia		12	9	7
Frekuensi Kehadiran Hama		131	66	66
Musuh Alami				
1	Coccinellidae	40	15	0
2	Oxyopidae	3	25	8
3	Formicidae	194	249	44
4	Gryllidae	5	0	1
5	Specidae	0	22	4
6	Mantidae	0	1	0
7	Tetthigonidae	0	1	0
8	Staphylinidae	6	0	0
9	Cicadidae	2	0	0
Jumlah Familia		6	6	4
Frekuensi Kehadiran Musuh Alami		250	313	57

Keterangan:

P2 = Perlakuan dengan barier gulma yang tumbuh alami

P3 = Perlakuan barier tanaman bunga matahari

P4 = Perlakuan barier tanaman bunga kenikir

Tabel 3

Hasil Uji Beda dengan Anova terhadap Dinamika Populasi Serangga Hama pada Tajuk Tanaman Padi Antarperlakuan

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	30,278	3	10,093	,806	,495
<i>Within Groups</i>	851,000	68	12,515		
<i>Total</i>	881,278	71			

Tabel 4

Hasil Panen Berat Gabah Kering per Perlakuan

Perlakuan	Ulangan			Rerata (gr)
	Plot a (gr)	Plot b (gr)	Plot c (gr)	
P1	80	50	20	50,00
P2	30	20	25	25,00
P3	10	15	10	11,66
P4	25	30	25	26,66

Keterangan:

P1 = Perlakuan tanpa tanaman barier dan pinggiran bersih dari gulma (kontrol)

P2 = Perlakuan dengan barier gulma yang tumbuh alami

P3 = Perlakuan barier tanaman bunga matahari

P4 = Perlakuan barier tanaman bunga kenikir

bunga matahari. Hal ini dimungkinkan karena faktor kompetisi antara tanaman padi dan tanaman bariernya, baik dalam hal cahaya maupun unsur hara. Pada perlakuan penelitian ini dimungkinkan jarak antara tanaman barier bunga matahari dengan tanaman padi terlalu dekat sehingga akar tanaman barier berebutan unsur hara dengan tanaman padi, demikian juga tajuk tanaman barier bunga matahari mengurangi cahaya yang sampai pada tajuk tanaman padi. Akan tetapi, berdasarkan uji ANOVA diperoleh bahwa perbedaan tersebut tidak signifikan dengan nilai sig 0,082 (Tabel 5).

Berdasarkan hasil dari uji Anova dapat diketahui nilai signifikan 0,082. Artinya, lebih besar dari 0,05 sehingga dapat diartikan bahwa perbedaan perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh terhadap produktivitas tanaman padi yang dilihat dari hasil panen gabah kering. Dalam hal ini, kondisi iklim yang sedang kemarau panjang pada saat penelitian serta kandungan unsur hara tanah kemungkinan menjadi faktor yang paling berpengaruh terhadap produktivitas tanaman padi. Suplai nitrogen dalam tanah merupakan faktor yang sangat penting dalam kaitannya dengan pemeliharaan

Tabel 5

Hasil Uji Beda dengan Anova dari Hasil Panen Gabah Kering Antarplot Perlakuan

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	2283,333	3	761,111	3,233	,082
<i>Within Groups</i>	1883,333	8	235,417		
<i>Total</i>	4166,667	11			

atau peningkatan kesuburan tanah (Hakim, Ismail, Mardinus, & Muchtar, 1997). Nitrogen merupakan salah satu unsur hara yang cukup besar dibutuhkan oleh tanaman. Nitrogen dibutuhkan oleh tanaman untuk merangsang pertumbuhan tanaman, terutama

batang, cabang, dan daun. Selain itu, unsur ini juga berguna dalam pertumbuhan zat hijau daun (klorofil), protein, lemak, dan senyawa organik lainnya. Berdasarkan hasil uji laboratorium dari sampel tanah (Tabel 6), N total yang ada pada perlakuan

Tabel 6

Hasil Uji Sampel Tanah dari Plot-plot Perlakuan

No	Parameter Uji	Satuan	P1	P2	P3	P4
1	Tekstur					
	Pasir	%	61	63	65	63
	Debu	%	30	27	28	28
	Liat	%	9	10	7	9
2	pH H ₂ O)*		6,19	6,51	6,38	6,30
3	C-Organik*	%	0,87	0,83	1,05	0,87
4	Bahan Organik		1,50	1,44	1,81	1,50
5	N-Total	%	0,06	0,07	0,06	0,06
6	C/N Ratio		15,40	12,61	17,64	15,40
7	K -Tersedia	ppm	76	88	76	89
8	P ₂ O ₅ *	ppm	8	6	7	6
9	P ₂ O ₅ potensial	mg/100gr	185	178	191	182
10	K ₂ O potensial	mg/100gr	41	41	31	36
11	KTK*	cmol (+)kg ⁻¹	1,92	4,73	3,14	3,43

Keterangan:

P1 = Perlakuan tanpa tanaman barier dan pinggiran bersih dari gulma (kontrol)

P2 = Perlakuan dengan barier gulma yang tumbuh alami

P3 = Perlakuan barier tanaman bunga matahari

P4 = Perlakuan barier tanaman bunga kenikir

(Sumber: Hasil Uji di Laboratorium BPTP Maguwoharjo, 2019)

P1: 0,06%; P2: 0,07%; P3: 0,06%; dan P4: 0,06% sehingga dimungkinkan bahwa jumlah N yang terkandung dalam tanah pada tiap plot kurang dari jumlah optimum yang dibutuhkan oleh tanaman padi. Padi gogo dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah sehingga jenis tanah tidak begitu berpengaruh terhadap pertumbuhan dan hasil padi gogo. Oleh karena itu, dimungkinkan yang lebih berpengaruh terhadap pertumbuhan dan hasil panen adalah tingkat kesuburan tanahnya.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari pengaruh variasi jenis tanaman *barier* terhadap perbedaan dinamika populasi serangga hama maupun terhadap produktivitas tanaman padi, tetapi perlu diadakan penelitian lanjutan yang dikaitkan dengan variabel lain yang mempengaruhi produktivitas tanaman padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Altieri, M. A., & Letourneau, D. K. (1982). Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop protection*, 1(4), 405-430.
- Altieri, M. A., & Toledo, V. M. (2011). The agroecological revolution in Latin America, ensuring food sovereignty and empowering peasants. *J. Peasant Stud.*, 38, 587-612.
- Dadi. (2010). *Potensi agroforestri pendukung eksistensi arthropoda predator wereng padi di ekosistem sawah* (Disertasi tidak diterbitkan). Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian. Program Pasca Sarjana Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Erdiansyah, I., & Putri, S. U. (2018). Implementasi tanaman refugia dan peran serangga pada tanaman padi sawah (*Oryza sativa*) di Kabupaten Jember. *Jurnal Agrin.*, 22(2), 123-131.
- Ferdy, J. B., Gouyon, P. H., Moret, J., & Godelle, B. (1998). Pollinator behavior and deceptive pollination: Learning process and floral evolution. *The American Naturalist*, 152(5), 696-705.
- Hakim, N., Ismail, G., Mardinus, & Muchtar, H. (1997). Perbaikan lahan kritis dengan rotasi tanaman dalam budidaya lorong. *Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Pangan III* (pp. 1656-1664). Jakarta: Puslitbangtan, Deptan.
- Horgan, F. G., Ramal, A. F., Bernal, C. C., Villegas, J. M., Stuart, A. M., & Almazan, M. L. P. (2016). Applying ecological engineering for sustainable and resilient rice production system. *Procedia Food Science*, 6, 7-15.
- Kurniawati, N. (2015). Keragaman dan kelimpahan musuh alami hama pada habitat padi yang dimanipulasi dengan tumbuhan berbunga. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 18(1), 31-36.
- Martin, P., & Bateson, P. (1993). *Measuring behaviour* (2nd ed.). London: Cambridge University Press.
- Mustakim, A., Leksono, A. S., & Kusuma, Z. (2014). pengaruh blok refugia terhadap pola kunjungan serangga polinator di Perkebunan Apel Poncokusumo Malang. *Natural B*, 2(3), 248-253.
- Parolin, P., Bresch, C., Desneux, N., Brun, R., Bout, A., Boll, R., & Poncet, C. (2012). Secondary plants used in biological control: A review. *International Journal of Pest Management*, 58(2), 91-100.
- Rahman, J., Kumar, R., Azariah, B., & Perumaisamy, K. (2012). Functional and numerical responses of the predatory mite, *neoseiulus longispinosus*, to the red spider mite, *oligonychus coffeae*, infesting tea. *Insect Science*, 12(1), 1-12.
- Untung, K. (1993). *Pengantar pengelolaan hama terpadu*. Yogyakarta: UGM Press.

**RESPONS FISIOLOGIS DAN ANATOMI AKAR TANAMAN BAYAM
(*Amaranthus tricolor L.*) TERHADAP CEKAMAN NaCl**

(PHYSIOLOGICAL Response AND ANATOMY OF ROOTY PLANT / *Amaranthus tricolor L.* AGAINST NaCl)

Ian Prabowo dan Diah Rachmawati

Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Bulaksumur Caturtunggal Depok Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta 55281

email: prabowoiaaan@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh cekaman NaCl terhadap pertumbuhan dan anatomi akar tanaman bayam serta mengetahui konsentrasi NaCl yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman bayam. Penelitian ini digunakan perlakuan NaCl sebanyak 0, 200, 400, 600, dan 800 mM pada tanaman bayam (*Amaranthus tricolor L.*), Media tanam berupa campuran tanah dan pupuk kandang dan alkohol, safranin, aseton. Alat yang digunakan adalah med line, cawan poerslen, spektrofotometer dan mikroskop. Parameter yang diukur meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, warna daun, panjang akar, jumlah akar, berat basah, berat kering, kadar klorofil, tebal epidermis akar, tebal korteks akar dan diameter stele akar. Data dianalisis dengan uji ANOVA dilanjutkan dengan DMRT taraf kepercayaan 95% menggunakan program SPSS 15. Hasil yang diperoleh menunjukkan penambahan NaCl menyebabkan penurunan pertumbuhan tanaman bayam meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, kadar klorofil, rasio tajuk dibanding akar dan menurunkan diameter stele akar. Pertumbuhan tanaman menurun seiring peningkatan konsentrasi NaCl karena NaCl menyebabkan cekaman osmotik yang menghambat penyerapan air dan unsur hara yang diperlukan tanaman untuk proses metabolisme.

Kata kunci: *Amaranthus tricolor*, *NaCl*, *pertumbuhan*, *akar*

Abstract

The study was aimed at determining the effect of NaCl stress on the growth and anatomy of spinach roots and the concentration of NaCl which can inhibit the growth of spinach plants. This study used 0, 200, 400, 600, and 800 mM NaCl treatments on spinach (*Amaranthus tricolor L.*), planting media in the form of a mixture of soil and manure and alcohol, safranin, acetone. Med line, poerslen cup, spectrophotometer, and microscope were used in this study. The parameters measured plant height, number of leaves, leaf color, root length, number of roots, wet weight, dry weight, chlorophyll content, root epidermis thickness, root cortex thickness, and root stele diameter. The collected data then were analyzed by ANOVA test followed by DMRT 95% confidence level using the SPSS 15 program. The results obtained showed that the addition of NaCl caused a decrease in spinach plant growth including plant height, the number of leaves, chlorophyll content, the ratio of the crown to root and decreased diameter of root stele. Plant growth decreases with increasing NaCl concentration since NaCl causes osmotic stress. This stress inhibits the absorption of water and nutrients needed by plants for metabolic processes.

Keywords: *Amaranthus tricolor*, *NaCl*, *growth*, *roots*

PENDAHULUAN

Adanya cekaman garam menjadi salah satu kendala dalam pengelolaan lahan marginal. Cekaman garam merupakan kondisi dimana garam dapat larut dalam jumlah yang berlebih dan berakibat buruk bagi pertumbuhan tanaman (Syakir, Nur, & Januwati, 2008). Pengolahan irigasi dan drainase yang buruk pada lahan marginal dalam jangka waktu yang panjang dapat mengakibatkan hilangnya kesuburan tanah secara permanen (Staples & Toenniessen, 1984).

Pada umumnya, petani jarang memperhatikan adanya cekaman salinitas di lingkungan pertanian mereka. Selain itu, dampak dari cekaman tersebut juga kurang diperhatikan sehingga secara tidak sadar terjadi penurunan produktivitas pertanian. Dalam bidang pertanian, cekaman garam menjadi hal yang perlu diperhatikan guna meningkatkan produktivitas tanaman. Akumulasi garam di tanah dapat menyebabkan gangguan fisiologis tanaman. Adanya penurunan pertumbuhan dapat disebabkan oleh efek salinitas terhadap satu atau beberapa faktor fisiologis (Omami, 2005, p. 188). Penelitian pengaruh cekaman NaCl terhadap tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.) dilakukan untuk mengetahui seberapa jauh dampak dari cekaman NaCl terhadap pertumbuhan tanaman bayam sehingga di masa depan dapat dilakukan upaya perawatan

optimum guna meningkatkan produktivitas tanaman.

Cekaman salinitas dapat mempengaruhi berbagai proses fisiologis dan biokimia diantaranya menyebabkan toksitas ion dan cekaman air. Adanya garam terlarut dalam tanah seperti NaCl , Na_2SO_4 , MgSO_4 , CaSO_4 , KCl , MgCl_2 , Na_2CO_3 dapat menyebabkan terjadinya cekaman salinitas (Tavakkoli, Rengasamy, & McDonald, 2010). Di antara garam tersebut, NaCl merupakan enis garam yang paling mudah larut di dalam tanah. Tanah diklasifikasikan salin apabila memiliki Ece minimal 4 dS/m atau setara dengan 40 mM NaCl (Munns & Tester, 2008). Berbagai jenis garam memberikan tingkat salinitas yang berbeda-beda, di antaranya adalah garam klorida, garam sulfat dan garam bikarbonat dari natrium, kalsium, dan magnesium. Natrium klorida (NaCl) merupakan jenis garam yang dominan di daerah pantai (Syakir dkk., 2008). Kandungan natrium dalam NaCl berperan sebagai unsur hara fungsional bagi tumbuhan yang fungsinya menjaga keseimbangan turgor (Marschner, Kandeler, & Marschner, 2003).

Adanya cekaman salinitas dapat menurunkan laju fotosintesis tanaman. Penurunan laju fotosintesis disebabkan karena rendahnya konsentrasi CO_2 dalam kloroplas sehingga terjadi penurunan fiksasi CO_2 yang menyebabkan penurunan reduksi karbon pada siklus calvin dan oksidasi NADP^+

yang berfungsi sebagai penerima elektron terakhir pada proses fotosintesis. Adanya cekaman salinitas dapat menyebabkan penurunan tinggi tanaman, jumlah daun, dan luas permukaan daun tanaman *Vicia faba* (Qados, 2011). Selain itu, peningkatan NaCl juga dapat memicu penutupan stomata, menurunkan kadar klorofil total pada daun, menurunkan laju fotosintesis dan biomassa pada tanaman jagung (Turan, Elkrim, Taban, & Taban, 2009).

Permasalahan dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh cekaman NaCl terhadap pertumbuhan, kadar klorofil serta anatomi akar tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.) serta pada konsentrasi berapa NaCl memberikan dampak negatif terhadap pertumbuhan tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh cekaman NaCl terhadap pertumbuhan, kadar klorofil dan anatomi akar tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.) serta mengetahui konsentrasi NaCl yang paling memberikan dampak buruk bagi pertumbuhan tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.) dan NaCl berbagai konsentrasi (200, 400, 600, dan 800 mM). Media tanam berupa campuran tanah dan pupuk kandang

dengan perbandingan 3:1. Campuran media tanam yang digunakan sebanyak 2 kg. Alkohol 70% digunakan untuk sterilisasi, safranin 1% digunakan untuk mewarnai preparat, dan aseton 80% digunakan sebagai pelarut.

Alat yang digunakan adalah *med line* untuk mengukur tinggi tanaman dan panjang akar, oven digunakan untuk mengeringkan tanaman, timbangan digital untuk menimbang serbuk NaCl, berat kering dan berat basah tanaman. Cawan poerslen digunakan untuk menghaluskan daun, kertas saring digunakan untuk menyaring filtrat dan spektrofotometer digunakan untuk mengukur absorbansi. Silet digunakan untuk memotong akar tanaman, gelas benda dan gelas penutup digunakan sebagai media untuk pengamatan menggunakan mikroskop. Gelas ukur untuk membuat larutan, botol flakon sebagai tempat untuk pengawetan. Mikroskop dan optilab digunakan untuk mengamati preparat yang telah dibuat.

Benih banyak yang berumur 14 hari dipindah tanam ke dalam *polybag* ukuran 25x25 cm yang telah diisi campuran media tanam sebanyak 2 kg dan diaklimatisasi selama 2 hari. Perlakuan NaCl diberikan tiap 2 hari sekali selama 8 kali sebanyak 150 ml untuk sekali perlakuan. Pengukuran tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan setiap 2 hari sekali. Pengukuran jumlah akar, panjang akar, kadar klorofil, berat basah, dan berat

kering tanaman dilakukan setelah tanaman berumur 32 hari. Pengukuran kadar klorofil dilakukan dengan spektrofotometer. Daun ketiga dari ujung batang dipetik kemudian ditimbang seberat 1 gr kemudian digerus dengan cawan porselin dan ditambahkan pelarut aseton 80% sebanyak 10 ml, selanjutnya larutan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer panjang gelombang 646nm dan 663nm. Setelah diperoleh nilai absorbansi, kandungan klorofil dihitung dengan rumus:

$$\text{Klorofil a} = (12,21 \times A.663) - (2,81 \times A.646)$$

$$\text{Klorofil b} = (20,13 \times A.646) - (5,03 \times A.663)$$

$$\text{Klorofil Total (mg/L)} = (17,3 \times A.646) + (7,18 \times A.663)$$

Kadar klorofil yang terukur selanjutnya dikonversi ke dalam satuan mg/ml dengan rumus (Harborne, 1987) berikut.

$$\frac{\frac{10}{100} \times \text{kadar klorofil}}{0,1}$$

Pengamatan anatomi akar dilakukan dengan membuat preparat semi permanen dengan metode *free hand section*. Akar dipotong sepanjang 1 cm mulai dari ujung akar. Organ akar diiris melintang menggunakan silet. Hasil irisan ditampung pada wadah yang berisi alkohol 70%. Penyortiran irisan organ akar dilakukan

dengan menggunakan mikroskop. Irisan organ akar yang telah diseleksi kemudian diwarnai dengan pewarna safranin 1% dalam alkohol 70%. Irisan yang telah terwarnai diletakkan di atas gelas benda kemudian diberi gliserin murni dan ditutup dengan gelas penutup kemudian diamati dengan mikroskop yang telah terhubung dengan optilab. Setelah dilakukan pengamatan, irisan disimpan di dalam botol flakon yang berisi campuran alkohol 70% dan safranin untuk pengawetan. Parameter yang diukur adalah tebal epidermis, tebal korteks dan diameter stele. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA, jika hasil analisis menunjukkan berbeda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf kepercayaan 95% dengan menggunakan program SPSS versi 15.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mempelajari pengaruh cekaman NaCl dengan berbagai konsentrasi (0, 200, 400, 600, dan 800 mM) terhadap pertumbuhan dan anatomi akar tanaman bayam (*Amaranthus tricolor L.*). Pengamatan pertumbuhan meliputi tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan setiap dua hari sekali selama delapan kali. Sedangkan parameter jumlah akar, panjang akar, berat basah, berat kering, dan kadar klorofil dilakukan pada saat tanaman berumur 32 hari.

Tingginya konsentrasi NaCl dan rendahnya potensial air dapat menyebabkan

stres osmotik pada tanaman, selain itu meningkatnya akumulasi ion Na dan Cl dapat menyebabkan toksitas pada tanaman. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan tinggi tanaman seiring dengan peningkatan konsentrasi NaCl. Pada Tabel 1, konsentrasi NaCl 800 mM menunjukkan hasil penurunan tinggi tanaman yang signifikan yaitu 20,70 cm dibandingkan dengan kontrol dengan tinggi 32,02 cm. Pada parameter jumlah daun terjadi penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaCl. Pada konsentrasi 600 dan 800 mM menunjukkan hasil yang signifikan. Tanaman dapat mengatasi cekaman salinitas salah satunya dengan meminimalisir penggunaan air dan menjaga tekanan turgor dengan tujuan untuk mencegah berbagai kerusakan akibat munculnya ROS. Produksi ROS dapat dipicu dengan tingginya konsentrasi ion Na. Selain itu, tanaman juga dapat mensintesis beberapa enzim dan senyawa non enzim yang berperan dalam mencegah terjadinya efek sitotoksitas

ROS. Senyawa enzim yang dihasilkan di antaranya *superoxide dismutase*, *ascorbate peroxidase*, *glutathione reductase*, *catalase*, dan *peroxidase*. Senyawa nonenzim yang dihasilkan di antaranya *glutathione*, asam askorbat, *karotenoid*, dan *flavonoid* yang mampu menjaga keseimbangan ROS di dalam sel (Chutipajit, Cha-Um, & Sompornpailin, 2009).

Tanaman berusaha bertahan hidup dengan memaksimalkan pertumbuhan akar untuk meningkatkan penyerapan air guna menyeimbangkan tekanan turgor. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 bahwa pada konsentrasi 200 hingga 800 mM terjadi kenaikan jumlah akar, untuk hasil panjang akar tidak menunjukkan nilai yang berbeda jauh. Adanya cekaman NaCl dapat menyebabkan tanaman lebih banyak mendistribusikan fotosintat ke dalam akar guna memaksimalkan penyerapan hara dan air. Penurunan laju fotosintesis berdampak pada penurunan biomassa tanaman, semakin

Tabel 1
*Pengaruh NaCl terhadap Pertumbuhan Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor L.*) Umur 32 Hari*

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun (helai)	Berat Basah Total (g)	Berat Kering Total (g)
NaCl 0 mM	32,02 ^a	9,00 ^a	5,44 ^a	0,36 ^a
NaCl 200 mM	30,36 ^a	8,00 ^{ab}	4,91 ^{ab}	0,29 ^a
NaCl 400 mM	29,12 ^a	7,00 ^{abc}	4,77 ^{ab}	0,29 ^a
NaCl 600 mM	25,14 ^{ab}	6,00 ^{bc}	3,34 ^{ab}	0,22 ^a
NaCl 800 mM	20,70 ^b	5,00 ^c	2,50 ^b	0,21 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf kepercayaan 95%.

Tabel 2
Pengaruh NaCl terhadap Panjang dan Jumlah Akar
Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor L.*) Umur 32
Hari

Perlakuan	Panjang Akar (cm)	Jumlah Akar (buah)
NaCl 0 mM	18,04 ^a	19,60 ^a
NaCl 200 mM	16,66 ^a	12,60 ^a
NaCl 400 mM	18,08 ^a	15,00 ^a
NaCl 600 mM	16,24 ^a	17,00 ^a
NaCl 800 mM	17,26 ^a	19,20 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf kepercayaan 95%.

rendah laju fotosintesis maka semakin rendah biomassa tanaman yang dibuktikan dengan menurunnya berat basah dan kering tanaman. Penurunan biomassa tanaman juga dapat disebabkan karena tanaman menyintesis hormon ABA sebagai mekanisme pertahanan diri terhadap cekaman. Hormon ABA disintesis di akar dan di-transport ke daun sehingga stomata menutup dan difusi CO₂ terhambat sehingga berdampak pada laju fotosintesis dan distribusi fotosintat mengalami penurunan.

Cekaman garam tinggi menyebabkan penurunan jumlah air dan unsur hara pada tanaman yang akan menghambat proses fotosintesis. Penurunan unsur hara dan fotosintat akan berdampak pada kadar klorofil. Tabel 3 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi NaCl dapat menurunkan kadar klorofil baik klorofil a, klorofil b maupun klorofil total tanaman bayam. Pada parameter

kadar klorofil total, konsentrasi 600 dan 800 mM menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu sebesar 0,742 mg/ml dan 0,718 mg/ml dibandingkan konsentrasi 0 mM yaitu sebesar 1,111 mg/ml. Hasil perhitungan klorofil a dan klorofil b juga menunjukkan hasil yang sama bahwa konsentrasi NaCl 600 dan 800 mM memberikan nilai yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol berdasarkan uji statistik. Penurunan kadar klorofil dapat terjadi karena kerusakan membran (Djanaguiraman, Sheeba, Shanker, Devi, & Bangarusamy, 2006). Selain itu, penurunan kadar klorofil dapat terjadi karena gangguan fungsi seluler dan kerusakan rantai transport elektron pada fotosintesis akibat akumulasi ion (Croser, Renault, Franklin, & Zwiazek, 2001).

Pada parameter diameter stele menunjukkan adanya penurunan nilai seiring dengan peningkatan konsentrasi NaCl.

