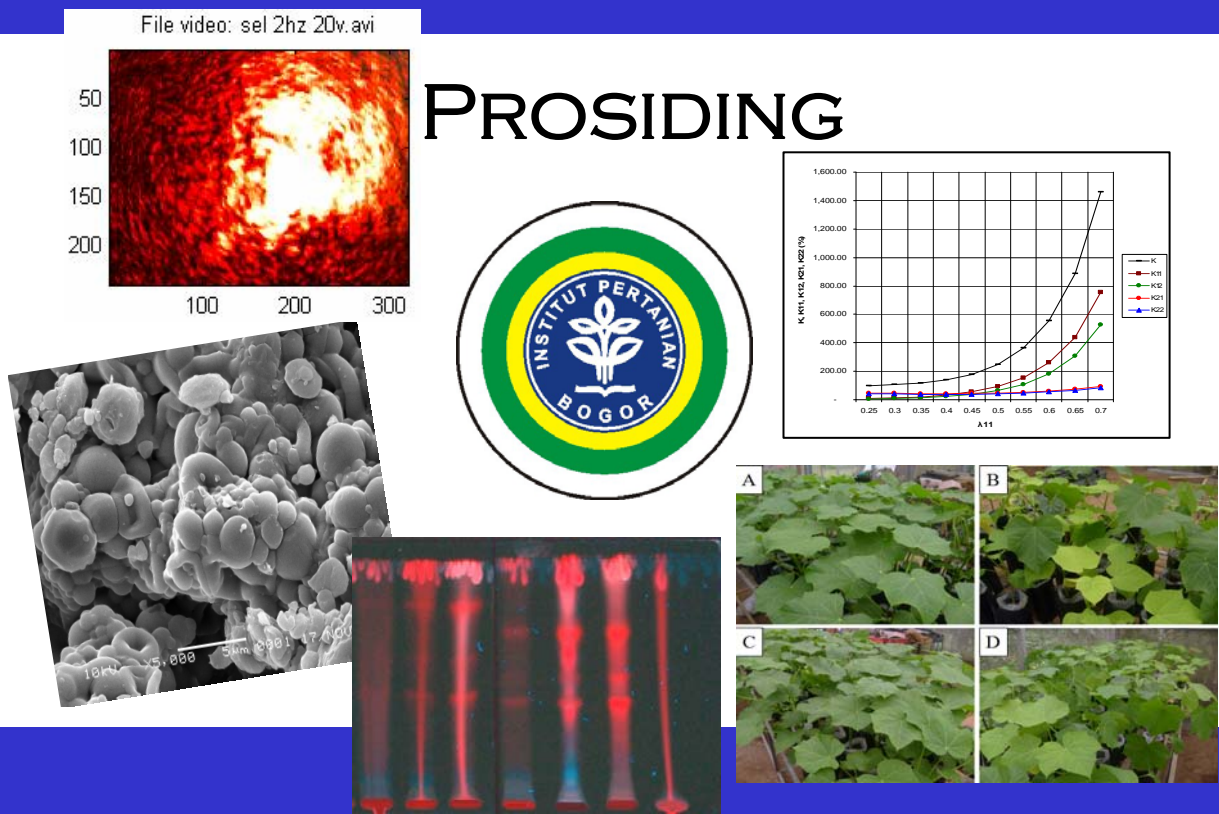


SEMINAR NASIONAL SAINS III 13 NOVEMBER 2010

Sains Sebagai Landasan Inovasi Teknologi dalam Pertanian dan Industri



BOGOR, DESEMBER 2010



ISBN: 978-979-95093-6-9

SEMINAR NASIONAL SAINS III

13 NOVEMBER 2010

Sains Sebagai Landasan Inovasi Teknologi dalam Pertanian dan Industri

PROSIDING

DEWAN EDITOR

ENCE DARMO JAYA SUPENA
ENDAR HASAFAH NUGRAHANI
HAMIM
HASIM
INDAHWATI
KIAGUS DAHLAN



**Fakultas MIPA – Institut Pertanian Bogor
bekerja sama dengan
MIPAnet**



2010

Copyright© 2010

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Institut Pertanian Bogor (IPB)
Prosiding Seminar Nasional Sains III ***"Sains Sebagai Landasan Inovasi Teknologi
dalam Pertanian dan Industri"*** di Bogor pada tanggal 13 November 2010

Penerbit : FMIPA-IPB, Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Telp/Fax: 0251-8625481/8625708

<http://fmipa.ipb.ac.id>

Terbit 30 Desember 2010

ix + 427 halaman

ISBN: 978-979-95093-6-9

KATA PENGANTAR

Ketahanan pangan dan kemandirian energi merupakan isu sentral nasional dan dunia untuk mengimbangi terus bertambahnya jumlah penduduk, semakin menyempitnya lahan yang disertai tidak terlalu signifikannya peningkatan produktivitas pertanian, ditambah lagi dengan masalah global menurunnya kualitas lingkungan. Untuk mengatasi permasalahan-permasalahan ini tentunya dibutuhkan inovasi-inovasi. Inovasi akan menjadi lebih bermakna dan berhasil guna bila berlandaskan kepada sains dan teknologi.

Banyak perguruan tinggi dan lembaga litbang departemen atau bahkan divisi litbang di perusahaan terus melakukan penelitian dan pengembangan yang didasarkan pada pemanfaatan dan pengembangan sains dan teknologi untuk mengembangkan dan menghasilkan inovasi-inovasi dalam upaya untuk meningkatkan produktivitas serta meningkatkan nilai tambah. Seminar Nasional Sains III (2010) yang diselenggarakan atas kerjasama FMIPA-IPB dan MIPAnet, diharapkan menjadi sarana dan upaya untuk menjalin komunikasi antar pelaku dan institusi yang terlibat untuk mengoptimalkan pemanfaatan sains sebagai landasan dalam mengembangkan dan menghasilkan inovasi-inovasi dalam upaya menjawab tantangan ketahanan pangan dan kemandirian energi. MIPAnet adalah Jaringan Kerjasama Nasional Lembaga Pendidikan Tinggi Bidang MIPA yang didirikan pada tanggal 23 Oktober 2000.

Makalah-makalah hasil penelitian dipresentasikan pada empat kelas paralel yaitu *Biological Science, Biochemistry, Chemistry*, serta *Physics & Mathematical Science*. Selain itu beberapa makalah juga ditampilkan pada sesi Poster. Makalah-makalah tersebut sebagian besar merupakan isi dari prosiding ini. Seminar dihadiri oleh peneliti dari balitbang-balitbang terkait dan dosen-dosen perguruan tinggi, mahasiswa pascasarjana serta guru-guru SMA.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada FMIPA-IPB dan MIPAnet yang telah mendukung penuh kegiatan Seminar Nasional Sains III ini. Juga kepada Panitia Seminar, para mahasiswa, dan semua pihak yang telah mensukseskan acara seminar ini. Kami juga sangat berterima kasih kepada semua pemakalah atas kerjasamanya, sehingga memungkinkan prosiding ini terbit. Semoga prosiding ini bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, Desember 2010

Dekan FMIPA-IPB,

Dr. drh Hasim, DEA

DAFTAR ISI

No.	Penulis	Judul	Hal
Biological Science			1
1	Turati, Miftahudin, Ida Hanarida	Penapisan Galur-galur Padi Toleran Cekaman Aluminium pada Populasi RIL F7 Hasil Persilangan antara Padi Var IR64 dan Hawara Bunar	2
2	Dedi Suryadi, Miftahudin, Ida Hanarida	Penapisan Galur-galur Padi Toleran Cekaman Besi pada Populasi RIL F7 Hasil Persilangan antara Padi Var IR64 dan Hawara Bunar	12
3	Riana Murti Handayani, Gayuh Rahayu, Jonner Situmorang	Interaksi Kultur Tunas <i>in vitro</i> <i>Aquilaria</i> spp. dengan Hifomiset (<i>Acremonium</i> spp.)	19
4	Ahmad Basri, Hamim, Nampiah Sukarno	Teknik Perkecambahan dan Respon Beberapa Aksesori Jarak Pagar terhadap Aplikasi Pupuk Hayati Selama Pemantapan Bibit	28
5	Martha Sari, Hamim	Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i> L.) sebagai Sumber Senyawa Metabolit Sekunder Antimikrob Alternatif	36
6	Jeni, Hamim, Aris Tjahjoleksono, Ida Hanarida Soemantri	Viabilitas dan Efektifitas Pupuk Hayati dari Beberapa Teknik Pengeringan dan Lama Penyimpanan	50
7	Risa Swandari Wijihastuti, Tatik Chikmawati, Miftahudin	Optimasi Lingkungan Tumbuh Mikroalga dari Kawah Ratu Sukabumi yang Berpotensi sebagai Sumber Biodiesel	61
8	Suprihatin, Muhammad Romli, Andes Ismayana	Kajian Produksi Mikroalga dengan Media Limbah Cair Rumah Pemotongan Hewan	68
9	Yahmi Ira Setyaningrum, Hamim, Dorly	Respon Morfologi Buah dan Kemunculan Getah Kuning terhadap Aplikasi Kalsium secara Eksternal pada Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana</i>)	80
10	Ari Fina Bintarti, Iman Rusmana, Dave B. Nedwell	Aktivitas Oksidasi Metan dan Akumulasi Ammonium Isolat Bakteri Metanotrof Asal Sawah	89
11	Anthoni Agustien	Produksi Protease Serin dari Sel Amobil <i>Brevibacillus agri</i> A-03 dengan Matriks Alginat	99
12	Rahmat Hidayat, Usamah Afiff, Fachriyan Hasmi Pasaribu	Pemeriksaan Serologik Brucellosis dan Mikrobiologik Susu di Peternakan Sapi Perah Kabupaten Bogor dan Sukabumi	108

No.	Penulis	Judul	Hal
13	Tania June	Perubahan Iklim: Observasi Fungsi <i>Supply</i> dan <i>Demand</i> terhadap CO ₂ pada Tanaman dan Implikasinya	118
14	Baba Barus, U. Sudadi, B. Tahjono, L.O.S. Iman	Pengembangan Geoindikator untuk Penataan Ruang	133
15	Wien Kusharyoto, Martha Sari	Ekspresi Fragmen Antibodi Fab yang Spesifik terhadap Virus Dengue DEN-2 di <i>Escherichia coli</i>	145
Biochemistry			153
1	Dyah Iswantini, Latifah K Darusman, Lany Yulinda	Daya Inhibisi Ekstrak Pegagan, Kumis kucing, Sambiloito dan Tempuyung terhadap Aktivitas ACE secara <i>In vitro</i>	154
2	Christofferus SY, Dyah Iswantini	Daya Inhibisi Ekstrak Rimpang Jahe Merah dan Kulit Kayu Manis terhadap Aktivitas Enzim Siklooksigenase-2 dan Enzim Xantin Oksidase secara <i>In vitro</i>	163
3	Anggi Susanti, Dyah Iswantini	Kinetika Inhibisi Ekstrak Tempuyung (<i>Sonchus oleracea</i> L.) terhadap Enzim Xantin Oksidase secara <i>In Vitro</i>	172
4	Dyah Iswantini, Deden Saprudin, R Aghyar Rudita	Pengaruh Ekstrak Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) terhadap Aktivitas Enzim Kolesterol Oksidase secara <i>In vitro</i>	181
5	Rini Madyastuti Purwono, Bayu Febram Prasetyo, Ietje Wientarsih	Aktivitas Diuretik Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> mill.) pada Tikus Sprague-Dawley	190
6	Eti Rohaeti, Irmanida Batubara, Anastasia Lieke LDN, Latifah K Darusman	Potensi Ekstrak <i>Rhizophora sp</i> sebagai Inhibitor Tirosinase	196
7	Popi Asri Kurniatin, Laksmi Ambarsari, Juliana	Komposisi dan Aktivitas Bioflokulan dari <i>Flavobacterium sp.</i>	202
Chemistry			212
1	Muhammad Bachri Amran	Metoda Analisis Ion Besi Berbasis <i>Cyclic-Flow Injection Analysis</i> (cy-FIA) sebagai Suatu Usaha Menuju Analisis Kimia Ramah Lingkungan (<i>Green Analytical Chemistry</i>)	213

No.	Penulis	Judul	Hal
2	Purwantiningsih Sugita, Tuti Wukirsari, Tetty Kemala, Bayu Dwi Aryanto	Perilaku Disolusi Mikrokapsul Ketoprofen-Alginat Berdasarkan Ragam Konsentrasi Surfaktan	221
3	Purwantiningsih Sugita, Yunia Anggi Setyani, Tuti Wukirsari, Bambang Srijanto	Dissolution Behavior of Ketoprofen Double Coated by Chitosan-Gum Guar with Alginat-CaCl ₂	230
4	Dwi Wahyono, Purwantiningsih Sugita, Laksmi Ambarsari	Sintesis Nanopartikel Kitosan dengan Metode Ultrasonikasi dan Sentrifugasi serta Karakterisasinya	241
5	Siti Latifah, Purwantiningsih Sugita, Bambang Srijanto	Stabilitas Mikrokapsul Ketoprofen Tersalut Kitosan-Alginat	248
6	Salih Muharam, Purwantiningsih Sugita, Armi Wulanawati	Adsorption of Au (III) onto Chitosan Glutaraldehyde Cross-linked in Cyanide Solution	260
7	Wulandari Kencana Wardani, Purwantiningsih Sugita, Bambang Srijanto	Sintesis dan Karakterisasi Glukosamina Hidroklorida Berbasis Kitosan	271
8	Setyoningsih, Akhiruddin M, Deden S	Kajian Penggunaan Asam Oleat dan Teknik Hidrotermal pada Sintesis Nanokristal Magnetit	282
9	Sugiarti, S.; Abidin, Z.; Shofwatunnisaa ; Widyastana, P.; Hediana, N	Sintesis Nanokomposit Beberapa Material Clay/TiO ₂ dari Bahan Dasar Kaolin Indonesia	288
10	Sugiarti, S.; Abidin, Z.; Henmi, T	Zeolit/TiO ₂ Nanokomposit sebagai Fotokatalis pada Penguraian Biru Metilena	298
11	Syafii, F; Sugiarti, S; Charlena	Modifikasi Zeolit Melalui Interaksi dengan Fe(OH) ₃ untuk Meningkatkan Kapasitas Tukar Anion	307
Physics			316
1	Wiwis S., Agus Rubiyanto	Pengembangan Metode Penyetabil Sumber Cahaya Laser He-Ne dengan Menggunakan Plat $\lambda/4$	317
2	Harmadi, Gatut Yudoyono, Mitraryana, Agus Rubiyanto, Suhariningsih	Pola Spekel Akusto-Optik untuk Pendeteksian Getaran (<i>Vibrasi</i>) Akustik pada Objek yang Bergetar	322

No.	Penulis	Judul	Hal
3	Stepanus Sahala S.	Alat Peraga Fisika Menggunakan <i>Interfacing</i> Sensor Cahaya dengan Stopwatch pada Percobaan Gerak Jatuh Bebas dalam Pembelajaran Fisika	331
4	Akhiruddin Maddu, Deni Christopel Pane, Setyanto Tri Wahyudi	Pengaruh Konsentrasi Dopan HCl pada Polianilin terhadap Karakteristik Sensor Gas Amonia (NH ₃)	341
5	M.N. Indro, R. Permatasari, A. Insani	Pembuatan Nano Alloy MgNi dengan Teknik <i>Ball Milling</i>	349
6	Rani Chahyani, Zahroul Athiyah, Kiagus Dahlan	Sintesis dan Karakterisasi Membran Polisulfon Didadah Karbon Aktif untuk Filtrasi Air	354
7	Abdul Djamil Husin, M. Misbakhussudur, Irzaman, Jajang Juansah, Sobri Effendy	Pemanfaatan dan Kajian Termal Tungku Sekam untuk Penyulingan Minyak Atsiri dari Daun Cengkeh sebagai Pengembangan Produk dan Energi Alternatif Terbarukan	364
8	S.U. Dewi, K. Dahlan, R.S. Rahayu, B.M. Bachtiar	Pengujian <i>Biphasic Calcium Phosphate</i> (BCP) dalam Sel Fibroblas	373

Mathematical Science

			381
1	Tri Handhika, Murni	Kajian Stabilitas Model Tingkat Bunga Rendleman-Bartter	382
2	Agus Santoso	Randomisasi Pemilihan Butir Awal pada Algoritma <i>Computerized Adaptive Test</i> sebagai Upaya Mengurangi <i>Item Exposure</i>	391
3	Endar H. Nugrahani	Pengaruh Parameter Tingkat Produktivitas Manusia pada Model Pertumbuhan Ekonomi Regional	401
4	Mohammad Masjkur	Perbandingan Metode Peragam Papadakis Rancangan <i>Nearest Neighbour</i>	410
5	Mohammad Masjkur	Perbandingan Rancangan Spasial <i>Nearest Neighbour</i> dan Rancangan Acak Kelompok Percobaan Pemupukan Padi Sawah	419

BIOLOGICAL SCIENCE

PENAPISAN GALUR-GALUR PADI TOLERAN CEKAMAN ALUMINIUM PADA POPULASI RIL F7 HASIL PERSILANGAN ANTARA PADI VARIETAS IR64 DAN HAWARA BUNAR

Turati¹, Miftahudin^{2,4}, Ida Hanarida³

¹ Program Studi Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana IPB

² Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor

³ Balai Besar Biogen, Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian

⁴ Penulis untuk korespondensi

Abstrak

Aluminium (Al) merupakan salah satu faktor utama penghambat pertumbuhan tanaman pada tanah masam. Target utama keracunan Al adalah ujung akar. Keberadaan Al di ujung akar menyebabkan pertumbuhan akar terhambat. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan galur-galur padi toleran Al melalui seleksi populasi *Recombinant Inbreed Lines* (RIL) hasil persilangan antara padi varietas IR64 dengan Hawara Bunar. Bahan tanaman yang digunakan adalah 300 nomor tanaman padi dari populasi RIL generasi F7. Selain itu juga digunakan padi varietas IR64 sebagai kontrol tanaman peka Al, dan varietas Hawara Bunar dan Danau Gaung sebagai kontrol tanaman toleran Al. Penapisan nomor-nomor tanaman yang toleran Al didasarkan pada nilai Panjang Akar Relatif (PAR) dari tiap kecambah tanaman berumur 5 hari setelah mendapat cekaman 15 ppm Al selama 3 hari. Kriteria tingkat toleransi suatu tanaman padi didasarkan pada nilai PAR. Jika nilai PAR > 0,7 maka tanaman tersebut toleran Al, nilai PAR 0,62–0,69 termasuk tanaman moderat, dan nilai PAR ≤ 0,61 termasuk tanaman peka Al. Hasil penelitian menunjukkan distribusi normal dari nilai PAR dalam populasi RIL. Sebanyak 50 nomor tanaman menunjukkan sifat toleran Al dengan nilai PAR berkisar antara 0.74-0.98. Kelima puluh tanaman tersebut sedang diuji pada tanah asam Podzolik Merah Kuning, Gajrug-Lebak yang ber-pH < 5 dan kandungan Al-dd 10.98 me/100 g. Diharapkan dari pengujian ini akan diperoleh galur-galur padi yang siap diuji lapang.

Kata Kunci: Padi, Toleran, Aluminium, RIL, PAR

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk Indonesia. Permintaan akan komoditas ini dari tahun ke tahun mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk, yakni dengan laju pertumbuhan penduduk rata-rata 1.34% per tahun (BPS 2008). Peningkatan kemampuan pertanian kita untuk menyediakan beras cenderung menurun dengan berkurangnya luas sawah yang dapat digunakan untuk budidaya padi. Hal ini mengharuskan program peningkatan produksi padi tidak hanya didukung dengan peningkatan efisiensi teknologi produksi, tetapi juga diarahkan ke penggunaan lahan-lahan marginal seperti lahan asam. Dari luas

total daratan Indonesia, sekitar 47.6 juta ha (32.4%) merupakan lahan kering yang umumnya didominasi oleh tanah asam Podzolik Merah Kuning (Karama & Abdurrachman 1993). Kendala utama yang dihadapi dalam pemanfaatan tanah asam untuk produksi padi gogo adalah pH rendah dan kandungan Al tinggi (Kochian 1995). Kelarutan Al yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan dan fungsi akar yang selanjutnya dapat menurunkan produksi (Kochian 1995). Keracunan Al mampu menurunkan produksi tanaman 25% sampai dengan 85% (Herrera-Estrella 2003).

Penanggulangan masalah pada tanah asam tersebut dapat dilakukan dengan cara memperbaiki pH tanah melalui pengapuran, tetapi langkah ini bukan merupakan pilihan yang tepat karena selain kurang efisien juga dapat menimbulkan polusi bagi lingkungan. Pendekatan lain yang lebih efisien dan ramah lingkungan adalah dengan menggunakan varietas tanaman yang mampu beradaptasi terhadap tanah asam dan cekaman Al (Purnamaningsih & Mariska 2005). Dalam rangka pembentukan padi gogo varietas unggul yang tahan terhadap keracunan Al, salah satu cara yang dapat ditempuh adalah melalui persilangan antara varietas unggul, seperti IR64 dengan tetua yang memiliki sifat tahan terhadap keracunan Al seperti Hawara Bunar (Purwoko *et al.* 2005). Varietas IR64 telah banyak dijadikan sebagai tetua dalam program pemuliaan dan banyak sekali varietas unggul baru yang merupakan keturunan dari IR64 (Purwoko *et al.* 2005). Persilangan antara padi var. IR64 X Hawara Bunar telah dilakukan hingga generasi F7 dan untuk mengetahui apakah galur hasil persilangan ini telah memiliki sifat unggul dan sudah memiliki tingkat ketahanan terhadap keracunan Al, maka perlu dilakukan penelitian untuk memilih fenotip galur-galur padi hasil persilangan IR64 X Hawara Bunar generasi F7 yang unggul dan tahan terhadap keracunan Al dan siap diuji untuk mengembangkan varietas unggul yang baru.

Penelitian ini bermanfaat untuk memberi data dan informasi tentang galur-galur padi hasil persilangan IR64 X Hawara Bunar generasi F7 yang telah memiliki fenotip padi varietas unggul spesifik tanah-tanah asam yang siap dipakai dalam uji multilokasi rata-rata 2,7 ton/ha pada lahan berkadar Fe 170-200 ppm (Suhartini *et al.* 1996).

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan galur-galur padi toleran Al melalui seleksi populasi *Recombinant Inbreed Lines* (RIL) hasil persilangan antara padi var. IR64 dengan Hawara Bunar.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fisiologi Tumbuhan, IPB Bogor dan rumah kaca Balai Besar Biogen, Litbang Deptan Cimanggu Bogor. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli 2010 sampai Oktober 2010.

2.2. Bahan Penelitian

Bahan tanaman adalah 3 varietas tanaman padi var. IR64 (tetua sensitif aluminium), Hawara Bunar (tetua toleran Al) dan Danau Gaung (kontrol padi toleran Al) serta 300 galur padi populasi *Recombinand Inbreed Lines* (RIL) generasi F7 hasil persilangan IR64 X Hawara Bunar.

2.3. Penapisan Populasi RIL Generasi F7 Berdasarkan Karakter PAR (Panjang Akar Relatif)

2.3.1. Kultur Hara

Sebanyak 10 benih padi dari tiap galur dikecambahkan pada kertas merang lembab pada ruang gelap dengan kisaran suhu 25-27 °C selama 48 jam. Kecambah yang seragam perakarannya kemudian ditanam pada *net plastic* yang diapungkan di atas media kultur hara minimum tanpa Al dengan pH 4,0 (Miftahudin *et al.* 2002) untuk diadaptasikan selama 24 jam dan diberi aerasi. Perlakuan Al dilakukan dengan pemberian Al³⁺ dalam bentuk AlCl₃·6H₂O dengan konsentrasi 0 dan 15 ppm pada pH 4,0 selama 72 jam. Larutan diganti setiap hari untuk mempertahankan pH larutan.

2.3.2. Analisis Panjang Akar Relatif (PAR)

Setiap nomor tanaman diberi dua perlakuan, yaitu 5 kecambah pada kondisi cekaman (15 ppm) dan 5 kecambah untuk kondisi tanpa cekaman Al (0 ppm). Pengukuran panjang akar dilakukan setelah perlakuan cekaman 72 jam. Nilai PAR didapat dari perbandingan panjang akar akhir percobaan pada kondisi cekaman (15 ppm) dengan panjang akar pada kondisi tanpa cekaman Al (0 ppm). Nilai PAR dikelompokkan sebagai berikut : jika nilai PAR $\geq 0,7$ cm maka tanaman tersebut masuk ke dalam kelompok tanaman toleran Al, nilai PAR 0,62–0,69 cm termasuk kelompok tanaman moderat, dan nilai PAR $\leq 0,61$ cm termasuk kelompok tanaman peka atau rentan terhadap Al (Nasution & Suhartini 1992)

2.4. Percobaan Rumah Kaca

2.4.1. Penanaman Padi di Rumah Kaca

Kecambah yang telah diseleksi dengan analisis panjang akar relatif (PAR) ditanam langsung dalam pot yang telah diisi tanah asam Podzolik Merah Kuning berasal dari Gajrug, Kabupaten Lebak, Banten dengan karakteristik pH 4,5 kandungan Al-dd 10.96 me/100 g tanah dan tingkat kejenuhan Al sebesar 81.30%. Pemeliharaan tanaman padi dilakukan sesuai prosedur standar budidaya tanaman padi gogo.

2.4.2. Pengamatan Karakter Morfologis dan Karakter Agronomis

Analisis morfologis meliputi pengamatan tinggi tanaman, jumlah anakan, dan umur berbunga. Analisis sifat agronomis meliputi pengamatan jumlah anakan produktif, panjang malai, jumlah biji per malai, persentase biji hampa, bobot 1000 butir, jumlah biji per rumpun, bobot biji per rumpun, dan umur panen.

Cara penilaian ketahanan terhadap keracunan Al berdasarkan persentase daun dari satu anakan dalam tiap rumpun yang mengalami pencoklatan pada ujung dan pinggir daun, serta pertumbuhan anakan pada tiap rumpun. Nilai persentase kemudian dikonversi ke dalam nilai skor dengan skala 5-1 (Tabel 1).