Tabel 3

*Pengaruh NaCl terhadap Kadar Klorofil Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor L.*) Umur 32 Hari*

Perlakuan	Klorofil a (mg/ml)	Klorofil b (mg/ml)	Klorofil Total (mg/ml)
NaCl 0 mM 0	710 ^a 0	402 ^a 1	111 ^a
NaCl 200 mM 0	632 ^{ab} 0	364 ^{ab} 0	994 ^{ab}
NaCl 400 mM 0	604 ^{ab} 0	348 ^{ab} 0	950 ^{ab}
NaCl 600 mM 0	486 ^b 0	262 ^{bc} 0	742 ^b
NaCl 800 mM 0	482 ^b 0	234 ^c 0	718 ^b

Tabel 4

*Pengaruh NaCl terhadap Tebal Epidermis, Kotrels dan Diameter Stele Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor L.*) Umur 32 Hari*

Perlakuan	Tebal Epidermis (μm)	Tebal Korteks (μm)	Diameter Stele (μm)
NaCl 0 mM 42	91 ^b 219	34 ^a 2633	43 ^a
NaCl 200 mM 45	40 ^b 201	28 ^a 2663	08 ^a
NaCl 400 mM 55	56 ^a 239	49 ^a 2439	79 ^a
NaCl 600 mM 43	75 ^b 212	51 ^a 2138	56 ^a
NaCl 800 mM 42	56 ^b 195	72 ^a 1734	01 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel 4, konsentrasi NaCl 200 mM memberikan hasil yang paling tinggi yaitu 2.663,08 μm . Nilai tersebut tidak berbeda jauh dengan konsentrasi 0 mM yaitu 2.633,43 μm . Sedangkan mulai konsentrasi 400 hingga 800 mM menunjukkan penurunan yang cukup tinggi walaupun berdasarkan uji statistik tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Sinaga (2007) menjelaskan adanya peningkatan diameter stele berarti meningkatkan kemampuan tanaman untuk mengabsorbsi air dan zat hara yang

dibawa ke daun untuk metabolismenya. Peningkatan diameter stele diikuti dengan penambahan jumlah xilem akar, diameter xilem, dan konduktivitas akar.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa *pertama*, adanya cekaman NaCl dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan tanaman bayam (*Amaranthus tricolor L.*). *Kedua*, adanya cekaman NaCl dapat menurunkan kadar klorofil dan rasio tajuk banding akar

tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.). Ketiga, konsentrasi NaCl 600 dan 800 mM memberikan nilai penurunan yang signifikan terhadap pertumbuhan dan diameter stele akar tanaman bayam (*Amaranthus tricolor* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Chutipajit, S., Cha-Um, S., & Sompornpailin, K. (2009). Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. *Pak. J. Bot.*, 41(5), 2497-2506.
- Croser, C., Renault, S., Franklin, J., & Zwiazek, J. (2001). The effect of salinity on the emergence and seedling growth of *Picea mariana*, *Picea glauca*, and *Pinus banksiana*. *Environmental Pollution*, 115(1), 9-16.
- Djanaguiraman, M., Sheeba, J. A., Shanker, A. K., Devi, D. D., & Bangarusamy, U. (2006). Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. *Plant Soil*, 284, 363-373.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Marschner, P., Kandeler, E., & Marschner, B. (2003) Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 453-461.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Omami, E. N. (2005). *Response of amaranth to salinity stress* (Dissertation unpublis report). Department of Plant Production and Soil Science, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria.
- Qados, A. M. A. (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1), 7-15.
- Sinaga, R. (2007). Analisis metode ketahanan rumput gajah dan raja akibat cekaman kekeringan berdasarkan respons anatomi akar dan daun. *Jurnal Biologi Sumatre*, 2(1), 17-20.
- Staples, R. C., & Toenniessen, G. H. (1984). *Salinity tolerance in plants*. New York: John Wiley & Sons.
- Syakir, M., Nur, M., & Januwati, M. (2008). Pengaruh salinasi terhadap pertumbuhan, produksi dan mutu sambiloto (*Andrographis paniculata* nees). *Buletin Litetro*, 19(2), 129-137.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P., & McDonald, G. K. (2010). High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, 61(15), 4449-4459.
- Turan, M. A., Elkarim, A. H. A., Taban, N., & Taban, S. (2009). Effect os salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *African Journal of Agricultural Research*, 4(9), 893-897.

PEMODELAN 2D LAPISAN BAWAH PERMUKAAN BERDASARKAN DATA GAYA BERAT MIKRO

(*2D MODELING SUBSURFACE LAYER BASED ON MICROGRAVITY DATA*)

Supriyadi, Khumaedi, Fajar Setiawan, dan Teguh M.M

Universitas Negeri Semarang Indonesia

Sekaran Gunung Pati Semarang Jawa Tengah 50229

email: supriyadi@mail.unnes.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan lapisan bawah permukaan tanah berdasarkan data gaya berat. Pengukuran dilakukan pada bulan Januari 2019. Penelitian menggunakan metode geofisika yaitu metode gaya berat dan metode survei. Setelah dilakukan pengolahan kemudian data anomali gravitasi dapat diinterpretasikan dengan bantuan peta geologi. Alat yang digunakan adalah *Gravimeter Scintrex CG-5 Autograv*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa struktur bawah permukaan dapat diinterpretasikan dalam empat lapisan. Lapisan *pertama* yaitu top soil yang termasuk formasi aluvium (Qa) dengan densitas rata-rata batuan 2.1 g/cm^3 dengan kedalaman 0-50 m. Lapisan *kedua* memiliki densitas rata-rata batuan 2.3 g/cm^3 di kedalaman 50-120m. Lapisan *ketiga* memiliki densitas rata-rata batuan 2.4 g/cm^3 di kedalaman 120-195m. Penyusun batuan lapisan pertama hingga ketiga merupakan batuan sedimen seperti lempung, batupasir, dan batu serpih. Lapisan *keempat* adalah *base* yang termasuk formasi damar (Qtd) dengan densitas 2.67 g/cm^3 di kedalaman lebih dari 195 m dengan batuan penyusun didominasi breksi vulkanik dan tufan halus.

Kata kunci: *lapisan bawah permukaan, gaya berat, pemodelan 2D*

Abstract

This study was aimed at describing the subsurface layer based on the gravity data. The measurements were made in January 2019. The study used the geophysical method, namely the gravity method and the survey method. After being analyzed, the anomaly gravitation data then interpreted using geological maps. Gravimeter Scintrex CG-5 Autograph was used in this study. The results show that subsurface structures can be interpreted in four layers. The *first* layer is topsoil which includes alluvium (Qa) formation with an average rock density of 2.1 g/cm^3 with a depth of 0-50 m. The *second* layer has an average rock density of 2.3 g/cm^3 at a depth of 50-120m. The *third* layer has an average rock density of 2.4 g/cm^3 at a depth of 120-195m. First to third layer rock compilers are sedimentary rocks such as clay, sandstone, and shale. The *fourth* layer is a base that includes the formation of resin (Qtd) with a density of 2.67 g/cm^3 at a depth of more than 195 m with the constituent rocks dominated by volcanic breccias and fine tuffs.

Keywords: *subsurface layer, gravity, 2D modeling*

PENDAHULUAN

Kawasan Kota Lama Semarang merupakan kawasan kota tua peninggalan jaman

kolonial belanda yang saat ini dijadikan sebagai obyek wisata oleh Pemerintah Kota Semarang dengan luas sekitar $0,3125 \text{ km}^2$

(Purwanto, 2005). Studi mengenai struktur bawah permukaan di Kota Semarang khususnya di daerah Kota Lama masih jarang dilakukan, sehingga perlu dilakukan studi penelitian mengenai struktur bawah permukaan.

Penelitian menggunakan metode geofisika yaitu metode gaya berat. Prinsip dasar dari metode ini adalah mengukur variasi medan gravitsai yang ditimbulkan karena adanya perbedaan rapat massa batuan yang berada di bawah permukaan bumi (Telford, Geldart, & Sheriff, 1990). Dasar utama teori gaya berat adalah hukum Newton (Telford *et al.*, 1990). Secara matematis dapat ditulis persamaan berikut.

$$\vec{F}(\vec{r}) = -G \frac{Mm}{r^2} \hat{r}$$

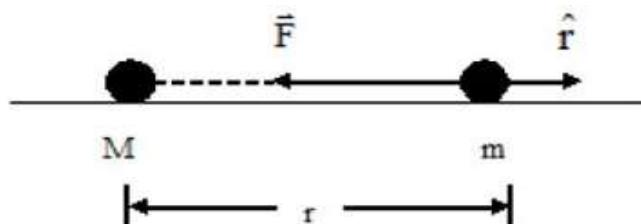
Skema gaya tarik dua benda bermassa m dengan jarak r ditunjukkan pada Gambar 1.

Survei yang dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai area survei

yang terpengaruh oleh efek-efek dari berbagai sumber yang tidak diketahui di bawah permukaan terhadap perubahan variasi nilai batuan yang berada di bawah permukaan. Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai gaya berat perlu dikoreksi untuk mengetahui efek dari sumber yang mempengaruhi perubahan nilai rapat massa atau variasi nilai batuan, di antaranya: efek kemuluran alat (*drift effect*), efek pasang surut (*tidal effect*), efek lintang, efek topografi, dan variasi rapat massa. Setelah dilakukan pengolahan kemudian data anomali gravitasi dapat diinterpretasikan dengan bantuan peta geologi seperti pada Gambar 2.

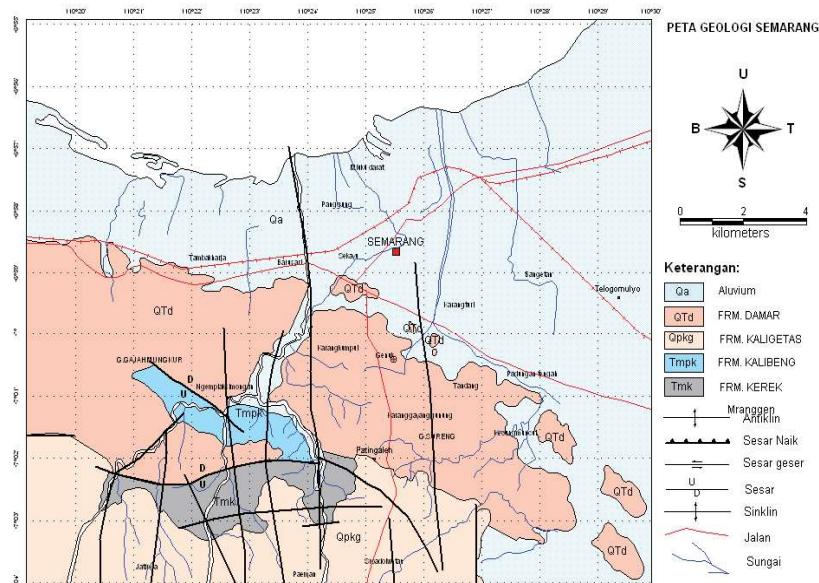
Berdasarkan nilai anomali *bouger* tampak bahwa sejak awal wilayah Semarang dan sekitarnya berada pada cekungan. Dalam cekungan tersebut diendapkan formasi kerek dan kalibeng serta dibatasi oleh tinggian yang berarah barat laut-tenggara ini terus berkembang sampai dengan kuarter yang ditandai oleh endapan-endapan formasi

Gambar 1. Gaya Tarik Menarik antara m_1 dan m_2 pada Jarak r



Sumber: Telford *et al.*, 1990

Gambar 2. Peta Geologi Kota Semarang



Sumber: Thanden, Sumadirdja, Richards, Sutisna, & Amin, (1996).

kaligetas, formasi damar, formasi jongkong dan endapan-endapan gunung api muda (Wardhana, Harjono, & Sudaryanto, 2014).

METODE PENELITIAN

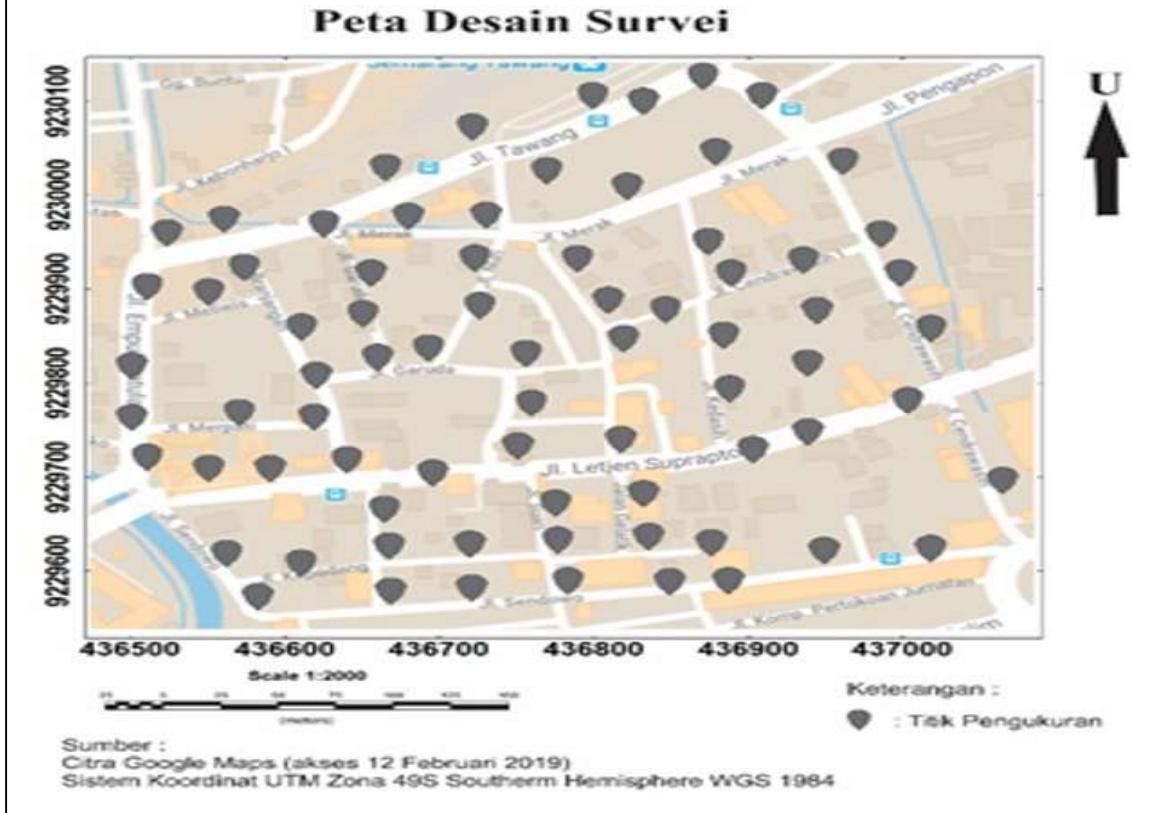
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Gravimeter Scintrex CG-5 Autograv* yang digunakan untuk mengukur variasi medan gravitasi bumi. Alat ini bekerja berdasarkan hukum Newton dan hukum Hooke, yaitu beban dengan massa tertentu yang digantung oleh pegas.

Lokasi penelitian di kawasan Kota Lama, Kota Semarang yang terletak pada koordinat $110^{\circ}25'30''$ - $110^{\circ}25'49''$ Bujur Timur dan $6^{\circ}57'52''$ - $6^{\circ}58'11''$ Lintang

Selatan dengan luas penelitian kurang lebih $0,3125 \text{ km}^2$. Jumlah titik pengukuran sebanyak 75 titik dengan jarak tiap titik pengukuran adalah 50 m. Desain survei lokasi titik-titik pengukuran ditunjukkan oleh Gambar 3.

Penelitian dilakukan dengan menentukan posisi *base*. Kemudian menentukan titik pengukuran gaya berat dan *di-plotting* ke dalam *Global Positioning System (GPS)* sesuai dengan peta desain survei. Pengukuran dilakukan di atas permukaan titik ukur dengan alat gravimeter. Pengolahan data menggunakan bantuan *software Microsoft Excel, Google Maps & Earth, dan Geosoft Oasis Montaj 6.4.2*.

Gambar 3. Peta Desain Survei Sebaran Titik Pengukuran

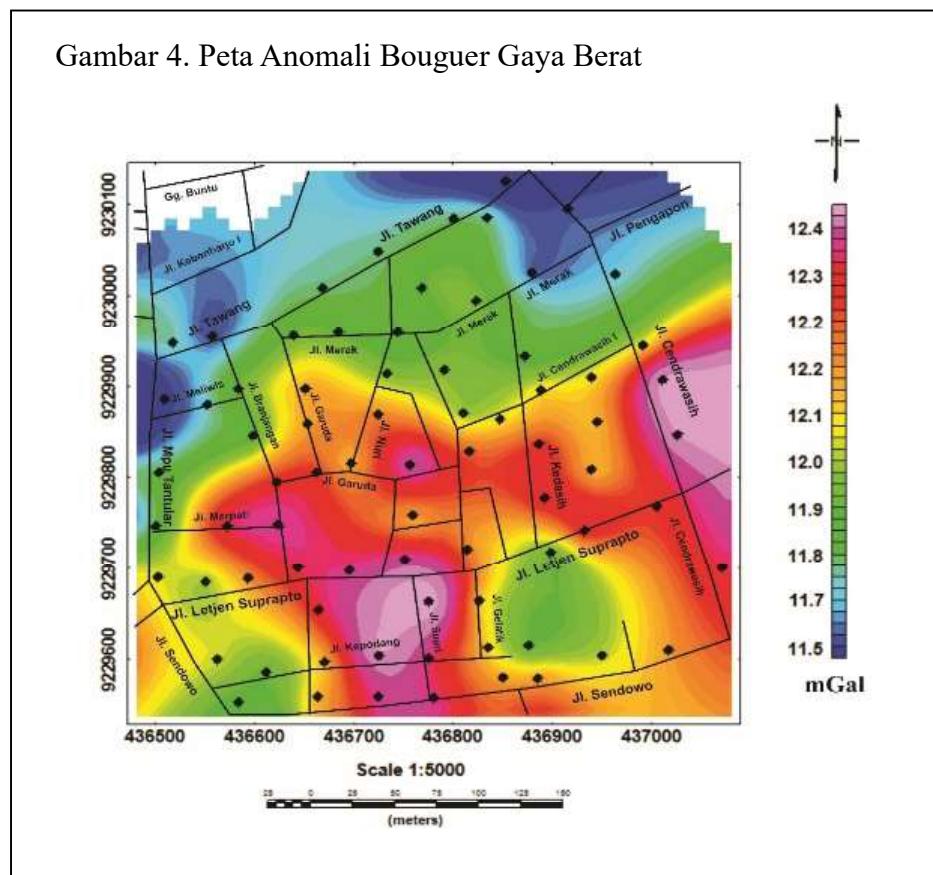


HASIL DAN PEMBAHASAN

Gaya berat observasi (γ) adalah gaya berat yang di baca gravimeter di suatu titik pengukuran yang telah terkoreksi apungan (drift) dan pasang surut. Gaya berat observasi berbanding terbalik dengan topografi bila memiliki nilai yang tinggi maka menunjukkan topografi yang rendah sebaliknya bila memiliki nilai yang rendah maka menunjukkan topografi yang tinggi.

Untuk mendapatkan hasil anomali bouguer lengkap (CBA) dilakukan pengolahan data lapangan dengan menghitung gaya berat normal (teoritis) dan melakukan

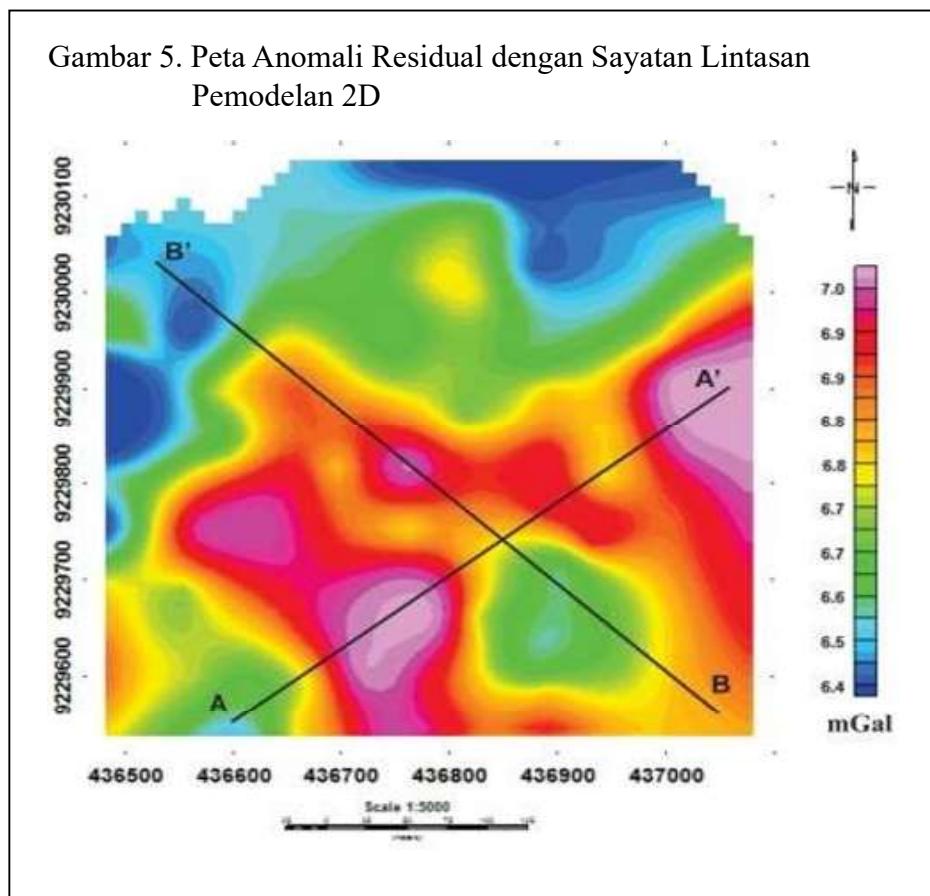
koreksi-koreksi. Dalam penelitian ini nilai densitas rata-rata batuan yang dihitung menggunakan metode parasnis adalah $2,68 \text{ g/cm}^3$. Nilai anomali bouguer lengkap adalah nilai total dari anomali yang disebabkan oleh pengaruh rapat massa batuan dari pusat inti bumi sampai ke permukaan bumi yang kemudian dapat dipisahkan menjadi anomali regional dan anomali residual (Karunianto, Haryanto, Hikmatullah, & Laesanpura 2017). Hasil pengolahan data menjadi peta anomali bouguer lengkap dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 menunjukkan bagian utara Jalan Tawang menunjukkan nilai anomali yang rendah berkisar 11,5-11,7 mGal dengan gradasi warna biru hingga biru muda. Bagian yang menunjukkan nilai anomali yang tinggi berada di sekitar Jalan Kepodang dan Jalan Suari yang memiliki nilai antara 12,3-12,4 mGal dengan gradasi warna merah hingga merah muda. Sebagian besar kawasan Kota Lama memiliki nilai anomali dengan rentang antara 11,7-12,3 mGal yang berada di bagian tengah dengan gradasi warna merah, kuning, dan hijau. Perbedaan nilai anomali yang merepresentasikan perbedaan rapat massa batuan di daerah penelitian yang dapat

mengidentifikasi setiap lokasi memiliki material yang berbeda dengan daerah yang berada di sekitarnya.

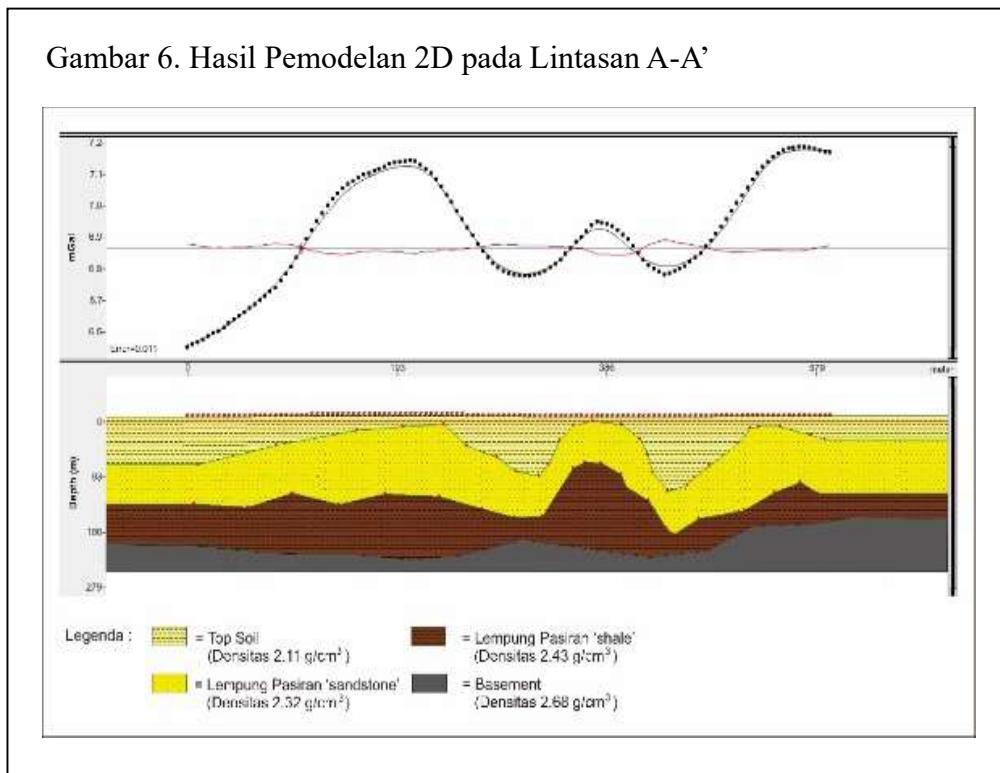
Pemodelan struktur bawah permukaan dapat dilakukan dengan menganalisis peta anomali bouguer setelah dipisahkan dengan metode *moving average* menjadi anomali regional dan residual. Pemodelan dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi struktur bawah permukaan daerah penelitian di Kota Lama. Pemodelan yang dibuat merupakan penampang 2D dari dua lintasan atau *slice* dari peta anomali residual. Lintasan atau *slice* pada peta anomali residual ditunjukkan pada Gambar 5.



Supriyadi, Khumaedi, dan Hidayatullah (2018) menjelaskan bahwa struktur bawah permukaan Kawasan Kota Lama terbentuk dari sedimentasi delta, *top soil*, lumpur, dan *basement*. Hasil pemodelan 2 dimensi lintasan (A-A') untuk mengidentifikasi struktur bawah permukaan diinterpretasikan pada Gambar 6.

Berdasarkan Gambar 6 dapat diinterpretasikan struktur bawah permukaan Kota Lama pada sayatan lintasan A-A' menunjukkan empat lapisan. Lapisan dasar berupa *base* dengan kedalaman lebih dari 195 m dan densitas rata-rata batuan 2,68 g/cm³

yang merupakan bagian dari formasi damar (Qtd) berumur kuarter yang menutupi sebagian besar wilayah semarang utara. Batuan penyusun lapisan *base* berupa breksi vulkanik, konglomerat, dan batu pasir tufan yang ditutupi oleh endapan aluvial. Lapisan pertama, kedua, dan ketiga merupakan bagian dari formasi aluvium (Qa). Lapisan *pertama* merupakan *top soil* yang memiliki kedalaman 0-55 m dan densitas rata-rata batuan 2,11 g/cm³ dengan batuan penyusun berupa campuran dari tanah *urug*, kerikil, pasir, lempung, dan lumpur. Lapisan *kedua* berada pada kedalaman 55-120 m dan densitas rata-

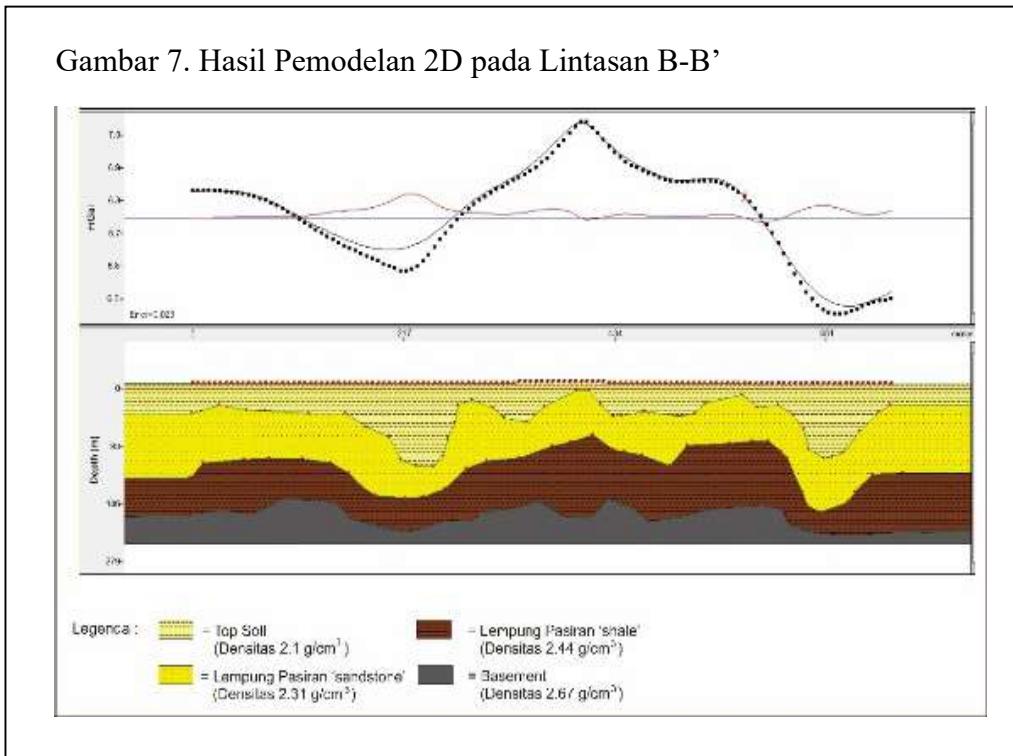


rata batuan 2,32 g/cm³ dengan penyusun batuan didominasi batu pasir. Lapisan *ketiga* berada pada kedalaman 120-195 m dan densitas rata-rata batuan 2,41 g/cm³ dengan batuan penyusunnya didominasi oleh batu serpih (*shale*) yang masih termasuk kedalam formasi aluvium. Gambar 7 menyajikan hasil pemodelan 2 dimensi pada lintasan B-B'.

Berdasarkan hasil pemodelan pada Gambar 7 dapat diinterpretasikan struktur bawah permukaan pada lintasan B-B' yang menunjukkan empat lapisan dengan lapisan *base* berada pada kedalaman lebih dari 195 m dan densitas rata-rata batuan 2,67 g/cm³. Lapisan *base* termasuk bagian dari formasi damar (Qtd) dengan batuan penyusun berupa breksi vulkanik, konglomerat, dan tufan.

Sama seperti lintasan A-A', lapisan pertama, kedua, dan ketiga termasuk kedalam formasi aluvium (Qa). Lapisan *pertama* merupakan *top soil* yang memiliki kedalaman dari 0-50 m dan densitas batuan rata-rata 2,1 g/cm³ dengan batuan penyusun berupa tanah *urug*, kerikil, pasir, lempung, dan sedikit lumpur. Lapisan *kedua* berada pada kedalaman 50-120 m dan densitas rata-rata batuan 2,3 g/cm³ dengan batuan penyusun didominasi oleh batupasir (*sandstone*). Lapisan *ketiga* berada pada kedalaman 120- 195 m dan densitas batuan rata-rata 2,4 g/cm³ dengan batuan penyusun didominasi oleh batuan serpih.

Pemodelan 2 dimensi ini dianggap cocok untuk mempresentasikan struktur bawah permukaan daerah penelitian yang



berada di Kawasan Kota Lama. Nilai densitas batuan digunakan sebagai acuan untuk mempresentasikan struktur bawah permukaan. Nilai densitas rata-rata di daerah penelitian didapatkan dari metode parasnis. Hasil nilai densitas dari metode parasnis merupakan rata-rata densitas yang berada di seluruh titik pengukuran.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut. Struktur bawah permukaan di kawasan Kota Lama hasil pemodelan 2 dimensi dapat diinterpretasikan dalam

empat lapisan. Lapisan *pertama* yaitu *top soil* yang termasuk formasi aluvium (Qa) dengan densitas rata-rata batuan $2,1 \text{ g/cm}^3$ yang memiliki kedalaman 0-50 m. Lapisan *kedua* memiliki densitas rata-rata batuan $2,3 \text{ g/cm}^3$ berada di kedalaman 50-120 m. Lapisan *ketiga* memiliki densitas rata-rata batuan $2,4 \text{ g/cm}^3$ berada di kedalaman 120-195 m. Penyusun batuan lapisan pertama hingga ketiga merupakan batuan sedimen seperti lempung, batu pasir, dan batu serpih. Lapisan *keempat* adalah *base* yang termasuk fornasi damar (Qtd) dengan densitas $2,67 \text{ g/cm}^3$ berada di kedalaman lebih dari 195 m dengan batuan penyusun didominasi breksi vulkanik dan tufan halus.

DAFTAR PUSTAKA

- Karunianto, A.J., Haryanto, D., Hikmatullah, F., & Laesanpura, A. (2017). Penentuan anomali gaya berat regional dan residual menggunakan filter gaussian daerah Mamuju Sulawesi Barat. *Eksplorium*, 38(2), 89-98.
- Purwanto, L. M. F. (2005). Kota Kolonial Lama Semarang (Tinjauan umum sejarah perkembangan arsitektur kota). *DIMENSI (Journal of Architecture and Built Environment)*, 33(1), 27-33.
- Supriyadi, Khumaedi, & Hidayatullah, R. H. (2018). Identifikasi ketebalan lapisan sedimen dan struktur bawah permukaan di zona amblesan Kota Lama Semarang berdasarkan data mikroseismik. *Spektra: Jurnal Fisika dan Aplikasinya*, 3(3), 156-166.
- Telford, W. M., Geldart, L. P., & Sheriff, R. E. (1990). *Applied geophysics* (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Thanden, R. E., Sumadirdja, H., Richards, P. W., Sutisna, K., & Amin, T. C. (1996). *Peta geologi lembar Magelang dan Semarang, Jawa* (ed. kedua). Bandung: Pusat Penelitian dan Pengembangan Geologi.
- Wardhana, D. D., Harjono, H., & Sudaryanto, S. (2014). Struktur bawah permukaan kota semarang berdasarkan data gaya berat. *RISET Geologi dan Pertambangan*, 24(1), 53-64.

**UJI ANTIBAKTERI MASKER KEFIR SUSU KAMBING
PADA *Staphylococcus epidermidis* SECARA IN VITRO**

**(ANTIBACTERIAL OF GOAT'S MILK KEFIR MASK)
ON *Staphylococcus epidermidis* IN VITRO**

Ajeng Desti Ningsih dan Nur Khikmah*

Akademi Analis Kesehatan Manggala Yogyakarta

Jl. Bratajaya No. 25 Sokowaten Banguntapan Bantul 55198

*email: khikmahn@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui antibakteri masker kefir susu kambing pada *Staphylococcus epidermidis* dan menghitung jumlah koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) dan khamir. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Antibakteri masker kefir ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran. *Spread plating* dilakukan untuk menghitung koloni bakteri asam laktat dan khamir. Medium MRSA dan PDA diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 x 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung menggunakan metode *Standard Plate Count* dengan jumlah koloni 30-300, dan dinyatakan dalam satuan CFU/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa masker kefir mempunyai sifat bakteriostatik. Kemampuan antibakteri masker kefir susu kambing pada *Staphylococcus epidermidis* disebabkan karena di dalam supernatan masker kefir terdapat senyawa antibakteri. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona irradikal. Rerata koloni BAL pada masker kefir susu kambing A dan B adalah $1,5 \times 10^9$ dan $1,2 \times 10^{10}$ CFU/g. Rerata jumlah koloni khamir pada masker kefir susu kambing A dan B adalah $2,1 \times 10^{10}$ dan $> 3,0 \times 10^{10}$ ($3,9 \times 10^{10}$) CFU/g.

Kata kunci: *masker kefir, antibakteri, BAL, Staphylococcus epidermidis*

Abstract

This study was aimed at determining the antibacterial goat's milk kefir mask on *Staphylococcus epidermidis* and the number of Lactic Acid Bacteria (BAL) and the number of yeast colonies. The antibacterial test was carried out using the diffusion method of the wells. The antibacterial activity in the kefir mask is shown by the presence of inhibitory zones that form around the well. Spread plating was done to calculate the colonies of lactic and yeast acid bacteria. MRSA and PDA medium were incubated at 37°C for 2-3 x 24 hours. The number of growing colonies is calculated using the Standard Plate Count method with the number of colonies of 30-300 and expressed in units of CFU/g. The results showed that kefir masks had bacteriostatic properties. The antibacterial ability of goat's milk kefir mask was since the kefir supernatant contained antibacterial compounds. This is indicated by the formation of a nonradical zone. The mean of BAL colonies in goat milk masks A and B was 1.5×10^9 and 1.2×10^{10} CFU/g. The average number of yeast colonies in Goat milk masks A and B was 2.1×10^{10} and $> 3.0 \times 10^{10}$ (3.9×10^{10}) CFU/g.

Keywords: *kefir mask, antibacteria, LAB, Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Kefir merupakan hasil fermentasi susu dengan mikroorganisme di dalam bahan kefir. Bahan kefir terdiri atas campuran berbagai Bakteri Asam Laktat (BAL) dan khamir (Prado *et al.*, 2015). BAL menyebabkan terjadinya rasa asam dan memproduksi senyawa antimikroba, antara lain asam organik dan bakteriosin. Khamir menghasilkan alkohol dan CO₂ (Hidayat, Pagada, & Suhartini, 2006). Kefir bermanfaat untuk menjaga sistem kekebalan tubuh, menghambat pertumbuhan tumor, menjaga sistem pencernaan, membantu metabolisme kolesterol, dan sebagai antimikroba (Shen *et al.*, 2018).

Hasil fermentasi susu dengan bahan kefir akan menghasilkan dua lapisan, yaitu lapisan cair pada bagian bawah (*whey*) dan lapisan padat (*crud*) pada bagian atas (Julianto, Rossy, & Rusmarini, 2016). Lapisan cair dapat dijadikan sebagai minuman kefir dan toner kefir, sedangkan lapisan padat dijadikan sebagai masker kefir. Masker kefir digunakan pada wajah dengan tujuan untuk mengurangi jerawat. Masker dapat digunakan langsung tanpa tambahan bahan apapun, dan dapat juga ditambahkan dengan bubuk teh dan bubuk kopi (Sitompul, Siregar, & Atmanto, 2016).

Jerawat (*Acne vulgaris*) merupakan penyakit kulit kronis yang terletak pada kelenjar sebasea. Jerawat dapat terjadi bila

ada perubahan pada kelenjar sebasea yang berukuran besar dan membentuk banyak sebum sehingga dapat menyebabkan sumbatan yang terlihat sebagai jerawat. Jerawat juga dapat terjadi karena adanya infeksi dari bakteri (Jr. Fleischer, Feldman, Katz, & Clayton, 2000). Dhillon dan Varshney (2013) mengisolasi bakteri pada jerawat dengan kriteria jerawat berupa pustula dan nodul yang ditumbuhkan di medium blood agar dan Muller Hinton Agar pada keadaan aerob dan anaerob. *Staphylococcus aureus* (45%), *Staphylococcus epidermidis* (49%), dan *Micrococcus* spp. (45%) tumbuh pada keadaan aerob. *Staphylococcus aureus* (41%), *Propionibacterium acne* (32%), dan *Staphylococcus epidermidis* (20%) tumbuh pada keadaan anaerob. *Staphylococcus epidermidis* dapat tumbuh pada keadaan aerob dan anaerob sehingga *Staphylococcus epidermidis* lebih mudah menginfeksi jerawat yang disebabkan oleh bakteri. Hasil serupa diperoleh pada penelitian Sitohang, Fathan, Effendi, dan Wahid (2019) yang mengisolasi bakteri pada jerawat berupa komedo di medium *Brucella Blood Agar*. Pada keadaan aerob teridentifikasi *Staphylococcus epidermidis* (50,5%), *Propionibacterium acnes* (11%) dan *Staphylococcus aureus* (7,7%).

Pengobatan yang lazim untuk mengobati infeksi jerawat karena bakteri menggunakan antibiotik. Antibiotik yang biasa digunakan

adalah tetrasiklin, klindamisin, eritromisin, dokisiklin, amoksisilin, gentamisin dan rifampin (Dhillon & Varshney, 2013). Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menyebabkan resistensi antimikroba. Penggunaan antibiotik dapat dikombinasikan dengan benzoil peroksida yang berbentuk krim, *lotion*, maupun gel untuk mengurangi resistensi bakteri, tetapi memiliki efek samping dapat menyebabkan dermatitis ringan (Rathi, 2011). Penggunaan antibiotik sebagai pilihan pertama dalam penyembuhan jerawat harus ditinjau kembali untuk membatasi perkembangan resistensi bakteri.

Hasil penelitian Sitompul dkk. (2016) menunjukkan bahwa *treatment* dengan masker kefir susu kambing dengan penambahan bubuk kopi dan bubuk teh proporsi 10, 5, dan 0% memiliki pengaruh terhadap hasil pengurangan jerawat. Masker kefir susu kambing dengan penambahan bubuk kopi dan bubuk teh 5% memberikan hasil yang terbaik untuk pengurangan jerawat tipe ringan dan sedang pada kulit wajah. *Treatment* dilakukan dengan cara mengoleskan masker kefir ke seluruh wajah yang memiliki jerawat tipe ringan dan sedang, kemudian dibiarkan selama 10-15 menit lalu dibilas hingga bersih. *Treatment* dilakukan 1 kali selama 21 kali (21 hari). Penilaian hasil pengurangan jerawat dilakukan dengan metode perhitungan lesi yaitu dengan metode *Global Acne Grading System*.

Masker kefir digunakan dengan cara yang mudah dengan mengoleskan masker kefir pada wajah. Sebagian besar masker kefir yang dijual secara *online* di Yogyakarta saat ini dipromosikan dengan manfaat dapat mengurangi jerawat. Produsen masker kefir tidak memberikan informasi yang jelas tentang manfaat masker kefir dalam mengurangi jerawat khususnya yang disebabkan oleh bakteri.

Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian untuk mengetahui antibakteri masker kefir susu kambing terhadap salah satu bakteri penyebab jerawat, yaitu *Staphylococcus epidermidis*.

METODE PENELITIAN

Sampel masker kefir susu kambing berjumlah dua yang didapatkan dari produsen masker kefir *homemade* di Yogyakarta secara *online* melalui instagram. Masker kefir A berasal dari @rumahkefirjogja dan masker kefir B berasal dari @maskerkefirjogja_. Masker berupa masker kefir susu kambing original yang berwarna putih dengan berat 20 gram pada tiap kemasan. Masker kefir susu kambing yang digunakan belum memasuki masa kadaluwarsa.

Masker kefir susu kambing disentrifus 8000 g selama 30 menit. Supernatan berupa lapisan jernih (*whey*) dipisahkan dari peletnya, digunakan untuk uji antibakteri (Chen, Liu, Sheu, Lin, & Chuang, 2006).

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. *Staphylococcus epidermidis* disuspensikan ke dalam NaCl 0,85% sesuai dengan standar Mac Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml); kemudian 0,1 ml suspensi bakteri diinokulasikan ke medium *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan metode *spread plate*. Dibuat empat sumuran menggunakan perforator dengan diameter 6 mm pada MHA yang telah diinokulasikan *Staphylococcus epidermidis*. Masing-masing sumuran diisi aquades steril sebagai kontrol negatif dan supernatan masker kefir susu kambing sebanyak 50 μ l. Kemudian MHA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Kim *et al.*, 2016). Disk ciprofloxacin 5 μ g digunakan sebagai kontrol positif. Zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran diamati dan diukur dari tepi luar sumuran sampai bagian luar zona hambat (Chen *et al.*, 2006).

Sampel masker kefir susu kambing sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades sebanyak 9 ml, dilakukan pengenceran sampai 10^{-8} . Pada pengenceran 10^{-7} dan 10^{-8} dilakukan *spread plating* untuk menghitung koloni bakteri asam laktat dan khamir. *Spread plating* dilakukan pada medium *De Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) + CaCO₃ 1% untuk bakteri asam laktat. Sedangkan untuk khamir pada medium *Potato Dextrose Agar* + asam asetat 10%. Medium MRSA dan PDA

diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 x 24 jam (Julianto dkk., 2016). Jumlah koloni yang tumbuh dihitung menggunakan metode *Standard Plate Count* dengan jumlah koloni 30-300 dan dinyatakan dalam satuan CFU/g (Fardiaz, 1993).

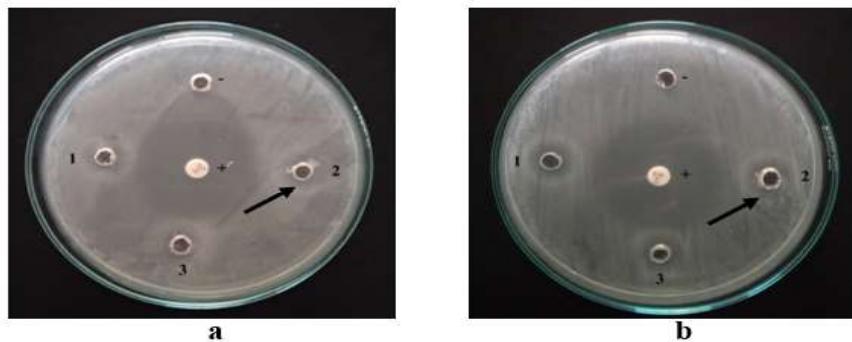
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji antibakteri masker kefir susu kambing menunjukkan bahwa masker kefir A dan B mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus epidermidis*.

Aktivitas tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat berupa zona irradikal di sekitar sumuran (Gambar 1). Ciprofloxacin menghasilkan zona hambat berupa radikal dan aquades tidak menghasilkan zona hambat.

Zona irradikal adalah daerah di sekitar sumuran yang menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri dihambat, tetapi tidak dimatikan (Brooks, Butet, & Morse, 2012). Hasil tersebut menunjukkan bahwa masker kefir mempunyai sifat bakteriostatik. Kemampuan antibakteri masker kefir susu kambing pada *Staphylococcus epidermidis* disebabkan karena di dalam supernatan masker kefir terdapat senyawa antibakteri. Pada penelitian ini belum diidentifikasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh masker kefir. Shen *et al.* (2018) menjelaskan bahwa senyawa antibakteri dalam kefir yang berperan besar dalam menghambat

Gambar 1. Uji Antibakteri Masker Kefir Susu A (a) dan Masker Kefir Susu Kambing B; (b) pada *Staphylococcus epidermidis*. Zona Irradikal ditunjukkan dengan Tanda Panah ()



Keterangan: (+) Ciprofloxacin, (-) Aquades, dan (1-3) Supernatan Masker Kefir Susu Kambing.

pertumbuhan bakteri yaitu asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin.

Efek antibakteri asam organik disebabkan oleh asam organik yang larut berdifusi melintasi membran sel bakteri dan mengganggu fungsi metabolisme bakteri. Hidrogen peroksida mengoksidasi membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel dan menghancurkan struktur molekul dasar dari asam nukleat dan protein sel (Suskovic *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, aktivitas antibakteri masker kefir susu kambing kemungkinan disebabkan oleh asam organik. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona irradikal. Aktivitas antimikroba asam organik dapat dibedakan dengan aktivitas bakteriosin (Rai *et al.*, 2009). Bakteriosin akan menghasilkan zona jernih yang jelas, bulat, dan luas. Zona

jernih termasuk dalam zona radikal yang menunjukkan bahwa senyawa antimikroba bersifat bakteriostatik mampu mematikan mikroba uji. Chen *et al.* (2006) menemukan bahwa asam laktat dari *whey* kefir susu dengan konsentrasi lebih dari 60 µg/mL dapat menghambat *Propionibacterium acne* yang diisolasi dari lesi pustular jerawat. Tidak ada penghambatan oleh senyawa lain dari *whey*.

Terbentuknya zona irradikal juga dapat disebabkan oleh *Streptococcus epidermidis* yang termasuk dalam kelompok bakteri positif. Cotter dan Hill (2003) menyatakan bakteri gram positif mempunyai pertahanan terhadap asam melalui pompa proton sehingga mampu menyeimbangkan pH dalam sel. Substrat lain seperti antimikroba tidak dapat berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma.

Pada penelitian ini senyawa antibakteri yang digunakan berasal dari supernatan (*whey*) masker kefir susu kambing. Diameter zona irradikal masker kefir susu kambing pada *Staphylococcus epidermidis* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1
Diameter Zona Irradikal Masker Kefir Susu Kambing pada Staphylococcus Epidermidis

Perlakuan	Diameter Zona Irradikal (mm)
Kefir A	4,2
Kefir B	5,8
Ciprofloxacin	37,8
Aquades	0

Masker kefir mempunyai aktivitas menghambat *Staphylococcus epidermidis*. Aktivitas penghambatan meningkat dengan adanya penambahan bedak lotong dalam berbagai perbandingan (Fitratullah, Malaka, & Maruddin, 2019). Supernatan kefir (0,1 mL) dan kefiran (50 µg/mL) dapat menghambat bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus pyogenes* ATCC 17568, dan *Streptococcus salivarius* ATCC 39562 (Rodriguesa, Caputob, Carvalhoc, Evangelista, & Schneedorf, 2005).

Diameter zona hambat masker kefir susu kambing A dan B lebih rendah dibandingkan dengan ciprofloxacin 5µg (Tabel 1). Berdasarkan kategori daya hambat, masker kefir

A dan B dikategorikan lemah, sedangkan ciprofloxacin 5µg dikategorikan kuat. Liasi dkk. (2009) menyatakan bahwa kategori daya hambat dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu: lemah (<5 mm), sedang (6-9 mm), kuat (10-14 mm), dan sangat kuat (15-18 mm).

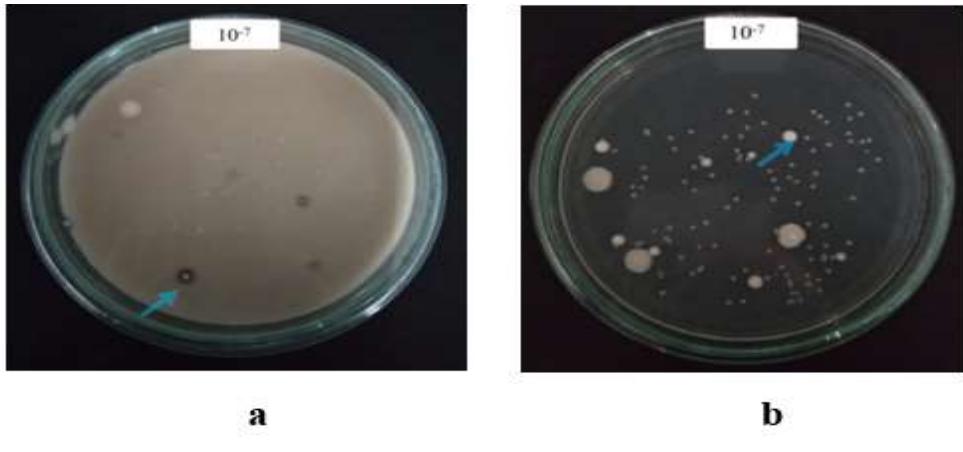
Koloni BAL yang tumbuh pada MRSA menghasilkan zona jernih di sekitar koloni, sedangkan koloni yang tumbuh pada PDA dihitung sebagai khamir (Gambar 2). Jumlah koloni BAL dan khamir disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2
Jumlah Koloni BAL dan Khamir dalam Masker Kefir Susu Kambing

Masker Kefir	BAL (CFU/g)	Khamir (CFU/g)
A	$1,5 \times 10^9$	$2,1 \times 10^{10}$
B	$1,2 \times 10^{10}$	$>3,0 \times 10^{10}$ ($3,9 \times 10^{10}$)

Jumlah BAL dan khamir pada masker kefir susu kambing (Tabel 4) melebihi standar minimal berdasarkan CODEX STAN 243-2003 yaitu 10^7 CFU/g dan 10^4 CFU/g dalam produk akhir (Alimentarius, 2003). Pada penelitian ini, masker kefir yang digunakan untuk perhitungan BAL dan khamir dalam bentuk padatan (*crud*). Julianto dkk. (2016) menjelaskan bahwa bagian padatan (*crud*) kefir merupakan padatan yang terbentuk dari koagulasi protein susu yang terpisah dari bagian cairan (*whey*). Koagulasi terjadi karena

Gambar 2. Koloni BAL pada Medium MRSA (a) dan Khamir pada PDA (b)



adanya penurunan derajat keasaman (pH). Tingginya kandungan protein pada bagian *curd* mengakibatkan pertumbuhan BAL juga meningkat sehingga kefir yang diambil dari bagian *curd* akan memiliki total BAL yang lebih tinggi dibandingkan kefir yang diambil dari bagian *whey*.