Tabel 1. Skala keparahan dan skor gejala keracunan Al pada tanah asam

Skala Keparahan	Skor	Gejala	Kriteria Toleransi
0-20%	5	Pertumbuhan dan anakan normal	Toleran
21-40%	4	Terdapat bintik-bintik warna putih atau kuning pada ujung daun	Agak Toleran
41-59%	3	Pertumbuhan dan anakan terhambat	Agak Sensitif
60-80%	2	Pertumbuhan dan anakan terhenti	Sensitif
81-100%	1	Semua tanaman mati atau mengering	Sangat Sensitif

2.5. Analisis Data

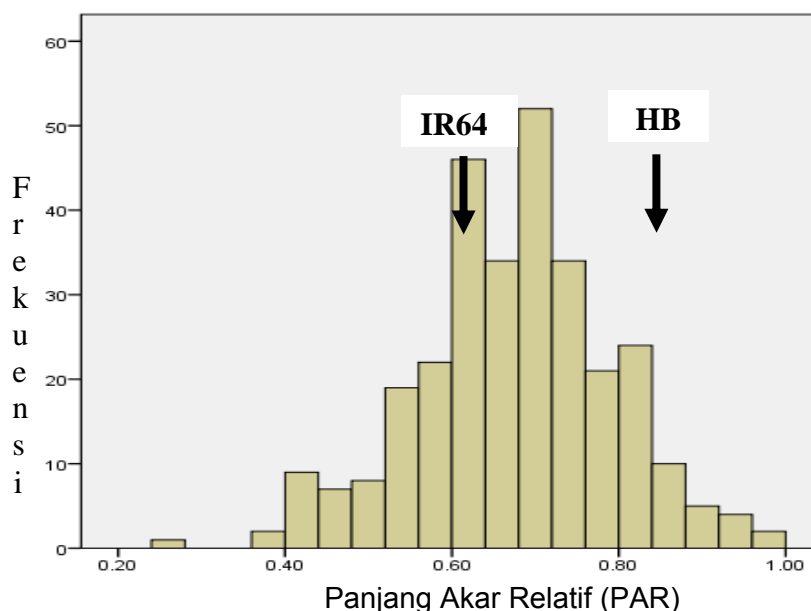
Data yang diperoleh dari percobaan rumah kaca dianalisis menggunakan Analisis Sidik Ragam pada tingkat kepercayaan 95%, sedangkan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis komponen utama digunakan untuk mengelompokkan galur-galur padi berdasarkan karakter morfologis dan karakter agronomis yang diamati.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengelompokan Tingkat Toleransi Al Galur Padi Berdasarkan Nilai PAR

Analisis PAR pada 300 galur padi populasi RIL F7 menunjukkan distribusi normal dari nilai PAR pada populasi tersebut (Gambar 1). Kisaran nilai PAR cukup luas mulai

dari 0.2 sampai 1.0 yang menunjukkan adanya transgressive segregation dari kedua tetua. Distribusi normal dari nilai PAR ini mengindikasikan bahwa karakter PAR merupakan karakter kuantitatif.



Gambar 1. Distribusi normal Panjang Akar Relatif pada populasi F7 hasil persilangan IR 64 X Hawara Bunar

Penapisan 300 galur padi pada populasi RIL F7 dengan kultur hara minimum yang diberi perlakuan 15 ppm Al dengan kontrol (0 ppm) menghasilkan 130 galur padi toleran yang mempunyai nilai PAR >0.70; 68 galur padi moderat yang mempunyai nilai PAR antara 0.62-0.69 dan 102 galur padi sensitif mempunyai nilai PAR < 0.61.

Dari pengelompokan ini sebanyak 50 nomor tanaman menunjukkan sifat toleran Al dengan nilai PAR berkisar antara 0.74-0.98. Kelimapoluh galur toleran tersebut yaitu : galur 14, 55, 62, 67, 70, 76, 94, 97, 108, 116, 153, 161, 181, 193, 255, 283, 286, 287, 322, 330, 351, 355, 373, 414, 430, 437, 440, 447, 452, 461, 470, 473, 519, 549, 553, 560, 561, 574, 575, 581, 615, 654, 657, 699, 715, 718, 784, 787, 797. Galur-galur tersebut selanjutnya dievaluasi pada tanah asam di rumah kaca untuk melihat konsistensinya berdasarkan karakter morfologi dan agronominya.

Berbeda dengan galur sensitif Al, pada kelompok galur padi genotipe toleran dan moderat terhadap cekaman Al terlihat pertumbuhan akar masih dapat berkembang dengan baik walaupun mengalami cekaman Al. Kemampuan akar tanaman toleran Al untuk tidak terganggu oleh cekaman Al, diduga disebabkan kemampuan perakaran genotipe ini untuk beradaptasi dengan lingkungan tumbuhnya. Tanaman tersebut memiliki suatu mekanisme tertentu untuk menekan pengaruh buruk Al sehingga serapan,

translokasi dan distribusi hara dan air masih cukup efisien (Hanum *et al.* 2007). Pertumbuhan akar yang panjang memiliki bidang jelajah per satuan volume tanah yang lebih besar jika dibandingkan dengan akar yang pendek sehingga kemampuan pengambilan hara dan air lebih besar. Pertumbuhan akar yang demikian merupakan ciri tanaman yang mempunyai kemampuan beradaptasi yang tinggi terhadap cekaman Al pada tanah Ultisol (Matsumoto *et al.*, 1996; Bushamuka & Zobel, 1998).

Keadaan sebaliknya terlihat pada kelompok galur padi genotipe peka, karena terjadi penurunan panjang akar yang nyata akibat cekaman Al. Hal ini ditunjukkan oleh nilai PAR < 0.61. Sasaran keracunan Al adalah akar yang berakibat secara umum pada penghambatan pertumbuhan akar. Penurunan panjang akar akibat cekaman Al terjadi karena terhambatnya pembelahan dan pemanjangan sel di meristem akar. Aluminium yang masuk ke dalam sel akan merusak membran plasma dan protein di dalam membran plasma, selanjutnya Al akan berikatan dengan gugus P pada DNA sehingga menghambat pembelahan sel (Delhaize & Ryan 1995; Matsumoto *et al.*, 2003). Coronel *et al.* (1990) melaporkan bahwa pada padi peka Al cenderung diakumulasikan pada akar di dalam sel epidermis dan korteks tetapi hampir tidak dijumpai di dalam sistem pembuluh. Al juga dijumpai terakumulasi pada dinding sel akar yang berikatan dengan gugus karboksil dari matrik pektin. Hal ini membuat matrik menjadi rigid dan menghambat pembelahan sel, sehingga pemanjangan akar terhambat akibat adanya hambatan pembelahan dan pemanjangan sel.

3.2. Tingkat Toleransi Galur Padi terhadap Tanah Asam

Penggunaan PAR pada seleksi dengan menggunakan media kultur hara minimum sangat efektif sebagai alat seleksi untuk penapisan padi toleran Al. Selain ketepatannya yang relatif tinggi, metode tersebut mudah dilakukan dan waktu yang relatif singkat (5 hari) serta dapat menyeleksi galur dalam jumlah yang relatif banyak. Kelemahan seleksi dengan metode kultur hara adalah cekaman Al hanya terjadi selama 3 hari, sehingga hanya berpengaruh terhadap pembelahan dan pemanjangan sel akar, sementara pengaruhnya terhadap pertumbuhan tajuk tanaman dan produksi belum dapat diamati.

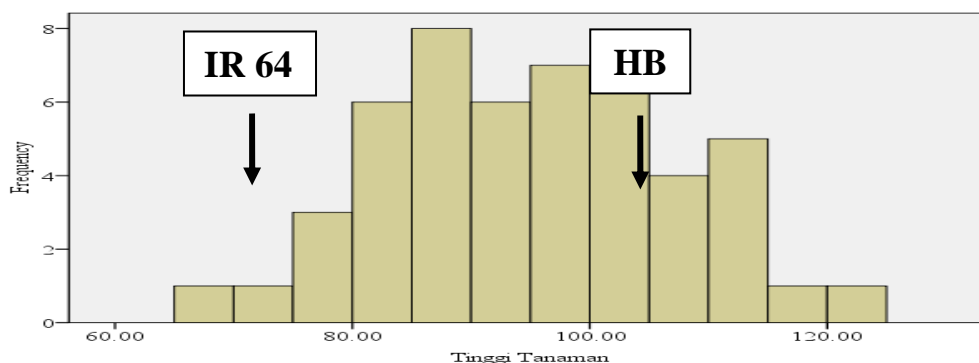
Penapisan dengan menggunakan media tanah asam dilakukan pada tahap seleksi lebih lanjut dengan jumlah galur yang lebih sedikit. Galur-galur tersebut adalah galur padi toleran Al hasil seleksi pada skala laboratorium dengan teknik kultur hara. Cekaman Al pada media tanah asam terjadi sejak padi ditanam sampai panen, sehingga cekaman Al berpengaruh terhadap pertumbuhan akar, pengambilan hara dan air selama pertumbuhan tanaman dan produksi biji. Wu *et al.* (2000) melaporkan bahwa ekspresi gen toleran Al pada padi bergantung pada perkembangan tanaman, sehingga seleksi toleransi Al

dengan metode kultur hara mungkin dapat mengalami sedikit perbedaan dengan hasil pengujian pada tanah asam. Hal ini menyebabkan ada beberapa galur toleran Al pada media larutan hara menjadi kurang toleran pada media tanah. Berdasarkan skor toleransi Al (Tabel 1), dari 50 galur yang ditanam pada media tanah asam terdapat 25 galur kategori galur toleran Al, 15 galur kategori agak toleran Al dan 7 galur masuk kategori agak sensitif Al (Gambar 2). Gejala keracunan Al yang pertama nampak terjadi pada kerusakan akar. Pemanjangan akar menjadi lambat dan pada tahap lebih lanjut terjadi kerusakan bagian tajuk akibat fungsi akar yang terganggu (Reid *et al.*, 1976), dengan demikian gejala keracunan Al pada tajuk sulit diamati sebelum gejala pada akar berkembang (Gupta, 1997) .

Hasil pengamatan terhadap tinggi tanaman padi berumur 8(MST) pada tanah asam diperoleh rata-rata tinggi tanaman pada tetua IR64 dan Hawara Bunar berturut-turut adalah 86,33 dan 128,33 cm. Dari ke-50 galur yang ditanam, terdapat 19 galur yang tingginya mendekati tinggi IR64 dan ada 7 galur yang tingginya menyerupai Hawara Bunar serta 26 galur lainnya mempunyai tinggi antara IR64 dengan Hawara Bunar (Gambar 3).



Gambar 2. 1 Galur 575 (sensitif), 2 Galur 718 (toleran), 3 Kontrol sensitif (IR64)



Gambar 3. Distribusi normal tinggi tanaman pada 8 MST pada populasi F7 hasil persilangan IR 64 X Hawara Bunar

Pada umur 8 MST rata-rata jumlah anakan padi pada tetua IR64 dan Hawara Bunar berturut-turut sebanyak 10 dan 6 anakan. Dari ke-50 galur yang ditanam terdapat 34 galur dengan jumlah anakan mendekati bahkan melebihi tinggi IR64 (10-19 anakan) dan hanya ada 3 galur dengan jumlah anakan menyerupai Hawara Bunar serta 13 galur lainnya terdapat di antara IR64 dan Hawara Bunar (7-9 anakan) (Tabel 1).

Tabel 1. Sebaran Frekuensi Jumlah Anakan 8 MST pada populasi RIL F7

No	Kisaran Jumlah Anakan	Frekuensi
1	6-10 anakan	17
2	11-15 anakan	28
3	16-20 anakan	5

Berdasarkan data tinggi tanaman, jumlah anakan padi dan skor ketahanan terhadap keracunan Al pada umur 8 MST dihasilkan 20 galur padi yang berpotensi sebagai varietas unggul baru yang akan diseleksi lebih lanjut di K.P. Taman Bogo Lampung, Galur potensial tersebut adalah 55, 70, 97, 108, 153, 287, 322, 330, 430, 437, 452, 519, 560, 561, 574, 657, 699, 718, 784, 787. Menurut Khush (1995) konsep tipe tanaman padi ideal sebagai varietas unggulan terbaru/modern yang berbeda dengan sifat varietas unggul selama ini salah satu diantaranya adalah: anakan sedikit atau sedang (8-10 anakan/rumpun), tinggi tanaman 90-100 cm.

4. KESIMPULAN

Penapisan berdasarkan karakter panjang akar relatif (PAR) menghasilkan 130 galur padi toleran Al dengan nilai PAR >0.70; 68 galur padi moderat toleran Al dengan nilai PAR antara 0.62-0.69 dan 102 galur padi sensitif Al dengan nilai PAR < 0.61.

Penapisan pada media tanah Podzolik Merah Kuning dengan kandungan Al-dd 10,96 me/100g pada padi berumur 8 MST menghasilkan 20 galur yang memiliki

penampilan seperti var. IR64 dan toleran Al serta berpotensi untuk uji lapang di K.P Taman Bogo Lampung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek I'MHERE IPB tahun anggaran 2010 a.n. Dr. Miftahudin.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2008. *Statistik Indonesia*. Badan Pusat Statistik Indonesia. Jakarta
- Bushamuka, V.N. and R.W. Zobel. 1988. Maize and soybean top, basal, and lateral root responses to stratified acid, aluminum toxic soil. *Crop Sci.* 38:416-421.
- Blum, A. 1988. *Plant Breeding for Stress Environments*. CRC Press. Boca Raton.233p
- Coronel, V.P., S. Akita, S. Yoshida. 1990. Aluminum toxicity tolerance in rice (*Oryza sativa* L) seedlings. In: Van Beusichem, M.L. (ed). *Plant Nutrition-Physiology and Application*. Kluwer Acad Publ. The Netherlands. p. 357-373.
- Delhaize, E., P.R. Ryan. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107:315-312.
- Foy, C.D., A.L. Fleming. 1978. The Physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: Jung, G.A., M Stelly, D.M. Kral, J.H Nauseef (eds). *Crop Tolerance to Sub optimal land conditions* Am. Soc. Agron. Madison. Wisconsin. P.301-328
- Gupta, U.S. 1997. *Crop Improvement: Stress Tolerance*. Vol 2. Sci.Publ. New Hampshire.303p
- Hanum, C. dkk. 2007. Pertumbuhan Akar Kedelai pada Cekaman Aluminium, Kekeringan dan Cekaman Ganda Aluminium dan Kekeringan. *Jurnal Agritrop.* 26:13-18.
- Herrera-Estrella L. 2003. Use of biotechnology of increase food production on acid soils. [<http://europa.eu.int/comm./research/conferences/2003/sadc/proestrella-en.htm>][25 maret 2004]
- Karama, A.S., A. Abdurrachman. 1993. Optimasi pemanfaatan sumberdaya lahan berwawasan lingkungan. Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Pangan III, Bogor 23-25 Agustus 1993. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor. hlm. 98-112
- Kochian LV. 1995. Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 46: 273-260
- Khush, G.S. 1995. Modern Varieties. Their real contribution of food supply and equity. *Geo. Journal* 35(3): 275-284.
- Matsumoto, H., Senoo, M. Kasai dan M. Maeshima. 1996. Response of the plant root to aluminum stress: analysis of the inhibition of the root elongation and changes in membrane function. *J Plant Res.* 109: 99-105.
- Miftahudin, Scholes GJ, Gustafson JP. 2002. AFLP markers tightly linked to the aluminium-tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.) *Theor Appl Genet* 104:906-913.

- Nasution, I. Suhartini 1992. Evaluasi metode uji ketahanan kultivar padi gogo terhadap tanah masam. Prosiding lokakarya Penelitian dan Pengembangan Pertanian bekerja sama dengan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Jakarta. hlm 65-80
- Purnamaningsih, R. Mariska. 2005. Seleksi in vitro tanaman padi untuk sifat ketahanan terhadap aluminium. *Jurnal Biologi Pertanian* 10:61-69
- Purwoko BS, Dewi IS, Utami DW, Suwarno.2005. Perakitan padi gogo toleran aluminium asal tanaman haploid ganda hasil kultur antera. Laporan HB XI. LPPM/IPB.hlm:73
- Reid, D.A., A.L.Fleming, C.D. Foy.1971. A method for determining aluminum response of barley in nutrients solution in comparison to response in Al-toxic soil. *Agron J.*63:600-603.
- Suhartini T, Suwarno, Syafaruddin. 1996. Pendugaan parameter genetika toleran keracunan besi pada padi sawah melalui analisis dialel. *Zuriat* 7(1):33-40.
- Wu, P., C.Y. Liao, B. Hu, K.K. Yi, W.Z. Jin, J.J.Ni., C. He.2000. QTLS and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. *Theor.Appl. Genet.*100:1295-1303

PENAPISAN GALUR-GALUR PADI TOLERAN CEKAMAN BESI PADA POPULASI RIL F7 HASIL PERSILANGAN ANTARA PADI VARIETAS IR64 DAN HAWARA BUNAR

Dedi Suryadi¹, Miftahudin^{2,4}, Ida Hanarida³

¹ Program Studi Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana IPB

² Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor

³ Balai Besar Bioogen, Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian

⁴ Penulis untuk korespondensi

Abstrak

Penanaman padi pada lahan sawah tadah hujan, lahan rawa pasang surut, lahan bukaan baru, dan lahan sawah lebak terkendala oleh keracunan besi (Fe) karena kandungan Fe dalam tanah yang tinggi, sehingga dapat menurunkan produksi. Penggunaan varietas padi toleran Fe merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah. Penelitian ini bertujuan memperoleh galur-galur padi toleran Fe melalui seleksi populasi *Recombinant Inbreed Lines* (RIL) hasil persilangan padi var. IR64 dan Hawara Bunar. Bahan tanaman yang digunakan adalah 100 nomor tanaman padi dari populasi RIL generasi F7. Selain itu juga digunakan padi var. IR64 sebagai kontrol tanaman peka Fe, dan var. Hawara Bunar sebagai kontrol tanaman toleran Fe. Penapisan dilakukan secara hidroponik terhadap tanaman padi berumur 5 minggu yang telah mendapatkan cekaman 750 ppm Fe selama 1 minggu pada minggu ke 5. Peubah yang digunakan sebagai parameter toleransi Fe meliputi: skor keracunan Fe (*bronzing*), tinggi tanaman, panjang akar, bobot kering tajuk dan bobot kering akar. Persentase luas daun yang mengalami *bronzing* dikelaskan dan setiap kelas diberikan skor berdasarkan standar sistem evaluasi blas pada daun yang ditetapkan oleh International Rice Research Institute. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keracunan Fe pada tanaman padi terlihat dari gejala *bronzing* pada daun, pertumbuhan akar dan tajuk terhambat, dan biomasa tanaman rendah. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh 35 galur padi sangat toleran, 34 galur padi toleran, 18 galur padi peka, dan 13 galur padi moderat terhadap keracunan Fe.

Kata kunci: Padi, Toleran, Besi, RIL, Bronzing

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pemenuhan kebutuhan pangan nasional dihadapkan pada laju pertumbuhan penduduk Indonesia dan terjadinya penyempitan pemilikan lahan, peningkatan alih fungsi lahan pertanian subur untuk kepentingan nonpertanian, pelandaian laju peningkatan produktivitas lahan, dan terjadinya degradasi lahan pertanian (TSK 2008). Peningkatan

produksi padi melalui pemanfaatan lahan sawah tadah hujan, lahan rawa pasang surut, dan lahan kering perlu terus diupayakan (Puslitbangtan 2005).

Di antara lahan-lahan tersebut yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi lahan pertanian padi adalah lahan pasang surut, lahan bukaan baru, dan lahan sawah lebak yang mengandung Fe tinggi yaitu lebih dari 200 ppm (Utari & Riyanto 2008). Areal pertanian padi berkeracunan Fe cukup luas di Indonesia, diperkirakan mencapai 1 juta hektar (Ismunadji 1990).

Keracunan Fe pada tanaman padi dapat terjadi pada fase bibit sampai dengan fase bunting (IRRI 2002). Gejala keracunan Fe pada tanaman padi terlihat dari bercak-bercak kecil berwarna coklat (*bronzing*) pada daun yang berkembang dari pinggir daun kemudian menyebar ke pangkal dan berubah warna menjadi coklat, ungu, kuning atau oranye, lalu mati. Pertumbuhan dan pembentukan anakan terhambat, sistem perakarannya jarang atau sedikit, kasar, dan berwarna coklat gelap atau membusuk (Syam *et al.* 2007). Gejala keracunan ditandai oleh tertekannya pertumbuhan bagian atas tanaman dan perkembangan akar sejak umur 15 hari setelah tanam (Yandha & Yusuf 1993). Batas kritis keracunan besi dalam tanaman adalah 300 ppm (Yoshida, 1981).

Tanaman padi di daerah Batumarta Sumatera Selatan yang berkeracunan Fe hasilnya sangat rendah yaitu kurang dari 1 ton/ha (Makarim *et al.* 1989). Pengalaman Balitbang Pertanian dalam penelitian dan pengembangan lahan rawa pasang surut dan lebak di Sumatera Selatan dengan Fe tinggi menunjukkan bahwa penggunaan varietas unggul yang adaptif terhadap lahan-lahan tersebut berperan penting dalam mengatasi permasalahan pada agroekosistem lahan marginal tersebut (Hairmansis & Kustianto, 2009). Pengembangan varietas padi toleran keracunan Fe merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah (Suhartini 2004).

Kultivar unggul padi toleran keracunan Fe dirasakan masih kurang. Dengan demikian, perlu dilakukan perbaikan kultivar padi yang toleran keracunan Fe serta berdaya hasil tinggi. Sejumlah kultivar toleran Fe telah dilepas (Kapuas dan Batang Ombilin) menghasilkan gabah rata-rata 2,7 ton/ha pada lahan berkadar Fe 170-200 ppm (Suhartini *et al.* 1996).

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh galur-galur padi toleran Fe melalui seleksi populasi *Recombinant Inbreed Lines* (RIL) hasil persilangan padi var. IR64 dan Hawara Bunar.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan Agustus sampai dengan bulan Oktober 2010 di Laboratorium dan Rumah Kaca Fisiologi Tumbuhan Departemen Biologi IPB.

2.2. Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan adalah 100 nomor tanaman padi dari populasi RIL generasi F7, padi var. IR64 sebagai kontrol tanaman peka Fe, dan var. Hawara Bunar sebagai kontrol tanaman toleran Fe. Untuk media kultur hara digunakan larutan Yoshida (Yoshida *et al.* 1976) dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ konsentrasi 750 ppm.

2.3. Uji Larutan Hara

Benih disterilisasi menggunakan NaOCl 0.5 % selama 15 menit, dicuci dengan air destilata dan direndam selama 24 jam. Perkecambah dilakukan selama 3-4 hari pada suhu ruang dan dalam ruang gelap. Benih yang berkecambah dipilih yang baik dan seragam perakarannya dan dikulturkan dalam medium larutan Yoshida (Yoshida *et al.* 1976) yang dikembangkan khusus untuk tanaman padi. Agar benih yang akan ditanam tidak masuk ke dalam medium, dan menjaga agar tidak terjadi kontak langsung antara batang dengan larutan hara, benih diletakkan dalam penyangga berupa tabung PVC berdiameter 2.3 cm dan panjang 9 cm. Tabung PVC ditempatkan di atas sterofom. Ke dalam wadah plastik berukuran 45 cm x 35.5 cm x 14.5 cm dimasukkan 14 liter larutan Yoshida. Setiap hari, pH larutan hara dikontrol pada pH 4 dan larutan hara diganti seminggu sekali. Empat minggu setelah tanam ke dalam larutan hara ditambahkan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ konsentrasi 750 ppm. Peubah yang diamati meliputi: skor keracunan Fe, tinggi tanaman, panjang akar, bobot kering tajuk dan bobot kering akar

Tabel 1. Standar sistem evaluasi tingkat toleransi Fe (*bronzing*) pada padi

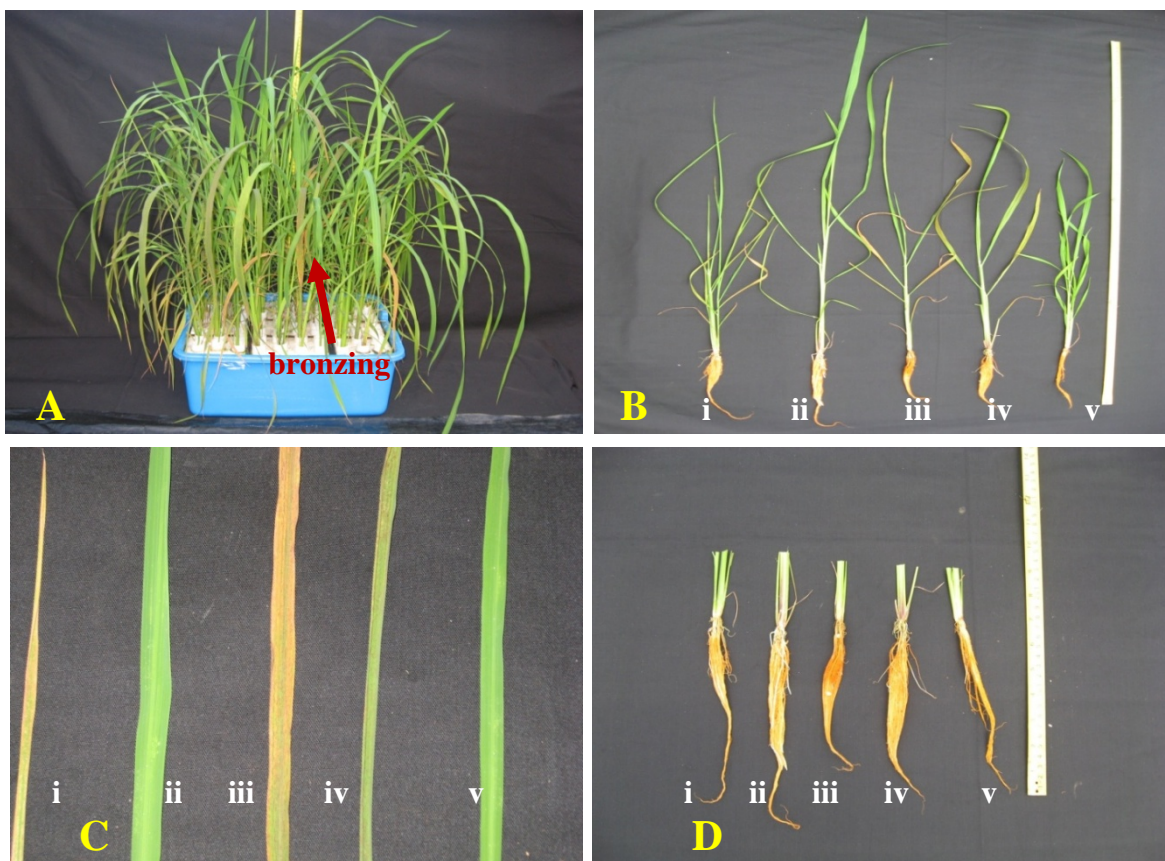
Persentase luas daun yang terpengaruh	Skor <i>bronzing</i>	Tingkat toleransi
0	0	sangat toleran
1-9	1	toleran
10-19	2	toleran
20-29	3	toleran
30-39	4	moderat
40-49	5	moderat
50-59	6	peka
60-69	7	peka
70-79	8	peka
80-89	9	sangat peka
90-99	10	sangat peka

Sumber: International Network untuk evaluasi genetik padi (IRRI 2002).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiga hari setelah perlakuan cekaman besi pada kultur hara, tanaman mulai menunjukkan gejala keracunan besi yang ditunjukkan oleh gejala *bronzing* pada daun, dan gejala tersebut semakin terlihat jelas pada umur 7 hari setelah perlakuan cekaman (Gambar 1). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa keracunan besi tidak hanya diakumulasi pada daun tua tetapi juga terdapat pada daun yang sedang aktif melakukan fotosintesis (daun terbuka sempurna), bahkan pada varietas IR64 keracunan besi juga terjadi pada daun muda.