Beberapa penelitian juga mendapatkan jumlah BAL dan khamir yang tinggi dari kefir. Rata-rata total BAL pada kefir susu sapi bagian *curd* dan *whey* adalah 10,92 log CFU/ml dan 8,90 log CFU/ml; sedangkan khamir bagian *curd* dan *whey* adalah 9,93 log CFU/ml dan 9,02 log CFU/ml (Julianto dkk., 2016). Martharini dan Indratiningish (2017) menjelaskan bahwa kefir susu kambing memiliki rerata total bakteri asam laktat yakni 9,51 log CFU/mL dan total khamir 6,13 log CFU/mL.

Zahratul (2018) melakukan perhitungan jumlah BAL dan yeast pada masker *peel-off* susu kambing, yaitu salah satu jenis sediaan

masker yang praktis dan mudah digunakan untuk perawatan wajah. Hasil yang diperoleh adalah BAL dan yeast pada masker susu kambing berjumlah $2,5 \times 10^6$ CFU/g dan $5,2 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah BAL dari *crud* kefir susu kambing meningkat sampai inkubasi 36 jam (Jaya, Thohari, Kuswati, Susilorini, & Asmara, 2019). Jumlah BAL tertinggi $6,97 \pm 0,35$ log CFU/mL diperoleh pada inkubasi 30 jam. Jumlah khamir meningkat pada 18 jam sampai 24 jam waktu inkubasi, kemudian menurun pada inkubasi 30 sampai 36 jam. Jumlah khamir berkisar 5 log CFU/mL-6 log CFU/mL.

SIMPULAN

Masker kefir susu kambing A dan B memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus epidermidis* ditandai dengan terbentuknya zona irradikal. Rerata koloni BAL pada masker kefir susu kambing A dan B adalah $1,5 \times 10^9$ CFU/g dan $1,2 \times 10^{10}$

CFU/g. Rerata jumlah koloni khamir pada masker kefir susu kambing A dan B adalah $2,1 \times 10^{10}$ CFU/g dan $>3,0 \times 10^{10}$ ($3,9 \times 10^{10}$) CFU/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimentarius, C. (2003). *Codex-standard 243-2003: Codex standard for fermented milks.*
- Brooks G. F., Butet, J. S., & Morse, S. A. (2012). *Mikrobiologi kedokteran jawetz, melnick, & alderberg* (ed. 25). (Terj.: Aryandhito W. Nugroho). Jakarta: EGC.
- Chen, M. J., Liu, J. R., Sheu, J. F., Lin, & Chuang, C. L. (2006). Study on skin care properties of milk kefir whey. *Asian-Aust, 19*(6), 905-908.
- Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the acid test: Responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67*(3), 429-453.
- Dhillon, K. S., & Varshney, K. R. (2013). Study of microbiological spectrum in acne vulgaris: An in vitro study. *Sch. J. App. Med. Sci., 1*(6),724-727.
- Fardiaz, S. (1993). *Analisis mikrobiologi pangan.* Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Fitratullah, A. M. N., Malaka, R., & Maruddin, F. (2019). In vitro test of kefir mask in combination with "Bedak lotong". *Advances in Environmental Biology, 13*(2), 14-16.
- Hidayat, N., Padaga, C. M., & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi industri.* Yogyakarta: Andi Offset.
- Jaya, F., Thohari, I., Kuswati, Susilorini, T. E., & Asmara, D. A. (2019). Microbiological properties of preparing facial mask cream from goat milk kefir. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 230*(012105), 1-6.
- Jr Fleischer, A. B., Feldman, S. R., Katz, A. S., & Clayton, B. D. (2000). *20 common problems in dermatology.* New York: McGraw-Hill Companies.
- Julianto, B., Rossi, E., & Yusmarini. (2016). Karakteristik kimiawi dan mikrobiologi kefir susu sapi dengan penambahan susu kedelai. *Jom Faperta, 3*(1), 1-11.
- Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I. B., Chon, J. W., Song, K. Y., & Seo, K. H., (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean J. Food Sci., 36*(6), 787-790.
- Liasi, S. A., Azmi,T. I., Hassan, M. D., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., & Ariff, A. B. (2009). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, budu. *Malaysian Journal of Microbiology, 5*(1), 33-37.
- Martharini, D., & Indratiningih, I. (2017). Kualitas mikrobiologis dan kimiawi kefir susu kambing dengan penambahan lactobacillus acidophilus FNCC 0051 dan tepung kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca*). *AGRITECH, 37*(1), 22-29.
- Prado, M. R., Blandon, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. P. (2015). Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology, 6*(1177), 1-10.
- Rai,A.K.,Bhaskar,N.,Amani,P.M.,Indriani, K.,Suresh,P. V.,&Mahendrakar,N. S. (2009). Characterization and application of native lactic acid bacterium isolated from tannery fleshing for fermentative bioconversion of tannery fleshing. *Application Microbiology Biotechnology, 83*, 757-766.
- Rathi, S. K. (2011). Acne vulgaris treatment: The current scenario. *Indian J Dermatol. [serial online], 56*, 7-13.
- Diunduh dari <http://www.e-ijd.org/>

- text.asp?2011/56/1/7/77543. DOI: 10.4103/0019-5154.77543.
- Rodriguesa, K. L., Caputob, L. R. G., Carvalhoc, J. C. T., Evangelista, J., & Schneedorf, J. M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25, 404-408.
- Shen, Y., Kim, D., Chon, J., Kim, H., Song, K., & Seo, K. (2018). Nutritional effects and antimicrobial activity of kefir (Grains). *J. Milk Sci. Biotechnol*, 36(1), 1-13.
- Sitohang, I. B. S., Fathan, H., Effendi, E., & Wahid, M. (2019). The susceptibility of pathogens associated with acne vulgaris to antibiotics. *Med J Indones*, 28(1), 21-7.
- Sitompul, A., Siregar, J. S., & Atmanto, D. (2016). Perbedaan hasil pengurangan jerawat pada kulit wajah menggunakan masker kefir susu kambing. *Jurnal Pendidikan Teknik dan Vokasional*, 2(2), 42-49.
- Suskovic, J., Kos, B., Beganovic, J., Pavunc, A. J., Habjanic, K., & Matosic, S. (2010). Antimicrobial activity-the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technol. Biotechnol*, 48(3), 296-307.
- Zahratul, A. (2018). *Kualitas mikrobiologi masker peel-off kefir susu kambing dengan penambahan madu kelengkeng (Dimorcarpus Longan Lour.)* (Abstrak Thesis). Universitas Brawijaya, Malang. Diunduh dari <http://repository.ub.ac.id/11100/>.

**KEANEKARAGAMAN ACARINA
DI PUSAT INOVASI AGRO TEKNOLOGI MANGUNAN**

**(THE DIVERSITY OF ACARINA IN AGRO TECHNOLOGY INNOVATION
CENTER MANGUNAN)**

Soenarwan Hery Poerwanto, Anggun Handiani, dan Dila Hening Windyaraini

Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

email: soenarwan@ugm.ac.id

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keanekaragaman Acarina dan faktor lingkungan yang mempengaruhi keberadaan Acarina di Pusat Inovasi Agro Teknologi (PIAT) Mangunan, Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan di PIAT Mangunan untuk pengambilan sampel dan Laboratorium Sistematika Hewan bagian Parasitologi Fakultas Biologi UGM untuk preparasi dan identifikasi. Metode yang digunakan adalah ekstraksi sampel menggunakan corong Barlese Tullgren dengan beberapa modifikasi. Sampel diambil pada 3 area vegetasi (sirsak, srikaya, dan sawo) dan setiap area diambil lima titik *sampling*. Pengukuran lingkungan meliputi kelembaban udara dan suhu udara diukur dengan alat higrometer, pH, dan suhu tanah dengan *soil tester digital*, serta kelembaban tanah dengan *soil tester Takemura DM-5*. Acarina yang diperoleh dilihat di bawah mikroskop dan *di-mounting* dengan larutan hoyer's. Identifikasi Acarina menggunakan buku identifikasi *A Manual of Acarology*. Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis menggunakan indeks keanekaragaman Shannon-Wiener. Berdasarkan identifikasi Acarina yang telah dilakukan, didapatkan 20 Family dan 28 Genus dan 399 cacah individu. Tingkat keanekaragaman Acarina termasuk dalam kategori sedang. Faktor lingkungan yang mempengaruhi kehadiran Acarina adalah suhu dan kelembaban.

Kata kunci: *Acarina, Barlese Tullgren, Shannon-Wiener*

Abstract

This study was aimed at determining the diversity of Acarina and environmental factors that affect the existence Acarina at Agro Technology Innovation Center (ATIC) Mangunan, Yogyakarta. This study was conducting at ATIC Mangunan for sampling and the Animal Systematics Laboratory of the Parasitology, Faculty of Biology, Gajah Mada University for preparation and identification. The method used was sample extraction using Barlese Tullgren funnel with several modifications. Samples were taken at 3 vegetation areas (soursop, sarikaya a.k.a *Annona squamosa*, and sapodilla) and each area was taken five sampling points. The environmental measurements include air humidity and air temperature measured by means of a hygrometer, pH and soil temperature with digital soil tester, and soil moisture with a soil tester Takemura DM-5. Acarina obtained was seen under a microscope and mounted with Hoyer's solution. The identification of Acarina using identification book *A Manual of Acarology*. The data obtained from the study were analyzed using the Shannon-Wiener diversity index. Based on Acarina's identification, 20 families and 28 genera and 399 individual numbers were obtained. The level of diversity of Acarina is categorized as the medium category. The environmental factors that influence the presence of Acarina are temperature and humidity.

Keywords: *Acarina, Barlese Tullgren, Shannon-Wiener*

PENDAHULUAN

Acarina oleh masyarakat umum lebih dikenal dengan *mites* atau *ticks*. *Subclass Acari* terdistribusi di seluruh dunia dan lebih dari 55.000 spesies terdeskripsi. Habitat Acarina yaitu hidup di darat, air tawar, bahkan air laut dan dari gurun sampai es (Wall & Shearer, 2001, p. 23). Acarina terestrial biasanya hidup di tanah, serasah, daun, ataupun kulit pohon. Peran Acarina dipengaruhi oleh kebiasaan makan dan habitatnya. Acarina memiliki dua bentuk kehidupan yang utama yaitu Acarina yang hidup bebas dan parasit. Spesies pada kedua kelompok tersebut bisa bermanfaat dan bisa merugikan. Acarina yang bermanfaat misalnya yang berperan sebagai predator yang bisa digunakan untuk pengendalian hayati hama. Acarina yang merugikan misalnya sebagai hama dan parasit. Acarina yang bersifat parasit terbagi menjadi ektoparasit (hidup di luar tubuh vertebrata/invertebrata) dan endoparasit (hidup di dalam tubuh vertebrata/invertebrata) (Krantz, 1978; Navajas *et al.*, 2010). Acarina dimasukkan dalam phylum Arthropoda, subphylum Chelicerata, class Arachnida, orde Acariformes dan Parasitiformes (Hoy, 2011, p. 10). Acarina tanah terbagi menjadi empat suborder yaitu Cryptostigmata, Mesostigmata, Prostigmata, dan Astigmata (Borah & Kakati, 2014; Tsurho & Ao, 2014). Acarina tanah berperan penting dalam

kesuburan tanah melalui dekomposisi materi organik, mineralisasi tanah, memelihara struktur fisik tanah, daur nutrien, aliran energi, dan meningkatkan produktivitas primer.

Kebun Pendidikan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Universitas Gadjah Mada (KP4 UGM) Yogyakarta yang didirikan pada tahun 1975 sekarang bernama Pusat Inovasi Agro Teknologi (PIAT). PIAT tersusun atas dua bidang yaitu Bidang Pengelolaan Sumber Daya Pangan Pangan Berkelanjutan dan Bidang Konservasi Sumber Daya Alam Berkelanjutan. Kedua bidang tersebut masing-masing didukung oleh subbidang-subbidang lainnya. PIAT Mangunan merupakan salah satu Subbidang Perkebunan dan Biofarmaka dengan luas sekitar 153 hektar dan ditanami pohon buah seperti sawo, sirsak, srikaya, alpukat, tanaman kayu, dan tanaman herbal. Produktivitas tanaman buah tidak terlepas dari hama dan fauna tanah. Fauna tanah dalam penelitian ini salah satunya adalah Acarina. Acarina yang hidup di tanah mencapai ratusan sampai ribuan per m². Acarina tanah ditemukan sampai kedalaman 10 m mengikuti sistem perakaran tumbuhan (Coddington & Colwell, 2001).

PIAT sebagai fasilitas penelitian lebih banyak digunakan dalam penelitian mengenai tumbuhan atau flora. Penelitian yang dilakukan oleh Firmansyah (2014)

mengenai Arthropoda tanah dalam lahan monokultur *Zea mays* L. di KP4 UGM ditemukan Acarina dengan family Laelapidae, dan Suborder Oribatidae, dan *springtails* (*Hypogastruridae*). Penelitian Utomo, Prihatin, dan Asyiah (2019) mengenai mesofauna tanah pada lahan tanaman kopi arabika di Perkebunan Kalibendo Banyuwangi diperoleh spesies dari order Collembola dan Acarina yang didapat yaitu *Ixodidae*. Penelitian Munarsih, Rahadian, dan Hadi (2014) mengenai struktur komunitas mikroarthropoda bryofauna terestrial di Zona Tropik Gunung Ungaran, Semarang, Jawa Tengah diperoleh Acarina berupa Mesostigmata dan Oribatida. Penelitian mengenai fauna tanah khususnya Acarina di PIAT Mangunan belum dikaji sehingga penelitian ini dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman Acarina dan faktor lingkungan yang mempengaruhi Acarina di PIAT Mangunan. Manfaat penelitian ini sebagai data inventarisasi Acarina di PIAT Mangunan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di PIAT Mangunan yang terletak di Jalan Imogiri-Dlingo Km. 2, Banyusumurup, Girirejo, Imogiri, Bantul, Yogyakarta untuk pengambilan sampel dan Laboratorium Sistematika Hewan bagian Parasitologi Fakultas Biologi

UGM untuk preparasi dan identifikasi. Metode yang digunakan adalah ekstraksi sampel menggunakan corong *Barlese Tullgren* (Andres & Mateos, 2006) dengan beberapa modifikasi. Sampel diambil pada 3 area vegetasi (sirsak, srikaya, dan sawo) dan setiap area diambil lima titik *sampling*. Sampel tanah diambil menggunakan cetok kira-kira sebanyak 50 gram dan serasah kira-kira 20 gram kemudian dimasukkan dalam plastik bening dan diberi label. Pengukuran lingkungan meliputi kelembaban udara dan suhu udara diukur dengan alat higrometer, pH dan suhu tanah dengan *soil tester* digital, serta kelembaban tanah dengan *soil tester* Takemura DM-5.

Sampel tanah dan serasah dari PIAT Mangunan dibawa ke Laboratorium Sistematika Hewan bagian Parasitologi Fakultas Biologi UGM dan diletakkan dalam *Barlese Tullgren* dengan panas lampu 25 watt dan ditampung dalam botol yang berisi alkohol 70%. Setelah 48 jam, botol tersebut dituang di cawan petri untuk disortir Acarinanya. Acarina yang diperoleh dilihat di bawah mikroskop dan di-mounting dengan larutan hoyer's. Preparat yang akan digunakan dalam jangka waktu yang lama bisa diseal dengan kuteks bening. Identifikasi Acarina menggunakan buku identifikasi *A Manual of Acarology* (Krantz, 1978).

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis menggunakan indeks keaneka-

ragaman Shannon-Wiener (Krebs, 1978) dengan rumus:

$$H' = \sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$$

Keterangan:

H' = Indeks keanekaragaman Shannon Wiener

n = Jumlah spesies

P_i = Proporsi jumlah individu jenis ke-1 dengan jumlah individu total contoh

Kisaran nilai tolak ukur indeks keanekaragaman sebagai berikut:

$H < 1,0$ = Keanekaragaman rendah

$1,0 < H < 3,22$ = Keanekaragaman sedang

$H > 3,22$ = Keanekaragaman tinggi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Acarina bersifat kosmopolit yang persebarannya luas dan dapat ditemui dari berbagai macam habitat, dapat hidup bebas di tanah, fitofagus, dan sebagai ektoparasit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan peran Acarina di PIAT Mangunan. Berdasarkan identifikasi Acarina yang telah dilakukan, didapatkan 20 Family dan 28 Genus. Acarina yang ditemukan seluruhnya berjumlah 399 cacah individu (Tabel 1). Jumlah Acarina sebanyak 399 berasal dari penjumlahan Acarina yang diperoleh dari 3 area sampling di PIAT Mangunan. Acarina yang ditemukan di area A dengan vegetasi sirsak sebanyak 121. Area B dengan vegetasi srikaya ditemukan Acarina sebanyak 126. Acarina di area C

dengan vegetasi sawo ditemukan sebanyak 152.

Berdasarkan Tabel 1, Acarina yang paling banyak ditemukan di area A dan C adalah genus *Scheloribates*, dan Acarina yang paling banyak ditemukan di area B adalah genus *Hafenrefferia*. Genus yang ditemukan di area A lebih banyak meskipun jumlah cacah individu yang ditemukan lebih sedikit daripada kedua area yang lain dan di area C ditemukan jumlah cacah individu yang lebih banyak meskipun genus yang didapat tidak sebanyak di area A. Perbedaan genus pada area tersebut dikarenakan mungkin ada Acarina yang hanya mampu beradaptasi di area tertentu dan tidak cocok di area lain untuk menunjang kelangsungan hidupnya, misalnya genus *Lohmannia*, *Cryptognathus*, *Armascirrus*, dan *Stenotarsonemus* hanya ditemukan di area A dan genus *Macrocheles* hanya ditemukan di area C. Selain itu, area dengan vegetasi sawo (C) memiliki percabangan horizontal dengan daun yang rimbun sehingga Acarina terlindung oleh kanopi, di area ini juga ditemukan *Unguizetes* (sebagai dekomposer) yang lebih banyak daripada di kedua area sehingga unsur hara di dalam tanah lebih banyak dan Acarina yang ditemukan juga lebih banyak.

Pada umumnya, keberlimpahan Acarina dipengaruhi oleh hasil interaksi dari lingkungannya seperti faktor abiotik, misalnya suhu, kelembaban, dan pH. Tabel

Tabel 1
Acarina di Pusat Inovasi Agro Teknologi (PIAT) Mangunan

Order	Suborder	Family	Genus	Total			
				A	B	C	
Acariformes	Astigmata	Acaridae	<i>Acarus</i>	10	14	18	
			<i>Tyrophagus</i>	1	1	0	
		Oribatida	<i>Belbidae</i>	<i>Damaeus</i>	3	3	2
			<i>Galumnidae</i>	<i>Galumna</i>	8	8	5
			<i>Haplozetidae</i>	<i>Peloribates</i>	3	0	1
				<i>Rostrozetes</i>	6	2	0
			<i>Liacaridae</i>	<i>Hafenrefferia</i>	14	25	20
			<i>Lohmanniidae</i>	<i>Lohmannia</i>	1	0	0
			<i>Mochlozetidae</i>	<i>Unguizetes</i>	7	16	29
			<i>Perlohmanniidae</i>	<i>Perlohmannia</i>	0	2	2
Parasitiformes	Mesostigmata	Prostigmata	<i>Scheloribatidae</i>	<i>Ischeloribates</i>	8	14	16
				<i>Scheloribates</i>	17	21	33
			<i>Anystidae</i>	<i>Bechsteinia</i>	7	0	6
			<i>Cheyletidae</i>	<i>Cheyletus</i>	2	2	0
			<i>Cryptognathidae</i>	<i>Cryptognathus</i>	1	0	0
		Erythraeidae	<i>Cunaxidae</i>	<i>Armascirus</i>	1	0	0
				<i>Cunaxa</i>	2	3	2
				<i>Neobonzia</i>	2	0	2
				<i>Pulaeus</i>	4	0	1
			<i>Paratydeidae</i>	<i>Balaustium</i>	3	3	0
		Tenuipalpidae		<i>Erythacarus</i>	2	0	1
				<i>Leptus</i>	0	1	1
			<i>Tarsonemidae</i>	<i>Paratydeus</i>	1	2	0
		Macrochelidae	<i>Tenuipalpidae</i>	<i>Stenotarsonemus</i>	1	0	0
				<i>Brevipalpus</i>	6	4	8
			<i>Phytoseiidae</i>	<i>Macrocheles</i>	0	0	1
		Uropodidae		<i>Amblyseius</i>	10	3	2
			<i>Uropodidae</i>	<i>Urodiaspis</i>	1	2	2

2 menyajikan data pengukuran parameter lingkungan yang dilakukan dalam penelitian.

Collof (2009) menjelaskan bahwa temperatur yang tinggi mempercepat reaksi metabolisme sehingga perkembangan dan

reproduksi selesai dalam waktu yang lebih singkat. Temperatur yang optimum untuk Acarina adalah 25-30°C. Berdasarkan Tabel 2, suhu tanah pada area A berada di kisaran optimum dan di area B dan C sedikit di atas

Tabel 2
Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan

No	Parameter Lingkungan	Area Sampel	Nilai Optimum	Nilai Terukur
1	Suhu tanah (°C)	A	25-30	29,7±3,9
		B		31±4,9
		C		31,5±2
2	Kelembaban tanah (%)	A	40-80	58,7±6,4
		B		60±8,9
		C		60,3±4,8
3	pH tanah	A	6,2	5,6±0,9
		B		5,3±1,1
		C		5,6±0,9
4	Suhu udara (°C)	A	25-30	33,4±3,4
		B		37,6±3,3
		C		35,8±1,1
5	Kelembaban udara (%)	A	40-80	46,4±6,7
		B		38,4±3,8
		C		45±3,2

nilai optimum, suhu udara di ketiga area lebih dari nilai optimum dan paling tinggi di area B. Suhu udara yang tinggi di area B membuat kelembaban udaranya juga berada di bawah nilai optimum. Area B terdapat vegetasi srikaya yang daun dan buahnya banyak yang kering sehingga Acarina tidak terlindungi kanopi dan akumulasi serasahnya juga sedikit. Kelembaban berpengaruh pada Acarina yang berperan sebagai fungivor (pemakan fungi). Kelembaban yang optimum untuk Acarina yaitu 40-80%. Unsur hara di dalam tanah sedikit sebagai akibat dari pH yang terukur di bawah nilai optimum dan pH yang terlalu rendah, serta pH yang terlalu tinggi tidak disukai Acarina.

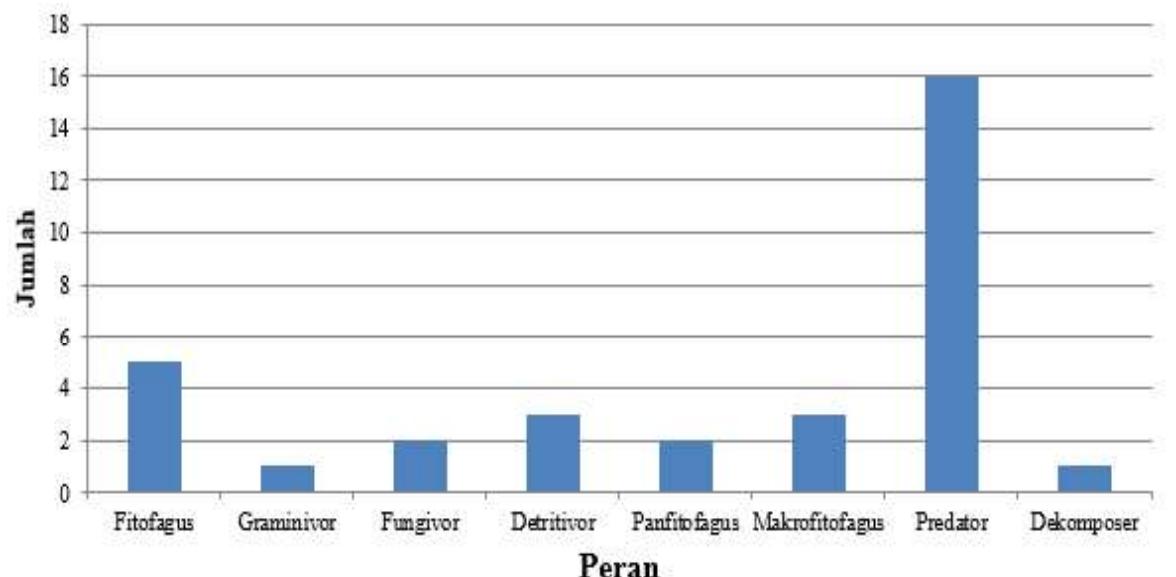
pH tanah yang optimum untuk Acarina yaitu 6,2 (Khabir, Nejad, Moghaddam, Khanjani, & Zargaran, 2014). Hasil pengukuran parameter lingkungan yang berada di bawah atau di atas nilai optimum masih bisa ditoleransi oleh Acarina sehingga di ketiga area terdapat Acarina. Faktor lingkungan yang paling mempengaruhi keberadaan Acarina di PIAT yaitu suhu dan kelembaban.

Acarina memiliki berbagai macam peran di dalam suatu habitat. Beragamnya peran tersebut disebabkan perbedaan cara makan dan sumber nutrisi yang diperlukan Acarina. Berikut ini merupakan peran utama Acarina yang ditemukan di PIAT Mangunan.