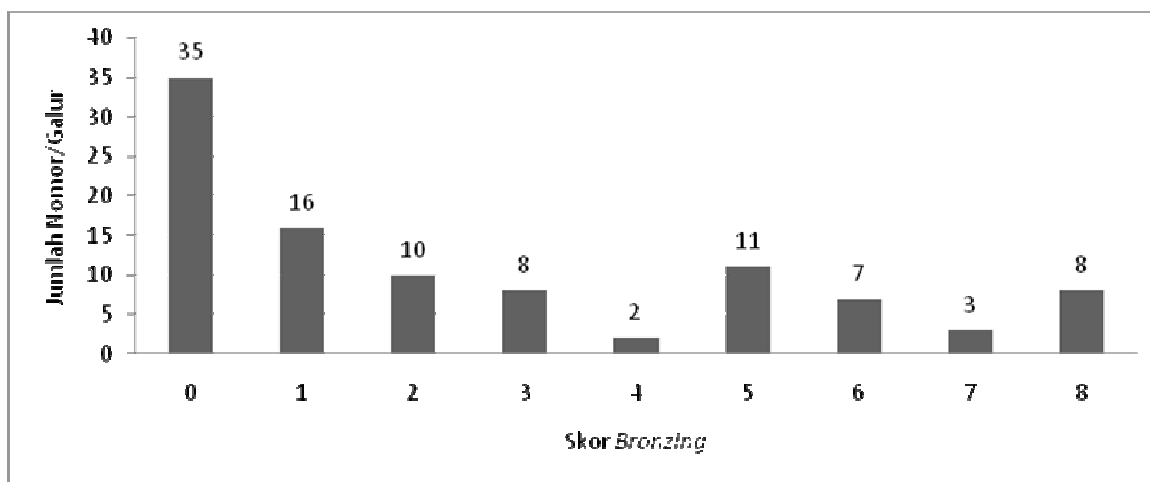
Hal ini sesuai dengan pendapat Yamanouchi dan Yoshida (1981) yang menyatakan bahwa gejala visual yang khas dari keracunan besi berhubungan dengan akumulasi polifenol teroksidasi dan membentuk gejala *bronzing* pada daun tanaman padi. Gejala ini terlihat secara penuh pada daun-daun yang aktif melakukan fotosintesis. Gejala keracunan besi dimulai dengan adanya noda berwarna coklat kecil dan terus menyebar dari ujung daun ke pangkal daun, dan selanjutnya ujung daun terlihat menguning dan mengering yang diikuti dengan respirasi yang sangat tinggi.



Gambar 1. Perlakuan 750 ppm Fe menimbulkan *bronzing* (A), tanaman padi (B), daun (C) dan akar (D) untuk kontrol peka/var. IR64 (i), kontrol toleran/var. Hawara Bunar (ii), galur peka (iii), galur moderat (iv), dan galur toleran (v)

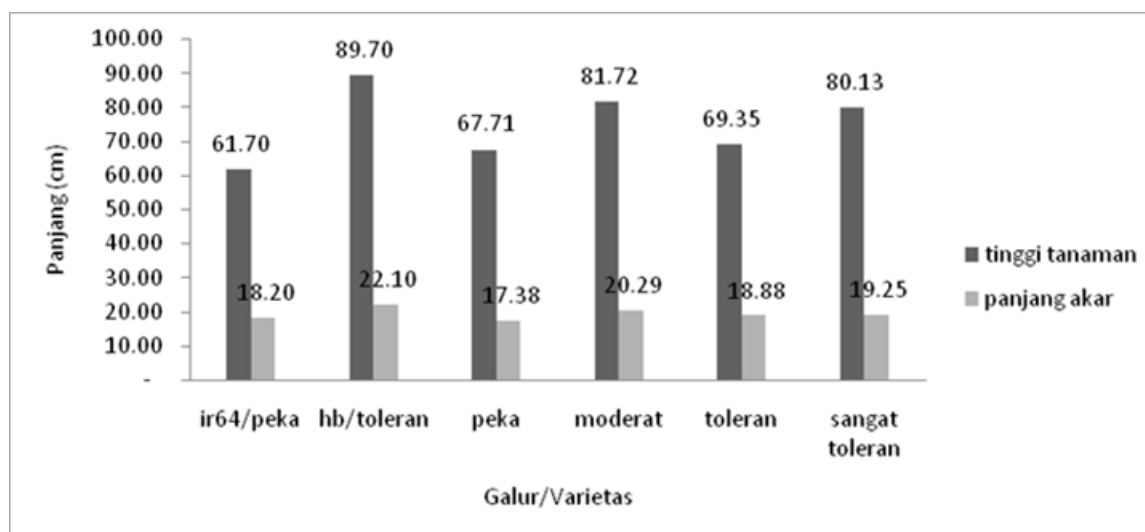
Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh 35 galur padi sangat toleran (skor 0), 34 galur padi toleran (skor 1-3), 13 galur padi moderat (skor 4-5), dan 18 galur padi peka (skor 6-8) terhadap keracunan Fe. Varietas IR64 sebagai kontrol peka keracunan Fe memiliki skor 6 dan varietas Hawara Bunar sebagai kontrol toleran keracunan Fe memiliki skor 0. Dengan demikian mayoritas nomor galur dari 100 nomor galur padi populasi *Recombinant Inbreed Lines* (RIL) generasi F7 hasil persilangan padi var. IR64 dan var. Hawara Bunar termasuk kelompok yang toleran terhadap keracunan Fe dan mengikuti tetuanya yaitu padi var. Hawara Bunar. Distribusi skor bronzing pada populasi RIL F7 disajikan pada Gambar 2.

Abu *et al.* (1989) menyatakan bahwa keracunan besi yang terjadi pada tahap vegetatif sangat berhubungan dengan tinggi tanaman yang pada akhirnya menyebabkan tanaman menjadi kerdil, sehingga tanaman tidak mampu untuk tumbuh normal. Suhartini (2004) menyatakan bahwa cekaman besi menyebabkan tanaman padi tidak mampu mengembangkan sistem perakarannya. Permukaan akar akan terlapisi oleh oksida besi Fe_2O_3 yang berwarna coklat gelap sampai berwarna kehitaman, sehingga menyebabkan terhambatnya penyerapan unsur hara oleh akar tanaman, bahkan pada kondisi keracunan yang parah yang berlangsung sejak tahap awal fase vegetatif, akar dapat mengalami penuaan cepat dan mati.

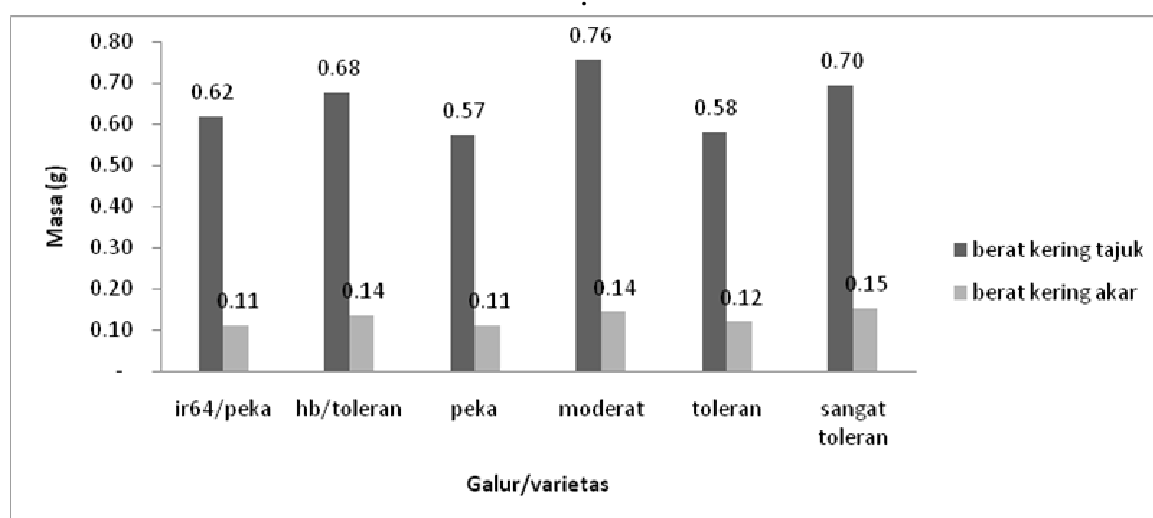


Gambar 2. Distribusi skor keracunan Fe (*bronzing*) pada populasi RIL F7

Menurut Todano (1976), tanaman padi yang keracunan Fe juga mengalami penurunan bobot kering tajuk dan akar seiring dengan terhambatnya pertumbuhan tajuk dan panjang akar. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada tanaman padi yang peka terhadap keracunan Fe terjadi penurunan tinggi tanaman, panjang akar, bobot kering tajuk dan bobot kering akar bila dibandingkan dengan tanaman padi yang sangat toleran, toleran, dan moderat (Gambar 3 dan 4).



Gambar 3. Tinggi tanaman dan panjang akar tanaman kontrol peka, kontrol toleran galur toleran, moderat dan peka terhadap keracunan Fe



Gambar 4. Bobot kering tajuk dan bobot kering akar untuk tanaman kontrol peka, kontrol toleran galur toleran, moderat dan peka terhadap keracunan Fe

4. KESIMPULAN

Dari 100 nomor galur padi populasi Recombinant Inbreed Lines (RIL) generasi F7 hasil persilangan padi var. IR64 dan var. Hawara Bunar diperoleh 35 galur padi sangat toleran, 34 galur padi toleran, 18 galur padi peka, dan 13 galur padi moderat terhadap keracunan Fe

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek I'MHERE IPB tahun anggaran 2010 a.n. Dr. Miftahudin.

PUSTAKA

- Abu MB, Tucker ES, Harding SS, Sesay JS. 1989. Cultural practices to reduce iron toxicity in rice. *Intl. Rice Res Newsl* 14:19-19.
- Amnal. 2009. Respon fisiologi beberapa varietas padi terhadap cekaman besi [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hairmansis AS, Kustianto B. 2009. Padi unggul baru untuk agroekosistem lahan rawa. *Warta Pen Pengem Pert* 31:4-6.
- [IRRI] International Rice Research Institute. 2002. *Standard Evaluation System (SES) for Rice*. International Rice Research Institute (IRRI). Philippines. 33 p.
- Ismunadji M. 1990. Alleviating iron toxicity in lowland rice. *Indo Agric Res Develov J* 14:67-72.
- Makarim AK, Sudarman O, Supriadi H. 1989. Status hara tanaman padi berkeracunan besi di daerah Batumarta, Sumatera Selatan. *J Penel Pert* 9:166-170.
- [Puslitbangtan] Puslitbang Tanaman Pangan. 2005. Peluang menuju swasembada beras berkelanjutan. *Warta Penel Pengem Pert* 27(5):12-14.
- Suhartini T, Suwarno, Syafaruddin. 1996. Pendugaan parameter genetika toleran keracunan besi pada padi sawah melalui analisis dialel. *Zuriat* 7:33-40.
- Suhartini T. 2004. Perbaikan varietas padi untuk lahan keracunan Fe. *Bul Plas Nut* 10:1-11.
- Syam M, Suparyono, Hermanto, Wuryandari D. 2007. *Masalah Lapang Hama, Penyakit, dan Hara pada Padi Cet. Ketiga*. Penerbit: Puslitbang Tanaman Pangan dengan beberapa Balai Pengkajian Teknologi Pertanian dan IRRI. Bogor. Hal. 72-73.
- [TSK] Tim Sintesis Kebijakan. 2008. Pemanfaatan lahan sulfat masam berwawasan lingkungan dalam mendukung peningkatan produksi beras. *Pengemb Inov Pert* 1:129-131
- Tadano T. 1976. Studies on the method to prevent iron toxicity in the lowland rice. *Mementos of the Faculty of Agriculture Hokkaido University* 10:22-68.
- Utari RS, Riyanto A. 2008. Serapan Fe, K, dan kandungan klorofil tanaman padi pada kondisi tercekam Fe. *J Penel Infor Pert* 12(1):78-85.
- Yandha, Yusuf A. 1993. Toleransi tiga varietas padi sawah terhadap keracunan besi. *Bul Pert* 12: 23-27.
- Yamanouchi M, Yoshida S. 1981. Physiological mechanisms of rice's tolerance for iron toxicity. *Paper presented at the IRRI Saturday Seminar June 6 1981*. The International Rice Research Institute Manila The Philippines.
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice 3rd Ed*. International Rice Research Institute, Los Banos, The Philippines. 83 p.
- Yoshida S. 1981. *Fundamental of Rice Crop Science*. International Rice Research Institute, Los Banos, The Philippines. 269 p.

INTERAKSI KULTUR TUNAS IN VITRO *Aquilaria* spp. DENGAN HIFOMISET (*Acremonium* spp. DAN *Fusarium* spp.) ASAL BANGKA

Riana Murti Handayani¹, Gayuh Rahayu¹, Jonner Situmorang²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. ²SEAMEO BIOTROP, Bogor.

Abstract

Agarwood resin was formed as a response of agarwood tree (*Aquilaria* spp.) to hyphomycetes infection. Eight isolates of hyphomycetes (5 isolates *Acremonium* spp. and 3 isolates *Fusarium* spp.) from Bangka's agarwood were interacted with in dual culture of shoot *Aquilaria crassna* klon AC8, *A. malaccensis* klon PD, *A. microcarpa* klon CD in media 50% modified-Murashige-Skoog agar. Hyphomycetes response towards the presence of shoot and shoot response towards hyphomycetes, fragrance index and the presence of terpenoid substance were observed for 4 weeks interaction. The presence of shoot affected the growth of hyphomycetes. All hyphomycetes caused all clones of the shoot death at fourth week of interaction. *Acremonium* L, *Fusarium* A, B, and D induced fragrance formation. The fragrance level was in moderate level (score 1 out of 3) of those isolates, *Acremonium* L might induce fragrance formation in all clones of shoot. Sterol was detected both in interacted and control shoots of *A. malaccensis* and *A. microcarpa*.

Keywords: *Acremonium* sp, *Fusarium* sp., *Aquilaria* spp., shoot , dual culture

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Aquilaria spp. merupakan pohon penghasil gubal gaharu. Gubal gaharu merupakan sejenis kayu dengan berbagai bentuk dan warna yang khas, serta memiliki kandungan kadar damar wangi. Gubal gaharu terbentuk akibat proses pelukaan dan infeksi mikroba, serta senyawa kimia (Nobuchi & Siripatanadilok 1999). Beberapa cendawan yang tergolong hifomiset dan dapat menginduksi pembentukan senyawa gaharu telah berhasil diisolasi dari pohon gaharu, antara lain *Acremonium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Diplodia*, *Scytalidium*, dan *Thielaviopsis* (Rahayu *et al.* 1999).

Senyawa gaharu mengandung komponen senyawa volatil yang wangi. Produksi wangi khas gaharu ini dapat dirangsang secara *in vitro* melalui interaksi kultur ganda (IKG) antara tunas dengan hifomiset (Rahayu *et al.* 2001). *Acremonium* dapat menginduksi pembentukan senyawa wangi khas gaharu pada tunas *A. malaccensis*

(Sepriana 2003), *A. microcarpa* (Kartika 2003), *A. crassna* dan *A. filaria* (Herawati 2004), sedangkan *Fusarium oxysporum* diketahui mampu menginduksi wangi khas gaharu pada tunas *A. microcarpa* klon Ami5 (Nurhayati 2004).

Penelitian terkait galur-galur baru yang potensial untuk menginduksi pembentukan gubal gaharu serta meningkatkan mutu gaharu perlu dilakukan. Beberapa isolat *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. yang berasosiasi dengan gejala pembentukan gubal gaharu asal Bangka telah dikoleksi. Potensi isolat-isolat ini dalam menginduksi pembentukan gubal gaharu belum diketahui. Potensi isolat ini dapat dipelajari dalam proses interaksi antara isolat tersebut dengan kultur tunas *in vitro Aquilaria* spp.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari sifat interaksi antara *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. asal Bangka dengan tunas kultur *in vitro* beberapa klon *Aquilaria* spp.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Sumber eksplan adalah 3 klon *Aquilaria* spp. yaitu *A. crassna* klon AC8, *A. malaccensis* klon CD, dan *A. microcarpa* klon PD dari kultur *in vitro* koleksi Laboratorium *Biotechnology and Tree Breeding*, SEAMEO BIOTROP. Hifomiset penginduksi adalah cendawan *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. asal Bangka, koleksi *Institut Pertanian Bogor Culture Collection* (IPBCC) Departemen Biologi FMIPA IPB.

2.2. Metode

2.2.1. Perbanyak Tunas

Perbanyak tunas dilakukan dengan metode mikropropagasi (Situmorang 2000), selama kurang lebih 4 bulan, hingga tinggi tunas mencapai 3-5 cm.

2.2.2. Persiapan Inokulum Cendawan

Persiapan inokulum meliputi peremajaan cendawan pada agar sukrosa kentang (ASK) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari.

2.2.3. Interaksi Kultur Ganda

Interaksi kultur ganda (IKG) antara tunas dengan hifomiset pada medium IKG berupa agar MSmod 50% (Kartika 2003). Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan hifomiset, persentase kematian tunas dan tingkat wangi gaharu yang terbentuk pada setiap cawan. Pengukuran pertumbuhan hifomiset berakhir ketika miselium telah bersentuhan (kontak) dengan tunas. Diameter

cendawan dikonversi ke dalam radius koloni cendawan menggunakan rumus :

$$\boxed{Ra = \frac{dt + dl}{4}} \quad \text{atau} \quad \boxed{Ra = \frac{(dt - 2,2) + dl}{3}, \text{ jika } dt > 4 \text{ cm}} \quad (\text{modifikasi Peters et al. 1998})$$

Pengamatan persentase kematian tunas dilanjutkan hingga kematian tanaman mencapai 100%. Penghitungan persentase kematian tunas dengan menggunakan rumus:

$$\boxed{\% \text{ KT} = \frac{\text{Jumlah daun klorosis}}{\text{Jumlah daun}} \times 100 \%}$$

Keterangan :
KT = kematian tunas

Pada akhir masa inkubasi, tingkat wangi diamati secara organoleptik. Tingkat wangi gaharu ditetapkan berdasarkan sistem skor (0= tidak wangi, 1=agak wangi, 2=wangi dan 3=sangat wangi) dan dinyatakan dalam rata-rata nilai skor dari 3 responden.

2.2.4. Ekstraksi dan Analisis Senyawa Terpenoid

Setelah masa pengamatan tingkat wangi berakhir, tunas-tunas yang mengeluarkan aroma dari masing-masing perlakuan ditimbang untuk mengetahui bobot minimal biomassa tunas yang dapat diekstraksi. Tunas hasil interaksi diekstrak untuk mengetahui kandungan senyawa terpenoid dengan menggunakan Uji Lieberman-Burchard. Perubahan warna ekstrak menjadi merah coklat menunjukkan triterpenoid sedangkan biru kehijauan mengindikasikan adanya kandungan sterol (Harborne 1987).

Senyawa terpenoid pada hasil uji Lieberman-Burchard dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi terpenoid ini ditetapkan berdasarkan konversi nilai absorbansi ekstrak tunas pada kurva standar terpenoid. Konsentrasi terpenoid pada kurva standar dibuat dengan menggunakan terpenoid minyak gaharu.

2.2.5. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu hifomiset (8 taraf) dan tunas (3 taraf). Masing-masing perlakuan terdiri atas 3 ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan program SAS 9.1. Nilai yang berbeda nyata diuji lanjut dengan Uji *Duncan's Multiple Range*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pertumbuhan Hifomiset

Pertumbuhan hifomiset *Acremonium* sp. lebih cepat daripada *Fusarium* sp.. Radius koloni *Acremonium* sp. berkisar antara 1,87 – 4,77 cm, sedangkan radius koloni *Fusarium* sp. mencapai 1.88 - 2,27 cm dalam dua minggu inkubasi. Satu isolat yaitu *Acremonium* G

tergolong sebagai hifomiset yang cepat tumbuh, sedangkan *Acremonium* L serta *Fusarium* B dan D adalah isolat yang relatif paling lambat tumbuh (Tabel 1). Pertumbuhan *Acremonium* G dua kali lebih cepat dan sangat berbeda dari isolat lainnya.

Tabel 1 Pertumbuhan hifomiset

Interaksi		Radius koloni pada hari ke-		
		7	14	
Tanpa tunas	<i>Acremonium</i>	F	1,03f	2,30e
		G	2,87b	4,77b
		I	0,93gh	2,33c
		L	0,98fg	1,87gh
		N	1,55c	2,60d
	<i>Fusarium</i>	A	1,15d	2,27e
		B	1,00f	1,88gh
		D	1,10e	1,98fg
		Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.		
		Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.		
Tunas	<i>Acremonium</i>	F	1,13e	2,58d
		G	3,02a	4,94a
		I	1,02f	2,39e
		L	1,03f	1,96g
		N	1,51c	3,05c
	<i>Fusarium</i>	A	1,15e	2,36e
		B	0,89h	1,80h
		D	1,22d	2,11f
		Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.		
		Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.		

Tabel 2. Pengaruh klon pada pertumbuhan *Acremonium* dan *Fusarium*

Klon planlet	Radius koloni pada interaksi 14 hari interaksi	
	<i>Acremonium</i>	<i>Fusarium</i>
AC8	3.01b	2.11e
CD	2.92c	2.06f
PD	3.03a	2.11e
kontrol	2.77d	2.04g

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.

Secara umum, keberadaan tunas hanya merangsang pertumbuhan *Acremonium* (F, G, I dan N) secara nyata, sedangkan pertumbuhan *Acremonium* L dan semua *Fusarium* tidak dipengaruhi oleh keberadaan tunas. Semua klon tunas merangsang pertumbuhan *Acremonium* dan *Fusarium* secara nyata (Tabel 2). *A. microcarpa* PD merangsang pertumbuhan koloni kedua hifomiset tersebut lebih tinggi daripada klon lainnya.

Pertumbuhan beberapa isolat *Acremonium* secara nyata dirangsang oleh keberadaan tunas. Peters *et al.* (1998) menyatakan bahwa kalus *Teurium scorodonia* akan menekan pertumbuhan cendawan endofit, *Coniothyrium palmarum*, karena *T. scorodonia* bukan inang dari *C. palmarum*. Pertumbuhan cendawan diduga dipengaruhi oleh adanya metabolit yang diproduksi oleh tunas. Adanya kalus dan cairan yang dikeluarkan kalus-kalus *A. malaccensis*, *A. filaria*, *A. crassna* dapat menghambat aktivitas pertumbuhan koloni *Thielaviopsis paradoxa*. Perbedaan klon juga berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan hifomiset dalam interaksi (Rostika 1998). Sepriana (2003) menyatakan bahwa perbedaan klon tunas *A. malaccensis* mempengaruhi pertumbuhan *Acremonium*. Kecepatan pertumbuhan isolat *Atkinsonella* dipengaruhi oleh tipe kalus yang berbeda (Lu & Clay 1994).

3.2. Kematian Tunas

Kematian tunas *Aquilaria* spp. merupakan akibat infeksi hifomiset. Infeksi ini menyebabkan perubahan warna daun, daun gugur, dan akhirnya planlet mati. Kartika (2003) mengungkapkan bahwa interaksi tunas gaharu dengan *Acremonium* menyebabkan terjadinya perubahan warna jaringan tanaman dari hijau menjadi kuning kecokelatan atau coklat, dan akhirnya menyebabkan kematian tunas. Tunas mati beberapa hari setelah kontak dengan hifomiset. Kecepatan tunas mati bergantung pada cendawannya (Tabel 3). Hartana (2004) menyatakan bahwa kematian tunas disebabkan oleh cendawan, dan dipengaruhi oleh jumlah komponen cendawan dalam interaksi. Kematian tunas tertinggi dialami oleh tunas *A. crassna* klon AC8 yang diinteraksikan dengan *Acremonium* F dan I, *A. malaccensis* klon CD dengan *Acremonium* N, *Fusarium* A dan D, serta *A. microcarpa* klon PD yang diinteraksikan dengan *Acremonium* G, dan I, dan *Fusarium* A.

Tabel 3 Kematian tunas interaksi kultur ganda dengan berbagai isolat pada minggu ke-3 interaksi

Klon tunas	Kematian tunas (%) pada interaksi tunas dengan								Kontrol
	<i>Acremonium</i>				<i>Fusarium</i>				
	F	G	I	L	N	A	B	D	
AC8	100,00a	81,30e	100,00a	40,70k	52,00i	96,30b	37,00l	51,70j	0,00p
CD	89,00d	96,30b	96,30b	63,00h	100,00a	100,00a	14,70o	100,00a	0,00p
PD	92,70c	100,00a	100,00a	33,30m	77,70g	100,00a	33,00n	78,00f	0,00p

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.

3.3. Tingkat Wangi

Pembentukan wangi dipengaruhi oleh cendawan dan tidak dipengaruhi oleh klon tunas. Aroma khas gaharu merupakan wangi yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder yang terakumulasi dalam tubuh tumbuhan sebagai respon tunas *Aquilaria* spp. terhadap infeksi cendawan. *Acremonium* L, dan semua *Fusarium* mampu merangsang pembentukan wangi khas gaharu pada kategori agak wangi. *Acremonium* L mampu menginduksi wangi pada semua klon. *Acremonium* L mampu menginduksi wangi pada semua klon dengan skor wangi berkisar antara 1,22-1,33. Kemampuan *Fusarium* dalam menginduksi wangi bervariasi berdasarkan klon tunas pasangannya. *Fusarium* A mampu menginduksi wangi pada klon CD dan PD. *Fusarium* B dan D hanya mampu menginduksi wangi pada satu klon, yaitu yang diinteraksikan berturut-turut dengan klon PD dan CD. Pada penelitian sebelumnya, *Acremonium* F dan M dilaporkan mampu menginduksi wangi pada beberapa klon *Aquilaria* spp. (Sepriana 2003; Kartika 2003; Herawati 2004). Beberapa spesies *Fusarium* juga dilaporkan dapat menginduksi wangi (Agustini *et al.* 2006).

Tabel 4. Tingkat wangi gaharu pada interaksi hifomiset dengan tunas *Aquilaria* spp. pada minggu ke-4.

Klon planlet	Tingkat wangi (skor) pada interaksi kultur ganda tunas dengan							
	<i>Acremonium</i>					<i>Fusarium</i>		
	F	G	I	L	N	A	B	D
AC8	0,78g	0,11n	0,11n	1,22c	0,67h	0,67h	0,11n	0,00o
CD	0,78g	0,00o	0,56i	1,22c	0,44k	1,22c	0,22m	1,33b
PD	0,33l	0,00o	0,78f	1,33b	0,89e	1,11d	1,56a	0,55j
Kontrol	0,00o	0,00o	0,00o	0,00o	0,00o	0,00o	0,00o	0,00o

Keterangan: Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5 %.

3.4. Analisis Terpenoid

Uji Lieberman-Burchard dilakukan untuk menganalisis kandungan triterpenoid pada tunas yang telah diberi perlakuan. Hasil uji Liebermann-Burchard menunjukkan bahwa ekstrak berwarna hijau, mengindikasikan adanya sterol, dengan konsentrasi bervariasi antara 6,09-48,25 ppm (Tabel 5).

Pada kontrol, hasil ekstraksi tunas *A. crassna* dalam uji Liebermann-Burchard berbeda dari hasil ekstraksi tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa*. Ekstrak tunas *A. crassna* agak bening (absorbansi = 0,129), sedangkan ekstrak tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa* berwarna hijau berturut-turut nilai absorbansinya 0,383 dan 0,444 (Tabel 5). Hal ini menunjukkan sterol merupakan komponen non-induksi dari tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa*, serta menjadi komponen induksi pada tunas *A. crassna*, karena kandungan sterol pada tunas *A. crassna* meningkat ketika diinteraksikan dengan

Acremonium atau *Fusarium*. Hal ini berbeda dengan *A. malaccensis* dan *A. microcarpa* ketika diinteraksikan dengan *Acremonium* atau *Fusarium*, pada kedua tunas ini, konsentrasi sterol kebanyakan kurang dari kontrol. Tunas *A. malaccensis* yang diinteraksikan dengan *Fusarium* B, dan tunas *A. microcarpa* yang diinteraksikan dengan *Acremonium* L meningkat kadar sterolnya. Data penelitian ini, menunjukkan bahwa ekstraksi tunas menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak dengan kandungan sterol pada tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa*, sedangkan ekstraksi tunas *A. crassna* tidak mengandung sterol. Grunwald (1970) dan Subekti (2007) juga mengekstraksi sterol berturut-turut dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) dan katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr), sehingga sterol diduga dapat merupakan komponen non-induksi dari tunas *Aquilaria* spp. Namun, sterol hanya merupakan komponen non-induksi dari tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa*. Pada tunas *A. crassna* sterol merupakan komponen hasil induksi. Sterol memiliki peran penting dalam mempertahankan integritas struktural dari struktur membran pada organisme dan berperan terhadap permeabilitas membran yaitu membantu dalam regulasi berbagai ion (Mann 1987). Putri *et al.* (2008) menyatakan bahwa pada *A. crassna* sehat terdapat deposit pati yang akan diubah menjadi lipid atau terpenoid ketika *A. crassna* diinduksi oleh *Acremonium*. Sterol merupakan lipid yang terikat dengan terpenoid (Harborne 1987). Hifomiset penginduksi wangi (*Acremonium* L, *Fusarium* A, B, dan D), merangsang pembentukan sterol pada *A. crassna*. Namun, hanya *Fusarium* B yang merangsang pembentukan sterol pada tunas *A. malaccensis* dan hanya *Acremonium* L yang merangsang sterol pada tunas *A. microcarpa*. Yunita (2009) menunjukkan bahwa senyawa sterol terdeteksi pada perlakuan tunggal *Acremonium* sp. atau metil jasmonat dan perlakuan kombinasinya terhadap *A. microcarpa* dalam uji Liebermann-Burchard. Pada penelitian Yunita (2009) ini, perlakuan-perlakuan yang merangsang pembentukan sterol juga merangsang pembentukan wangi pada kategori agak wangi.

Tabel 5 Kandungan sterol sampel berdasarkan nilai absorbansi pada spektrofotometer

Sampel	Absorbansi (A)	Konsentrasi (ppm)	Sampel	Absorbansi (A)	Konsentrasi (ppm)
AC8*AF	0,193	16,09	CD*AN	0,375	31,25
AC8*AG	0,275	22,92	CD*FA	0,330	27,50
AC8*AI	0,319	26,59	CD*FB	0,396	33,00
AC8*AL	0,231	19,25	CD*FD	0,221	18,42
AC8*AN	0,518	43,17	PD*AF	0,073	6,09
AC8*FA	0,162	13,50	PD*AG	0,269	22,42
AC8*FB	0,435	36,25	PD*AI	0,301	25,09
AC8*FD	0,455	37,92	PD*AL	0,579	48,25
CD*AF	0,133	11,09	PD*AN	0,316	26,34
CD*AG	0,156	13,00	PD*FA	0,409	34,09
CD*AI	0,269	22,42	PD*FB	0,182	15,17
CD*AL	0,156	13,00	PD*FD	0,286	23,84

4. KESIMPULAN

Keberadaan tunas dapat mempengaruhi pertumbuhan cendawan. Semua cendawan asal gaharu menyebabkan kematian tunas semua klon pada minggu ke-4 interaksi. Beberapa isolat cendawan diantaranya *Acremonium* L, *Fusarium* A, B, dan D menyebabkan pembentukan wangi pada tunas. Wangi yang terbentuk pada tingkat agak wangi (skor 1 dari 3). *Acremonium* L merupakan cendawan yang memiliki spektrum induksi wangi pada semua klon tunas. Kandungan sterol terdeteksi pada semua interaksi dan pada kontrol tunas *A. malaccensis* dan *A. microcarpa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini L, Dono W, Erdy S. 2006. Keanekaragaman jenis jamur yang potensial dalam pembentukan gaharu dari batang *Aquilaria* spp. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 5 Vol. III : 555-564.
- Grunwald C. 1970. Sterol distribution in intracellular organelles isolated from tobacco leaves. *Plant Physiol* 45: 663-666.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Kosasih P dan Iwang S, penerjemah; Niksolihin S, editor. Bandung : Institut Teknologi Bandung Press. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hartana DS. 2004. Interaksi tunas gaharu (*Aquilaria* spp.) dengan cendawan dalam inokulum campuran [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Herawati Y. 2004. Interaksi kultur ganda antara hifomiset dan tunas *Aquilaria* spp. [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Kartika T. 2003. Interaksi kultur ganda antara *Aquilaria microcarpa* dan *Acremonium* sp. pada berbagai konsentrasi media [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Lu M, Clay K. 1994. Differential growth of *Atkinsonella* species on host grass calli. *Mycologia* 86: 667-673.
- Mann J. 1987. *Secondary Metabolism*. New York: Oxford University Press.
- Nobuchi T, Siripatanadilok S. 1991. Preliminary observation of *Aquilaria crassna* wood associated with the formation of aloeswood. *Bull the Kyoto University Forest* 63:226-235.
- Nurhayati N. 2004. Kesesuaian beberapa hifomiset dengan *Aquilaria microcarpa* klon Ami5 dan Ami6 [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Peters S, Draeger S, Aust HJ, Schulz B. 1998. Interaction in dual cultures of endophytic fungi with host and nonhost plant calli. *Mycologia* 90: 360-367.
- Putri AL, G Rahayu, Juliarni. 2008. Induksi pembentukan senyawa terpenoid pada pohon gaharu (*Aquilaria crassna*) dengan *Acremonium* sp. dan metil jasmonat. *Enviagro 2* : 23-28.

- Rahayu G, Isnaini Y, Umboh MIJ. 1999. Potensi beberapa hifomiset dalam induksi gejala pembentukan gubal gaharu. Di dalam Peran Fitopatologi Tropika dalam Pembangunan Pertanian dan Kehutanan yang Berkelanjutan. Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI; Purwokerto, 16-18 September 1999. Purwokerto : Universitas Jenderal Soedirman. Hlm 579-581.
- Rahayu G, Khayrunnissa S, dan A Nuryadi. 2001. Kultur ganda eksplan *Aquilaria* dan *Gyrinops* dengan beberapa isolat hifomiset asal pohon gaharu : sifat interaksi dan pembentukan senyawa gaharu. Seminar Regional V Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Yogyakarta.
- Rostika R. 1998. Interaksi *Thielaviopsis paradoxa* dengan kalus *Aquilaria* spp. [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Sepriana A. 2003. Interaksi tunas *Aquilaria malaccensis* dengan *Acremonium* sp. pada berbagai konsentrasi media secara *in vitro* [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Situmorang J. 2000. Mikropropagasi kayu gaharu (*Aquilaria* spp.) asal Riau serta identifikasi sifat genetiknya berdasarkan analisa isoenzim [Thesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Program Pascasarjana.
- Subekti S. 2007. Komponen sterol dalam ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) [Disertasi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Program Pascasarjana.
- Yunita L. 2009. Efektivitas *Acremonium* sp. dan metil jasmonat dalam peningkatan mutu gaharu asal *Aquilaria microcarpa* [skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

TEKNIK PERKECAMBAHAN DAN RESPON BEBERAPA AKSESI JARAK PAGAR TERHADAP APLIKASI PUPUK HAYATI SELAMA PEMANTAPAN BIBIT

Ahmad Bashri¹, Hamim², Nampiah Sukarno²

¹ Mahasiswa S2 Mayor Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana IPB

² Staf Pengajar Departemen Biologi, FMIPA IPB

Abstrak

Jarak pagar merupakan salah satu tanaman yang bijinya potensial untuk bahan bakar alternatif (*biofuel*). Penyiapan perkecambahan dan pemantapan bibit sebelum ditanam di lapangan merupakan langkah penting bagi keberhasilan tanaman jarak pagar di lapang. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan teknik perkecambahan yang tepat dan melihat respon beberapa aksesori jarak pagar fase bibit terhadap aplikasi pupuk hayati selama pemantapan bibit. Penelitian terdiri dari dua percobaan yaitu (1) pemilihan teknik perkecambahan biji jarak pagar dan (2) analisis respon beberapa aksesori jarak pagar terhadap aplikasi pupuk hayati. Pada percobaan perkecambahan digunakan 3 faktor yaitu media perendaman dengan 3 taraf (a) lumpur kubangan sapi, (b) air suhu kamar, dan (c) air hangat suhu 60°C. Faktor kedua adalah lama perendaman yaitu: 12 jam, 18 jam, dan 24 jam. Faktor ketiga yaitu media perkecambahan berupa tanah:kompos (2:1) dan kain handuk. Biji jarak pagar yang digunakan untuk perkecambahan adalah aksesori IP3A. Pada percobaan perlakuan pupuk digunakan 2 faktor yaitu jenis aksesori dan variasi pupuk. Aksesori yang digunakan adalah aksesori Sumbang 1, Jateng 2, Jawa Barat, dan Banten 3 yang diperoleh dari Kebun Induk Jarak Pagar Pakuwon Sukabumi. Sedangkan perlakuan pupuk meliputi (1) tanpa pupuk, (2) pupuk hayati cendawan mikoriza arbuskula (CMA), (3) pupuk hayati *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), (4) kombinasi CMA dan PGPR, dan (5) pupuk NPK. Hasil percobaan perkecambahan menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan media perendaman air suhu kamar selama 24 jam dalam media kain handuk dapat mencapai perkecambahan 100%. Sementara perkecambahan pada media tanah hanya mencapai perkecambahan 53%. Pada pembibitan selama 40 hari menunjukkan bahwa perlakuan pupuk hayati CMA dan kombinasi CMA dengan PGPR memberikan respon pertumbuhan vegetatif lebih baik dibandingkan perlakuan yang lain. Sedangkan aksesori B3 dan JB mempunyai respon yang paling baik dibandingkan aksesori lainnya.

Kata kunci: jarak pagar, perkecambahan, pupuk hayati

1. PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman yang bijinya potensial sebagai bahan bakar alternative, *biodiesel* (Openshaw 2000; Augustus *et al.* 2002), meskipun upaya pemanfaatannya secara komersial masih menjadi tantangan (Sujatha *et al.* 2008). Untuk memperoleh keberhasilan tanaman jarak pagar di lapangan serta menghasilkan biji yang berkualitas diperlukan penyiapan perkecambahan dan pemantapan bibit sebelum di tanam di lapangan. Perbanyak tanaman jarak pagar

melalui biji seringkali menghadapi kendala antara lain perkecambahan biji yang rendah. Rendahnya perkecambahan ini diduga karena adanya sifat dormansi biji khususnya setelah disimpan pada kadar air yang rendah. Oleh karenanya perlakuan untuk menjaga tingginya perkecambahan menjadi sangat penting.

Selain itu pemantapan selama pembibitan dan awal pertanaman di lapang juga sangat menentukan keberhasilan pertanaman di lapang selanjutnya. Beberapa percobaan mengindikasikan bahwa pemanfaatan tanaman khusus batang bawah (*rootstock*) yang memiliki ketahanan menjadi suatu alternative bagi penanaman jarak pagar pada lahan marginal ke depan (Hamim *et al.* 2009). Seleksi terhadap aksesori jarak pagar untuk batang bawah (*rootstock*) juga telah dilakukan dan menghasilkan beberapa aksesori yang potensial untuk tanah berat dan tanah berbatu, diantaranya adalah aksesori S1, S2, J2, J3, B3, dan JB (Hamim *et al.* 2009).

Penggunaan pupuk organik dan pupuk hayati (*biofertilizer*) pada jarak pagar juga sangat prospektif kedepan sehingga dapat mengurangi ketergantungan sector perkebunan terhadap pupuk anorganik dengan tetap mempertahankan produksi yang tinggi. Bahkan pupuk hayati direkomendasikan sebagai pupuk yang aman untuk lingkungan dan sesuai untuk aktivitas budidaya tanaman yang berkelanjutan.

Cendawan mikoriza arbuskula (CMA) adalah pupuk hayati yang potensial karena mampu menyediakan nutrisi bagi inang khususnya fosfor, penyediaan air bagi akar, stabilisasi lahan, dan meningkatkan toleransi tanaman (Smith & Read 1997). *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) merupakan bakteri-bakteri yang mampu menjadi promotor pertumbuhan tanaman akibat aktivitas penyediaan hara. Penggunaan pupuk hayati PGPR yang mengandung campuran isolat bakteri *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, dan *Bacillus* dapat memacu pertumbuhan vegetatif dan reproduktif tanaman khususnya pada beberapa tanaman budidaya. Pupuk hayati PGPR dapat meningkatkan ukuran tongkol dan bobot biji jagung dan jumlah serta bobot buah tomat. Pada tanaman kentang, penambahan pupuk hayati selain meningkatkan produksi umbi, juga dapat meningkatkan jumlah umbi berukuran besar (Hamim *et al.* 2007). Pupuk PGPR dapat berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman karena pupuk ini mengandung bakteri penambat N dan pelarut K. Namun penggunaan pupuk hayati berbasis PGPR tersebut belum dilakukan pada tanaman keras seperti jarak pagar.

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan teknik perkecambahan yang tepat dan melihat respon beberapa aksesori jarak pagar fase bibit terhadap aplikasi pupuk hayati berbasis cendawan mikoriza dan PGPR selama pemantapan bibit.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu, Tempat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Juli sampai Agustus 2010, bertempat di rumah kaca Departemen Biologi FMIPA IPB. Biji jarak pagar yang digunakan untuk teknik perkecambahan adalah IP3A sedangkan untuk percobaan respon perlakuan pupuk selama pembibitan digunakan 4 aksesori jarak pagar terpilih hasil penelitian Hamim *et al.* (2009) yang diperoleh dari Kebun Induk Jarak Pagar Pakuwon Sukabumi, yaitu Sumbar 1, Jateng 2, Jawa Barat, dan Banten 3. Pupuk hayati yang digunakan adalah cendawan mikoriza arbuskula (CMA) koleksi PPSHB IPB dan PGPR (campuran isolat bakteri *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Bacillus* sp.) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA IPB.

2.2. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan rancangan Split-Plot Acak Kelompok. Percobaan teknik perkecambahan digunakan 3 faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah media perendaman dengan 3 taraf: (a) lumpur kubangan sapi, (b) air suhu kamar, dan (c) air hangat suhu 60⁰C. Faktor kedua adalah lama perendaman yaitu: 12 jam, 18 jam, dan 24 jam. Faktor ketiga adalah media perkecambahan berupa tanah:kompos (2:1) dan kain handuk. Pada percobaan respon beberapa aksesori jarak pagar terhadap pupuk hayati digunakan 2 faktor dengan 17 ulangan. Faktor pertama adalah aksesori jarak pagar dengan 4 taraf: Sumbar 1 (S1), Jateng 2 (J2), Jawa Barat (JB), dan Banten 3 (B3). Faktor kedua adalah pupuk dengan 5 taraf: tanpa pupuk (P0), CMA (P1), PGPR (P2), kombinasi CMA dengan PGPR (P3), dan pupuk NPK (P4). Media yang digunakan adalah tanah:kompos (2:1). Konsentrasi CMA sebanyak 70 g per 900 g media (7,8%), PGPR sebanyak 7 g per 900 g media (0,78%), dan NPK 0,4 g per 900 g media.

2.3. Analisis Hasil Perkecambahan Biji Jarak Pagar

Hasil perkecambahan jarak pagar dihitung mulai hari ke-1 sampai hari ke-14 setelah dikecambahkan dalam media perkecambahan. Total biji yang telah pecah dan keluar bakal akar dihitung kecepatan tumbuh per hari dan total perkecambahannya.

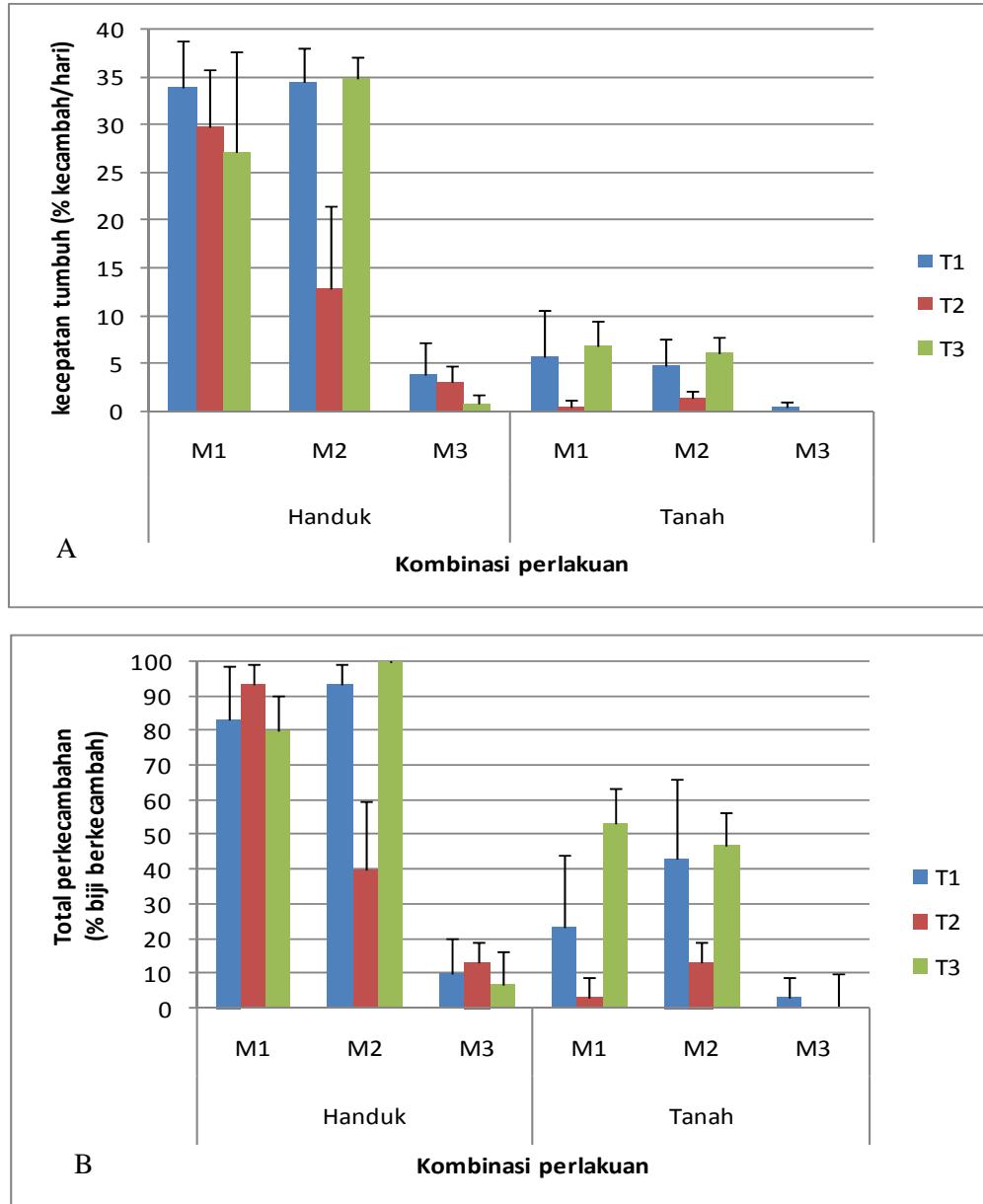
2.4. Analisis Pertumbuhan Tanaman Jarak Pagar

Pengamatan pertumbuhan tanaman dilakukan setiap minggu sekali selama 40 hari. Aspek pertumbuhan yang diamati adalah pertumbuhan vegetatif tanaman, yaitu tinggi tajuk, diameter batang, jumlah daun, panjang dan lebar daun, jumlah cabang, panjang dan jumlah akar primer, panjang dan jumlah akar sekunder, serta bobot kering akar dan tajuk.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Teknik Perkecambahan Jarak Pagar

Hasil perkecambahan biji jarak pagar selama 14 hari sebagaimana Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh kombinasi perlakuan media perendaman (M), waktu perendaman (T) dan media perkecambahan (handuk-tanah) terhadap kecepatan tumbuh (grafik A) dan total perkecambahan biji jarak pagar (grafik B)

Gambar 1 memperlihatkan bahwa kecepatan tumbuh biji jarak pagar (% biji berkecambah/hari) lebih tinggi pada media handuk yang direndam pada lumpur kubangan sapi dan air suhu kamar. Perendaman selama 24 jam pada air suhu kamar dalam media handuk mencapai kecepatan tumbuh tertinggi (35% biji berkecambah/hari). Sementara kecepatan tumbuh pada media tanah hanya mencapai maksimum 7% per hari pada

perendaman lumpur kubangan sapi selama 24 jam. Perkecambahan maksimum terjadi pada media perendaman air suhu kamar selama 24 jam dalam media kain handuk basah sebesar 100%. Selanjutnya 93% media perendaman lumpur kubangan sapi selama 18 jam dalam media kain handuk basah serta media perendaman air suhu kamar selama 12 jam dalam media kain handuk basah. Media tanah hanya menghasilkan perkecambahan sebesar 53%. Hasil ini berbeda dengan laporan Achten *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa perendaman menggunakan media lumpur kubangan sapi dapat meningkatkan perkecambahan biji jarak pagar sampai 96% dimana perendaman pada media air suhu kamar selama 24 jam hanya sebesar 72%.