Pada Gambar 1, peran Acarina berdasarkan pada genus yang ditemukan dalam tanah dan serasah di PIAT Mangunan adalah fitofagus, graminivor, fungivor, detritivore, panfitofagus, makrofitofagus, predator, dan dekomposer. Acarina yang berperan sebagai fitofagus memakan zat atau material tumbuhan dan menjadi hama pada pohon yang berbuah. Acarina yang berperan sebagai fitofagus yaitu *Acarus* (Krantz, 1978), *Tyrophagus* (Fang & Zhang, 2007), *Cryptognathus* (Khanjani, Khanjani, Najav-Abadi, & Seeman, 2014), *Stenotarsonemus* (Baker & Wharton, 1952) dan *Brevipalpus* (Vacante, 2010). Acarina yang berperan sebagai graminivor memakan biji-bijian yaitu *Acarus* (Robinson, 2005). Acarina yang berperan sebagai fungivor memakan

fungi. Acarina yang termasuk fungivor yaitu *Tyrophagus* (Fang & Zhang, 2007) dan *Unguizetes* (Ermilov & Kaluz, 2012). Acarina yang berperan sebagai detritivore memakan detritus (bagian tumbuhan dan hewan yang membusuk, serta kotoran). Acarina yang berperan sebagai detritivore yaitu *Damaeus* (Krantz, 1978), *Ischelobates* (Mahunka, 1986) dan *Balaustium* (Krantz, 1978). Acarina yang berperan sebagai panfitofagus memakan zat atau material tumbuhan dan fungi. Acarina yang berperan sebagai panfitofagus yaitu *Galumna* (Culliney, 2013) dan *Hafenrefferia* (Glime, 2017). Acarina yang berperan sebagai makrofitofagus memakan tumbuhan yang sudah membusuk, terkadang fungi. Acarina sebagai makrofitofagus yaitu *Galumna*

Gambar 1. Peran Acarina di PIAT Mangunan



(Culliney, 2013), *Lohmannia* (Krantz, 1978), dan *Perlohmannia* (Mortazavi, Akrami, & Hajizadeh, 2016). Acarina sebagai predator merupakan peran yang paling tinggi di antara peran yang lain, hal ini disebabkan tersedianya makanan yang cukup untuk Acarina predator berupa arthropoda kecil, nematoda, collembola, Acarina lain dan sebagainya. Acarina yang berperan sebagai predator yaitu *Peloribates* (Krantz, 1978), *Rostrozetes* (Krantz, 1978), *Ischeloribates* (Mahunka, 1986), *Scheloribates* (Krantz, 1978), *Bechsteinia* (Krantz, 1978), *Cheyletus* (Krantz, 1978), *Armascirus* (Skvarla, Fisher, & Dowling, 2014), *Cunaxa* (Skvarla *et al.*, 2014), *Neobonzia* (Chen, Guo, Yi, & Jin, 2018), *Pulaeus* (Skvarla *et al.*, 2014), *Erythacarus* (Baker & Wharton, 1952), *Leptus* (Bernard, Felska, & Makol, 2019), *Paratydeus* (Khaustov, 2017), *Macrocheles* (Ozbek, Bal, & Dogan, 2015), *Amblyseius* (Krantz, 1978), dan *Urodiaspis* (Baker & Wharton, 1952). Acarina yang berperan sebagai dekomposer membantu dekomposisi bahan organik dan pengurai yaitu *Unguizetes* (Ermilov & Kaluz, 2012). Acarina yang memiliki peran ganda ada lima

genus yaitu *Acarus*, *Tyrophagus*, *Unguizetes*, *Ischeloribates*, dan *Galumna*. Peran Acarina yang diperoleh secara tidak langsung dapat merugikan dan menguntungkan pada produktivitas pohon yang ditanam di PIAT Mangunan terutama pohon sirsak, srikaya, dan sawo. Acarina sebagai fitofagus menjadi hama yang menyerang tanaman dan adanya Acarina sebagai predator sebagai pengendali hidup fitofagus. Selain itu, adanya *Unguizetes* membantu dekomposisi dan pengurai sehingga unsur hara yang terkandung di dalam tanah lebih subur dan berpengaruh pada produktivitas tanam.

Keanekaragaman Acarina ditentukan dengan menggunakan rumus indeks keanekaragaman Shannon-Wiener. Data pada Tabel 3 merupakan hasil penghitungan indeks Shannon-Wiener di PIAT Mangunan.

Indeks keanekaragaman Shannon-Wiener bertujuan untuk mengetahui tingkat keanekaragaman rata-rata spesies di PIAT. Tabel 3 menunjukkan bahwa ketiga area memiliki indeks keanekaragaman Acarina dengan kategori sedang. Indeks tersebut menunjukkan pada PIAT, Acarina dapat hidup dan bereproduksi dengan cukup baik,

Tabel 3
Indeks Keanekaragaman Acarina di PIAT Mangunan

Area	H'	Nilai Tolak Ukur	Kategori
A	2.860617676	1<H'<3.22	Keanekaragaman Sedang
B	2.415984918	1<H'<3.22	Keanekaragaman Sedang
C	2.306182296	1<H'<3.22	Keanekaragaman Sedang

yang dipengaruhi parameter lingkungan dan ketersediaan sumber makanan atau nutrisi yang cukup bagi Acarina, kondisi ekosistem cukup seimbang, dan tekanan ekologisnya sedang. Kondisi ekosistem yang seimbang dikarenakan tidak adanya gangguan sehingga ekosistem mampu mempertahankan keadaannya.

SIMPULAN

Acarina yang ditemukan di PIAT Mangunan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta sebanyak 399 cacah individu yang terdiri dari 28 genus dan 20 family, yaitu famili *Acaridae*, *Belbidae*, *Galumnidae*, *Haplozetidae*, *Liacaridae*, *Lohmanniidae*, *Mochlozetidae*, *Perlohmanniidae*, *Scheloribatidae*, *Anystidae*, *Cheyletidae*, *Cryptognathidae*, *Cunaxidae*, *Erythraeidae*, *Paratydeidae*, *Tarsonemidae*, *Tenuipalpidae*, *Macrochelidae*, *Phytoseiidae*, dan *Uropodidae*. Tingkat keanekaragaman Acarina termasuk dalam kategori sedang. Faktor lingkungan yang mempengaruhi kehadiran Acarina adalah suhu dan kelembaban.

DAFTAR PUSTAKA

- Andres, P., & Mateos, E. (2006). Soil mesofaunal responses to post-mining restoration treatments. *Applied Soil Ecology*, 33, 67-78.
- Baker, E. W., & Wharton, G. W. (1952). *An introduction to acarology*. New York: The Macmillan Company.
- Bernard, R., Felska, M., & Makol, J. (2019). Erythraeid larvae parasitizing Dragonflies in Zambia-description of *Leptus (Leptus) chingombensis* sp. nov. with data on biology and ecology of host-parasite interactions. *Systematic & Applied Acarology*, 24(5), 790-813.
- Borah, M., & Kakati, L. N. (2014). Population dynamics of soil Acarina in natural and degraded forest ecosystem at Pathalipam, Lakhimpur, Assam. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology, and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 8(1), 45-50.
- Chen, J. X., Guo, J. J., Yi, T. C., & Jin, D. C. (2018). A new species of *Neobonzia* (Acariformes: Cunaxidae, Coleoscirinae) with a key to species of China. *Systematic & Applied Acarology*, 23(1), 104-112.
- Coddington, J. A., & Colwell, R. K. (2001). Arachnids. Academic Press. *Encyclopedia of Biodiversity*, 1, 199-218.
- Colloff, M. J. (2009). *Dust mites*. Australia: CSIRO Publishing.
- Culliney, T. W. (2013). Role of Arthropods in maintaining soil fertility. *Agriculture*, 3, 629-659.
- Ermilov, S. G., & Kaluz, S. (2012). A species of the Genus *Unguizetes* (Acari: Oribatida: Mochlozetidae) from Ecuador. *Acarina*, 20(2), 180-184.
- Fang, Q. H., & Zhang, Z. Q. (2007). *Tyrophagus* (Acari: Astigmata: Acaridae). *Fauna of New Zealand*, 56.
- Firmansyah, R. B. (2014). *Keragaman dan kemelimpahan Arthropoda tanah di lahan monokultur (Zea mays L.) Kebun Pendidikan, Penelitian dan Pengembangan Pertanian UGM (KP4 UGM)* (Skripsi tidak diterbitkan). Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Glime, J. M. (2017). Arthropods: Mites (Acari) (Chapt 9-1). Dalam J. M. Glime (2010), *Bryophyte ecology* (vol. 2). Bryological Interaction.

- Hoy, M. A. (2011). *Agricultural acarology: Introduction to integrated mite management*. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC.
- Khabir, Z. H., Nejad, K. H. I., Moghaddam, M., Khanjani, M., & Zargaran, M. R. (2014). Species richness of oribatid Mites (Acari: Oribatida) in range lands of West Azerbaijan Province, Iran. *Persian Journal of Acarology*, 3(4), 293-309.
- Khanjani, M., Khanjani, M., Najav-Abadi, P. R., & Seeman, O. D. (2014). Three new species of the genus favognathus luxton (Acari: Cryptognathidae) and re-description of cryptognathus lagena kramer from India. *International Journal of Acarology*, 40(5), 370-383.
- Khaustov, A. A. (2017). Review of the paratydeidae (Acari: Prostigmata), with description of the three new species. *Zootaxa*, 4303(2), 151-212.
- Krantz, G. W. (1978). *A manual of acarology* (2nd ed.). Corvallis: Oregon State University Book Stores, Inc.
- Krebs, C. J. (1978). *Ecological methodology*. New York: Harper and Row Publisher.
- Mahunka, S. (1986). Oribatids from Africa (Acari, Oribatida) IV. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, 78, 301-317.
- Mortazavi, S., Akrami, M. A., & Hajizadeh, J. (2016). Redescription of perlohmannia (Perlohmannia) dissimilis (Acari, Cryptostigmata, Perlohmaniidae) collected from Guilan Province Iran. *Linzer biol. Beitr.*, 48(1), 693-703.
- Munarsih, A., Rahadian, R., & Hadi, M. (2014). Struktur komunitas mikro-arthropoda bryofauna terestrial di zona tropik Gunung Ungaran, Semarang, Jawa Tengah. *BIOMA*, 16(1), 50-57.
- Navajas, M., Migeon, A., Estrada-Pena, A., Mailleux, A. C., Servigne, P., & Petanovic, R. (2010). Mites and ticks (Acari) Chapter 7.4. *BioRisk*, 4(1), 149-192.
- Ozbek, H. H., Bal, D. A., & Dogan, S. (2015). The genus macrocheles latreille (Acari: Mesostigmata: Macrochelidae) from Kelkit Valley (Turkey), with three newly recorded mite species. *Turkish Journal of Zoology*, 39, 768-780.
- Robinson, W. H. (2005). *Handbook of urban insects and arachnids*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Skvarla, M. J., Fisher, J. R., & Dowling, A. P. G. (2014). A review of cunaxidae (Acariformes, Trombidiformes): Histories and diagnoses of subfamilies and genera, keys to world species, and some new locality records. *Zookeys*, 418, 1-103.
- Tsurho, K., & Ao, B. (2014). Ventral distribution and abundance of soil acarina in a natural forest and jhum land ecosystem of Mokokchung, Nagaland. *International Journal of Science, Engineering and Technology*, 2(5), 371-391.
- Utomo, F. I., Prihatin, J., & Asyiah, I. N. (2019). Identifikasi mesofauna tanah pada lahan tanaman kopi arabika di perkebunan Kalibendo Banyuwangi. *Saintifika*, 21(1), 39-51.
- Vacante, V. (2010). *Citrus mites: Identification, bionomy, and control*. CAB International. UK: Oxford.
- Wall, R. & Shearer. (2001). *Veterinary ectoparasites: Biology, pathology, and control* (2nd ed.). Oxford, London: Blackwell Science Ltd.

**PRODUKSI PIGMEN DAN ASAM γ -AMINOBUTIRAT (GABA)
OLEH *Monascus purpureus***

**(PRODUCTION OF PIGMENTS AND γ -AMINOBUTYRIC ACID (GABA)
BY *Monascus purpureus*)**

Maria Sarah Fadillah, Endang Kusdiyantini, dan Wijanarka

Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275

email: maria.sarah.mf@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi pigmen dan GABA oleh *M. purpureus* dengan konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi yang berbeda. Fermentasi dilakukan menggunakan metode fermentasi cair dengan konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi yang berbeda. Pengukuran pigmen intraselular dilakukan dengan mengekstraksi pelet sel menggunakan etanol 95%. Produksi GABA ditentukan menggunakan metode ninhidrin. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur pigmen pada panjang gelombang 500, 470, dan 400 nm, sementara GABA pada panjang gelombang 401 nm. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Hasil penelitian menunjukkan rerata nilai pigmen merah, jingga, dan kuning tertinggi pada pigmen ekstraseluler ($P<0,05$) terjadi pada perlakuan C₃, sementara pigmen intraseluler ($P<0,05$) pada perlakuan C₁, dengan perlakuan waktu inkubasi ($P<0,05$) W₁₄. Interaksi antarkedua perlakuan (C*W) terjadi pada pigmen ekstraseluler merah dan jingga ($P<0,05$). Produksi GABA tidak berbeda secara signifikan pada perlakuan konsentrasi inokulum ($P<0,05$), tetapi berbeda secara signifikan pada perlakuan waktu inkubasi ($P<0,05$) dan perlakuan W₁₄ menunjukkan produksi tertinggi (6,1085 mg/ml). Tidak adanya interaksi antar dua perlakuan dalam produksi GABA ($P>0,05$).

Kata kunci: produksi pigmen, GABA, *Monascus purpureus*

Abstract

This study was aimed at examining the production of pigments and GABA by *M. purpureus* in varied inoculum concentration and incubation time. The fermentation was carried out by submerged fermentation method with inoculum concentration and varied incubation time. Cell pellet was extracted using 95% ethanol for intracellular pigment measurement. GABA production was determined by ninhydrin method. Pigments were measured at 500, 470, and 400 nm wavelength by spectrophotometry, and GABA was measured at 401 nm wavelength. The experimental design was Completely Randomize Design (CRD) factorial with two factors. The higher colour value of extracellular ($P<0,05$) red, orange, and yellow pigments showed at C₃ while intracellular ($P<0,05$) showed at C₁ with incubation time at W₁₄. There are some interactions between two factors (C*W) for red and orange extracellular pigments ($P<0,05$). It was observed that inoculum concentrations have no significant difference ($P>0,05$) for GABA production. In other hand, there is significant difference for incubation time factors ($P<0,05$) with the highest production at W₁₄ (6,1085 mg/ml). There is no interaction between two factors for GABA production ($P>0,05$).

Keywords: pigment production, GABA, *Monascus purpureus*

PENDAHULUAN

Salah satu sumber pewarna alami adalah pigmen dari mikroorganisme yang sedang dikembangkan karena lebih mudah diproduksi dengan jumlah banyak, menghasilkan warna yang bervariasi (Chakraborty, Redkar, Munjal, Kumar & Rao, 2015), juga bersifat *biodegradable* dan ramah lingkungan, serta memiliki karakteristik yang berkaitan dengan kesehatan (Kumar, Vishwakarma, Singh, Dwivedi & Kumar, 2015).

Monascus purpureus adalah salah satu fungi yang diketahui memproduksi pigmen melalui proses fermentasi pada kultur padat ataupun cair. *Monascus* memproduksi pigmen yang dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air) dan pigmen ekstraseluler (larut air) (Timotius, 2004).

Monascus menghasilkan enam jenis pigmen yaitu pigmen merah (rubropunctamin $\{C_{21}H_{23}NO_4\}$ dan monascorubramin $\{C_{23}H_{27}NO_4\}$), pigmen kuning (ankaflavin $\{C_{23}H_{30}O_5\}$ dan monascin $\{C_{21}H_{26}O_5\}$), dan pigmen jingga (rubropunctatin $\{C_{21}H_{22}O_5\}$ serta monascorubrin $\{C_{23}H_{26}O_5\}$) (Dhaneliya, 2011). Pigmen tersebut disintesis dalam sitosol sebagai hasil dari reaksi kompleks enzimatik dikatalisis oleh kompleks multienzim poliketida sintase (PKS) (Koli, Suryawanshi, Patil, & Patil, 2017).

Produksi pigmen diketahui dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan. Hamdiyati, Kusnadi, dan Yuliani (2015), menyebutkan bahwa *Monascus* membutuhkan sumber karbon, nitrogen, vitamin, mineral dan faktor lingkungan termasuk jumlah inokulum yang tersedia. Hasil penelitian Dhaneliya (2011), menunjukkan bahwa ukuran inokulum yang digunakan berperan penting dalam menghasilkan pigmen maksimum.

Metabolit sekunder lainnya yang diproduksi oleh *Monascus purpureus* adalah asam gamma-amino butirat (GABA). GABA (asam amino nonprotein) berperan utama sebagai inhibitor neurotransmitter dalam sistem saraf mamalia dan diketahui dapat bermanfaat dalam kesehatan dan terapi fisiologi (Tallapragada & Dikshit, 2017). Sejumlah mikroorganisme bakteri dan banyak kapang, yeast, serta jamur diketahui dapat memproduksi GABA. GABA memiliki fungsi terlibat dalam germinasi spora pada *Neurospora crassa* dan *Bacillus megaterium*. Sekarang ini GABA digunakan dalam farmasi dan banyak digunakan sebagai komposisi dalam makanan, seperti *gammalone*, keju, teh gabaron, dan *shochu* (Dhakal, Bajpai, & Baek, 2012).

GABA ($C_4H_9NO_2$) terbentuk dari dekarboksilasi asam glutamat oleh enzim kunci, glutamat dekarboksilase yang diproduksi oleh fungi. Asam glutamat diproduksi oleh asam protease dan asam

karboksipeptidase yang disekresikan selama pertumbuhan *Monascus purpureus*. Studi menunjukkan adanya hubungan langsung antara produksi GABA dengan periode inkubasi, suhu, konsentrasi inokulum dan sumber nitrogen (Venkateswaran, 2010). Selama fermentasi, faktor seperti suhu, pH, waktu kultivasi dan penambahan media dapat berpengaruh secara signifikan dalam memaksimalkan produksi GABA (Tallapragada & Dikshit, 2017).

Nugraha, Lunggani, dan Kusdiyantini (2017) telah melakukan isolasi *Monascus* dari Angkak di Semarang, Jawa Tengah Indonesia. Hasil isolat dari Angkak Semarang tersebut telah diidentifikasi oleh Wardani (2017) yang menunjukkan isolat merupakan *Monascus purpureus*. Isolat hasil identifikasi tersebut, digunakan untuk dilakukan penelitian ini. Penelitian bertujuan untuk mengetahui produksi pigmen ekstraseluler dan intraseluler serta GABA oleh *Monascus purpureus* dengan adanya dua faktor yaitu variasi konsentrasi inokulum yang digunakan dan lamanya waktu inkubasi selama fermentasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi FSM UNDIP, Semarang pada bulan Juli 2018 sampai dengan September 2018. Alat yang digunakan adalah tabung erlenmeyer, tabung

reaksi dan rak tabung, mikropipet, autoklaf, vorteks, *sentrifuge*, spektrofotometer, pipet ukur, gelas ukur, botol sampel, oven, *water bath*, *rotary shaker*, dan timbangan. Bahan yang digunakan adalah isolat *Monascus purpureus* koleksi laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi FSM UNDIP), pregabalin (komersial/kapsul), bubuk *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquades, glukosa, MSG, KCl, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, HCl 10% (v/v), larutan 2 M NaOH, etanol 95%, ninhidrin, kertas filter (Whatman No. 1), kapas, dan alumunium foil.

Isolat *M. purpureus* ditumbuhkan pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 14 hari untuk peremajaan kultur murni. Suspensi spora kapang yang didapatkan dari kultur murni *M. purpureus* ditambahkan ke dalam medium inokulum dengan komposisi (dalam g/L) yaitu glukosa 50; MSG 12,6; KCl 0,5; KH_2PO_4 2,4; K_2HPO_4 2,4; dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01. Medium diatur pH menjadi 6. Inokulum diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (Kang, Zhang, Wu, Wang, & Park, 2014 dengan modifikasi) selama 14 hari pada suhu ruangan dan kondisi tanpa cahaya (Wardani, 2017 dengan modifikasi).

Proses fermentasi dilakukan menggunakan medium cair dengan komposisi medium yang sama dengan medium inokulum, sebanyak 80 mL. Medium

diinokulasi dengan medium inokulum sesuai dengan perlakuan {(5, 10, dan 15% (v/v)} dan diinkubasi pada shaker (120 rpm) dengan suhu ruangan selama 14 hari, kondisi tanpa cahaya (Wardani, 2017). Fermentasi di-sampling pada hari ke 0, 3, 6, 9, 12, dan 14 untuk pengukuran biomassa sel, produksi pigmen dan GABA.

Biomassa sel diukur dengan memisahkan miselia dari media fermentasi menggunakan kertas filter (Whatman No. 1). Miselium dikeringkan pada oven suhu 80°C selama 18 jam (Wardani, 2017 dengan modifikasi).

Sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit untuk pengukuran pigmen. Pigmen terdapat dalam dua fraksi yaitu filtrat dan pelet. Pengukuran pigmen dalam pelet dilakukan dengan ekstraksi menggunakan etanol 95% (v/v). 10 mL etanol ditambahkan 1 gram sel pelet hasil sentrifugasi dalam tabung uji 20 mL, kemudian digojog dan disimpan pada suhu ruangan semalam. Campuran tersebut dipisahkan dengan kertas filter (Whatman No. 1) dan filtrat yang diperoleh akan digunakan untuk pengukuran pigmen (Musaalbakri, Ariff, Rosfarizan, & Ismail, 2005). Pengukuran absorbansi dilakukan pada tiga panjang gelombang yaitu 500 nm (pigmen merah), 470 nm (pigmen jingga) dan 400 nm (pigmen kuning) menggunakan spektrofotometer (Hamdiyati *et al.*, 2015).

Nilai absorbansi dari hasil pengukuran pigmen ekstraseluler *M. purpureus* diubah menjadi nilai pigmen (CVU) dengan menggunakan rumus berikut (Dikshit & Tallapragada, 2011).

$$\text{Nilai pigmen} = \frac{\text{O.D.} \times \text{pengenceran} \times \text{volume ekstrak}}{\text{jumlah sampel (ml)}}$$

Nilai absorbansi dari hasil pengukuran pigmen intraseluler *M. purpureus* diubah menjadi nilai pigmen (CVU) dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Dikshit & Tallapragada, 2011).

$$\text{Nilai pigmen} = \frac{\text{O.D.} \times \text{pengenceran} \times \text{volume ekstrak}}{\text{jumlah sampel (gr)}}$$

Panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) untuk produksi GABA ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan pregabalin kapsul dalam *buffer* fosfat pH 7,4 dan penambahan larutan ninhidrin pada rentang panjang gelombang 370-600 nm (Bali & Gaur, 2011).

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan membuat variasi konsetrasi aliquot diambil dari larutan stok pregabalin (2 mg/mL) dan diencerkan dengan *buffer* fosfat pH 7,4 untuk membuat kisaran konsentrasi dari 50-1000 µg/mL. Sebanyak 5,0 mL aliquot tersebut dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan 1,0 mL larutan ninhidrin (0,2% w/v) dan dipanaskan dalam *water bath* pada suhu

70-75°C selama 20 menit. Didinginkan, kemudian nilai absorbansi dibuat triplikat pada λ_{\max} . Grafik kalibrasi dihasilkan dengan menempatkan nilai absorbansi pada λ_{\max} dan nilai konsentrasi (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/mL), sehingga didapatkan persamaan *Beer Lambert's Laws* (Bali & Gaur, 2011).

Sebanyak 5,0 mL aliquot filtrat hasil ekstraksi miselium dengan etanol ditambahkan 1,0 mL larutan ninhidrin dan dipanaskan pada *water bath* pada suhu 70-75°C selama 20 menit. Nilai absorbansi dengan triplikat pada λ_{\max} (Bali & Gaur, 2011). Nilai yang didapat dimasukkan ke dalam persamaan *Beer Lambert's Laws* yang didapat dari pembuatan kurva standar. Hasil akhir berupa konsentrasi GABA (mg/ml) pada sampel fermentasi.

Penelitian menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi inokulum

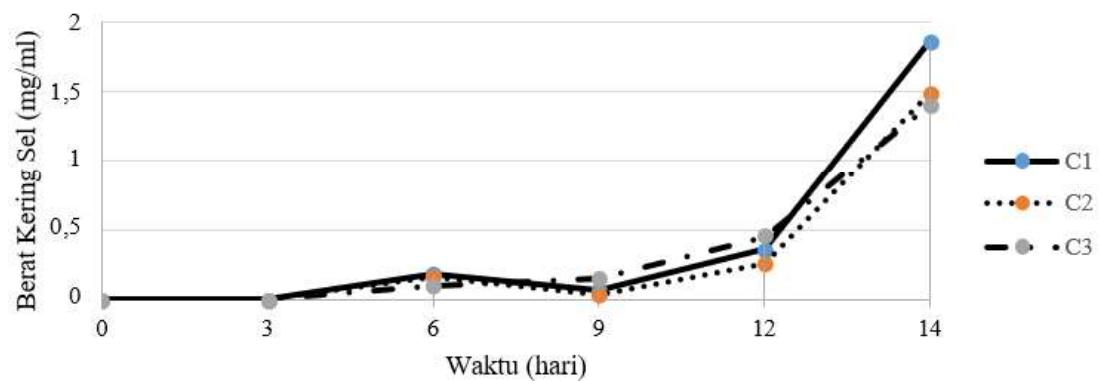
{C₁ (5%), C₂ (10%), dan C₃ (15%)} dan waktu inkubasi {0 hari (W₀), 3 hari (W₃), 6 hari (W₆), 9 hari (W₉), 12 hari (W₁₂), dan 14 hari (W₁₄)}. Analisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan dalam fermentasi terjadi 2 fase pertumbuhan yaitu fase lag yang terjadi pada hari ke 0 hingga hari ke-9, pertumbuhan *Monascus purpureus* mencapai fase logaritmik pada hari ke-9 dan masih berada dalam fase tersebut hingga hari ke-14 pada perlakuan C₁ dan C₂, sedangkan perlakuan C₃ sudah memasuki fase logaritmik pada hari ke-3 fermentasi.