3.2. Respon Beberapa Aksesi Jarak Pagar terhadap Aplikasi Pupuk Hayati

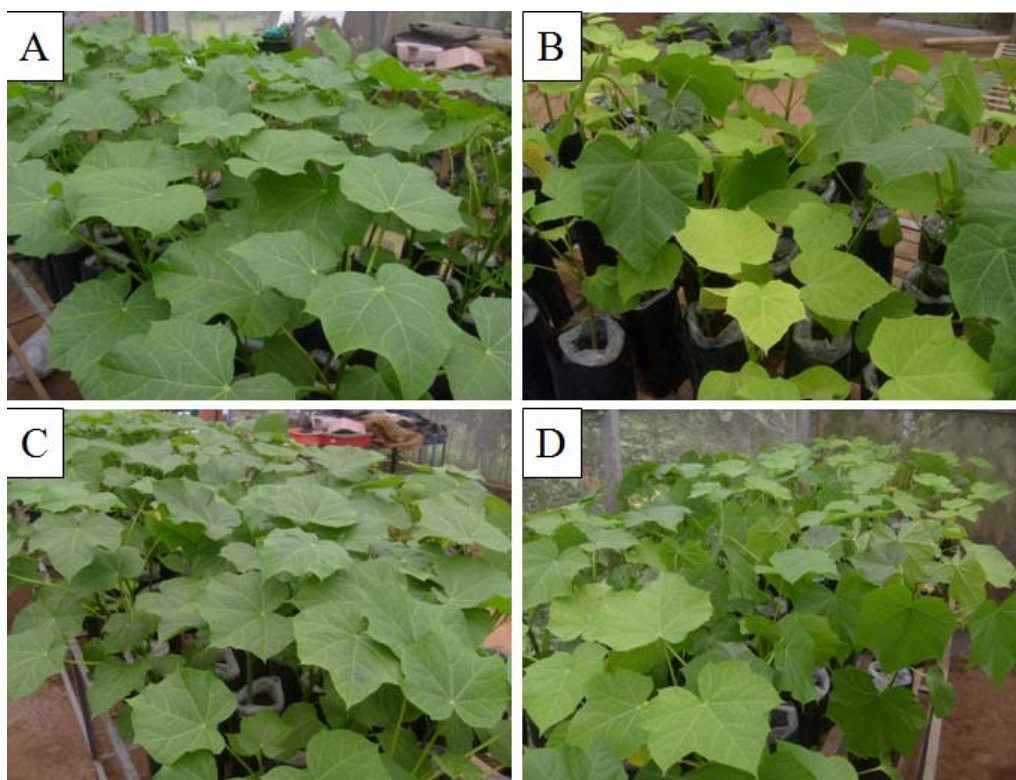
Jenis perlakuan pupuk menghasilkan respon yang berbeda-beda pada setiap peubah yang diamati (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh perlakuan pupuk terhadap komponen pertumbuhan pada empat aksesi jarak pagar

Komponen Pertumbuhan	Perlakuan Pupuk				
	P0	P1	P2	P3	P4
Bobot kering tajuk (g)	4,10±0,51	6,03±1,95	3,59±1,35	5,79±1,93	3,99±1,25
Jumlah daun (helai)	5,01±1,51	7,84±0,48	5,15±1,60	7,51±0,40	5,71±1,57
Jumlah cabang	-	0,01±0,03	0,03±0,06	0,01±0,03	-
Tinggi tanaman (cm)	18,92±4,27	27,12±1,31	19,56±4,14	27,58±1,67	20,77±5,12
Diameter batang (mm)	8,07±0,60	8,99±0,85	8,29±0,17	8,71±0,62	7,92±0,50
Panjang daun (cm)	8,79±0,69	9,70±0,59	9,27±0,88	9,83±0,33	9,27±1,17
Lebar daun (cm)	10,02±0,81	11,30±0,43	10,49±1,5	11,36±0,32	10,57±1,34
Panjang akar primer (cm)	11,35±2,94	11,13±1,31	11,14±1,10	11,05±0,60	11,12±1,21
Panjang akar sekunder (cm)	7,69±1,90	8,02±0,42	7,95±0,35	8,49±0,38	7,89±1,13
Bobot kering akar (g)	0,25±0,05	0,23±0,04	0,24±0,07	0,21±0,03	0,22±0,05

Data merupakan rata-rata dari 68 ulangan pada 4 aksesi jarak pagar

Perlakuan pupuk hayati CMA (P1) dan pupuk hayati CMA dengan PGPR (P3) memberikan respon lebih tinggi pada peubah bobot kering tajuk, jumlah daun, tinggi tanaman, diameter batang, panjang dan lebar daun, dan panjang akar sekunder. Sementara perlakuan pupuk hayati PGPR (P2) tidak menghasilkan respon yang lebih baik dibandingkan kontrol (P0 dan P4) kecuali pada peubah diameter batang (Tabel 1).



Gambar 2. Respon morfologi beberapa aksesii jarak pagar terhadap perlakuan pupuk CMA (A), PGPR (B), CMA dan PGPR (C), dan NPK (D).

Rendahnya respon pupuk hayati PGPR dibandingkan CMA terhadap peubah yang diamati kemungkinan akibat rendahnya konsentrasi PGPR yang diberikan. Berdasarkan morfologi tanaman jarak pagar selama masa pembibitan tidak terlihat hijau secara merata (gambar 2). Hamim *et al.* (2007) melaporkan bahwa pupuk hayati PGPR dengan konsentrasi 50 g per tanaman dapat meningkatkan ukuran tongkol dan bobot biji jagung dan jumlah serta bobot buah tomat. Mungkin pemberian dosis pupuk hayati yang terlalu rendah menyebabkan respon yang tidak terlihat nyata. Bahkan Putra (2010) membuktikan bahwa aplikasi pupuk PGPR tersebut pada tanaman padi dan jagung menunjukkan respon yang terus meningkat hingga dosis 150 g per tanaman. Selain itu efektivitas CMA disebabkan karena cendawan ini hidup di dalam akar (endomikoriza) sehingga aktivitas penyediaan hara lebih baik dibandingkan PGPR yang bersifat *freeliving* di sekitar perakaran.

Respon masing-masing aksesii jarak pagar bervariasi di setiap peubah yang diamati. Aksesii B3 memberikan respon lebih baik pada peubah jumlah daun, tinggi tanaman, lebar daun, dan jumlah akar sekunder. Sedangkan aksesii JB responnya lebih baik pada peubah bobot kering tajuk, diameter batang, panjang akar primer dan sekunder, serta bobot kering akar (tabel 2). Faktor aksesii memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap respon pertumbuhan tanaman jarak pagar.

Tabel 2. Respon empat aksesi jarak pagar terhadap beberapa komponen pertumbuhan

Komponen Pertumbuhan	Aksesi			
	S1	J2	JB	B3
Bobot kering tajuk (g)	3,88±1,36	4,84±1,69	5,86±1,99	4,21±1,38
Jumlah daun (helai)	5,83±1,69	6±1,75	5,41±1,68	7,66±0,37
Jumlah cabang	0,04±0,05	-	-	-
Tinggi tanaman (cm)	21,57±5,34	21±5,60	21,05±4,48	27,25±1,79
Diameter batang (mm)	8,31±0,51	8±0,67	8,91±0,83	8,31±0,27
Panjang daun (cm)	8,55±0,65	9±0,87	10,00±0,50	9,83±0,48
Lebar daun (cm)	9,78±1,12	11±1,26	11,00±0,55	11,21±0,47
Jumlah akar primer (helai)	5,00±0,00	5,00±0,00	5,00±0,00	5,00±0,00
Jumlah akar sekunder (helai)	6,86±1,16	7,56±1,08	7,2±0,67	7,74±0,77
Panjang akar primer (cm)	11,00±1,59	10,5±1,66	12,54±1,12	10,58±0,42
Panjang akar sekunder (cm)	8,2±0,55	7,57±0,80	8,81±0,74	7,46±1,18
Bobot kering akar (g)	0,22±0,06	0,23±0,07	0,25±0,02	0,22±0,04

Data merupakan rata-rata dari 85 ulangan pada 5 jenis perlakuan pupuk

Berdasarkan morfologi tanaman selama masa pembibitan, perlakuan pupuk CMA dan kombinasi CMA dengan PGPR menunjukkan warna yang hijau dan normal dibandingkan perlakuan pupuk lainnya (gambar 2). Menurut Smith & Read (1997) bahwa CMA dapat meningkatkan penyerapan hara oleh tanaman khususnya P dan beberapa hara lainnya. Tanaman memperoleh keuntungan dari simbiosis dengan CMA ketika kondisi stres fisiologi, misalnya defisit hara tanah, kondisi kekeringan, salinitas, atau ketika tanaman diserang hama dan penyakit (Calvet *et al.* 2004).

4. KESIMPULAN

Perkecambahan jarak pagar menggunakan media perendaman air suhu kamar selama 24 jam dalam media kain handuk dapat mencapai perkecambahan 100% serta kecepatan tumbuh tertinggi. Selanjutnya kombinasi perlakuan media perendaman lumpur kubangan sapi selama 18 jam dalam media kain handuk dan kombinasi perlakuan media perendaman air suhu kamar selama 12 jam dalam media kain handuk dapat mencapai perkecambahan 93%, sementara yang menggunakan media tanah hanya mencapai perkecambahan 53%. Pada pembibitan selama 40 hari menunjukkan bahwa perlakuan pupuk hayati CMA dan kombinasi CMA dengan PGPR memberikan respon pertumbuhan vegetatif yang lebih baik dibandingkan perlakuan yang lain. Sedangkan aksesi B3 dan JB mempunyai respon yang paling baik dibandingkan aksesi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Achten WMJ, Verchot L, Franken YJ, Mathijs E, Singh VP, Aerts R, Muys B. 2008. *Jatropha* biodiesel production and use. Review. *Biomass Bioen* 32:1063-1084.

- Augustus GDPS, Jayabalan M, Seiler GJ. 2002. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. *Biomass Bioen* 23:161–164.
- Calvet C *et al.* 2004. Aptitude for mycorrhizal root colonization in *Prunus* rootstocks. *Sci Hort* 100:39–49.
- Hamim, Rachmania N, Hanarida I, Sumarni N. 2007. *Pengaruh Pupuk Biologi terhadap Pola Serapan Hara, Ketahanan Penyakit, Produksi dan Kualitas Hasil Beberapa Tanaman Pangan dan Sayuran Unggulan*. Bogor: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat IPB.
- Hamim, Miftahudin, Heliyanto B, Cholid M. 2009. *Studi Kompatibilitas Penyambungan Jarak Pagar untuk Meningkatkan Produktivitas dan Kemampuan Adaptasi terhadap Lingkungan Marginal* [Penelitian KKP3T Kerjasama IPB-Departemen Pertanian]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Openshaw K. A. 2000. Review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioen* 19:1–15.
- Putra. H.F. 2010. Pertumbuhan vegetatif dan reproduktif tanaman padi gogo dan jagung pada beberapa perlakuan dosis dan waktu pemberian pupuk hayati [Skripsi]. Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Ed ke-2. California: Academic Press.
- Sujatha M, Reddy TP, Mahasi MJ. 2008. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. *Biotech Adv* 26:424-435.

JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) SEBAGAI SUMBER SENYAWA METABOLIT SEKUNDER ANTIMIKROB ALTERNATIF

Martha Sari¹ dan Hamim²

¹ Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong, Jl. Raya Bogor Km.46 Cibinong 16911
Telp. 021-8754587 Fax. 021-8754588 E-mail: martha.biotek@gmail.com

² Departemen Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor. 16680

Abstrak

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) adalah tanaman perdu berkayu yang banyak dijumpai di berbagai negara tropik termasuk Indonesia. Selain fungsinya sebagai penghasil bahan bakar nabati karena kandungan lemak bijinya yang tinggi, tanaman ini juga mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai penghasil obat-obatan. Pada seluruh bagian tanaman *Jatropha* memiliki manfaat dari mulai akar, batang, biji, daun hingga lateksnya dapat dimanfaatkan sebagai agen antimikrob alternatif. Beberapa senyawa metabolit ditemukan memiliki aktifitas antimikroba terhadap beberapa isolat klinis seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, dan *Salmonella typhi* dengan strain antibiotik sebagai pembanding. Kemampuan metabolit sekunder dari spesies *Jatropha* dapat dijadikan sumber acuan antibiotik baru. Hasil investigasi yang telah dilakukan para peneliti hingga saat ini dapat memberikan gambaran umum potensi dari diversifikasi spesies *Jatropha*, kemampuan aktivitas antimikroba hingga kandungan kimia yang dimilikinya. Pemanfaatan potensi obat-obatan dari jarak pagar ini bisa diselaraskan dengan fungsinya sebagai penghasil *biodiesel*, mengingat bahwa dalam budidayanya tanaman ini seringkali dilakukan proses pemangkasan, sehingga daun dan batang sisa pangkasan dapat dijadikan sebagai bahan baku sumber obat-obatan. Selain itu kapsul dari buah yang dipanen yang belum mengering juga berpotensi dapat digunakan sebagai bahan berguna tersebut. Beberapa alternatif pemanfaatan bahan tanaman ini sebagai obat-obatan dengan contoh-contohnya akan menjadi bahan diskusi yang cukup menarik dalam pembahasan.

Kata Kunci: Jarak pagar (*Jatropha curcas*), metabolit sekunder, tanaman obat, antimikroba

1. PENDAHULUAN

Dalam sejarahnya, tanaman sejak lama sebagai sumber inspirasi bagi penemuan obat-obatan. Pengembangannya menjadi kontribusi besar dan berperan aktif bagi kesehatan manusia. Pengobatan tradisional menggunakan ekstrak tanaman telah dimanfaatkan oleh lebih 80% populasi dunia sebagai sumber kesehatan (WHO, 2002).

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) adalah tanaman dari family *Euphorbiaceae* yang selain dapat menghasilkan minyak diesel juga berguna sebagai terapi herbal untuk pengobatan tradisional dalam menangkal berbagai infeksi penyakit (Franke, 2004).

Tumbuhan yang tahan terhadap cekaman kekeringan ini banyak ditemukan di daerah tropik dengan morfologi berkulit licin, dengan dahan bercabang-cabang, dan berdaun tunggal yang merata di sepanjang batang. Pada bagian batangnya bila terjadi luka akan mengeluarkan getah putih kental dan sedikit keruh berguna sebagai anti bakteri dan antibiotik (Openshaw, 2000).

Spesies *Jatropha* dikenal luas memiliki banyak aktifitas biologi melawan berbagai penyakit, seperti anti tumor, anti mikroba, anti insekta dan anti moluskasidal (Marquez *et al*, 2005). Tanaman musiman sepanjang tahun ini, selain bersifat multi fungsi juga sangat mudah dipelihara, cepat tumbuh, mudah beradaptasi. Pada setiap bagian tanaman bernilai medis, sebut saja batang misalnya mampu mengeluarkan lateks yang berguna untuk menghentikan pendarahan hidung (mimisan) dan gusi berdarah, bagian buah dipakai sebagai obat pencahar, bagian akarnya dimanfaatkan untuk rokok, sedangkan air rebusan daun dari *Jatropha* dapat berguna untuk obat luka, ruam wajah dan keseleo (Dash, 2006 dan Lans, 2001).

Saat ini penyakit infeksi oleh mikroba telah berkembang demikian hebatnya, bahkan dampaknya akan menyeluruh bagi peradaban suatu bangsa. Potensi mikroba yang menyebabkan wabah bagi manusia menimbulkan kekhawatiran tersendiri. Bahkan menurut data organisasi kesehatan dunia WHO (2007) tercatat penyakit akibat infeksi mikroba sebut saja *Pneumonia* misalnya, adalah penyebab kematian sedikitnya 1 juta balita per tahun. Belum lagi jenis penyakit infeksi oleh mikroba lain yang diperkirakan terus mengalami peningkatan. Tingginya populasi penduduk, tingkat pencemaran polusi udara, dan ketergantungan masyarakat terhadap produk sintetik, berdampak bagi timbulnya beragam penyakit patogen (Ryan and Kain, 2000).

Belum banyaknya informasi menyeluruh berdasar karakteristik ekologi, dan pendekatan fitokimia tumbuhan selain potensi *J. curcas* yang begitu besar sehingga spesies *Jatropha* saat ini dapat dieksplorasi dan diidentifikasi sebagai solusi untuk menjawab masalah infeksi penyakit. Tingginya kandungan bioaktif spesies *Jatropha* dalam ekstrak tanaman memberikan banyak petunjuk bagi potensi besar kandungan metabolit sekunder yang tidak lagi dibutuhkan bagi tumbuhan itu sendiri untuk berkembang (Bourgau *et al*, 2001)

Tujuan dari review ini adalah memberikan informasi dan gambaran luas akan potensi dan prospek pengembangan spesies *Jatropha* ditinjau dari senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai sumber acuan antimikroba alternatif dari hasil-hasil penelitian yang mutakhir.

2. METABOLIT SEKUNDER DAN KEANEKARAGAMAN HAYATI

Tumbuhan merupakan organisme yang memiliki kemampuan dalam membentuk senyawa metabolik. Jenis dan karakteristik dari senyawa yang dihasilkan beragam dan dapat digunakan sebagai kandungan aktif obat-obatan. Bahan aktif yang penuh dengan kompleksitas ini dikenal sebagai *metabolit sekunder*. Senyawa metabolit sekunder tersebut umumnya memiliki berat molekul rendah dan dapat digunakan sebagai senjata biologis melawan organisme lain di sekitar lingkungannya tanpa mengganggu aktifitas tumbuhan yang bersangkutan. Konsistensi keberadaan suatu organisme dalam ekosistem memerlukan tingkat seleksi dan kompetisi yang tinggi. Dalam hubungan tersebut diperlukan integrasi beberapa aspek biologi dan biokimia metabolit sekunder dengan inangnya yang dikemas dalam suatu hubungan yang unik dan menarik.

Diversifikasi dan kompleksitas kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman tingkat tinggi banyak dijumpai di alam. Perbedaan struktur dari metabolit sekunder tanaman diatur oleh hirarki struktur yang mendominasi dan dinamai taxon (Tabel 1).

Tabel 1. Diversifikasi struktur metabolit sekunder tanaman di alam (Wink 2003)

Number of natural products	
With nitrogen	
•Alkaloids (1)	12,000
•Non-protein amino acids (2)	700
•Amines (3)	100
•Cyanogenic glycosides (4)	60
•Glucosinolates (5)	100
•Alkamides	150
Without nitrogen	
•Monoterpenes (incl. Iridoids) (6)	2,500
•Sesquiterpenes (7)	5,000
•Diterpenes (8)	2,500
•Triterpenes, Saponins, Steroids (9)	5,000
•Tetraterpenes	500
•Phenylpropanoids, coumarins, lignans	2,000
•Flavonoids (10)	4,000
•Polyacetylenes, fatty acids, waxes (11)	1,000
•Polyketides (12)	750
•Carbohydrates	>200

Pada Tabel 1 terlihat bahwa kandungan utama metabolit sekunder tanaman sangat bervariasi dan sedikit sekali berkomponen minor. Sebaliknya keseluruhan metabolit sekunder bersifat struktur kompleks dan dibangun atas senyawa turunannya. Produk hasil metabolit sekunder dari tanaman diklasifikasikan atas 2 kelompok utama, yaitu

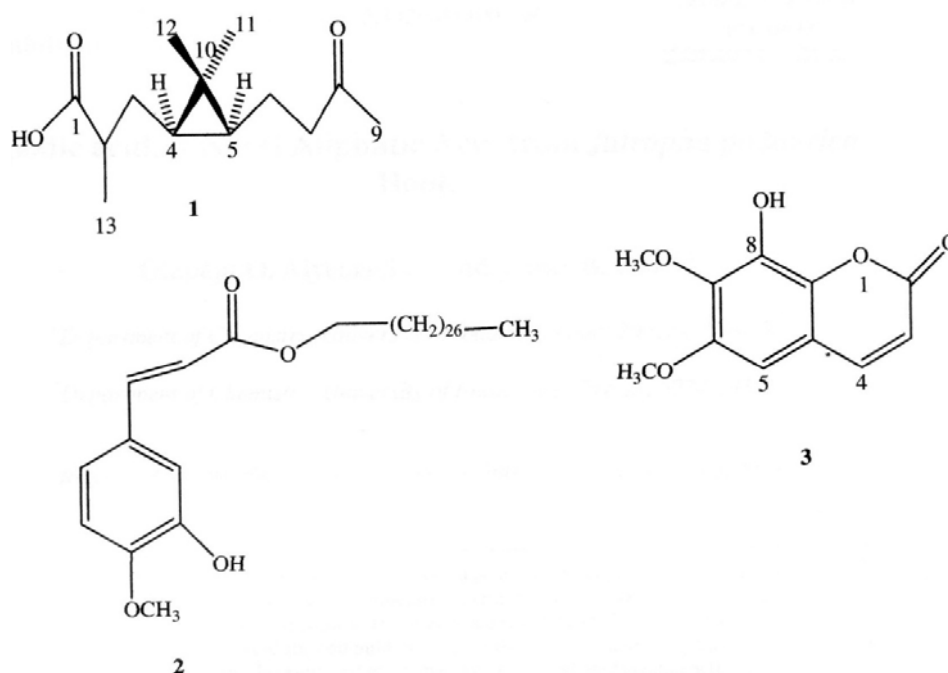
produk alam yang mengandung senyawa nitrogen, seperti alkaloid, amina, alkamida, asam amino non protein, dll. Serta produk alam tanpa unsur nitrogen, seperti monoterpen, diterpen, poliketida, tetraterpen, dll. Senyawa produk alam alkaloid misalnya, akan banyak ditemukan senyawa turunannya dengan kompleksitas struktur yang beragam (12.000 macam) dari sekitar 20% tumbuhan yang berhasil terisolasi demikian halnya dengan kelompok golongan lain. Keberadaan diversifikasi struktur kompleks dari metabolit sekunder tanaman masih menjadi misteri alam dan masih menjadi peluang menjanjikan bagi sumber produk kimia alam di masa yang akan datang. Ketidak konsistensi kandungan metabolit sekunder tanaman dapat terlihat dari sistematika nilai kandungan kimia di dalamnya (Wink, 2003).

Belum banyak yang menyadari akan peran keanekaragaman hayati berkaitan erat dengan keanekaragaman kimiawi. Tampak jelas banyak faktor yang mempengaruhi hubungan antara senyawa metabolit dengan tanaman inangnya. Hubungan tersebut antara lain dipengaruhi oleh kondisi musim, nutrisi yang diterima, dan faktor lain seperti masa hidup dan lokasi penyebaran di lingkungan (Strobel, 2003). Dibutuhkan penelitian yang komprehensif dalam berbagai aspek sampai ke tingkat molekuler, guna mempelajari interaksi dan sifat senyawa metabolit sekunder tersebut. Dengan menyadari karakteristik senyawa metabolit sekunder dan peran potensial di alam melalui pendekatan berbagai aspek, seperti kimiawi dan ekologi dapat menjadi petunjuk bermanfaat guna mengungkap potensi besar metabolit sekunder sebagai *bioprospecting*.

3. AKTIFITAS ANTIMIKROBA DARI BERBAGAI GENUS *JATROPHA*

Metabolit sekunder telah berhasil diidentifikasi dari senyawa aktif jaringan dalam genus *Jatropha*. Aktifitas anti bakteri dan anti fungi untuk melawan bakteri dan kapang uji ditunjukkan oleh adanya ekstrak tanaman *Jatropha*. Menurut Olapeju *et al* (2008) telah ditemukan senyawa asam aliphatik jenis baru dari genus *Jatropha*, diantaranya frixidin dan erythrinasinate menggunakan identifikasi spektroskopi massa. Adanya kemampuan daya bunuh berspektrum luas melawan bakteri uji gram positif dan negatif telah ditunjukkan oleh senyawa bioaktif tersebut, dan dibandingkan dengan senyawa antibiotik pada pengujian metode overlay (difusi).

Penelitian yang sama berhasil mengisolasi senyawa asam japodik, dan menunjukkan kemampuan bioaktifitas antimikroba yang lebih luas dari senyawa frixidin dan erythrinasinate. Telah dilaporkan bahwa senyawa asam japodik, frixidin, dan erythrinasinate merupakan senyawa aliphatik jenis baru (Gambar 1) yang berhasil pertama kali diidentifikasi (Olapeju *et al*, 2008).



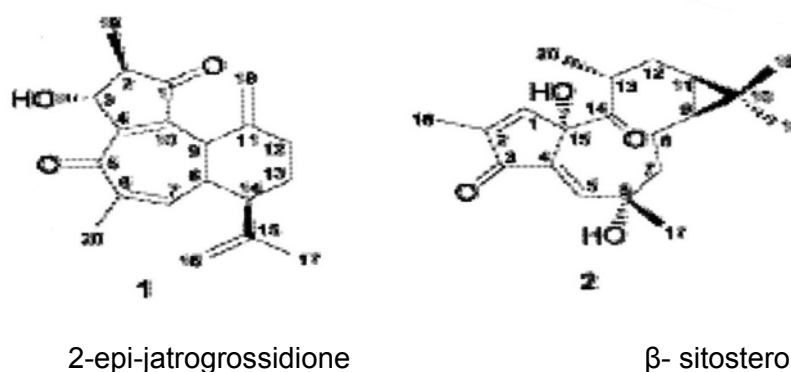
Gambar 1. Struktur senyawa aktif asam japodic (1), erythrasinate (2), dan fraxidin (3) dari spesies *Jatropha gaueri*

Penelitian lebih lanjut dilaporkan oleh Weng dan Wang (2000) bahwa terdapat senyawa dengan kandungan bioaktif pada serabut akar dan daun ekstrak metanol *J. Gaumeri* yang menunjukkan aktifitas anti bakteri. Telah dilaporkan juga hasil pemurnian ekstrak akar *J. Gaumeri* diketahui mengandung senyawa rhamnofolane diterpene, yaitu 2-epi-jatrogrossidione yang dideteksi dengan signal spektrum NMR dan berhasil membunuh aktifitas *Bacillus subtilis* 25 µg dengan menggunakan metode overlay agar (difusi). Pengujian aktifitas antimikroba telah dibandingkan dengan antibiotik komersial amikasin sulfat 250 µg.

Penelitian yang sama telah dilaporkan dengan menggunakan diversifikasi kepolaran pelarut dalam mengekstraksi kandungan bioaktif tanaman *J. gossypifolia*. Pengujian menunjukkan adanya zona hambat terlihat jelas pada pengujian bakteri patogen seperti *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus faecalis* dengan menggunakan senyawa pembanding antibiotik komersial. Ekstrak metanol dari pengujian aktifitas tersebut lebih efektif menghambat seluruh bakteri patogen dibandingkan ekstrak etanol dan air (Rajesh *et al*, 2007).

Hal yang sama telah diteliti bahwa adanya senyawa diterpenoid dari diisolasi tanaman *J.gossypifolia* yang memiliki aktifitas biologi yaitu citralitrone dan jatrofenon (Oduola, 2005). Senyawa-senyawa tersebut terbukti positif melawan aktifitas mikroba patogen *Staphylococcus aureus* dengan aktifitas yang sebanding dengan senyawa Penicillin G (Ravindranath *et al*, 2003).

Selain kemampuannya sebagai agen antibakteri, genus *Jatropha* juga mampu meredam aktifitas radikal bebas di alam dengan bioaktifitas antioksidan. Menurut penelitian Dash *et al* (1999) dari pemurnian ekstrak kasar daun *J. gaumeri* diperoleh dua fraksi utama mengandung senyawa metabolit sekunder bioaktif. Satu dari dua fraksi bioaktif tersebut terpisah nyata, dan berhasil diidentifikasi sebagai senyawa β sitosterol melalui perbandingan spektroskopi data. Senyawa aktif β sitosterol tersebut mampu melawan aktifitas antioksidan dengan pengujian menggunakan DPPH test. Struktur dari kandungan bioaktif tersebut dapat dilihat pada Gambar 2 (Dash *et al*, 1999).