Fase pertumbuhan adalah parameter kunci dari produksi metabolit sekunder. *Monascus purpureus* memulai produksi pigmen dengan merubah metabolisme karbon sentral dan degradasi asam lemak

Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Kapang *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi

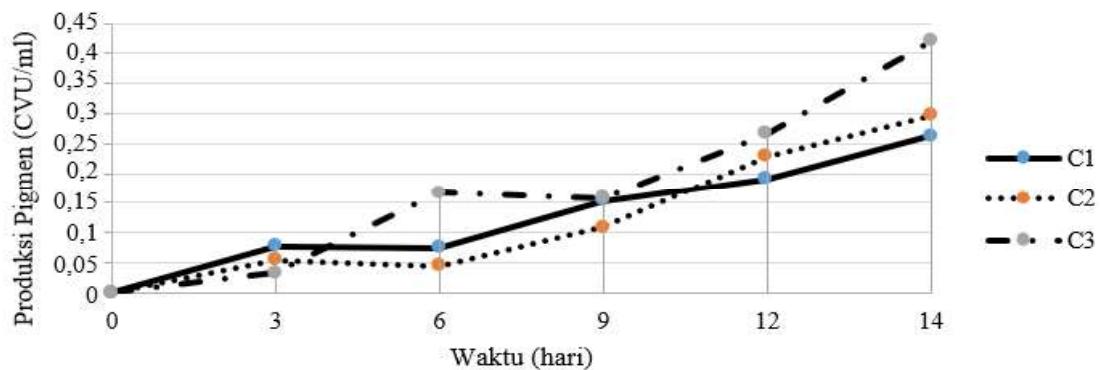


yang berpengaruh terhadap sintesis pigmen, melalui pengendalian jalur biosintesis asetil CoA (Srianta, Zubaidah, Estiasih, Yamada, & Harijono, 2016).

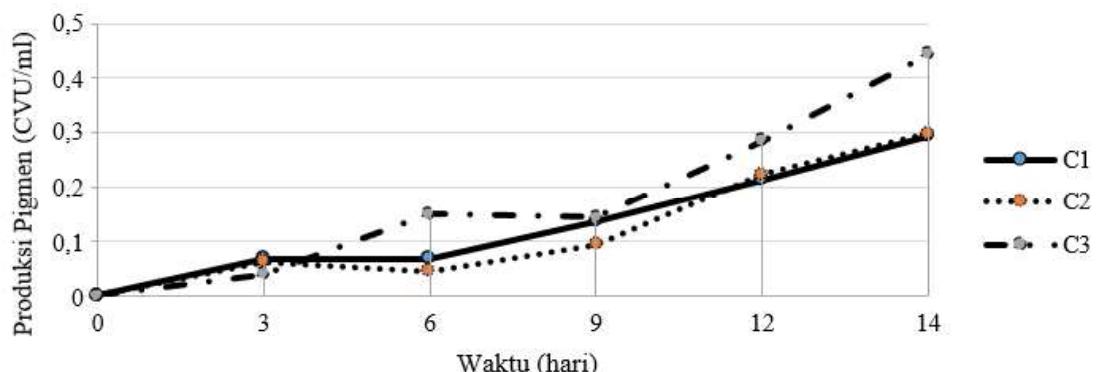
Gambar 2, 3, dan 4 menunjukkan produksi ketiga pigmen maksimum terjadi pada perlakuan C_3W_{14} . Produksi rata-rata nilai pigmen ekstraseluler tertinggi yaitu pigmen jingga (0,4424 CVU/ml), diikuti dengan pigmen merah (0,419 CVU/ml),

dan pigmen kuning (0,376 CVU/ml). Nilai pigmen untuk ketiga jenis pigmen terendah terjadi pada perlakuan waktu inkubasi 0 hari fermentasi (W_0). Hal ini menunjukkan bahwa *Monascus* pada tahap awal fermentasi belum memproduksi pigmen. Kondisi memperlihatkan bahwa pigmen jingga diproduksi lebih banyak, diikuti dengan pigmen merah dan terendah pada pigmen kuning. Hasil ini juga terjadi pada penelitian

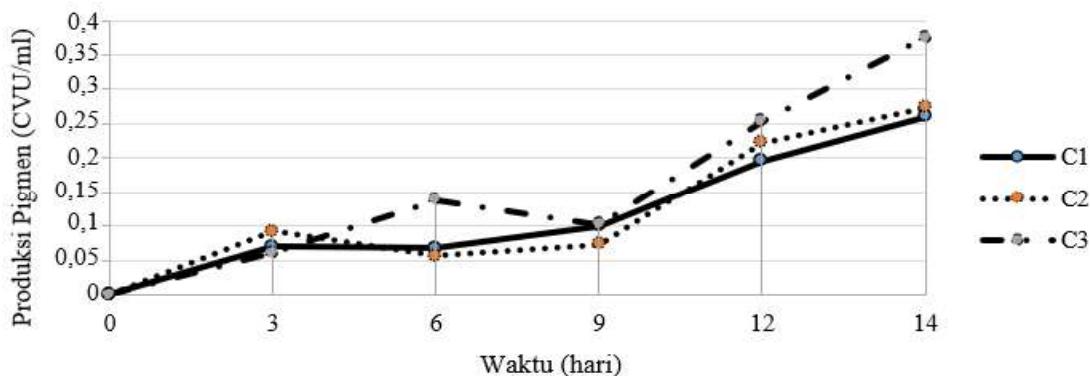
Gambar 2. Grafik Produksi Pigmen Ekstraseluler Merah *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Gambar 3. Grafik Produksi Pigmen Ekstraseluler Jingga *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Gambar 4. Grafik Produksi Pigmen Ekstraseluler Kuning *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Kang *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa pigmen jingga dan merah menjadi komponen ekstraseluler utama pada media fermentasi *Monascus anka* pada pH 6 dengan komposisi medium fermentasi menggunakan sumber nitrogen dari MSG.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan pada ketiga jenis pigmen memproduksi rata-rata nilai pigmen yang berbeda secara signifikan terhadap perlakuan konsentrasi inokulum ($p<0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan C_3 dan perlakuan waktu inkubasi ($p<0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan W_{14} . Produksi pigmen merah dan jingga menunjukkan adanya interaksi antar kedua perlakuan ($p<0,05$) dengan rata-rata nilai pigmen tertinggi dicapai pada perlakuan $C_3 W_{14}$. Tingginya produksi pada perlakuan W_{14} dikarenakan waktu inkubasi 14 hari menunjukkan fase logaritmik akhir dari fermentasi sehingga kadar pigmen yang di-

hasilkan berada dalam jumlah yang maksimal oleh *Monascus purpureus*, dibandingkan dengan perlakuan waktu inkubasi lainnya.

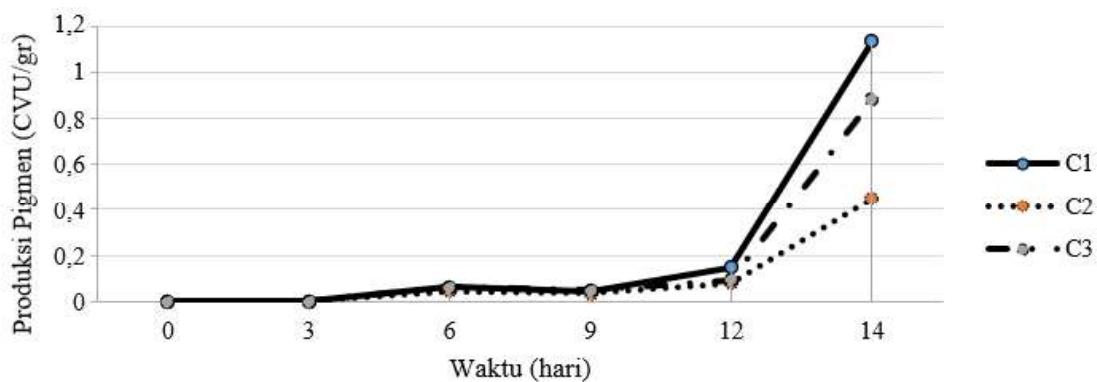
Perlakuan konsentrasi inokulum menunjukkan produksi tertinggi terjadi pada perlakuan C_3 . Biomassa yang dihasilkan terendah dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi inokulum lainnya. Silbir dan Goksungur (2019) mengatakan bahwa konsentrasi inokulum spora mempengaruhi pertumbuhan. Konsentrasi inokulum yang rendah akan mengurangi jumlah biomassa sehingga rendahnya konsentrasi pigmen yang dihasilkan. Konsentrasi inokulum yang tinggi menyebabkan konsentrasi biomassa yang tinggi sehingga cepatnya konsumsi nutrien yang dibutuhkan untuk produksi pigmen dalam medium fermentasi. Akan tetapi, penelitian Méndez, Pérez, Montañéz, Maertínez, dan Aguilar (2011) menunjukkan sebaliknya, yaitu tidak ada hubungan langsung antara konsentrasi biomassa dan

produksi pigmen. Produksi pigmen lebih berhubungan dengan faktor lingkungan yang bersamaan mengaktifkan mekanisme berkaitan dengan genetik dan kontrol metabolismik atau mekanisme perlindungan.

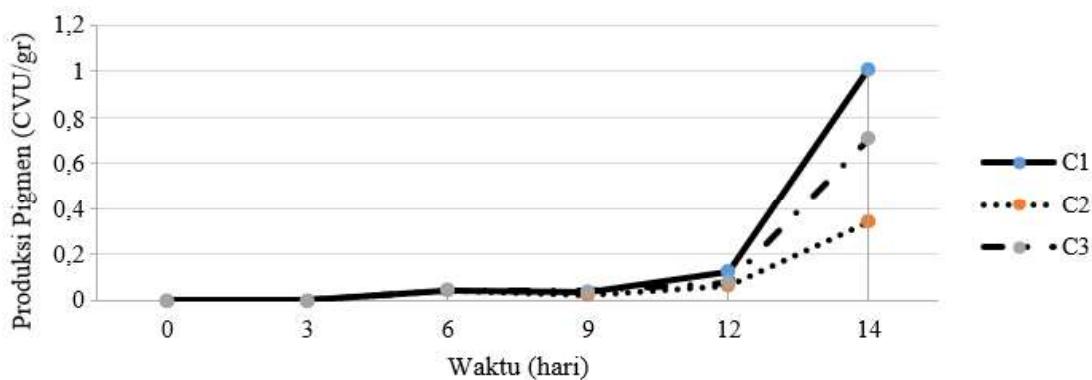
Pengukuran produksi pigmen intraseluler dimulai dari perlakuan waktu inkubasi hari ke-6. Hasil pengukuran pigmen tersebut dinyatakan dalam satuan unit nilai pigmen dalam gram (CVU/gr). Gambar 5, 6, dan

7 menunjukkan produksi ketiga pigmen maksimum terjadi pada perlakuan C_1W_{14} dengan rata-rata nilai pigmen intraseluler tertinggi pada pigmen kuning (3,6883 CVU/gr), diikuti dengan pigmen merah (1,1326 CVU/gr) dan pigmen jingga (1,0107 CVU/gr). Rata-rata nilai pigmen terendah untuk ketiga jenis pigmen terjadi pada perlakuan C_2W_9 , yaitu pigmen merah sebesar 0,0337 CVU/gr, pigmen kuning sebesar 0,0363

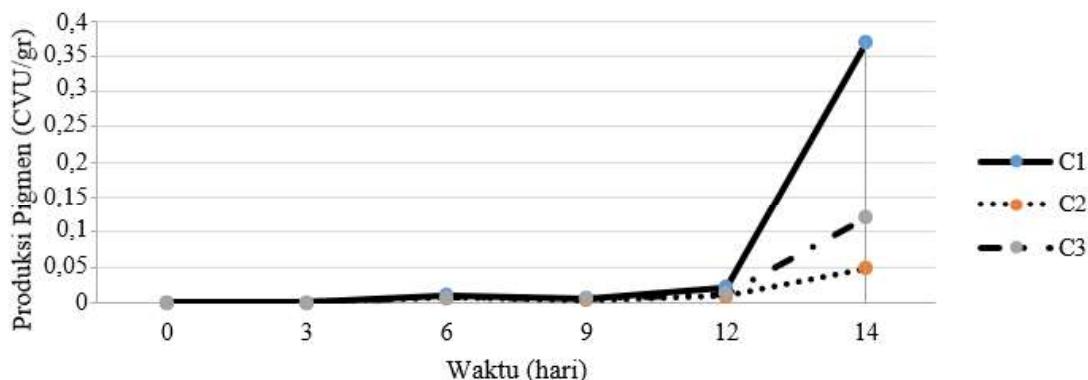
Gambar 5. Grafik Produksi Pigmen Intraseluler Merah *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Gambar 6. Grafik Produksi Pigmen Intraseluler Jingga *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Gambar 7. Grafik Produksi Pigmen Intraseluler Kuning *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



CVU/gr dan pigmen jingga sebesar 0,0257 CVU/gr.

Hasil pengukuran memperlihatkan pigmen intraseluler yang lebih banyak diproduksi adalah pigmen kuning, diikuti dengan pigmen merah dan jingga. Hasil ini juga ditunjukkan oleh Kang *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pada pH 6 dengan sumber nitrogen yaitu MSG, pigmen intraseluler menunjukkan pigmen kuning yang diproduksi lebih tinggi dibandingkan kedua jenis pigmen lainnya.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan pada ketiga jenis pigmen memproduksi rata-rata nilai pigmen yang berbeda secara signifikan terhadap perlakuan konsentrasi inokulum ($p<0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan C₁ dan perlakuan inkubasi ($p<0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan W₁₄.

Nilai pigmen intraseluler tertinggi selama fermentasi dicapai pada konsentrasi 5% selama 14 hari fermentasi. Hasil analisis menunjukkan nilai pigmen yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 15% ($p>0,05$) untuk pigmen merah dan jingga. Berbeda halnya dengan pigmen ekstraseluler. Nilai pigmen tertinggi dicapai pada perlakuan C₃. C₁ memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan C₂ dan C₃ untuk memproduksi pigmen intraseluler dalam penelitian ini. Produksi tertinggi dicapai pada perlakuan C₁ ditunjukkan sebanding dengan biomassa yang dihasilkan, dimana biomassa C₁ tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Selain itu, kondisi ini dimungkinkan karena terjadinya perubahan pH medium fermentasi yang berbeda antara perlakuan C₁ dengan konsentrasi inokulum C₂ dan C₃ selama fermentasi.

Kondisi pH mempengaruhi fisiologi fungi, perkembangan konidia dan sintesis pigmen (Mukherjee & Singh, 2011). pH sangat berpengaruh terhadap komposisi pigmen dan pembagian pigmen antara kultur ekstraseluler dan biomassa intraseluler. Fraksi pigmen ekstraselular akan meningkat dengan meningkatnya pH (Kang *et al.*, 2014). Bühler, Dutra, Vendruscolo, Moritz, dan Ninow (2013) menuliskan pada jurnalnya bahwa beberapa pigmen yang diproduksi oleh *Monascus* sp. adalah intraseluler dan tidak larut dalam air, tetapi kondisi pertumbuhan seperti sumber nitrogen, pH, dan aerasi dapat menyebabkan pembentukan pigmen ekstraseluler dan larut dalam air. Perubahan pH medium dalam kultur *Monascus* sp. akan mengubah proporsi antara pembentukan pigmen lainnya dan produksi ekstraseluler.

Salah satu metode untuk pengukuran GABA adalah metode ninhidrin. Metode

kolorimetri, dimana hasil reaksi dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu. Metode ini bertujuan untuk mengukur konsentrasi GABA pada media fermentasi yaitu dengan mengukur warna kromofor *Rheumann's purple* yang terjadi akibat reaksi senyawa ninhidrin dengan gugus amino GABA pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimal yang sebelumnya telah dilakukan pengukuran yaitu 401 nm. Panjang gelombang tersebut berada dekat dengan hasil panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh penelitian sebelumnya yaitu 402,6 nm (Bali & Gaur, 2011).

Pengukuran GABA pada fermentasi dilakukan dimulai dari waktu inkubasi 6 hari. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan produksi GABA maksimum terjadi pada perlakuan C₃W₁₄ dengan rata-rata GABA sebesar 6,5275 mg/

Tabel 1
Rerata Produksi Senyawa GABA (mg/ml) terhadap Perlakuan Konsentrasi Inokulum dan Waktu Inkubasi yang Berbeda

Konsentrasi Inokulum	Waktu Inkubasi				Rerata
	W ₆	W ₉	W ₁₂	W ₁₄	
C ₁	4,5594	3,8475	4,9722	5,6988	4,7695
C ₂	4,1576	3,2650	4,5256	6,0993	4,5119
C ₃	4,6492	4,2310	4,1490	6,5275	4,8892
Rerata	4,4554 ^b	3,7812 ^c	4,5489 ^b	6,1085 ^a	

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$) berdasarkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

ml dan terendah dihasilkan oleh perlakuan C₂W₉ yaitu rata-rata sebesar 3,265 mg/ml.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa GABA yang dihasilkan tidak berbeda secara signifikan pada perlakuan konsentrasi inokulum ($p>0,05$), sementara perlakuan waktu inkubasi memberikan hasil yang berbeda secara signifikan terhadap produksi GABA ($p<0,05$). Tabel 1 menunjukkan perlakuan waktu inkubasi 14 hari (W₁₄) menghasilkan rata-rata GABA tertinggi (6,1085 mg/ml) dan terendah terjadi pada perlakuan waktu inkubasi 9 hari (W₉) dengan rata-rata GABA sebesar 3,7812 mg/ml.

Faktor waktu fermentasi merupakan faktor yang berperan penting dalam produksi GABA selain faktor suhu dan pH (Dhakal *et al.*, 2012). Hal ini dikarenakan konsentrasi GABA akan mencapai maksimum pada durasi tertentu dan mengalami penurunan setelahnya akibat dari perubahan GABA menjadi asam suksinat semialdehid dan terakhir menjadi asam suksinat yang bersifat ireversibel (Chua, Koh & Liu, 2019).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan pigmen ekstraseluler dan intraseluler *Monascus purpureus* dihasilkan tertinggi pada perlakuan C₃ dan C₁ berturut-turut, baik untuk pigmen merah, jingga, maupun kuning, pada perlakuan waktu inkubasi W₁₄. Konsentrasi GABA dengan hasil yang tertinggi oleh

Monascus purpureus dalam penelitian ini terjadi pada perlakuan C₃ dan perlakuan W₁₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Bali, A., & Gaur, P. (2011). A novel method for spectrophotometric determination of pregabalin in pure form and in capsules. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 59-65.
- Bühler, R. M. M., Dutra, A. C., Vendruscolo, F., Moritz, D. E., & Ninow, J. L. (2013). Monascus pigment production in bioreactor using a co-product of biodiesel as substrate. *Ciêcia e Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 9-13.
- Chakraborty, I., Redkar, P., Munjal, M., Kumar, S. R. S., & Rao, K. V. B. (2015). Isolation and characterization of pigment producing marine actinobacteria from mangrove soil and applications of bio-pigments. *Der Pharmacia Lettre*, 7(4), 93-100.
- Chua, J. Y., Koh, M. K. P., & Liu, S. Q. (2019). Gamma-aminobutyric acid: a bioactive compound in foods. Dalam H. Feng, B. Nemzer, & J. W. DeVries, *Sprouted grains: Nutritional value, production, and applications* (pp. 25-54). USA: AACC International.
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production GABA (γ -AminoButyric Acid) by microorganisms: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230-1241.
- Dhaneliya, N. S. (2011). *Biosynthesis of microbial pigments using co-culture of monascus purpureus and monascus ruber* (Thesis tidak diterbitkan). Jawaharlal Nehru Krishi Visha Vidyalaya, Jabalpur.
- Dikshit, R., & Tallapragada, P. (2011). *Monascus purpureus: A potential source for natural pigment production*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(4), 164-174.

- Hamdiyati, Y., Kusnadi, & Yuliani, L. A. (2015). Effect of monascus purpureus inoculum concentration on pigment production in jackfruit seed flour substrate. *AIP Conference Proceedings*, 1708(1), 1-5.
- Kang, B., Zhang, X., Wu, Z., Wang Z., & Park, S. (2014). Production of citrinin-free *monascus* pigments by submerged culture at low pH. *Enzyme and Microbial Technology*, 55, 50-57.
- Koli, S. H., Suryawanshi, R. K., Patil, C. D., & Patil, S. V. (2017). Chapter 9: Diversity and applications of versatile pigments produced by *monascus* sp. Dalam O. V. Singh, *Biopigmentation and biotechnological implementations* (pp. 193-209). USA: John Wiley & Sons.
- Kumar, A., Vishwakarma, H. S., Singh, J., Dwivedi, S., & Kumar, M. (2015). Microbial pigments: Production and their applications in various industries. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, 5(1), 203-212.
- Méndez, A., Pérez, C., Montañéz, J.C., Maertínez, G., & Aguilar, C.N. (2011). Red pigment production by *penicillium purpurogenum* GH2 is influenced by pH and temperature. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 12(12), 961-968.
- Mukherjee, G., & Singh, S. K. (2011). Purification and characterization of a new red pigment from *monascus purpureus* in submerged fermentation. *Process Biochemistry*, 46, 188-192.
- Musaalbakri, A. M., Ariff, A., Rosfarizan, M., & Ismail, A. K. (2005). Fermentation conditions affecting growth and red pigment production of *monascus purpureus* FTC 5391. *Journal of Tropical Agricultural and Food Science*, 33(2), 261-276.
- Nugraha, S., Lunggani, A. T., & Kusdiyantini, E. (2017). Pigment production of *monascus* sp. isolated from angkak in Semarang Region, Central Java, Indonesia. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 14(1), 52-58.
- Silbir, S., & Goksungur, Y. (2019). Natural red pigment production by *Monascus purpureus* in submerged fermentation systems using a food industry waste: Brewer's spent grain. *Foods*, 8(161), 1-14.
- Srianta, I., Zubaidah, E., Estiasih, T., Yamada, M., & Harijono. (2016). Comparison of *monascus purpureus* growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 181-186.
- Tallapragada, P., & Dikshit, R. (2017). Microbial production of secondary metabolites as food ingredients. Dalam A. M. Holban & A. M. Grumezescu, *Microbial production of food ingredients and additives* (pp. 317-342). Cambridge: Elsevier.
- Timotius, K. H. (2004). Produksi pigmen angkak oleh *monascus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 15(1), 79-86.
- Venkateswaran, V. (2010). *Characterization of bioactive molecules from monascus purpureus fermented finger millet (Eleusine coracana)* (Thesis tidak diterbitkan). University of Mysore, Mysore.
- Wardani, M. T. (2017). *Identifikasi molekuler isolat monascus sp. hasil isolasi angkak berdasarkan gen Internal Transcribed Spacer (ITS) dan pengukuran kandungan pigmen* (Skripsi tidak diterbitkan). Universitas Diponegoro, Semarang.

PENGARUH JENIS INOKULAN DAN DOSIS KOMPOS DALAM FITOREMEDIASI MENGGUNAKAN TANAMAN RAMI

(THE EFFECT OF INOCULANT TYPE AND COMPOST DOSAGE IN PHYTOREMEDIATION PROCESS USING RAMIE PLANT)

Desvia Diyanti Nursyabani, Pudjawati Suryatmana, dan Rija Sudirja

Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM. 21, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat

email: desviadn@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi antara pemberian jenis inokulan dan kompos rami terhadap laju degradasi hidrokarbon, total populasi *Azospirillum* sp., dan diameter batang rami. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2017 sampai dengan Februari 2018 di Laboratorium Biologi Tanah, Laboratorium Kimia Tanah dan Nutrisi Tanaman, Rumah Kaca dan Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan acak kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu jenis inokulan dan dosis kompos. Perhitungan total populasi *Azospirillum* sp. dengan metode *Total Plate Count (TPC)* dan pengukuran kadar *Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)* dengan metode gravimetri. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa faktor perlakuan jenis inokulan dan dosis kompos pada fitoremediasi tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi terhadap laju degradasi hidrokarbon, total populasi *Azospirillum* sp., dan diameter batang tanaman rami. Terjadi pengaruh mandiri faktor perlakuan dosis kompos terhadap laju degradasi hidrokarbon dan diameter batang tanaman rami. Pengaruh mandiri dosis kompos rami memberikan hasil terbaik pada dosis 2,5% (w/w) terhadap peningkatan diameter batang tanaman rami.

Kata kunci: *inokulan, kompos, fitoremediasi, rami*

Abstract

This study was aimed at determining the interaction between the administration of inoculant types and hemp compost to the rate of hydrocarbon degradation, the total population of *Azospirillum* sp., and the diameter of the hemp stem. This study was conducted from November 2017 to February 2018 in the Soil Biology Laboratory, Soil Chemistry, and Plant Nutrition Laboratory, Greenhouse and Experimental Gardens, Faculty of Agriculture, Padjadjaran University. This study used a Randomized Complete Block Design (RCBD) consisting of two factors: the type of inoculant and compost dose. Calculation of the total population of *Azospirillum* sp. by the Total Plate Count (TPC) method and measurement of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) levels by the gravimetric method. Based on the results, it can be concluded that the factor of inoculant treatment and compost dosage in phytoremediation of petroleum hydrocarbon polluted soils does not show any interaction effect on the rate of hydrocarbon degradation, total population of *Azospirillum* sp., and stem diameter of hemp plants. There is an independent effect of compost dose treatment factor on the rate of hydrocarbon degradation and stem diameter of the hemp plant. The independent effect of hemp compost dose gives the best results at a dose of 2.5% (w/w) to increase the diameter of the hemp plant stems.

Keywords: *inoculant, compost, phytoremediation, ramie*

PENDAHULUAN

Salah satu sumber daya alam yang penting di Indonesia adalah minyak bumi. Minyak bumi mempunyai manfaat sebagai penghasil bahan bakar untuk transportasi dan mesin-mesin industri. Minyak bumi terbentuk dari dekomposisi fosil-fosil tumbuhan dan hewan selama berjuta-juta tahun yang mengandung berbagai senyawa kimia seperti vanadium, nikel, natrium, besi, aluminium, kalsium, magnesium, dan hidrokarbon (Brown, Chaney, Angle, & Baker, 1995).