Gambar 2. Struktur senyawa bioaktif dari spesies *Jatropha gaumeri*

Keragaman genus *Jatropha* di alam yang dihubungkan dengan kemampuan aktifitas biologis sebagai agen anti mikroba alternatif ditemukan di berbagai negara dan dapat dirangkum dalam (Tabel 2). Dalam tabel tersebut terlihat besarnya potensi genus *Jatropha* yang maha kaya dan dapat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Dinamika komposisi kimia dari genus *Jatropha* menunjukkan besarnya tujuan yang dapat dicapai untuk aplikasi industri terutama bidang kesehatan. Kandungan metabolit sekunder dari berbagai genus *Jatropha* asal negara yang berbeda-beda tampak jelas mempengaruhi komposisi kimiawi dan juga pemakaian pengobatan terhadap suatu penyakit.

Tabel 2. Diversifikasi spesies *Jatropha* dari berbagai negara dan perannya dalam pengobatan

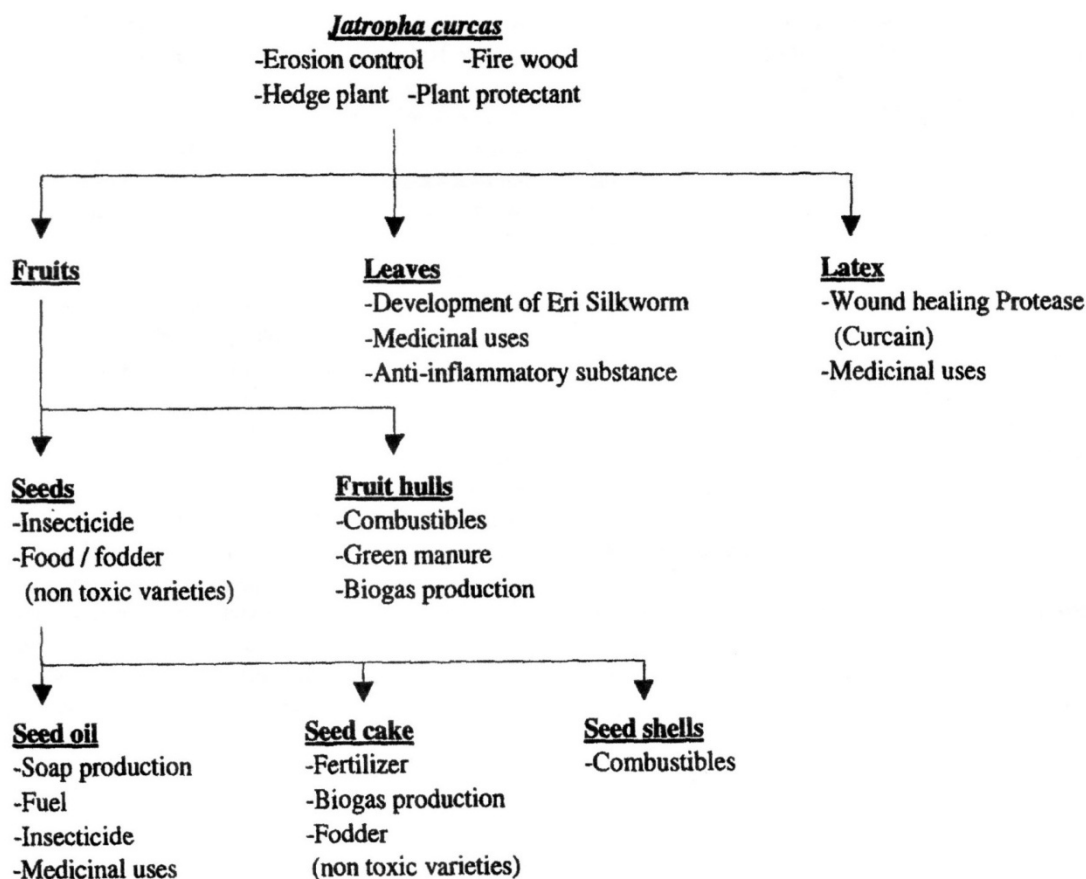
Nama Spesies <i>Jatropha</i>	Senyawa metabolit	Bagian tanaman	Pengobatan	Penyebaran Spesies
<i>J. curcas</i>	Diterpen, asam lemak (oleat, palmitat, linoleat, stearat) okta peptidosiklik	Biji, daun muda, akar, dan latex batang	Anti malaria, anti fungal, dan anti tumor	Indiana (Gubitz <i>et al.</i> 1998)
<i>J. gossypifolia</i>	Diterpen, lignin	Akar, daun segar, latex batang, dan biji	Anti bakteri, antibiotik, anti inektidal, anti malaria, anemia, eksim, lepra, mimisan, pembersih darah, antioksidan	Brazil dan Indiana (Oduola 2007)

Nama Spesies Jatropha	Senyawa metabolit	Bagian tanaman	Pengobatan	Penyebaran Spesies
<i>J. elliptica</i>	Diterpen	Serabut akar	Anti moluskasidal, antibakteri, inflamasi, anti tumor, anti leukimia, penyakit lambung	Tersebar di utara dan barat Brazil (Herrera <i>et al.</i> 2005)
<i>J. integerrimum</i>	Heptapeptida siklik, diterpen	Serabut akar	Menghambat perkembangan sel kanker, anti bakteri	Spanyol dan Kuba (Moura <i>et al.</i> 2005)
<i>J. podagrica</i>	Alkaloid, nanopeptida siklik	Akar dan Latex batang	Anti cacing, anti bakteria	Brazil (Olapeju <i>et al.</i> 2008)
<i>J. chevalieri</i>	Peptidasiklik	Latex batang	Anti malaria	India (Asprey & Thornton 2005)
<i>J. tanjorensis</i>	Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, antraquinon	Daun	Obat hipertensi, anti malaria,	Nigeria (Dabur <i>et al.</i> 2007)
<i>J. gaumeri</i>	Diterpen	Serabut akar	Anti oksidan dan anti mikroba	Mexico (Lans <i>et al.</i> 2001)
<i>J. grossidentata</i>	Diterpen	Serabut akar	Anti bakteri	Indiana (Hirschmann <i>et al.</i> 1992)
<i>J. pohliana</i>	Alkaloid, nanopeptida siklik	Latex batang	Anti malaria	Brazil (Haas <i>et al.</i> 2002)

4. FITOKIMIA SPESIES *JATROPHA CURCAS* SEBAGAI SUMBER ACUAN OBAT

Pemanfaatan berbagai komponen tanaman *J. curcas* banyak dieksploitasi dan dikembangkan bagi kehidupan manusia. Tingginya potensi tanaman *J. curcas* yang menyebar dari mulai akar, batang, daun, biji hingga buahnya bernilai guna dan dapat dioptimalkan guna berbagai kepentingan. Klasifikasi bagian tanaman *J. curcas* dengan komponen tanaman yang dapat dikembangkan dapat dirangkum pada Gambar 3.

Pada Gambar 3 terlihat pemanfaatan senyawa metabolit sekunder sebagai molekul acuan baru tak lepas dari bagian tanaman dan pemilihan lokasi yang digunakan. Kondisi ini akan mempengaruhi keunikan maupun aktifitas produk biologi metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk berbagai kepentingan. Metabolit sekunder spesies *Jatropha* dengan kemampuan bioaktifnya dapat diandalkan sebagai sumber acuan antibiotik baru. Secara umum sumber antibiotik acuan baru asal alam merupakan agen kemoterapik dan agrokimia yang memiliki efektifitas tinggi, daya toksik rendah, dan aman terhadap lingkungan untuk melawan infeksi oleh mikroorganisme, seperti *mycobacteria*, *streptococcus*, *staphylococcus* (Strobel, 2003).



Gambar 3. Deskripsi pemanfaatan tanaman *J.curcas* untuk berbagai kepentingan (Gubitz et al. 1998)

Investigasi fitokimia dan skreening antimikroba telah memperjelas kemampuan kemoterapik bagi tanaman *J. curcas*. Pengujian terhadap kulit batang kayu tanaman *J.curcas* misalnya, berhasil ditemukan senyawa tanin yang memiliki kemampuan aktifitas antimikroba dengan mekanisme berbeda dan berspektrum luas dalam menangkal beragam penyakit patogen. Hal serupa dilaporkan oleh Parekh dan Chanda (2007) bahwa tanin di dalam kulit batang *J. curcas* dapat membentuk aktifitas antibakteri melawan berbagai penyakit kulit seperti borok, bisul, dan eksim kulit maupun efek penting lainnya seperti peningkatan hormon. Tingginya sumber keanekaragaman genetik asal tanaman *Jatropha* dapat memberikan material aktif yang kaya dan dapat diandalkan. Kehadiran senyawa tanin dari spesies *J.curcas* juga telah dilaporkan oleh Li dan Wang (2003) bahwa di dalam terkandung tanin diketahui memiliki aktifitas anti redam terhadap perkembangan penyakit yang mematikan manusia yaitu kanker. Selanjutnya diharapkan kehadiran metabolit sekunder spesies *J.curcas* sebagai sumber molekul acuan bioaktif penting, dan dapat menjadi solusi bagi pencegahan sel kanker. Adanya senyawa tanin pada tanaman *J.curcas* dapat menjadi dukungan untuk treatment berbagai penyakit berbahaya.

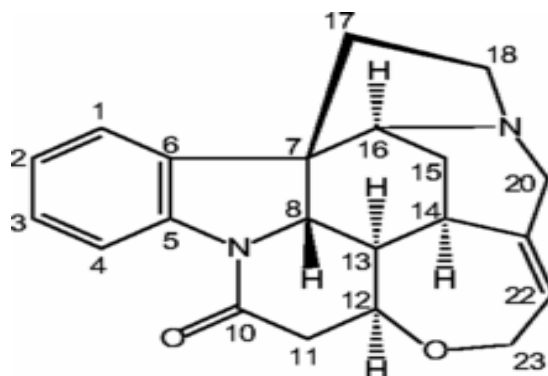
Banyaknya senyawa fitokimia dalam satu tanaman *J. curcas* saja akan diperoleh kandung kimia yang beragam. Menurut penelitian oleh David *et al* (2009) dikatakan bahwa adanya senyawa bioaktif potensial tanaman spesies *J. curcas* dari hasil identifikasi fitokimia dengan adanya kehadiran senyawa metabolit seperti tanin, saponin, alkaloid dan steroid yang bekerja melawan bakteri uji. Aktifitas antimikroba ekstrak metanol daun *J. curcas* menunjukkan nilai zona hambat relatif setara dengan antibiotik streptomycin pada nilai konsentrasi yang tidak berbeda nyata. Antibiotik streptomycin telah digunakan sebagai standar pembandingan terhadap ekstrak metanol daun *J. curcas*. Sebanyak 8 dari 13 bakteri patogen gram positif maupun gram negatif cukup sensitif terhadap uji antimikroba. Selanjutnya kehadiran ekstrak *J. curcas* dapat dijadikan sebagai kandidat potensial dalam formulasi bahan obat-obatan terutama untuk treatment infeksi oleh bakteri. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa metabolit sekunder dari tanaman herbal *Jatropha* telah memiliki efek nyata terhadap kesembuhan penyakit yang disebabkan oleh anti bakteri dan anti fungi dengan adanya pengaruh kandungan bioaktif di dalamnya, seperti tanin, saponin, alkaloid dan steroid dan glikosida (Chaudhari *et al*, 2006; Igbinosa *et al*, 2009).

Hal yang sama ditunjukkan oleh senyawa alkaloid dari ekstrak kulit batang tanaman *J. curcas* yang diketahui mengandung saponin. Satu dari sekian banyak aktifitas biologi yang dimiliki senyawa alkaloid adalah kemampuannya menjadi racun bagi organisme asing untuk melawan sel-sel jahat dan mampu mengurangi serta menekan perkembangan sel kanker pada manusia. Senyawa alkaloid dengan kandungan fitokimia tanaman yang luas mempunyai efek yang luar biasa bagi kesehatan manusia dan sangat diandalkan sebagai kekuatan dalam pengembangan produk pengobatan terhadap penyakit yang mematikan (Kam *et al*, 2002).

Penelitian lain mengkonfirmasi bahwa adanya khasiat antivirus pada tanaman obat *J. curcas* dengan kehadiran senyawa steroid. Senyawa steroid ini penting dan berguna karena berhubungan dengan variasi pembentukan hormon anabolik dalam tubuh manusia termasuk hormon sex. Beberapa steroid juga menampilkan aktifitas anti bakteri dalam berbagai isolat bakteri uji (Quinlan *et al*, 2000; Okwu, 2001; Neumann *et al*, 2004). Unsur pokok lain dari ekstrak tanaman *J. curcas* terlihat adanya senyawa flavonoid. Tingkatan aktifitas biologi dengan spektrum yang luas dari spesies *J. curcas* berguna untuk anti alergi, analgesik, anti peradangan, anti bakteri dan antioksidan (Hodek *et al*, 2002). Selanjutnya keberadaan senyawa ini dapat dijadikan treatment untuk melawan berbagai penyakit mematikan bagi manusia diantaranya, malaria, disentri, diare, dan kanker.

Penemuan obat dari produk alam dalam proses biosintesis memiliki tingkatan kompleksitas yang tinggi dari bentuk yang sederhana hingga yang ekstrim sulit.

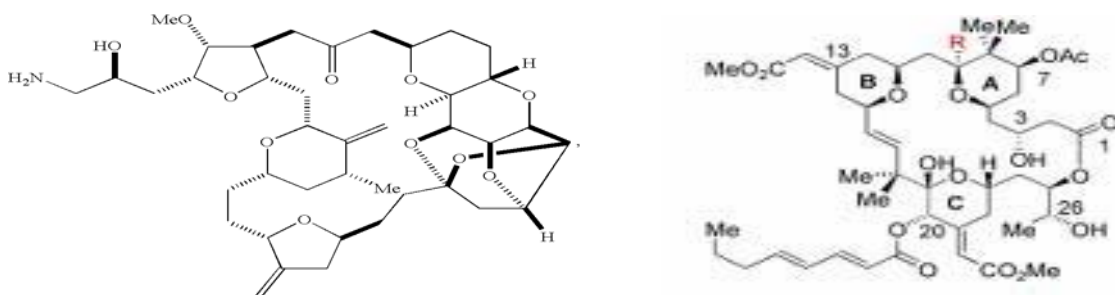
Penentuan stereostruktur lengkap dari proses sintesis produk alam dapat dikembangkan dengan elusidasi struktur, sebut saja struktur kompleks palytoksin yang berhasil dipisahkan dari tanaman *J. curcas* dapat dilihat pada Gambar 4 sebagai berikut (Aiyelaagbe *et al*, 2007).



palytoksin

Gambar 4. Struktur senyawa aktif palytoksin spesies *Jatropha curcas*

Dalam banyak kasus produk obat-obatan komersil telah dikembangkan menurut modifikasi struktur aktif menggunakan prekursor dari alam. Sehingga penemuan obat menggunakan sintesis kimia tidak lagi diperlukan. Sebagai alternatifnya struktur yang mempunyai aktifitas biologi dihubungkan dengan fragmen dari struktur induk. Struktur yang telah berhasil diidentifikasi dari spesies *J. curcas* melalui pendekatan ini adalah bryostatin (Wender *et al*, 2005) dan halichondrin (Dabydeen *et al*, 2006). Struktur aktif dari halichondrin dan bryostatin dapat diketahui pada Gambar 5 berikut dengan penentuannya menggunakan spektroskopi massa.



halichondrin

bryostatin

Gambar 5. Struktur aktif halichondrin dan bryostatin spesies *Jatropha curcas*

Kandungan kimia organik dari struktur aktif metabolit sekunder tanaman *J. curcas* dapat menjadi terobosan besar guna mensintesis kompleks molekul produk alam.

5. PROSPEK

Banyak potensi besar dimiliki genus *Jatropha* meliputi seluruh komponen tanaman dan keseluruhannya dapat bernilai guna. Indonesia dengan sumber alam berlimpah didukung dengan lahan yang luas memiliki peluang yang cukup terbuka dalam pengembangan komoditas tanaman jarak *Jatropha curcas*. Bahkan tidak dapat disangkal bahwa keperluan dunia akan sumber bahan baku obat semakin hari semakin berkembang. Tingginya konsumsi obat-obatan dunia per tahunnya dialami juga di negara Indonesia, namun fenomena ini biasanya diatasi pemerintah dengan mendatangkan kebutuhan obat dari negara lain. Pemerintah sesungguhnya dapat mengupayakan cara lain tanpa bergantung dari produk impor guna ketersediaan produk obat. Salah satu cara yang paling efektif untuk mengatasi persoalan tersebut melalui pendekatan alternatif berbasis kekayaan alam.

Produksi domestik akan kebutuhan bahan baku obat (bahan aktif) dari tanaman *J. curcas* masih sangat terbatas. Guna pemenuhan bahan baku tersebut dibutuhkan strategi dalam usaha meningkatkan proses produksinya, antara lain melalui pemanfaatan potensi sisa hasil pemangkasan daun dan batang. Selain itu kapsul dari buah yang dipanen dan belum kering berpotensi besar sebagai sumber bahan baku obat. Proses produksi pada industri biodiesel *J. curcas* memanfaatkan kandungan lemak bijinya, namun meninggalkan sisa biomassa daun dan batang yang cukup besar. Sisa biomassa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai komponen bahan baku obat berbasis keanekaragaman hayati. Tingginya sisa pemangkasan daun dan batang *J. curcas* dapat bernilai ekonomi jika dikaitkan dengan produk bahan baku yang dihasilkan. Sebagai contoh, dalam pemangkasan 1 Ha tanaman *J. curcas* akan dihasilkan bahan baku obat dari batang dan daun pangkasan hingga 1 ton bergantung dari umur tanaman yang dibudidayakan. Semakin banyak lahan yang dioptimalkan maka akan meningkat juga sumber obat yang diproduksi. Melalui pemanfaatan lahan dan peningkatan potensi biodiversitas tanaman *J. curcas* sebagai sumber kandungan bioaktif diharapkan masalah kekurangan sumber bahan baku obat dapat teratasi.

Meskipun daya efektifitasnya belum teruji secara klinis namun bukan tidak mungkin kehadiran tanaman jarak *J. curcas* dapat menjadi penyejuk bagi tandusnya aplikasi produk alam yang berbasis bahan baku keanekaragaman hayati yang dikenal berlimpah ruah di negeri ini. Kita berharap dalam waktu yang tidak lama, obat-obatan bersumber produk alam dari spesies *Jatropha* khususnya dan tanaman lain umumnya, dapat dieksplorasi dan dikembangkan secara optimal guna pemenuhan bahan baku obat alternatif yang bernilai guna. Sehingga keberadaan tanaman ini tidak lagi dipandang

sebelah mata namun dihargai untuk bermanfaat bagi kehidupan manusia terutama bagi pasien yang mengidap berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi mikroba.

6. KESIMPULAN

Tanaman jarak pagar (*J. curcas*) memiliki kandungan metabolit sekunder yang sangat kaya dan kompleks. Beberapa senyawa ekstrak tanaman *J. curcas* kemampuannya dapat setingkat dengan senyawa antibiotik dalam menghambat aktifitas mikroba dengan spektrum yang sangat luas. Potensi besar dari kandungan struktur tumbuhan *J. curcas* dapat dijadikan sebagai sumber acuan obat antimikroba alternatif baru. Selain itu pemanfaatan metabolit sekunder sebagai produk berlimpah di alam dapat menekan besarnya biaya produksi obat, sehingga pada akhirnya dapat menghasilkan produk obat dengan harga yang lebih murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Asprey GF, P Thornton. 2005. Triterpenes, Flavonoid, and Polyketides from *Jatropha podagrica* Stem Bark. *West Indian Medicinal Journal*. 2: 1-3.
- Bourgaud F, A Gravot, S Milesi, E Gontier. 2001. Chemobotany of *Jatropha* Spesies in India. *J. Plant Science*. 161: 839-851.
- Chaudhari M, Mengi S. 2006. Purification and Characterization of a Hemagglutinin from Seeds of *Jatropha curcas*. *Journal Phytotherapy Research*. 20: 799-805.
- Dabur R, A Gupta, T K Mandal, D D Singh, V Bajpai, A M Gurav, G S Lavekar. 2007. Chemical Examination of *Jatropha tanjorensis*. *Journal Traditional Africa Complementary and alternative Medicine*. 8:1047.
- David A Akinpelu, Olayinka A Aiyegoro, and Anthony I Okoh. 2009. The Bioactive Potentials of Two Medicinal Plants Commonly Used as Folklore Remedies among some Tribes in West Africa. *Africal Journal of Biotechnology* vol 8 (8). Pp. 1660-1664.
- Dash S K, S Padhy. 2006. The Useful Plants of West Tropical Africa. *Journal Hum. Ecol*. 20:1. 59-64.
- Dharmananda S. 2003. Gallnuts and the Uses of Tannins in Chinese Medicine. *In Proceedings of Institute for Traditional Medicine*. Portland. Oregon.
- Dabydeen, Demain AL, Daisy B. 2006. Microbial Natural Products. *J. Microbiology*. 148: 3737-3741.
- Franke K, A K Nasher, J Schmidt. 2004. Preliminary Studies of the Antibacterial Activities of *Jatropha curcas*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 32: 219-220.
- Gubitz GM, M Mittelbach, M Trabi. 1998. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* Linn. *Bioresource Technology*. 67: 73-82.
- Haas W, H Streck, and M Mittelbach. 2002. Screening of *Jatropha pohliana* Roots. *J. Natural Product*. 65: 1334-1440.

- Herrera M, J Siddhuraju, P Fransis, G Becker K. 2005. Chemical Composition, Antimetabolic Constituents and Effect of Different Treatment on their Level in four Provenances of *Jatropha* Species. *J. Food Chem.* 96: 80-89.
- Hirschmann GS, F Tschritzis, and J Jakupovic. 1992. Diterpenes and a Lignan from *Jatropha grossidentata*. *J. Phytochemistry.* 31: 1731-1735.
- Hodek P, Trefil P, Stiborova M. 2002. Flavonoids Potent and Versatile Biologically Active Compounds Interacting with Cytochrome. *Chemico Biol. Intern.* 139 :(1) 1-21.
- Igbinosa O O, E O Igbinosa, O A Aiyegoro. 2009. Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of Stem Bark Extract from *Jatropha curcas* Linn. *J. Pharm & Pharmacol. Afr.* 32:2. 58-62.
- Kam PCA, Liew, Kokwaro JO. 2002. Traditional Chinese Herbal Medicine and Anaesthesia. *J Anaesthesia.* 57 :11. 1083-1089.
- Lans C, T Harper, K Georges, E Bridgewater. 2001. Glossary of Indian Medicinal Plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 1: 10.
- Li H, Wang Z. 2003. Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong Yao Cai.* 26:6. 444-448.
- Marquez L, Neuville N, Moreau J P, Genet A F, Dos Santos, M C C De Andrade, A E G. Sant'-Ana. 2005. *Phytochem.* 66: 1804-1811.
- Moura ACA, Silva EIF, Fraga, MCA, Wanderley AG, Afiatpour P, Maia MBS. 2005. Chemical Investigation of Species *Jatropha integerrium*. *J. Phytomedicine.* 12: 138-142.
- Neumann UP, Berg T, Baha M, Puhl G, Guckelbeger O, Langreh JM, Neuhaus P. 2004. Long term Outcome of Liver Transplant for Hepatitis C. *J. Transplantation.* 77:2. 226-231.
- Oduola. 2007. Extraction and Purification of Curcain from the Latexes of *Jatropha gossypifolia*. *J. Pharm Pharmacol.* 43: 111-114.
- Okwu DE. 2001. Evaluation of the Chemical Composition of Indigenous Spices and Flavouring Agent. *J. Pak Vet.* 14:160-162.
- Olapeju O, Aiyelaagbe, James B Gloer. 2008. Japodic Acid, a Novel Aliphatic Acid from *Jatropha podagrica* Hook. *ACG Publication. Journal of Natural Product.* 2: 4. 100-106.
- Openshaw K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an Oil Plant Ofunfulfilled Promise *Biomass Bioenergy.* 19: 1-15.
- Parekh J, Chanda S. 2007. In vitro Antibacterial Activity of Crude Extract *Jatropha curcas*. *Braz. J. Microbiol.* 38:2.
- Quinlan MB, Quinlan RJ, Nolan JM. 2000. Ethnophysiology and Herbal Treatment of Intestinal Worm in Dominica, West Indies. *J. Ethnopharmacol.* 80: 75-83.
- Ravindranath N, MR Reddy, C Ramesh, R Ramu, A Phabhakar, B Jagadeesh, B Das. 2003. Phytochemical and *in vitro* Antimicrobial Assay of the Leaf Extract from *J. gossypifolia* *Pharm. Bull.* 52:2. 608-611.
- Rajesh AN, Parkash V. 1997. Extraction, Screening and Purification of Curcain from the Latexes of *Jatropha gossypifolia*. *J. Pharm Pharmacol.* 43. 111-114.
- Ryan ET, Kain KC. 2000. Legal Status of Traditional Medicine. *Engl Journal of Medicine.* Edisi 8: 1716-1724.

- Shimada T. 2006. Salivary Proteins as a Defense Against Dietary Tannins. *J. Chem. Ecol.* 32 :6. 1149-1163.
- Strobel G. 2003. Rainforest Endophytes and Bioactive Product. *Microbiology & Molecular Biology Review.* p 491-502.
- WHO. 2002. Traditional Medicine. Growing Needs and Potential. *WHO Policy Perspectives on Medicine.* pp 1-6.
- WHO. 2007. The Forgotten Killer of Children. *Bulletin of the World Health Organization.* 8:5:7. pp 502-503.
- Wink M. 2003. Evolution of Secondary Metabolites from an Ecological and Molecular Phylogenetic Perspective. *Journal Phytochemistry.* 64: 3-19.
- Weng XC, Wang W. 2000. Examination of the Antimicrobial Activities of *J. gaueri* Plant. *W.Food Chem.* 71: 489-493.
- Wender PA, Clarke MO, Horan JC. 2005. An Initial Biological Evaluation of New a Ring Modified Bryostatin of *J. curcas*. *Org. Lett.* 130: 665-668.

VIABILITAS DAN EFEKTIVITAS PUPUK HAYATI DARI BEBERAPA TEKNIK PENGERINGAN DAN LAMA PENYIMPANAN

Jeni¹, Hamim^{1,3}, Aris Tjahjoleksono¹, Ida Hanarida Soemantri²

¹ Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor.

² BB-Biogen, Balitbang Pertanian, Jl Tentara Pelajar Cimanggu, Bogor.

³ Penulis untuk korespondensi

Abstrak

Penggunaan pupuk hayati dalam pertanian dapat memacu pertumbuhan dan produksi tanaman yang ramah lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui viabilitas pupuk hayati yang diproduksi dengan teknik pengeringan dan lama penyimpanan yang berbeda serta efektivitasnya terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman padi gogo dan jagung. Pupuk hayati terdiri dari konsorsium isolat bakteri *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, *Bacillus* sp, dan *Pseudomonas* sp. Uji viabilitas dilakukan dengan metode pengenceran berseri. Uji efektivitas dilakukan terhadap tanaman padi gogo var. Situbagendit dan jagung var. Bisma di lapang dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 6 taraf yaitu tanpa pupuk hayati (K0), pupuk hayati cair (K1), pupuk hayati kering beku 0 bulan (K2), pupuk hayati pemekatan 0 bulan (K3), pupuk hayati kering beku 3 bulan (K4), dan pupuk hayati pemekatan 3 bulan (K5) dengan 3 kali ulangan. Tanaman ditanam pada petak dengan luasan 3x3m dengan jarak tanam padi gogo 15x30cm dan jagung 25x50cm. Hasil percobaan menunjukkan bahwa teknik pemekatan memiliki tingkat viabilitas yang tinggi dibandingkan dengan teknik kering beku. Pada percobaan di lapang, pupuk hayati memberikan pengaruh positif pada sebagian besar parameter baik pola serapan hara, pertumbuhan, biomassa, maupun produksi dari kedua tanaman. Analisis serapan hara tanaman padi gogo menunjukkan prosentase peningkatan unsur makro dan mikro khususnya pada perlakuan K5 demikian halnya dengan jagung yang signifikan adalah perlakuan K4 dan K5. Produksi padi meningkat dari 1% sampai 40% dan perlakuan yang menonjol adalah K5, sedangkan tanaman jagung berkisar 28% sampai 54% dengan rata-rata 45%. Prosentase peningkatan bobot produksi padi gogo per rumpun adalah 16% sampai 33% dengan rata-rata 23%, sedangkan rata-rata bobot pipilan pertanaman pada jagung adalah 47%. Hasil ini menunjukkan peran mikroba khususnya kelompok Rhizobakter memiliki peran penting dalam peningkatan produksi tanaman budidaya dan perbaikan lahan pertanian secara berkelanjutan.

Kata kunci : Pupuk hayati, PGPR, rhizobacter, pertumbuhan, dan produksi

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pertambahan penduduk yang besar di negara berkembang seperti Indonesia berkorelasi dengan permintaan bahan pangan yang tinggi dan tentunya juga lahan pertanian yang cukup besar (Sinukaban, 2007). Oleh karenanya berbagai upaya

diusahakan untuk pemenuhan pangan. Salah satu aspek yang dilakukan adalah melalui pemupukan dan penggunaan pupuk anorganik telah menjadi kebutuhan utama petani. Meskipun aplikasi pupuk anorganik terbukti memberikan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman budidaya, juga secara intensif telah mengakibatkan penurunan kualitas lingkungan (Ashrafuzzaman *et al*, 2009); seperti pengerasan tanah, dan kehilangan materi organik (Stoate *et al*, 2001), penurunan keragaman mikroba tanah, sehingga berakibat terganggunya proses dekomposisi bahan organik sebagai sumber ketersediaan hara di dalam tanah (Hanafiah *et al*, 2005).

Pemanfaatan agen hayati seperti mikroba tanah menjadi satu upaya pemulihan bertahap lahan pertanian dengan peran sebagai dekomposer senyawa organik dari limbah tumbuhan maupun hewan (Wu *et al*, 2005), menghasilkan fitohormon (*biostimulant*) yang biasanya dihasilkan oleh beberapa kelompok bakteri yang dikenal dengan *Plant Growth Promoting Rhizobacter* (PGPR), dan penghambatan patogen melalui produksi antibiotik yang berperan sebagai biopestisida (Adesemoye *et al*, 2008).

Salah satu bentuk pemanfaatan agen hayati adalah penggunaan pupuk hayati yang berperan meningkatkan ketersediaan hara utama bagi tumbuhan (Vassey, 2003). Beberapa riset melaporkan adanya peningkatan produksi pertanian secara signifikan dengan penggunaan mikroba. Penemuan beberapa isolat bakteri memiliki respon penting terhadap tanaman baik pertumbuhan maupun produksi (Adesemoye *et al*, 2008). Tanaman padi dengan kultur *in vitro*, pemberian *Azospirillum* sp memberikan respon signifikan pada jumlah anakan, bobot kering tajuk dan akar dibandingkan dengan tanpa pemberian *Azospirillum* sp (Lestari *et al*, 2007). Kombinasi isolat *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp, *Bacillus* sp, dan *Pseudomonas* sp, dapat meningkatkan pola serapan hara dan bobot produksi pada tanaman hortikultura seperti kentang dan tomat (Hamim *et al*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi bakteri memberikan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan produksi hasil pertanian.

Pupuk hayati memiliki mekanisme yang khas dalam proses produksi sampai aplikasi di lapang. Hal ini disebabkan pupuk hayati mengandung mikroorganisme yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan misalnya suhu, pH yang berpengaruh terhadap masa simpan, viabilitas, dan efektivitas induksinya terhadap tanaman, sehingga pupuk hayati harus dapat disimpan lama tanpa menyebabkan penurunan viabilitasnya. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk memperpanjang masa simpan pupuk hayati adalah penghambatan mekanisme metabolik mikroba dengan cara pengurangan kadar air pada media pembawa yang digunakan. *Freezedrying* (kering beku) adalah salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengeringkan pupuk hayati, namun teknik ini cukup mahal. Oleh karenanya penggunaan teknik lainnya seperti pengeringan pupuk hayati dengan

sentrifugasi perlu dicoba. Tindak lanjut dari beberapa teknik pengeringan diperlukan uji viabilitas pasca pengeringan, dan apakah tingkat viabilitas yang diperoleh mengindikasikan efektivitas setiap isolat dalam menginduksi tanaman juga diperlukan uji lebih lanjut.

Teknik pengeringan pupuk hayati perlu dilakukan. Walaupun diketahui isolat bakteri seperti *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., dan *Pseudomonas* sp. memiliki peran dalam penambatan nitrogen, pelarutan fosfat, atau bioaktivator terhadap tumbuhan, tindak lanjut dari hasil beberapa teknik pengeringan diperlukan uji viabilitas pasca pengeringan, dan apakah tingkat viabilitas yang diperoleh mengindikasikan efektivitas setiap isolat dalam menginduksi tanaman juga diperlukan uji lebih lanjut.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini adalah: 1) Mengetahui viabilitas pupuk hayati dengan beberapa teknik pengeringan dan lama penyimpanan yang berbeda; (2) Mengetahui efektivitas pupuk hayati terhadap pola serapan hara, pertumbuhan, dan produksi tanaman padi gogo dan jagung. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif dalam penggunaan pupuk yang ramah lingkungan dan dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi baik kuantitas maupun kualitasnya.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor dan kebun percobaan Cikabayan IPB Farm Dramaga Bogor. Waktu penelitian adalah bulan April sampai Desember 2009.

2.2. Penyiapan Pupuk Hayati

Isolat yang digunakan dalam pembuatan pupuk hayati diperoleh dari hasil koleksi laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA yaitu *Bacillus* sp., *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Perbanyakan bakteri dilakukan dalam media spesifik sesuai jenis isolat yang digunakan, yaitu *Bacillus* sp. (media NB), *Azospirillum* sp. (media NFB), *Azotobacter* sp. (media LGI), dan *Pseudomonas* sp. (media TSB), masing-masing sebanyak 2 liter untuk keperluan percobaan.

Keempat jenis isolat diproduksi dua tahap, yaitu produksi masa simpan 3 bulan dan produksi pupuk tanpa masa simpan (0 bulan) dengan media pembawa gambut. Kedua fase produksi dimulai dengan sterilisasi media cair dan gambut menggunakan autoclave,

tahap inokulasi, dan inkubasi dengan shacker. Selanjutnya bakteri dikeringkan dengan dua metode; 1) metode kering beku (*freezedrying*) dan 2) metode sentrifugasi. Metode kering beku dilakukan di pusat pengembangan dan pemberdayaan pendidikan dan tenaga kependidikan (P4TK) VEDCA Cianjur dengan menggunakan alat *freeze dryer* type MDL 3800 series 381001, selama 8 hari. Metode sentrifugasi dilakukan untuk menghasilkan pellet bakteri dengan volume cair yang disurutkan dari 1 liter menjadi 50 ml sebelum dicampur dengan gambut kering steril bobot 1 kg. bakteri dipanen pada fase eksponensial dengan kerapatan 10^8 sel/ml. hasil kedua proses ini selanjutnya dikemas dalam botol plastic steril yang diberi label sesuai jenis isolate dan teknik pengeringannya. Selain pupuk hayati padat, juga diproduksi pupuk hayati cair yang dilakukan menjelang aplikasi. Dimasa penyimpanan, pupuk hayati dilakukan uji viabilitas setiap bulan dengan cara pengenceran berseri.

2.3. Rancangan Penelitian

Uji efektivitas pupuk hayati di lapang diaplikasikan pada 2 jenis tanaman pangan yaitu padi gogo varietas Situbagendit dan jagung varietas Bisma menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor yaitu pupuk hayati dengan 6 taraf terdiri dari tanpa pupuk hayati (K0), pupuk hayati Cair (K1), pupuk hayati kering beku 0 bulan (K2), pupuk hayati pemekatan 0 bulan (K3), pupuk hayati kering beku 3 bulan (K4), dan pupuk hayati pemekatan 3 bulan (K5) dengan 3 kali ulangan sehingga diperoleh 18 petak/komoditi. Tanaman di tanam pada petak ukuran 3x3 m, jarak tanam padi dan jagung berturut 15x30 cm dan 25x50cm.

2.4. Aplikasi Pupuk

Dosis pupuk hayati untuk setiap jenis tanaman sebanyak 500g/teknik pengeringan yang merupakan kombinasi keempat jenis bakteri. Jumlah tersebut diapikasi pada saat penanaman dan 2 minggu setelah tanam.

2.5. Pengamatan dan Pengumpulan data

Parameter yang diamati untuk pertumbuhan adalah tinggi tanaman, jumlah daun, lingkaran batang (untuk jagung), jumlah anakan (untuk padi gogo), bobot kering akar dan tajuk (biomasa) tanaman. Pengamatan produksi dilakukan terhadap bobot produksi pertanaman/rumpun, bobot 100 biji (jagung), dan bobot 1000 biji (padi).

Analisis hara makro (N, P, K, Ca, Mg) dan mikro (Fe, Cu, dan Zn) dilakukan dengan mengambil seluruh bagian sampel tanaman untuk melihat pola serapan hara tanaman dan tingkat defisiensi hara. Analisis hara makro dan mikro dilakukan dengan menggunakan spektroskopi serapan atom (AAS), kecuali nitrogen (N) yang dianalisis dengan teknik Kjeldahl.

2.6. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Varians untuk mengetahui pengaruh dari faktor faktor yang ada. Uji lanjut dapat dilakukan jika faktor faktor yang ada memiliki pengaruh yang nyata, menggunakan uji Duncan dengan taraf signifikan 5% (0,05). Uji lanjut dilakukan untuk mengetahui pengaruh masing masing faktor. Pengolahan data dianalisis menggunakan program SPSS versi 15.

3. HASIL

3.1. Viabilitas

Hasil uji viabilitas baik dari teknik pengeringan maupun waktu penyimpanan menunjukkan bahwa, metode pemekatan memiliki tingkat viabilitas yang lebih tinggi di bandingkan dengan teknik Kering beku. Perbedaan jumlah koloni sudah terlihat pada pasca pengeringan (0 bulan), dan terus terjadi penurunan jumlah koloni semua isolat yang menggunakan teknik kering beku seiring bertambahnya waktu penyimpanan seperti terlihat pada isolat *Azospirillum* sp. dan *Azotobacter* sp. Viabilitas bakteri yang menggunakan teknik pemekatan, jumlah koloni cenderung stabil saat pasca pengeringan dan tidak terjadi penurunan koloni yang dratis, bahkan pada isolat *Bacillus* sp. cenderung memiliki viabilitas yang stabil sampai masa penyimpanan 5 bulan (Tabel 1).

Tabel 1. Viabilitas empat isolat mikroba kelompok PGPR selama lima bulan masa simpan

Isolat	Teknik	Uji viabilitas Bulan ke-n				
		Bln ke-0	Bln ke-1	Bln ke-2	Bln ke-3	Bln ke-5
<i>Bacillus</i> sp	Pemekatan	2.81×10^8	2.99×10^8	2.30×10^8	2.20×10^8	2.09×10^8
	Kering beku	4.10×10^7	1.20×10^7	3.17×10^6	2.88×10^6	2.78×10^5
<i>Pseudomonas</i> sp	Pemekatan	6.30×10^8	5.90×10^8	1.65×10^7	2.75×10^6	1.72×10^6
	Kering beku	4.00×10^7	3.00×10^6	2.66×10^5	1.74×10^5	1.52×10^4
<i>Azospirillum</i> sp	Pemekatan	1.99×10^8	6.90×10^7	2.00×10^7	1.79×10^7	1.44×10^7
	Kering beku	*	*	*	*	3.55×10^3
<i>Azotobacter</i> sp	Pemekatan	4.20×10^8	4.28×10^7	3.10×10^7	2.33×10^7	1.60×10^7
	Kering beku	5.05×10^6	1.53×10^6	1.28×10^5	1.13×10^5	1.43×10^4

*= Sampel yang di uji kurang atau melebihi standar uji viabilitas yang berkisar 30-300 koloni

3.2. Pola Serapan Hara

Analisis pola serapan hara tanaman padi gogo menunjukkan bahwa penggunaan pupuk hayati memiliki tingkat serapan hara lebih baik dibanding kontrol. Perbedaan nyata terlihat pada perlakuan (K5) khususnya pada serapan hara N, P, Mg, Fe, dan Cu. Diikuti perlakuan (K4) khususnya pada serapan hara Mg, Fe, dan Cu seperti pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Pola serapan hara makro dan mikro tanaman padi gogo

Pupuk Hayati	Pola Serapan Hara Tanaman							
	Hara Makro (g/tanaman)					Hara Mikro (mg/tnm)		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn
Tanpa ppk hayati	0.136 ^a	0.029 ^a	0.180 ^a	0.005 ^a	0.007 ^a	3.492 ^a	0.214 ^a	1.581 ^a
Cair	0.201 ^{ab}	0.040 ^{ab}	0.258 ^{ab}	0.007 ^{ab}	0.010 ^a	5.990 ^{ab}	0.197 ^{ab}	2.396 ^{ab}
Kering beku 0 bln	0.251 ^b	0.051 ^b	0.316 ^b	0.008 ^{ab}	0.014 ^a	8.027 ^{bc}	0.253 ^{ab}	2.662 ^d
Pemekatan 0 bln	0.271 ^b	0.047 ^b	0.330 ^b	0.009 ^b	0.015 ^a	7.751 ^{bc}	0.318 ^b	2.415 ^{cd}
Kering beku 3 bln	0.185 ^{ab}	0.038 ^{ab}	0.253 ^{ab}	0.007 ^{ab}	0.010 ^a	7.533 ^c	0.295 ^{ab}	1.775 ^b
Pemekatan 3 bln	0.225 ^{ab}	0.044 ^{ab}	0.272 ^{ab}	0.009 ^b	0.122 ^b	6.739 ^{bc}	0.266 ^{ab}	2.714 ^c

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Aplikasi pupuk hayati pada tanaman jagung juga memberikan efek lebih baik dibanding kontrol. Hampir semua aplikasi pupuk hayati yang menggunakan teknik pengeringan baik masa simpan 0 bulan (K2) dan (K3), maupun tiga bulan (K4), (K5) secara statistik berbeda nyata dengan kontrol (K0). Pada pupuk hayati cair (K1) hasil yang diperoleh berbeda dengan kontrol walaupun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan signifikan kecuali pada hara Ca, seperti ditunjukkan tabel 3 berikut ini :

Tabel 3. Pola serapan hara makro dan mikro tanaman jagung

Pupuk hayati	Pola Serapan Hara Tanaman							
	Hara Makro (g/tanaman)					Hara Mikro (mg/tnm)		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn
Tanpa ppk hayati	1.414 ^a	0.271 ^a	1.095 ^a	0.097 ^a	0.105 ^a	16.78 ^a	3.255 ^a	8.789 ^a
Cair	1.438 ^a	0.311 ^a	1.181 ^a	0.130 ^b	0.111 ^a	18.668 ^a	3.411 ^{ab}	8.663 ^a
Kering beku 0 bln	2.441 ^c	0.475 ^d	2.387 ^c	0.150 ^b	0.162 ^b	33.675 ^b	3.788 ^{ab}	14.73 ^b
Pemekatan 0 bln	2.376 ^c	0.422 ^{bc}	2.464 ^c	0.147 ^c	0.152 ^b	31.973 ^b	3.813 ^{bc}	13.49 ^b
Kering beku 3 bln	2.320 ^b	0.394 ^b	1.832 ^b	0.169 ^d	0.163 ^b	21.234 ^b	3.632 ^c	10.90 ^b
Pemekatan 3 bln	2.077 ^b	0.458 ^{cd}	1.743 ^b	0.184 ^d	0.291 ^c	25.704 ^c	4.939 ^d	12.674 ^c

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Dari kedua percobaan terlihat bahwa aplikasi pupuk hayati dengan teknik pemekatan yang sudah disimpan selama 3 bulan (K5) mempunyai tingkat induksi yang tinggi terhadap tanaman, dilihat dari tingkat pola serapan hara yang tinggi dan signifikan baik unsur makro maupun mikro dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

3.3. Efektivitas pupuk hayati terhadap pertumbuhan dan biomasa

Hasil analisis menunjukkan bahwa penggunaan pupuk hayati dapat meningkatkan pertumbuhan berdasarkan parameter tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah anakkan, dan yang menonjol terlihat pada perlakuan K2 yang secara statistik signifikan dengan kontrol, Sedangkan biomasa tanaman padi gogo yang menonjol adalah perlakuan K3 yang signifikan baik kontrol maupun perlakuan lainnya.

Tabel 4. Efektivitas pupuk hayati pada pola pertumbuhan dan biomasa padi gogo

Pupuk Hayati	Pola Pertumbuhan			Biomasa (g)			
	Tinggi Tnm (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Anakan	Bobot Akar	Bobot Tajuk	Bobot Gabah	B _{tot}
Tanpa pupuk hayati	86.67 ^a	134 ^{ab}	29 ^a	9.61 ^a	41.88 ^a	35.30 ^a	86.77 ^a
Cair	87.60 ^{ab}	122 ^a	29 ^a	10.31 ^{ab}	46.11 ^{ab}	42.80 ^b	99.22 ^b
Kering beku 0 bln	90.53 ^b	169 ^d	37 ^d	12.23 ^{bc}	50.61 ^b	47.02 ^b	109.85 ^{bc}
Pemekatan 0 bln	90.00 ^{ab}	162 ^{cd}	36 ^{cd}	12.41 ^{bc}	51.15 ^b	47.56 ^b	111.13 ^c
Kering beku 3 bln	88.47 ^{ab}	159 ^{bcd}	35 ^{bcd}	12.26 ^{bc}	50.34 ^b	45.69 ^b	108.29 ^{bc}
Pemekatan 3 bln	87.20 ^{ab}	137 ^{abc}	31 ^{bc}	12.09 ^{bc}	50.84 ^b	44.08 ^b	107.01 ^{bc}

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Demikian halnya dengan tabel 5, pada tanaman jagung, parameter vegetatif seperti tinggi tanaman, jumlah daun, dan lingkaran batang mengalami peningkatan rata-rata 9.91%, 28.89%, dan 20.96% dengan penggunaan pupuk hayati, peningkatan juga terjadi pada berat kering total dengan rata-rata 44.54%. perlakuan yang menonjol adalah pupuk hayati kering beku 0 bulan (K2), walaupun tidak signifikan secara statistik dengan perlakuan pupuk hayati lainnya, namun berbeda nyata dengan kontrol.

Tabel 5. Efektivitas pupuk hayati pada pola pertumbuhan dan biomasa tanaman Jagung

Pupuk Hayati	Pola Pertumbuhan Vegetatif			Biomassa (g)			
	Tinggi Tnm (cm)	Jumlah Daun	Lingkaran Btg (cm)	Bobot Akar	Bobot Tajuk	Bobot buah	B _{tot}
Tanpa pupuk hayati	181.7 ^a	9 ^a	4.99 ^a	11.14 ^a	74.38 ^a	126.87 ^a	212.38 ^a
Cair	187.4 ^{ab}	10 ^b	5.73 ^b	14.08 ^{ab}	86.34 ^a	170.70 ^b	271.12 ^b
Keringbeku 0 bln	191.9 ^{abc}	11 ^{bc}	6.00 ^{bc}	19.01 ^b	107.88 ^a	200.08 ^c	306.09 ^b
Pemekatan 0 bln	198.1 ^{abc}	12 ^{bc}	6.01 ^{bc}	16.83 ^{ab}	104.61 ^a	184.65 ^{bc}	310.79 ^b
Keringbeku 3 bln	208.4 ^{bc}	12 ^{bc}	6.04 ^{bc}	17.67 ^{ab}	104.82 ^a	188.30 ^{bc}	319.92 ^b
Pemekatan 3 bln	212.7 ^c	13 ^c	6.40 ^c	18.71 ^b	112.42 ^a	188.77 ^{bc}	326.98 ^b

Ket : Angka angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan 5%

3.4. Efektivitas pupuk hayati terhadap produksi tanaman

Tabel 6. Bobot produksi tanaman padi gogo

Pupuk Hayati	Bobot Produksi Padi Gogo (g)		
	Perrumpun	Per1000	Perplot
Tanpa pupuk hayati	31.47 ^a	23.18 ^a	385 ^a
Cair	37.99 ^{ab}	24.32 ^b	481 ^b
Keringbeku 0 bulan	37.82 ^{ab}	24.37 ^b	486 ^b
Pemekatan 0 bulan	41.91 ^b	24.15 ^b	462 ^b
Keringbeku 3 bulan	38.56 ^{ab}	24.27 ^b	471 ^b
Pemekatan 3 bulan	36.59 ^{ab}	24.34 ^b	411 ^b

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Dari tabel di atas, menunjukkan bahwa penggunaan pupuk hayati baik cair maupun padatan (kering beku dan pemekatan) meningkatkan prosentase produksi per-rumpun padi

gogo berkisar 16.27% (K5) sampai 33.17% (K3) dengan rata-rata 22.57% dibanding dengan kontrol walaupun secara statistik beberapa perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata hampir semua perlakuan pupuk hayati kecuali perlakuan K3.

Tabel 6. Bobot produksi tanaman jagung

Pupuk Hayati	Bobot Produksi Jagung (g)			
	Pertanaman	Per100 biji	Pipilan	Perplot
Tanpa pupuk hayati	126.87 ^a	23.66 ^a	103.19 ^a	2333.3 ^a
Cair	170.70 ^b	32.00 ^b	131.17 ^b	2842.3 ^{ab}
keringbeku 0 bulan	184.65 ^{bc}	32.09 ^b	152.11 ^c	3401.3 ^{bc}
Pemekatan 0 bulan	188.30 ^{bc}	32.89 ^b	147.05 ^{bc}	3317.7 ^{bc}
Keringbeku 3 bulan	188.78 ^{bc}	32.98 ^b	129.21 ^{abc}	3494.7 ^{bc}
Pemekatan 3 bulan	200.09 ^c	35.81 ^b	123.03 ^{ab}	3752.7 ^c

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Tanaman jagung, bobot pipilan pertanaman berkisar 19.23% sampai 47.41% dengan rata-rata 32.29%. perlakuan yang menonjol untuk bobot pertanaman dan perplot ditunjukkan oleh perlakuan K5. Bobot 100 biji juga meningkat pada perlakuan pupuk hayati yang merujuk pada peningkatan kualitas biji yang dihasilkan.

4. PEMBAHASAN

4.1. Viabilitas Bakteri pada dua sistem pengeringan

Upaya perbaikan teknik produksi pupuk hayati yang memiliki daya simpan yang lama dan viabilitas yang tinggi sangat dibutuhkan. Teknik percobaan menunjukkan bahwa viabilitas pupuk hayati teknik pemekatan lebih tinggi dari teknik kering beku bahkan sejak awal periode penyimpanan (Tabel 1). Hal ini diduga proses pengeringan teknik kering beku dilakukan dalam kondisi suhu yang ekstrim yaitu -20°C. skala suhu yang demikian dapat menyebabkan terganggunya sistem membran (Ronald, 1984) sehingga fungsi fungsi metabolisme yang berlangsung disekitar membran seperti pompa proton dan mekanisme metabolik lainnya yang dibutuhkan oleh sel mikroba akan terganggu.

Penurunan tingkat viabilitas selama masa penyimpanan pupuk hayati pada teknik kering beku (*freeze-drying*) juga menunjukkan penurunan dratis dibandingkan dengan pengeringan pupuk hayati teknik pemekatan (Tabel 1), diduga kerusakan atau terganggunya sistem membran selama proses pengeringan berlanjut pada pasca pengeringan, sehingga proses metabolisme selama masa penyimpanan juga terganggu. Faktor lain diduga adalah kadar air. Berdasarkan pengamatan visual, pengeringan dengan teknik kering beku memiliki kualitas tingkat pengeringan yang lebih baik dibandingkan dengan teknik pemekatan, artinya kadar air dari pupuk hayati kering beku sangat rendah. Meskipun beberapa jenis bakteri tidak terjadi pertumbuhan dengan

adanya oksigen oleh karena adanya sifat aerob, anaerob, anaerob fakultatif maupun obligat yang dimiliki setiap jenis bakteri, tetapi semua mikroorganisme khususnya bakteri membutuhkan air untuk mempertahankan pertumbuhan dan reproduksinya, karena air merupakan pelarut penting untuk terjadinya reaksi biokimia dalam sel (Ronald, 1984).