Produksi minyak bumi di Indonesia diperkirakan akan terus menurun. Hal ini berbanding terbalik dengan jumlah konsumsinya. Produksi minyak bumi di Indonesia tahun 2014 hanya sebesar 852 ribu barel per hari dengan laju penurunan produksi mencapai 3,07%. Konsumsi minyak bumi di Indonesia diperkirakan sudah mencapai 1,6 juta barel per hari (BPstats, 2015). Hal ini menunjukkan tingginya jumlah konsumsi minyak bumi di Indonesia yang berdampak pada berbagai masalah misalnya pencemaran lingkungan.

Nuryatini dan Wiloso (2010) menjelaskan bahwa sumber pencemaran minyak bumi dapat berasal dari kecelakaan transportasi, kebocoran pipa, dan kegiatan eksplorasi minyak bumi yang menghasilkan tumpahan minyak (*oil spill*). Tumpahan minyak tersebut dapat menguap, tersapu air hujan, atau

masuk ke dalam tanah. Hal ini berhubungan langsung dengan kehidupan manusia ketika bersentuhan karena mencemari air dan tanah akibat terendap sebagai zat kimia beracun. Efek lain dari pencemaran oleh minyak bumi adalah terdegradasinya fungsi tanah dan menurunnya kestabilan tanah yang berujung pada lahan kritis (Sulistyono, Suntoro, & Masykuri, 2012).

Salah satu contoh kasus tumpahan minyak (*crude oil*) adalah pada Kilang Minyak Pusdiklat Migas (Cepu) yang terjadi pada saat *loading* dan *unloading* di tangki timbun (*storage tank*), pembersihan tangki timbun (*tank cleaning*), pada proses di separator dan pompa *feed* maupun pompa produk. Menurut Pusdiklat Minyak pada tahun 2011 minyak yang hilang (*losses*) karena menguap, tumpah maupun tercecer selama proses produksi rata-rata 0,4% atau 108,38 barrel per bulan atau 17.232,42 liter per bulan. Diasumsikan dari jumlah tersebut jumlah minyak yang menguap sebanyak 70%, maka jumlah minyak yang tumpah dan tercecer di sekitar kilang sebanyak 5.169,73 liter per bulan atau rata-rata sebanyak 62.036 liter per tahun.

Salah satu kontaminan toksik yang paling sukar diurai dari tumpahan minyak bumi adalah hidrokarbon. Senyawa ini berdampak buruk bagi manusia dan lingkungan. Hidrokarbon terdiri atas karbon dan hidrogen dan terdapat pada minyak

bumi dan turunannya. Senyawa ini sering dimanfaatkan manusia dan berpotensi mencemari lingkungan (Notodarmojo, 2005). Pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang hidup di dalam tanah akan terganggu karena keberadaan kontaminan tersebut. Hal ini menyebabkan perlunya penanganan khusus untuk menjaga kualitas dan daya dukung lingkungan (Alexander, 1999).

Upaya pemulihan lahan tercemar minyak bumi perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran pada penyerapan minyak ke dalam tanah. Metode alternatif yang dapat digunakan secara efektif dan efisien adalah fitoremediasi. Fitoremediasi adalah teknologi pemanfaatan tanaman sebagai penghilang polutan berbahaya, seperti logam berat, pestisida, dan senyawa organik (Priyanto & Prayitno, 2007). Metode ini mempunyai keunggulan yaitu sederhana, efisien, hemat biaya, murah, dan ramah lingkungan sehingga sangat berkembang pesat (Schnoor & McCutcheon, 2003).

Tanaman yang dapat bertahan pada konsentrasi pencemaran yang tinggi dan tidak untuk dikonsumsi adalah salah satu karakteristik tanaman fitoremedian yang baik (Chaudhry, Hayes, Khan, & Khoo 1998). Beberapa tahun terakhir para peneliti merekomendasikan tanaman Rami (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud) sebagai tanaman fitoremedian (Hindersah, Nurbait, & Nursyamsi, 2015). Rami termasuk jenis

tanaman tahunan berumpun yang menghasilkan serat dari kulit kayunya serta relatif mudah dibudidayakan. Batang tanaman rami tinggi ramping hingga mencapai ketinggian antara 200-250 cm (Defirman, 2016). Selain itu, tanaman rami memiliki biomassa yang tinggi dan beradaptasi dengan baik pada kondisi pertumbuhan yang tidak menguntungkan seperti kekeringan, tanah yang tidak subur, penyakit, dan hama serangga (Wei *et al.*, 2011). Tanaman rami secara dominan ditemukan dan telah banyak didokumentasikan pada berbagai tempat penambangan logam, serta dapat mengakumulasi logam Sb, Cd, dan Hg dengan tinggi.

Kadar *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)* yang terkandung pada minyak bumi dapat menurunkan jumlah populasi sebagian mikroba pada tanah yang tercemar (Saadoun, Mohammad, Hameed, & Shawaqfah, 2008). TPH mempunyai karakteristik yang sukar larut antara air dan minyak sehingga diperlukan senyawa yang dapat meningkatkan efisiensi degradasi hidrokarbon yaitu biosurfaktan. Senyawa ini dapat mengemulsi kelarutan minyak dalam air sehingga luas permukaan antara minyak dengan air semakin besar. Jumlah persentase TPH dapat menurun karena terjadi metabolisme mikroorganisme untuk mendegradasi hidrokarbon (Abouseoud, Maachi, Amrane, Bouderguia, & Nabi, 2008).

Pada penelitian ini dilakukan pengaplikasian inokulan *Azotobacter vinelandii* dan *Azospirillum* sp. sebagai penghasil biosurfaktan dan biofertilizer yang dapat menyediakan unsur hara dan fitohormon bagi tanaman rami dan merangsang pertumbuhan populasi bakteri petrofilik indigenous.

Penambahan kompos rami dilakukan sebagai *bulking agent*. *Bulking agent* tersebut berfungsi sebagai pengatur porositas, kelembaban, dan sumber nutrisi (Larasati & Mulyana, 2013). Berdasarkan latar belakang di atas, pemanfaatan inokulan *Azotobacter vinelandii*, *Azospirillum* sp., dan kompos rami dalam fitoremediasi tanah tercemar minyak bumi perlu dikaji lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan terhadap efisiensi degradasi hidrokarbon, populasi *Azospirillum* sp. serta diameter batang tanaman rami.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah dan Laboratorium Kesuburan Tanah dan Nutrisi Tanaman Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, serta Rumah Kaca Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Kecamatan Jatinangor Kabupaten Sumedang Jawa Barat dengan ketinggian 822 mdpl. Penelitian dilakukan mulai bulan November 2017 sampai dengan Februari 2018.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: peralatan untuk analisis kimia, peralatan untuk analisis TPC (petridish, pipet ukur, dan tabung reaksi), peralatan untuk analisis TPH (botol kocok, botol vial, alumunium foil, kertas filter, dan *rotary shaker*), jangka sorong untuk mengukur diameter batang rami, peralatan untuk analisis parameter penunjang (pH meter, thermometer, *soil moisture tester*, dan fluks meter), *laminar air flow*, *autoclave*, *incubator*, ose, spatula, kertas label, gelas ukur, cangkul, timbangan, selang, sprayer, pisau, penggaris, emrat, sekop, sendok tembok, dan *polybag* kapasitas 5 kg.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: tanah Inceptisol Jatinangor; minyak bumi yang berasal dari Pertamina Balongan-Indramayu; tanaman rami klon Lembang yang berasal dari Wonosobo Jawa Tengah yang diperbanyak menggunakan rimpang tanaman rami; inokulan mikroba *Azotobacter vinelandii*, *Azospirillum* sp., bakteri petrofilik *Pseudomonas cepacea*, fungi petrofilik *Aspergillus niger* yang merupakan koleksi Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran; media biakan isolasi mikroba indigenus yaitu Ashby, PDA, TSA, Okon, dan NA; kompos dari tanaman rami; pupuk dasar N, P, K; bahan kimia untuk penghitungan TPH yaitu n-heksan.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan menggunakan dua faktor untuk mengetahui interaksi antara dua faktor. Faktor *pertama* pada penelitian ini adalah pemberian inokulan (*Azotobacter vinelandii*, *Azospirillum* sp., bakteri petrofilik *Pseudomonas cepacea*, fungi petrofilik *Aspergillus niger*) sebagai inokulan yang terdiri dari 6 taraf. Faktor *kedua* adalah pemberian kompos tanaman rami sebagai *bulking agent* yang terdiri dari 4 taraf. Jumlah kombinasi perlakuan pada penelitian ini sebanyak $6 \times 4 = 24$ dengan kombinasi ulangan perlakuan sebanyak 3 ulangan sehingga didapat seluruh total satuan percobaan sebanyak 72 satuan percobaan. Perhitungan total populasi *Azospirillum* sp. dengan metode *total plate count* (TPC), dan pengukuran kadar TPH dengan metode gravimetri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor jenis inokulan dan dosis kompos tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi, tetapi salah satu faktor yaitu dosis kompos rami menunjukkan adanya pengaruh mandiri terhadap laju degradasi hidrokarbon. Faktor jenis inokulan sendiri, tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap laju degradasi hidrokarbon. Nilai rata-rata laju degradasi hidrokarbon pada setiap taraf faktor perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Faktor jenis inokulan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai laju degradasi hidrokarbon minyak bumi disebabkan oleh faktor lingkungan yaitu kelembaban udara di dalam rumah kaca yang terlalu rendah dan pH tanah yang cenderung masam. Kelembaban rumah kaca dari awal penelitian hingga akhir cenderung mengalami naik dan turun pada kisaran 76,86% hingga 84,14% dengan rata-rata kelembaban 80,26%. Kelembaban udara optimal bagi tanaman rami berkisar 83-89% (Wulandari, 2015) sehingga kelembaban udara rumah kaca tersebut tidak sesuai untuk pertumbuhan tanaman rami.

Selama proses fitoremediasi, pH tanah menunjukkan tren penurunan sehingga pH pada T13 adalah kisaran 5,7-6,7. Umumnya kisaran pH optimum bagi pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5 dan proses biodegradasi hidrokarbon berlangsung optimal pada pH 6,5-8 (Chair, Goldsmith, & Evanylo, 2001). Kondisi lingkungan berupa pH dan kelembapan udara rumah kaca yang tidak optimal bagi pertumbuhan tanaman rami, mikroba, dan proses degradasi ini menyebabkan laju degradasi hidrokarbon yang tidak maksimal dan tidak berpengaruh nyata.

Pemberian kompos rami sebagai faktor perlakuan dalam penelitian ini memberi pengaruh mandiri terhadap nilai laju degradasi hidrokarbon. Taraf perlakuan kompos rami 7,5% (w/w) (b_3)

Tabel 1
Pengaruh Jenis Inokulan dan Dosis Kompos terhadap Laju Degradasi Hidrokarbon Minyak Bumi pada T_{13} (H_9)

Perlakuan	Laju Degradasi Hidrokarbon (%/minggu)
Jenis Inokulan (A)	
a_0 = Kontrol	0,16
a_1 = <i>Azotobacter vinelandii</i>	0,16
a_2 = <i>Azospirillum</i> sp.	0,17
a_3 = <i>Pseudomonas cepaceae</i>	0,17
a_4 = <i>Aspergillus niger</i>	0,17
a_5 = Konsorsium	0,14
Kompos Rami (B)	
b_0 = Kontrol)	0,16 ab
b_1 = 2,5% (w/w)	0,16 ab
b_2 = 5% (w/w)	0,15 a
b_3 = 7,5% (w/w)	0,18 b

Keterangan: Angka yang tidak diikuti notasi huruf menandakan faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap respons berdasarkan analisis ragam pada taraf nyata 5%. Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama menandakan taraf-taraf faktor perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf nyata 5%.

berpengaruh paling tinggi dibanding taraf perlakuan lainnya yaitu 5% (w/w) (b_2). Hal ini disebabkan oleh fungsi kompos rami yang berperan baik sebagai *bulking agent*. *Bulking agent* meningkatkan degradability tanah karena bahan organik yang terkandung di dalamnya, selain itu juga berfungsi untuk mengatur porositas, kelembapan dan sumber nutrisi (Anderson, 1995). Porositas tanah sangat berpengaruh terhadap laju degradasi hidrokarbon karena air akan lebih mudah diserap oleh tanah sehingga kontaminan hidrokarbon lebih mudah terurai.

Kadar N-total pada kompos rami yang tinggi yaitu 1,06% juga berpengaruh

pada proses biodegradasi. Nutrisi adalah salah satu komponen yang berpengaruh pada pertumbuhan sel dan aktivitas enzim mikroba dalam proses biodegradasi. Nitrogen dibutuhkan oleh mikroba sebagai penyusun senyawa-senyawa penting dalam selnya (Shewfelt, Lee, & Zytner, 2005). Kadar nitrogen yang melimpah pada kompos rami memungkinkan mikroba bekerja lebih baik dalam mendegradasi hidrokarbon dan meningkatkan laju degradasi.

Faktor jenis inokulan dan dosis kompos tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi, tetapi salah satu faktor yaitu dosis kompos rami menunjukkan adanya

pengaruh mandiri terhadap diameter batang tanaman rami. Faktor jenis inokulan sendiri, tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap diameter batang tanaman rami. Nilai rata-rata diameter batang tanaman rami pada setiap taraf faktor perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Pupuk anorganik tunggal N, P, dan K yang digunakan pada penelitian ini adalah $\frac{1}{2}$ dosis anjuran yang berfungsi untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Penggunaan inokulan selain dapat mendegradasi hidrokarbon, diharapkan juga dapat menyubtitusi kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan

tanaman salah satunya pertumbuhan batang rami. Ternyata faktor jenis inokulan tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan diameter batang rami. Hal ini disebabkan oleh mekanisme kompetisi antarmikroba yang diintroduksikan dan mikroba indigenus sehingga tidak dapat menghasilkan nutrisi yang optimal bagi pertumbuhan tanaman (Mohapatra, 2008). Dalam penelitian ini mikroba-mikroba di dalam tanah berkompetisi menggunakan karbon sebagai sumber nutrisi dan energinya. Bakteri penambat nitrogen seperti *Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp. harus

Tabel 2
Pengaruh Jenis Inokulan dan Dosis Kompos terhadap Diameter Batang Tanaman Rami pada $T_{13} (H_9)$

Perlakuan	Diameter Batang (mm)
Jenis Inokulan (A)	
a_0 = Kontrol	4,38
a_1 = <i>Azotobacter vinelandii</i>	4,41
a_2 = <i>Azospirillum</i> sp.	4,55
a_3 = <i>Pseudomonas cepaceae</i>	4,36
a_4 = <i>Aspergillus niger</i>	4,51
a_5 = Konsorsium	4,83
Kompos Rami (B)	
b_0 = Kontrol	4,37 a
b_1 = 2,5% (w/w)	4,82 b
b_2 = 5% (w/w)	4,27 a
b_3 = 7,5% (w/w)	4,57ab

Keterangan: Angka yang tidak diikuti notasi huruf menandakan faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap respons berdasarkan analisis ragam pada taraf nyata 5%. Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama menandakan taraf-taraf faktor perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf nyata 5%.

bersaing dengan mikroba lain seperti mikroba petrofilik indigenus untuk memperoleh karbon yang jumlahnya terbatas yaitu <1% pada T_{13} (H_{91}). Padahal mikroba memerlukan 50% unsur karbon untuk pembentukan biomassa selnya sehingga kerja mikroba untuk menyediakan unsur hara untuk tanaman terhambat dan lebih fokus untuk mendegradasi hidrokarbon di dalam tanah.

Pengaruh mandiri kompos rami terhadap diameter batang menunjukkan bahwa taraf faktor perlakuan b_1 yaitu kompos 2,5% (w/w) menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan taraf faktor perlakuan b_0 (tanpa kompos rami) dan b_2 (kompos 5% w/w). Rami adalah salah satu tanaman yang mempunyai sifat rakus akan hara karena mempunyai pertumbuhan vegetatif yang cepat. Tanaman ini tumbuh optimal pada tanah yang memiliki bahan organik tinggi (Mayerni, 2006).

Pada penelitian ini tanah yang tercemar oleh minyak bumi mengalami penambahan bahan organik yaitu *bulking agent* berupa kompos rami sehingga berpengaruh pada pertumbuhan tanaman rami. Namun, nilai rasio karbon (C)/nitrogen (N) pada kompos akan mempengaruhi ketersediaan unsur hara dalam tanah. Novizan (2005) menyatakan bahwa kompos yang baik adalah yang mengandung C/N rasio 12-15, sedangkan rasio C/N yang terkandung

pada kompos rami tergolong rendah yaitu 8,17. Mikroorganisme membutuhkan unsur karbon (C) dan nitrogen (N) untuk pertumbuhan dan penyusun struktur sel. Apabila rasio C/N terlalu rendah, hal ini akan meningkatkan emisi dari nitrogen. Kelebihan nitrogen yang tidak dipakai oleh mikroorganisme tidak dapat diasimilasi dan akan hilang melalui volatisasi sebagai amoniak ke atmosfer atau terdenitrifikasi (Djuarnani, 2005; Shewfelt *et al.*, 2005). Hal ini dapat menekan perkembangbiakan mikroba dan kurangnya unsur hara nitrogen dalam tanah. Oleh karena itu, faktor perlakuan b_1 yaitu kompos 2,5% (w/w) lebih berpengaruh nyata dan optimal bagi pertumbuhan diameter batang rami dibanding perlakuan dosis kompos lain.

Faktor jenis inokulan dan dosis kompos tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi maupun pengaruh mandiri terhadap total populasi *Azospirillum* sp. Hal ini dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain mekanisme antagonisme antarmikroba dan keadaan pH tanah yang tidak mendukung bagi pertumbuhan mikroba (Tabel 3).

Mekanisme antagonisme terjadi pada perlakuan konsorsium (A_5). Hal ini disebabkan kompetisi mikroba untuk memperoleh nutrisi seperti C, N, dan P yang jumlahnya terbatas (Singh & Dwivedi, 2004). Pada perlakuan penambahan inokulan bakteri dan jamur petrofilik berupa *Pseudomonas*

Tabel 3
Pengaruh Jenis Inokulan dan Dosis Kompos terhadap Total Populasi Azospirillum sp. pada T₁₃ (H₉)

Perlakuan	Populasi <i>Azospirillum</i> sp. (cfu g ⁻¹)
Jenis Inokulan (A)	
a ₀ = Kontrol	165000
a ₁ = <i>Azotobacter vinelandii</i>	216670
a ₂ = <i>Azospirillum</i> sp.	185000
a ₃ = <i>Pseudomonas cepaceae</i>	180000
a ₄ = <i>Aspergillus niger</i>	171670
a ₅ = Konsorsium	206670
Kompos Rami (B)	
b ₀ = Kontrol)	167780
b ₁ = 2,5% (w/w)	182220
b ₂ = 5% (w/w)	188890
b ₃ = 7,5% (w/w)	211110

Keterangan: Angka yang tidak diikuti notasi huruf menandakan faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap respons berdasarkan analisis ragam pada taraf nyata 5%.

cepaceae (A₃) dan *Aspergilus niger* (A₄) terdapat kompetisi dalam memperoleh substrat karbon. Terutama pada akhir penelitian ini (T₁₃) kadar *total petroleum hidrokarbon* (TPH) sudah sangat sedikit <1%. Kemungkinan lain yang terjadi adalah, terdapat senyawa toksik yang resisten dari hidrokarbon salah satunya adalah Dibenzotiofen. Dibenzotiofen termasuk salah satu senyawa PAH yang memiliki 3 cincin benzena yang sangat hidrofobik sehingga sangat sulit diurai oleh mikroba (Cerniglia, 1992). Hal ini menyebabkan perlakuan tersebut tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap total populasi *Azospirillum* sp.

Hal lain yang berpengaruh adalah kondisi tanah pada penelitian ini. Pada T₀ (0-14 HSP) seiring dengan penambahan *crude oil*, *bulking agent*, dan inokulan pH tanah berkisar 7-7,5. Sebaliknya pada T₁₃ nilai pH tanah mengalami penurunan dari nilai pH pada T₀ yaitu kisaran 5,7-6,7 dengan rata-rata pH tanah adalah 6,19. Kisaran pH yang optimal untuk pertumbuhan bakteri yaitu 6,5-7,5 (Pelczar & Chan, 2005). Hal ini dapat dijadikan faktor lain jenis inokulan tidak berpengaruh nyata terhadap total populasi *Azospirillum* sp. karena lingkungan yang tidak optimal bagi pertumbuhan bakteri.

Faktor dosis kompos rami juga tidak berpengaruh nyata terhadap total populasi

Azospirillum sp. Hal ini disebabkan oleh bahan baku kompos yaitu tanaman rami. Ekstrak air yang dihasilkan oleh daun rami terbukti berfungsi sebagai antimikroba (Chang, Huang, Yuan, Lai, & Hung, 2010). Selain itu, batang tanaman rami memiliki ketahanan yang baik terhadap mikroba dan jamur (Novarini & Sukarda, 2015). Hal ini menyebabkan kompos yang terbuat dari tanaman rami menekan pertumbuhan mikroba, salah satunya *Azospirillum* sp.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa faktor perlakuan jenis inokulan dan dosis kompos pada fitoremediasi tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi terhadap laju degradasi hidrokarbon, total populasi *Azospirillum* sp., dan diameter batang tanaman rami. Terjadi pengaruh mandiri faktor perlakuan dosis kompos terhadap laju degradasi hidrokarbon dan diameter batang tanaman rami. Pengaruh mandiri dosis kompos rami memberikan hasil terbaik pada dosis 2,5% (w/w) terhadap peningkatan diameter batang tanaman rami.

DAFTAR PUSTAKA

- Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Bouderguia, S., & Nabi, A. (2008). Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Desalination*, 223(1-3), 143-151.
- Alexander, M. (1999). *Biodegradation and bioremediation* (2nd ed.). Oxford: Gulf Professional Publishing.
- Anderson, W. C. (1995). *Innovative remediation technology (Bioremediation)*. USA: Water Environment Federation.
- BPstats. (2015). *BP statistical review of world energy* (64th ed.). Diunduh dari <https://biomasspower.gov.in/document/Reports/BP%20statistical%20review-2015.pdf>.
- Brown, S. L., Chaney, R. L., Angle, J. S., & Baker, A. J. M. (1995). Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal*, 59(1), 125-133.
- Cerniglia, C. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3(2-3), 351-368.
- Chair, J. T. N., Goldsmith, C. D., & Evanylo, G. (2001). *Enhanced biodegradation in landfills* (Thesis tidak diterbitkan). Master of Science Virginia Polytechnic and State University, Virginia.
- Chang, J. M., Huang, K. L., Yuan T. T. T., Lai, Y. K., & Hung, L. M. (2010). The anti-hepatitis B virus activity of *boehmeria nivea* extract in HBV-viremia SCID mice. *eCAM*, 7(2), 189-195.
- Chaudhry, T. M., Hayes, W. J., Khan, A. G., & Khoo, C. S. (1998). Phytoremediation—Focusing on accumulator plants that remediate metal contaminated soils. *Australasian J. of Ecotoxicology*, 4, 37-51.
- Defirman. (2016). *Respon tanaman rami (*Boehmeria nivea* L.Gaud) terhadap pemberian beberapa dosis fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada ultisol* (Skripsi tidak diterbitkan). Universitas Andalas, Padang.
- Djuarnani, N. (2005). *Cara cepat membuat kompos*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

- Hindersah, R., Nurbaiti, A., & Nursyamsi, D. (2015). Role of nitrogen fertilizer on cadmium uptake by ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) grown on cadmium contaminated soil. *Agrikultura*, 26(1), 49-54.
- Larasati, T. R. D., & Mulyana, N. (2013). Bioremediasi lahan tercemar limbah lumpur minyak menggunakan campuran bulking agents yang diperkaya konsorsia mikroba berbasis kompos iradiasi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 9(2), 139-150.
- Mayerni, R. (2006). *Prospek dan peluang tanaman rami di Indonesia*. Padang: Universitas Andalas Press.
- Mohapatra, P. K. (2008). *Textbook of environmental microbiology*. New Delhi: I. K. International Publishing House Pvt. Ltd.
- Notodarmojo, S. (2005). *Pencemaran tanah dan air tanah*. Bandung: Penerbit ITB.
- Novarini, E., & Sukardan, M. D. (2015). Potensi serat rami (*boehmeria nivea* s. *gaud*) sebagai bahan baku industri tekstil dan produk tekstil dan teknologi. *Arena Tekstil*, 30(2).
- Novizan. (2005). *Petunjuk pemupukan yang efektif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Nuryatini, & Wiloso, E. I. (2012). Uji metode analisis minyak terdispersi dalam air. *Teknologi Indonesia*, 33(1).
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2005). *Dasar-dasar mikrobiologi* (Jilid 2). Jakarta: UI Press.
- Priyanto, B., & Prayitno, J. (2007). *Fitoremediasi sebagai sebuah teknologi pemulihan pencemaran, khususnya logam berat*. Diunduh dari <http://ltl.bppr.tripod.com/sublab/lflora1.htm>.
- Saadoun, I., Mohammad, M. J., Hameed, K. M., & Shawaqfah, M. (2008). Microbial populations of crude oil spill polluted soils at the Jordan-Iraq desert (The Badia region). *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 453-456.
- Schnoor, J. L., & McCutcheon, S. (2003). *Phytoremediation transformation and control of contaminants*. USA: Wiley-Interscience Inc.
- Shewfelt, K., Lee, H., & Zytner, R. G. (2005). Optimization of nitrogen for bioventing of gasoline contaminated soil. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 4(1), 29-42.
- Singh, D. P., & Dwivedi, S. K. (2004). *Environmental microbiology and biotechnology*. New Delhi: New Age International Ltd., Publishers.
- Sulistyo, Suntoro, & Masykuri, M. (2012). Kajian dampak tumpahan minyak dari kegiatan operasi kilang minyak terhadap kualitas air dan tanah (Studi Kasus Kilang Minyak Pusdiklat Migas Cepu). *Ekosains*, 4(2), 23-34.
- Wei, S., Yu-Cheng, J., Hu-Cheng, X., Yan-Wei, L., Huang, M., Wan-Li, K., & Dong, W. (2011). Tolerance to cadmium in ramie (*Boehmeria nivea*) genotypes and its evaluation indicators. *Acta Agronomica Sinica*, 37(2), 348-353.
- Wulandari, A. P. (2015). *Rami: Prospekti serat dan limbah*. Bandung: Unpad Press.

ELECTRICITY PRODUCTION FROM FOOD WASTE LEACHATE USING DOUBLE CHAMBER MICROBIAL FUEL CELL

Willie Prasidha¹ and Akmal Irfan Majid^{1,2}

¹Faculty of Engineering Universitas Gadjah Mada

²Center for Energy Studies Universitas Gadjah Mada

Bulaksumur Caturtunggal Depok Sleman DIY 55281

email: willie.p@ugm.ac.id

Abstract

This study was aimed at evaluating the performance of non-aerated and aerated double chamber microbial fuel cells from food waste leachate. The value of open circuit voltage (OCV) and close circuit voltage (CCV) were taken to analyze power density and current density of both configurations. Two double chamber microbial fuel cells (MFC) with different configurations were developed to produce electricity from food waste leachate and studied for 30 days. Anode and catode were made by uncoated carbon felt and graphite rod. Food waste and water were incubated inside a reactor. After 30 days, the electricity production characteristics between the two configurations were obtained. Both configurations reached the same maximum power density and maximum current density but the aerated MFC showed higher performance of maximum open-circuit voltage (OCV), average power density, and current density than non-aerated MFC. The results show that the supplying continuous dissolved air in the cathode chamber resulted in higher voltage, higher average power density, and higher average current density in double chamber microbial fuel cell.

Keywords: *electricity production, microbial fuel cell, food waste leachate*

INTRODUCTION

Food wastes are the largest component in municipal waste of urban area (Levis & Barlaz, 2011) and it has the potential to produce energy. Most food wastes, generated from communities, restaurants and food factories, and end up in the landfill without any sustainable treatment. In fact, food waste can be used as a useful source of energy (Li, Cheng, Selvam, & Wong, 2013). Nevertheless, the waste characteristics influence the selection of technology and waste management including how to convert the waste into a valuable form of energy (Sudibyo *et al.*, 2017). Considering

Indonesia as the developing country and the 4th most populous country in the world, understanding of a proper technology to manage the food wastes is essentially needed.

One type of food wastes is in liquid form, often called as the leachate. It is addressed by a complex structure and high pollutant (Levis & Barlaz, 2011). Food leachate is formed from the hydrolysis or acidogenic stage of the anaerobic process of microorganisms that are rich of volatile fatty acids (Xu, Lam, Karthikeyan, & Wong, 2011). Moreover, leachate can be obtained from food waste that contains many organic elements (Kang, Shin, &

Park, 2002) such as NH_4^+ -N, heavy metals, organic and inorganic chlorine, salt, etc. Heavy pollutants from leachate can also contaminate water sources (Rikame, Mungray, & Mungray, 2012). It adversely affects the health of the ecosystem.

A microbial fuel cell (MFC) is a bioelectrochemical system that can convert chemical energy to electrical energy contained in an organic substrate directly (Li, Ka, & Wong, 2013) and it can be used as a solution to treat leachate food waste. MFC is one of the electrochemical technology to treat leachate and can produce clean energy (Rikame *et al.*, 2012). It is effective to generate energy and decreases organic matter in leachate (Choi & Ahn, 2015). There are two sides of the MFC, i.e. the anaerobic anode and the aerobic cathode, separated by an electrolyte membrane. In common principle of MFC, microbes play an important role as the oxidizing agent from the substrate in the anode side. Microbes oxidize the substrate which produces proton and electron. Here, electron is produced from microorganisms in the anode side which is then passed into the cathode through an external circuit. After that, an electrical energy is resulted and finally water is produced as the waste product. Since the waste product is harmless, MFC is an environmentally friendly method to produce power and a viable alternative for leachate treatment.

In principle, food waste leachate can be used as a substrate to produce electricity using MFC. One of the food waste products is acidic food waste leachate. Using aerated double chamber MFC, it could produce more electricity than using non-aerated one from acidogenic food waste leachate (Rikame *et al.*, 2012). It was also reported by Greenman, Galvez, Giusti, and Ieropoulos (2009) that aerated MFC could produce more electricity than non-aerated MFC by using landfill leachate substrate. Even, MFC was not only producing electricity, but also could neutralize the acidity (pH number) of the substrate from acidic to alkaline conditions (pH 4-9) according to Li *et al.* (2013).

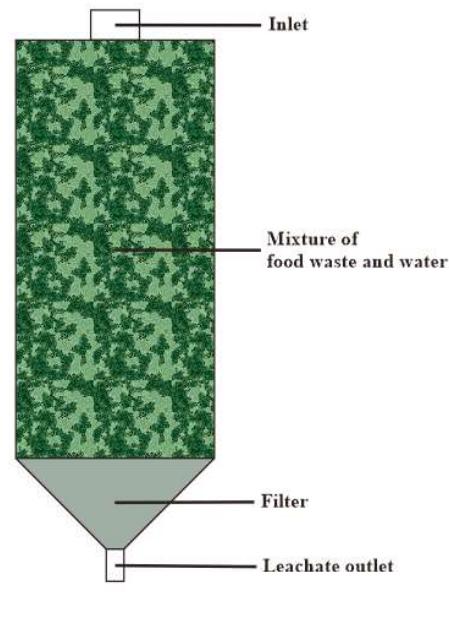
The objective of this study was to evaluate the performance of non-aerated and aerated double chamber microbial fuel cells from food waste leachate. The value of open circuit voltage (OCV) and close circuit voltage (CCV) were taken to analyze power density and current density of both configurations.

RESEARCH METHOD

The food waste that containing fruit and vegetable wastes was collected and incubated inside an anaerobic reactor, illustrated in Figure 1.

The reactor had a single inlet on the top to insert food waste and water and single outlet in the bottom to collect the leachate.

Figure 1. Reactor for The Production of Food Waste Leachate



A filter was located in the reactor bottom (prior to the outlet) to result pure leachate. The food waste was submerged in the water for more than 30 days inside the reactor to produce proper leachate. After that, leachate was collected from the reactor outlet.

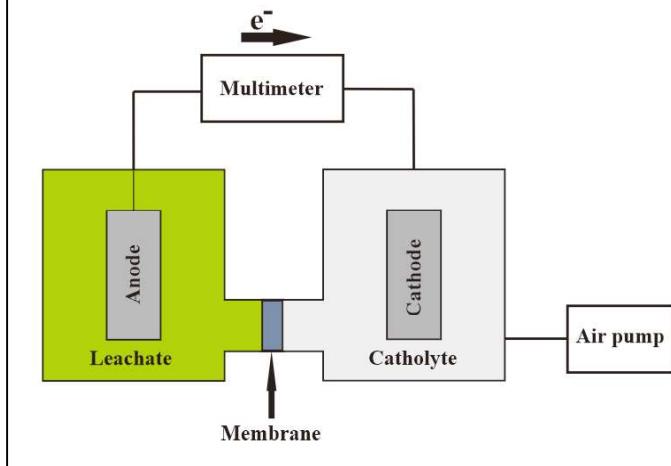
The two laboratory-scale double chamber MFC were used in this study. Those chambers were designed with capacity of 500 ml working volume in each compartment and separated by a proton exchange membrane (PEM) of Nafion 212. The anode and cathode were constructed from rectangular carbon felt (5 cm x 5 cm x 3 mm) and 4 graphite rods (diameter = 10 mm, length = 5 cm) respectively. The effective

area of the anode and cathode were 56 cm² and 69 cm² respectively. The electrodes were uncoated with any catalyst, thus cost of this MFC configuration was cheaper than the MFC with the coated electrode. The electrodes were submerged into the anode and cathode chambers.

Those devices were operated in 2 configurations: non-aerated and aerated. For both configurations, the electrodes were connected by a copper wire. A 100 Ω of external resistance was used in the closed-circuit for CCV recording whereas for OCV recording, anode and cathode were not connected. The air pump was used to supply the dissolved air which contained oxygen in the cathode chamber (for the aerated MFC). The configuration of the aerated MFC is shown in Figure 2.

For both configurations, the anode chamber was fed with 500 ml food waste leachate (as an anolyte) with pH of 7.1 and maintained to be in anaerobic condition. A 2 g/L of sodium acetate (CH₃COONa) solution was added into 500 ml of catholyte in the cathode chamber and maintained to be in aerobic condition. Those microbial fuel cells were operated within 30 days. Results of OCV and CCV were recorded in every 24 hours. A digital multimeter was used to record OCV and CCV with 100 Ω resistance. The electrical current (I) was calculated using Ohm's law of $I = V/R$, where the voltage was

Figure 2. Schematic of Aerated Double Chamber Microbial Fuel Cell



obtained from CCV and resistance of $100\ \Omega$. The power (P) in mW, was calculated as $P = V \times I$ and also power density (in mW/m^2) and current density (in mA/m^2) were calculated by dividing the obtained power and current by the surface area of the anode.

RESULTS AND DISCUSSION

The electricity from food waste leachate was resulted during the experimental period. The configurations were operated continuously for 30 days at open and closed circuit conditions. During the operation, the leachate condition was neutral.

Figure 3 shows OCV of both MFC configurations during the experiment. Close observation of the figure indicates that the maximum OCV (under no-load condition) is obtained at the 1st day (24 hours after starting) of operation with 373 mV for non-aerated

MFC. For aerated MFC, the maximum OCV was 404 mV, obtained at the 7th day. It is also presented that the maximum microbial growth occurs at the 1st day for non-aerated MFC and the 7th day for aerated MFC. After the OCV reached maximum voltage at the 1st day, the performance declines to be -157 mV at the 25th day for non-aerated MFC. This phenomenon also points out the decrease of nutrient concentration in the feed. The negative phase starts to develop from the 20th day and also shows the indication that the bacteria start to collapse (die) due to the exhaustion of nutrients. Conversely, the aerated MFC shows a slight decrease of OCV during the operation. The minimum OCV of aerated MFC was 146 mV.

Figure 4 presents that non-aerated MFC and aerated MFC have the same maximum current density of $21.4\ \text{mA/m}^2$ but it happens

Figure 3. Open Circuit Voltage of MFCs during Operation

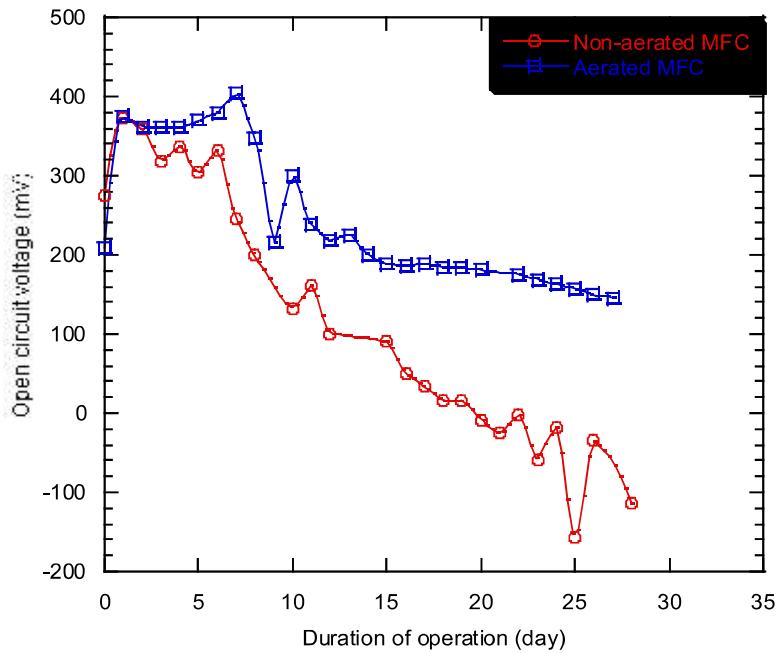
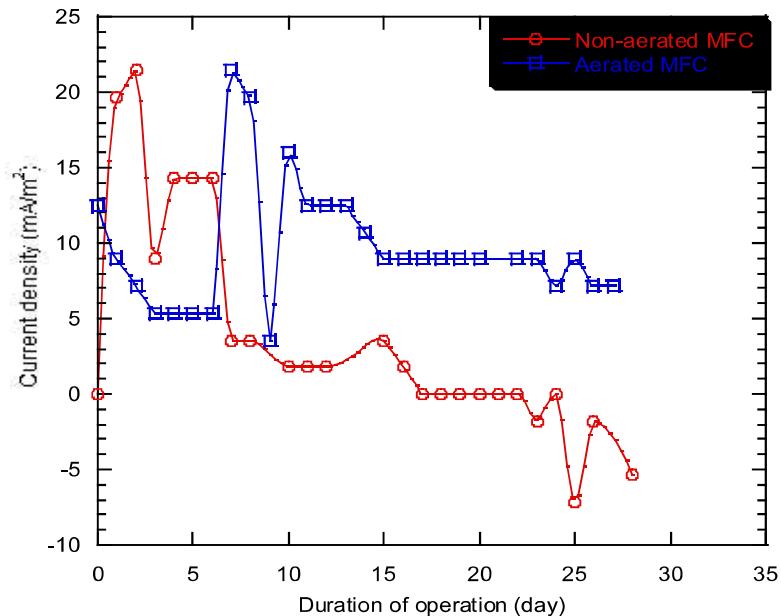


Figure 4. The Current Density of MFCs during Operation

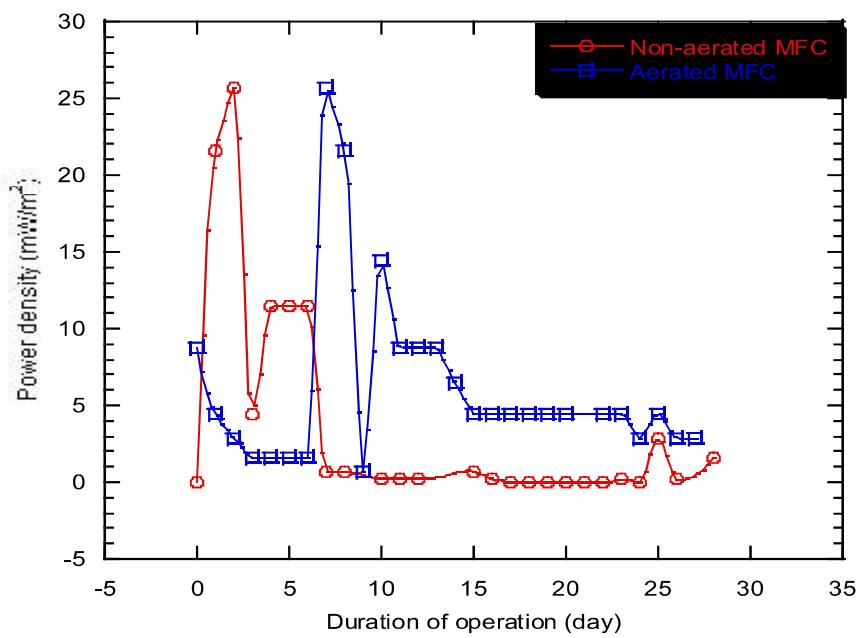


in different period. It can be stated that both configurations have different characteristics of the current density curve. It is observed from the figure that the maximum current density of non-aerated MFC is obtained on 1st day of operation while for the aerated MFC, the maximum current density was obtained on the 7th day. Aerated MFC has a more stable current density than non-aerated MFC, indicated by a larger area under the curve that showed in Figure 4. The minimum current density of non-aerated MFC and aerated MFC are -5.3 mA and 7.1 mA respectively. For the non-aerated MFC, negative current density is achieved from the 23th day of operation. Hence, it indicates that the bacteria start to collapse (die) in the

anode chamber while the negative phase of current density was not obtained in the aerated MFC.

As shown in Figure 5, both of configurations have the same peak of power density that occur in the 2nd day of operation for non-aerated MFC and the 7th day for aerated MFC with value of 25.7 mW/m². From the viewpoint of average power density, aerated MFC has higher power density than non-aerated MFC where the average power density of non-aerated MFC and aerated MFC are 3.7 mW/m² and 6.1 mW/m² respectively. When continuous dissolved oxygen was supplied at the cathode chamber of aerated MFC, the oxygen played an essential role as the

Figure 5. The Power Density of MFCs during Operation



electron acceptor to improve the production of voltage and power density by promoting the electron and proton transfer rates. In addition, a more electron acceptors in the cathode chamber of aerated MFC was also obtained rather than in the cathode chamber of non-aerated MFC. Those above mentioned reasons led the production capacity of aerated MFC to be greater than non-aerated MFC. Besides, performing a good aeration system contributes to provide a sufficient dissolved oxygen supply for the microorganisms (Majid *et al.*, 2016) even by controlling the oxygen-bubble size (Juwana *et al.*, 2018; Majid *et al.*, 2018).

CONCLUSION

An experimental study to investigate the electricity generation from food waste leachate (fruit waste and vegetable waste) was obtained under two configurations of double chamber microbial fuel cell. As a result, the aerated MFC showed higher performance of maximum OCV and average power density than non-aerated MFC. This study also proved that supplying dissolved air (oxygen) in the cathode chamber was able to increase the energy output of the double chamber microbial fuel cell.

REFERENCES

- Choi, J., & Ahn, Y. (2015). Enhanced bioelectricity harvesting in microbial fuel cells treating food waste leachate produced from biohydrogen fermentation. *Bioresource Technology*, 183, 53-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.109>.
- Greenman, J., Galvez, A., Giusti, L., & Ieropoulos, I. (2009). Electricity from landfill leachate using microbial fuel cells: Comparison with a biological aerated filter. *Enzyme and Microbial Technology*, 44(2), 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.09.012>.
- Kang, K., Shin, H., & Park, H. (2002). Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Research* 36, 4023-4032. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00114-8).
- Levis, J. W., & Barlaz, M. A. (2011). What is the most environmentally beneficial way to treat commercial food waste? *Environmental Science & Technology*, 45(17), 7438-7444. <https://doi.org/10.1021/es103556m>.
- Li, X. M., Cheng, K. Y., Selvam, A., & Wong, J. W. C. (2013). Bioelectricity production from acidic food waste leachate using microbial fuel cells: Effect of microbial inocula. *Process Biochemistry*, 48(2), 283-288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.10.001>.
- Li, X. M., Ka, Y. C., & Wong, J. W. C. (2013). Bioelectricity production from food waste leachate using microbial fuel cells: Effect of NaCl and pH. *Bioresource Technology* 149, 452-458. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.037>.
- Juwana, W. E., Widyatama, A., Majid, A. I., Wiratni, Indarto, & Deendarlianto. (2018). The application of digital image analysis to study the characteristic of bubble size distribution produced by orifice type microbubble generator. *AIP Conference Proceeding*, 2001, 050004. <https://doi.org/10.1063/1.5049995>.

- Majid, A. I., Nugroho, F. M., Juwana, W. E., Budhijanto, W., Deendarlianto, & Indarto. (2018). On the performance of venturi-porous pipe microbubble generator with inlet angle of 20° and outlet angle of 12°. Dalam *AIP Conference Proceeding 2001*, 050009. <https://doi.org/10.1063/1.5050000>.
- Majid, A. I., Aan, D., Wiratni, I., Brata, E. D., Purwono, B. A., & Tontowi, A. E. (2016, Mei). Development of an industrial-scale micro-bubble generator for the purposes of aerobic wastewater treatment. Makalah dipresentasikan dalam *The International Conference on Multiphase Flow*. Firenze, Italy. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2618.5203>.
- Rikame, S. S., Mungray, A. A., & Mungray, A. K. (2012). Electricity generation from acidogenic food waste leachate using dual chamber mediator less microbial fuel cell. *International Biodeterioration & Biodegradation* 75, 131-137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.09.006>.
- Sudibyo, H., Majid, A. I., Pradana, Y. S., Wiratni B., Deendarlianto, & Budiman, A. (2017). Technological evaluation of municipal solid waste management system in Indonesia. *Energy Procedia*, 105, 263-269. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.312>.
- Xu, S. Y., Lam, H. P., Karthikeyan, O. P., & Wong, J. W. (2011). Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: effect of pH and bulking agent. *Bioresource Technology*, 102(4), 3702-3708. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.095>.

BERITA PENGIRIMAN UANG LANGGANAN JURNAL PENELITIAN SAINTEK

Dengan ini saya kirimkan uang sebesar Rp. (.....) untuk berlangganan / pembelian Jurnal Penelitian Saintek edisi

Uang tersebut telah saya kirimkan melalui:

Bank

Nomor Rekening:

a.n.

.....
(.....)

FORMULIR BERLANGGANAN JURNAL PENELITIAN SAINTEK

Mohon dicatat sebagai pelanggan Jurnal Penelitian Santek

Nama :

Status : Lembaga / Perorangan (coret yang tidak diperlukan)*)

Alamat : (kode pos)

Mulai Edisi :

.....
(.....)

***) Biaya Langganan**

Rp/tahun (2 edisi), ditambah ongkos kirim.

****) Ongkos kirim**

Wilayah Jawa : Rp/eksemplar

Wilayah luar Jawa : Rp/eksemplar

Wilayah Papua, Sulawesi, NTT, NTB : Rp/eksemplar

Terhitung mulai terbitan Edisi, penulis yang artikelnya dimuat, dimohon untuk memberikan kontribusi biaya cetak, biaya berlangganan, dan biaya pengiriman selama 1 tahun (2 edisi) sebesar Rp. (..... Rupiah).

KETENTUAN NASKAH JURNAL PENELITIAN SAINTEK (JPS)

1. Naskah merupakan artikel asli yang berkaitan dengan pengembangan ilmu pengetahuan alam dan teknologi berdasar hasil penelitian yang belum pernah diterbitkan baik di dalam maupun di luar negeri. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia dengan jarak 1,5 spasi; sepanjang 10-15 halaman A4. Naskah dikirim atau diserahkan ke sekretariat JURNAL PENELITIAN SAINTEK rangkap dua disertai *softcopy file*, dilengkapi biodata penulis dan alamat lengkap (kantor dan rumah). Naskah bias juga dikirim lewat email: saintek.lppmuny@gmail.com atau saintek@uny.ac.id.
2. Judul naskah menggambarkan isi pokok tulisan, ditulis secara ringkas, dan jelas
3. Nama Penulis disertai lembaga dan alamat lengkap
4. Abstrak dan kata kunci naskah diketik satu spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak ditulis dalam satu paragraph yang menggambarkan intisari dari permasalahan, metode, hasil, dan simpulan. Panjang abstrak maksimal 200 kata, sedangkan jumlah kata kunci 3-5 kata.
5. Pendahuluan meliputi uraian tentang latar belakang masalah, ruang lingkup penelitian, dan telaah pustaka yang terkait dengan permasalahan yang dikaji serta rumusan hipotesis (jika ada)
6. Metode Penelitian meliputi uraian rinci tentang bahan, alat yang digunakan, metode yang dipilih, teknik, dan cakupan penelitian.
7. Hasil dan Pembahasan merupakan uraian objektif tentang hasil-hasil penelitian dan pembahasannya.
8. Simpulan berisi temuan penelitian yang berupa jawaban atas pertanyaan penelitian.
9. Daftar Pustaka hanya memuat sumber-sumber yang dirujuk, dan semua sumber yang dirujuk harus tercantum dalam daftar pustaka. Perujukan dan pengutipan menggunakan teknik rujukan berkurung (nama pengarang, tahun). Sumber rujukan minimal 80% berupa pustaka terbitan 10 tahun terakhir. Rujukan yang digunakan adalah sumber-sumber primer berupa artikel-artikel penelitian dalam jurnal atau laporan penelitian (termasuk skripsi, tesis,disertasi). Daftar pustaka disusun berdasarkan abjad, dan disesuaikan dengan rincian berikut:

Artikel dalam jurnal atau majalah

Aswita, D., Sarong, M.A., & Sugianto.(2014). Evaluasi kesesuaian perairan Pantai Teupin Layeu Iboih sebagai ekowisata bahari. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20(1),1-9.
Suryaningsih, A. (2013, Desember 10). Tiga pilar pendidikan. *Sinar Harapan*, 4.

Artikel dalam jurnal online

Aswita, D., Sarong, M.A., & Sugianto.(2014). Evaluasi kesesuaian perairan Pantai Teupin Layeu Iboih sebagai ekowisata bahari. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20(1),1-9. Diunduh dari: <http://journal.uny.ac.id/index.php/saintek/article/view/5608>. (cantumkan DOI, jika ada).

Makalah

Wilujeng, I., Masruri, M. S., & Wangid, M. N. (2016, April). *Pengembangan subject specific pedagogy tematik untuk mengembangkan karakter siswa sekolah dasar*. Makalah dipresentasikan dalam Seminar Nasional Penelitian dan PPM untuk Mewujudkan Insan Unggul, Yogyakarta.

Buku

Brown, D. H. (2001). *Teaching by principles: An interactive approach to language pedagogy*. San Francisco: Addison Wesley Longman, Inc.
Winch, C. (2006). Graduate attributes and changing conceptions of learning. Dalam P. Hager & S. Holland, *Graduate attributes, learning and employability* (pp. 67-90). Dordrecht: Springer.

Skripsi/tesis/disertasi

- Kumara, P. (2011). *Optimization of performance and assessment of material cost of the refrigerator condenser* (Master's Thesis). KTH School of Industrial Engineering and Management, Stockholm.
10. Tabel diberi nomor urut dan judul yang ditulis di tepi kiri atas, tanpa garis-garis kolom vertikal dan horizontal
 11. Ilustrasi dapat berupa gambar, grafik, diagram, peta, foto diberi nomor urut dan judul ditaruh di atas gambar, dari kiri, dan diberi jarak 1 spasi (*at least 12*) dari gambar.