4.2. Pupuk Hayati Memacu Pertumbuhan dan Produksi Padi Gogo dan Jagung

Pada penelitian ini digunakan beberapa isolat bakteri seperti *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., dan *Pseudomonas* sp. yang diformulasi dalam pupuk hayati. Isolat *Azospirillum* sp. dan *Azotobacter* sp. dikenal sebagai bakteri penyedia N, sedangkan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. memiliki kemampuan dalam melarutkan P dan K yang ada di tanah sehingga menjadi hara yang tersedia bagi tanaman (Simanungkalit, 2001). Hara makro seperti N dan P pada organisme khususnya tumbuhan, memiliki peran dalam sintesis molekul penting berupa protein dan asam nukleat yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman (Taiz dan Zeiger, 2002). *Azotobacter* juga dapat memproduksi senyawa seperti vitamin B, IAA, dan gibberalin (Rao, 1994). Senyawa ini secara aktif dapat memacu pertumbuhan organ penting seperti akar. Implikasinya, daya serap dan luas daerah serapan akar terhadap unsur hara penting yang dibutuhkan oleh tanaman menjadi meningkat (Tabel 2 dan 3). Efektivitas daya serap akar yang tinggi oleh adanya induksi beberapa bakteri spesifik terhadap unsur hara secara signifikan dapat meningkatkan biomasa tanaman (Tabel 4 dan 5). Terindikasi bahwa biomasa yang rendah pada tanaman yang diusahakan pada lahan pertanian intensif dan menggunakan pupuk anorganik dihubungkan dengan hilang atau berkurangnya organisme yang berperan dalam penyediaan hara penting tanaman (Wu *et al*, 2005). Beberapa contoh pembuktian dilaporkan bahwa hasil gandum meningkat sampai dengan 30% dengan inokulasi *Azotobacter* dan sampai 43% dengan inokulan *Bacillus* (Kloepper *et al*, 1989).

Walaupun tumbuhan secara garis besar dalam pemanenan energi maupun biomasa memanfaatkan senyawa CO₂ dan H₂O serta energi radiasi matahari yang melimpah di alam, ketersediaan dan kebutuhan unsur hara makro dan mikro harus terpenuhi dengan baik sehingga tumbuhan dapat menyelesaikan siklus hidup sampai tingkat produksi dengan baik (Taiz dan Zeiger, 2002). Fase generatif tumbuhan yang ditandai dengan munculnya organ reproduksi, secara fisiologis pengangkutan fotosintat didominasi oleh proses pengisian biji (menjadi *sink* yang kuat) atau tempat penyimpanan lainnya seperti umbi, dibandingkan dengan alokasi ke organ organ vegetatif. Kuat dugaan pada bakal biji terdapat hormon tertentu yang berperan besar terhadap dominasi proses pengangkutan fotosintat. Hal ini pula yang menjadi penyebab organ vegetatif tanaman mengalami perhentian pertumbuhan selama fase generatif. Tanaman dengan tingkat

serapan hara yang tinggi pada fase vegetatif oleh karena adanya induksi bakteri spesifik seperti di uraikan di atas, akan lebih efisien dalam proses pengisian biji, karena selain mendapatkan suplai fotosintat selama fase generatif, juga suplai hasil pembongkaran fotosintat selama fase vegetatif khususnya pada organ organ vegetatif yang lebih dekat dengan organ reproduksi.

5. KESIMPULAN

Bakteri yang terdapat dalam pupuk hayati dengan menggunakan teknik pemekatan memiliki viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan pupuk hayati teknik kering beku, demikian halnya dengan lama penyimpanan juga menunjukkan pola yang sama. Aplikasi pupuk hayati pada padi gogo dan jagung memberikan efek positif yang signifikan pada pola serapan hara, pertumbuhan, maupun produksinya dibandingkan dengan pemberian pupuk anorganik saja. Produksi pertanian/rumpun juga menunjukkan bahwa pupuk hayati yang menggunakan pengeringan teknik pemekatan baik masa simpan nol bulan maupun tiga bulan lebih baik dibanding dengan teknik lainnya maupun kontrol.

6. SARAN

Diperlukan uji multi lokasi pupuk hayati untuk melihat viabilitas serta efektivitas induksinya terhadap tanaman budidaya, baik pupuk hayati yang menggunakan pengeringan dengan teknik pemekatan maupun pupuk hayati dengan teknik kering beku.

PUSTAKA

- Adesemoye AO, Obini M, Ugoji EO. 2008. Comparison of plant growth-promotion with *pseudomonas aeruginosa* and *bacillus subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology* 39:423-426.
- Ashrafuzzaman M, Hossen FA, Ismail RMA, Anamul HMD, Zahurul M, Shahidullah SM, Meon S. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *Afr. J. of Biotech.* 8:1247-1252.
- Hamim, Rachmania N, Hanarida I, Sumarni N,. 2008. Tingkat serapan hara dan produksi tanaman kentang dan tomat sebagai respon terhadap pupuk hayati. *MIFI.* 7(2):91-100.
- Hanafiah KA, Anas I, Napoleon A, Ghoffar N. 2005. *Biologi Tanah; Ekologi dan Mikrobiologi Tanah.* Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lestari P, Susilowati DN, Riyanti EI. 2007. Pengaruh hormon indol asetat yang dihasilkan *Azospirillum sp.* Terhadap perkembangan akar padi. *Jurnal AgroBiogen* 3:66-72
- Kloepper JW, Liftshitz K, Zablutowicz RM. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7: 39– 43.
- Ronal A.M. 1984. *Microbiology; Fundamental and applications.* New York: Macmillan Publishing Company (p. 342 & 348)

- Simanungkalit RDM. 2001. Aplikasi Pupuk Hayati dan Pupuk Kimia: Suatu Pendekatan Terpadu. *Buletin AgroBio* 4(2):56-61
- Sinukaban N. 2007. *Konservasi Tanah dan Air; Kunci Pembangunan Berkelanjutan*. Direktorat Jendral RLPS Departemen Kehutanan.
- Stoate C, Boatman ND, Borralho RJ, Carvalho CR, de Snoo GR, Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *J Environ. Manage.* 63(4):337-365.
- Subba Rao NS. 1994. *Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan*. Jakarta: UI Press
- Taiz L, Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*, Third edition, Sunderland: Sinauer Associates (p. 73)
- Vessey JK. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255:571-586.
- Wu SC, Cao ZH, Lib ZG, Cheung KC, Wong MH. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *J. Geoderma*, 125:155 –166.

OPTIMASI LINGKUNGAN TUMBUH MIKROALGA DARI KAWAH RATU SUKABUMI YANG BERPOTENSI SEBAGAI SUMBER BIODIESEL

Risa Swandari Wijihastuti¹, Tatik Chikmawati^{2,3}, Miftahudin²

¹ Program Studi Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana IPB

² Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor

³ Penulis untuk korespondensi

Abstrak

Mikroalga berpotensi sebagai bahan baku biodiesel dan dapat dikulturkan dalam skala besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi mikroalga pada sumber air panas kawah ratu-Sukabumi dan menemukan media serta kondisi yang cocok agar tumbuh baik dan menghasilkan kandungan minyak secara optimal. Mikroalga yang telah diisolasi dan dikulturkan sebelumnya, diidentifikasi dan diperiksa kandungan lipidnya dengan menggunakan metode Nile Red. Mikroalga ini kemudian ditumbuhkan dalam media yang memiliki konsentrasi nitrogen yang berbeda (0, 187,5, 375, dan 750 ppm) dan intensitas cahaya yang berbeda (70, 105, 140 dan 175 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$) selama 16 hari. Kandungan lipid diukur pada hari ke 8 dan ke 16. Hasil percobaan menunjukkan bahwa hanya ada satu jenis mikroalga, yaitu *Chlorella sp.*, yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel karena memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi. *Chlorella sp.* dapat tumbuh maksimal pada media dengan kadar nitrogen 750 ppm dan intensitas cahaya 70 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$, tetapi kandungan lipid tertinggi diproduksi bila ditumbuhkan pada media yang memiliki konsentrasi nitrogen 187,5 ppm dan intensitas cahaya 175 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$.

Kata Kunci: mikroalga, biodiesel, sumber air panas, *Chlorella sp*

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroalga merupakan organisme yang berukuran mikroskopis, menyusun sebagian besar jenis dari alga. Organisme ini dapat dijumpai di mana saja yang tersedia cukup cahaya, kelembaban dan nutrisi sederhana untuk memperpanjang hidupnya (Pelczar & Chan 1986). Elemen yang penting terdapat dalam nutrisi diantaranya adalah fosfat (komponen penting fosfolipid dan untuk sintesis asam nukleat) dan nitrogen (penting untuk sintesis asam amino dan protein) (Ferrão-Filho *et al* 2003). Di alam, selain dapat dimanfaatkan sebagai sumber makanan mikroalga juga mengambil peranan yang penting sebagai akumulator logam berat, eliminasi CO₂, dan juga berasosiasi dengan bakteri untuk mengikat nitrogen (Sheehan *et al.* 1998). Mikroalga memiliki potensi sebagai penghasil bahan baku biodiesel. Biodiesel hanya memberikan sedikit polusi dibandingkan

bahan bakar petroleum dan dapat diperoleh dari hasil transesterifikasi dari minyak tumbuhan yang dalam hal ini berasal dari mikroalga, dengan alkohol.

Berdasarkan beberapa penelitian, mikroalga memiliki pertumbuhan yang cepat dan kemampuan yang sangat besar untuk menghasilkan minyak alami (lipid) lebih kurang 60% dari berat keringnya (NREL 1998). Mikroalga dapat tumbuh di tempat ekstrim seperti di air yang panas dan pH yang rendah sehingga tahan terhadap cendawan dan bakteri (Griffith & Harrison 2008; Yani 2003). Karakter ini memungkinkan mikroalga untuk dikulturkan dalam skala besar sebagai bahan baku biodiesel. Indonesia memiliki banyak sumber air panas, salah satunya adalah yang terdapat di Jawa Barat. Sumber-sumber air panas ini dapat menjadi sumber keanekaragaman hayati bagi mikroalga. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi secara sistematis dan kajian ilmiah mendalam terhadap mikroalga pada daerah yang memiliki sumber air panas, sehingga dapat ditemukan mikroalga yang memiliki kandungan minyak alami tinggi dan selanjutnya dapat dibudidayakan secara masal sebagai bahan baku pembuatan biodiesel

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroalga pada sumber air panas Kawah Ratu-Sukabumi dan menemukan media serta kondisi yang cocok agar menghasilkan minyak alami secara optimal.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai bulan Oktober 2010 di Laboratorium Penelitian Taksonomi dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor.

2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel mikroalga yang telah dikulturkan serta air dari Kawah Ratu-Sukabumi, media BG 11, minyak Nile Red (9-diethylamino-5H-benzo {a} phenoxazine-5-one), metanol, kloroform dan Air destilata bebas ion.

2.3. Metode

2.3.1. Pengecekan Keseragaman dan Kandungan Lipid Mikroalga

Kultur stok mikroalga yang digunakan sebelumnya sudah melalui tahapan isolasi dan seleksi media tumbuh. Keseragaman diamati kembali untuk memastikan mikroalga

masih seragam. Beberapa preparat segar dibuat dari kultur stok mikroalga kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya. Ada tidaknya kandungan lipid pada mikroalga diketahui melalui pewarnaan dengan larutan Nile Red (Cooksey *et al* 1987). Larutan stok Nile Red dibuat dengan melarutkan 1 mg serbuk Nile Red ke dalam 1 ml acetone. Mikroalga diwarnai dengan membuat preparat segar dari 10 µl larutan Nile Red dan 1 ml sampel mikroalga. Setelah 20-30 menit mikroalga yang telah terwarnai dapat diamati dibawah mikroskop fluorescence dengan filter blue violet (400-440 nm).

2.3.2. Identifikasi Sampel Mikroalga

Sampel mikroalga diidentifikasi dengan mengamati preparat segarnya dibawah mikroskop cahaya. Proses identifikasi dilakukan dengan bantuan buku identifikasi "*How to Know The Freshwater Algae*" karangan Prescott (1978) dan "*Introduction to The Algae*" karangan Bold dan Wynne (1985).

2.3.3. Optimasi Lingkungan Tumbuh

Percobaan ini merupakan percobaan faktorial yang disusun berdasarkan rancangan split plot dengan tiga ulangan. Terdapat dua faktor dalam percobaan yaitu konsentrasi Nitrogen (dengan empat taraf yaitu 0, 187,5, 375, dan 750 ppm) dan intensitas cahaya (dengan empat taraf yaitu 70, 105, 140 dan 175 µmol foton/m² /detik). Kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 1. Masing-masing perlakuan ditumbuhkan pada botol serum 500 ml. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam pada tingkat kepercayaan 95%. Apabila analisis sidik ragam berpengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Tabel 1 Kombinasi perlakuan faktorial 4 x 4 dari empat taraf konsentrasi nitrogen dan empat taraf intensitas cahaya

Konsentrasi Nitrogen (ppm)	Intensitas Cahaya (µmol foton/m ² /detik)			
	70 (C1)	105 (C2)	140 (C3)	175 (C4)
0 (N0)	C0N0	C1N0	C2N0	C3N0
187,5 (N1)	C0N1	C1N1	C2N1	C3N1
375 (N2)	C0N2	C1N2	C2N2	C3N2
750 (N3)	C0N3	C1N3	C2N3	C3N3

Parameter yang diamati yaitu pertumbuhan dan kandungan lipid. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah *Optical Density* (OD) dan bobot kering. Pengukuran OD mikroalga dilakukan pada panjang gelombang (λ) 680 nm setiap dua hari sekali selama 16 hari. Kandungan lipid mikroalga yang sudah ditumbuhkan dianalisa dengan metode ekstraksi seperti yang sudah dilakukan oleh Gunawan (2010) dengan melakukan beberapa modifikasi.

Ekstraksi lipid dilakukan pada hari ke 16 dengan cara mengambil 100 ml kultur mikroalga disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 25 menit, diambil peletnya lalu ditimbang sebagai bobot basah. Pelet dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 80°C, dan ditimbang sebagai bobot kering. Pelet kering disuspensikan dengan pelarut kimia seperti air destilata bebas ion 2 ml, methanol 5 ml dan khloroform 2,5 ml lalu dilakukan pengadukan dengan bantuan *shaker* secara resiprok selama 24 jam. Ke dalam hasil pengadukan ditambahkan kembali 2,5 ml air destilata bebas ion dan 2,5 ml khloroform kemudian dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 25 menit. Campuran lipid dan khloroform terbentuk dipisahkan dari bahan lainnya kemudian dipanaskan agar khloroform dapat menguap sehingga didapatkan lipid kering dan ditimbang sebagai bobot lipid. Persentase lipid dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Lipid} = \frac{\text{bobot lipid}}{\text{bobot kering mikroalga}} \times 100$$

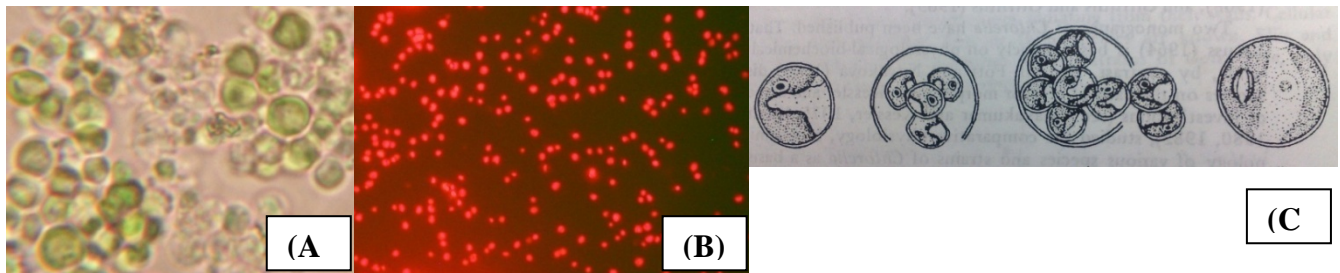
Sedangkan produktivitas lipid dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Produktivitas} \left(\frac{\text{g}}{\text{l}} / \text{hari} \right) = \left(\frac{\text{bobot lipid}}{16} \right) \times \left(\frac{1000 \text{ ml}}{\text{volume alga yang diekstraksi}} \right)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Keseragaman, Kandungan Lipid dan Identifikasi Sampel Mikroalga

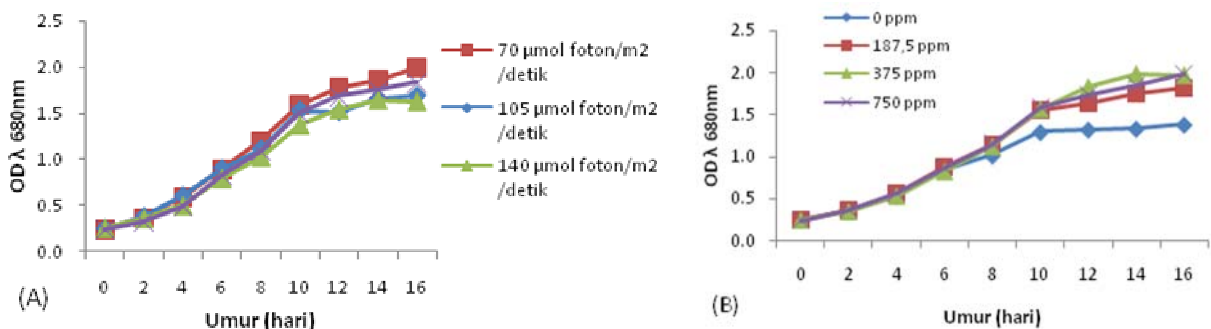
Hasil pengecekan keseragaman menunjukkan bahwa mikroalga pada kultur stok dalam keadaan seragam, maka dapat dilanjutkan dengan pengecekan kandungan lipid. Pengecekan kandungan lipid pada mikroalga dapat menentukan digunakan atau tidaknya mikroalga ini pada proses selanjutnya. Mikroalga yang berpondar karena memiliki kandungan lipid yang banyak, berpotensi untuk dijadikan bahan baku pembuatan biodiesel. Dari hasil proses identifikasi mikroalga, hanya terdapat satu jenis mikroalga yang terisolasi yaitu *Chlorella sp.* termasuk ke dalam divisi Chlorophyta yang merupakan divisi pendominasi perairan air tawar (Pelzar & Chan 1986). Dari pengecekan sebelumnya dimana *Chlorella sp.* memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi, juga dapat disebabkan karena selain dalam bentuk pati, divisi Chlorophyta juga menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk minyak (Pelzar & Chan 1986).



Gambar 1 Mikroalga dalam stok masih dalam keadaan seragam (Perbesaran 1000x) (A) Mikroalga terwarnai oleh Nile Red (perbesaran 100x) (B). Gambar mikroalga pada buku identifikasi Bold & Wynne (1985) (C)

3.2. Lingkungan Tumbuh Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dapat diamati dengan mengukur kepadatan sel nya (OD) menggunakan spektrofotometer. Hasil percobaan menunjukkan pertumbuhan dari mikroalga semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi nitrogen maupun intensitas cahaya (Gambar 2).

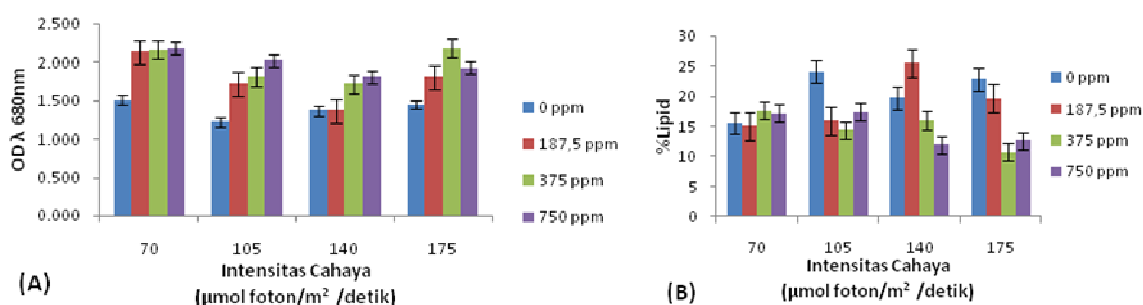


Gambar 2 Pola pertumbuhan mikroalga pada berbagai intensitas cahaya (A) dan konsentrasi nitrogen (B)

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, konsentrasi nitrogen menunjukkan pengaruh yang nyata hanya pada satu parameter pertumbuhan yaitu kepadatan sel mikroalga. Gambar 3 menunjukkan mikroalga dapat tumbuh optimal pada konsentrasi nitrogen 750 ppm. Konsentrasi nitrogen yang tinggi akan meningkatkan laju pertumbuhan sedangkan konsentrasi nitrogen yang rendah akan menghambat pertumbuhan, hasil ini sesuai dengan penelitian Gunawan (2010) dengan mikroalga jenis lain. Konsentrasi nitrogen tidak memiliki pengaruh yang nyata pada biomassa atau bobot kering mikroalga namun pada konsentrasi 187,5 ppm memiliki kecenderungan yang tinggi.

Intensitas cahaya tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter pertumbuhan, tapi cenderung memiliki kepadatan sel yang tinggi pada intensitas cahaya 70 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$ dan juga biomassa yang tinggi pada intensitas cahaya 175 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan intensitas cahaya terendah

yang digunakan akan menghasilkan kepadatan sel yang lebih tinggi seperti pada penelitian Imamoglu *et al.* (2007) dengan mikroalga *Haematococcus pluvialis* dan pada Ghezlbash *et al.* (2008) dengan mikroalga *Tetraselmis chuii*, namun lain halnya dengan penelitian Sorokin & Kraus (1958) pada jenis *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, dan *Chlamydomonas reinhardtii* yang kepadatan sel nya semakin tinggi seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya. Sama halnya dengan intensitas cahaya, interaksi antara konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya juga tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter pertumbuhan.



Gambar 3 Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya pada pertumbuhan mikroalga (A) dan kandungan lipid pada hari ke 16 (B)

Mikroalga yang telah ditumbuhkan diukur persentase lipid dan produktivitasnya pada hari ke 16. Pada parameter kandungan lipid, hanya persentase lipid saja yang dipengaruhi oleh konsentrasi nitrogen, sedangkan produktivitas lipid tidak dipengaruhi. Persentase lipid yang tertinggi dihasilkan pada konsentrasi nitrogen 187,5 ppm. Pembatasan nutrisi, seperti nitrogen atau silika, diketahui dengan baik dapat meningkatkan kandungan lipid pada alga (Griffith & Harrison 2008). Produktivitas lipid juga memiliki kecenderungan tinggi dihasilkan pada konsentrasi nitrogen 187,5 ppm.

Intensitas cahaya tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter kandungan lipid. Namun, persentase lipid cenderung tinggi pada intensitas cahaya 140 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik dan produktivitas lipid cenderung dihasilkan tinggi pada intensitas cahaya 175 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik. Pengaruh cahaya pada mikroalga berbeda pada setiap spesies, hal ini telah diteliti sebelumnya oleh Gunawan (2010). Hanya persentase lipid saja sebagai parameter kandungan lipid yang dipengaruhi secara nyata oleh interaksi antara konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya, sedangkan produktivitas lipid tidak dipengaruhi secara nyata. Pengaruh ini mungkin tidak terlihat pada produksi lipid pada mikroalga setiap harinya, namun jelas terlihat pengaruhnya pada akumulasi produksi lipid selama 16 hari.

4. KESIMPULAN

Hanya terdapat satu jenis mikroalga yang berhasil diisolasi pada sumber air panas kawah ratu-sukabumi, yaitu *Chlorella* sp., yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel karena memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi. *Chlorella* sp. dapat tumbuh maksimal pada media dengan kadar nitrogen 750 ppm dan intensitas cahaya 70 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik, tetapi kandungan lipid tertinggi diproduksi bila ditumbuhkan pada media yang memiliki konsentrasi nitrogen 187,5 ppm dan intensitas cahaya 175 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik. Konsentrasi Nitrogen dan Intensitas cahaya dapat cukup berpengaruh pada pertumbuhan dan produksi lipid pada mikroalga ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bold HC, Wynne MJ. 1985. *Introduction to the algae. Structure and Reproduction*. 2nd ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs.
- Cooksey KE, Guckert JB, Williams SA, Collis PR. 1987. Fluorometric determination of the neutral lipid content of microalgal cells using Nile red. *J Microbiol Methods* 6:333-345.
- Ferrão-Filho AS, Fileto C, Lopes NP, Arcifa MS. 2003. Effects of essential fatty acids and N and P-limited algae on the growth rate of tropical cladocerans. *J Freshwater Biology* 48: 759–767
- Ghezalbash F, Farboodnia T, Heidari R, Agh N. 2008. Effects of different salinities and luminance on growth rate of the green microalgae *Tetraselmis chuii*. *J Biological Sciences* 3: 311-314
- Griffiths JM, Harrison TLS. 2008. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycol* 21: 493-507.
- Gunawan. 2010. Keragaman dan karakterisasi mikroalga dari sumber air panas yang berpotensi sebagai sumber biodiesel [tesis]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Imamoglu E, Sukan FV, Dalay MC. 2007. Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*. *J Natural and Engineering Sciences* 1: 05-09
- [NREL] National Renewable Energy Laboratory. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's *Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae*. Colorado:NREL; (NREL Report).
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1. Hadjoetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Presscot GW. 1978. *How to Know the Freshwater Algae*. 3rd edition. WMC. Iowa: Brown Company.
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P. 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae*. The National Renewable Energy Laboratory, A national laboratory of the U.S. Department of Energy.
- Sorokin C, Krauss RW. 1958. The effects of light intensity on the growth rates of green algae. *J Plant Physiologi* 33: 109-113.
- Yani AP. 2003. Identifikasi jenis-jenis mikroalga di sumber air panas sungai air putih zona penyanggah taman nasional kerinci seblat di kecamatan lebong utara propinsi Bengkulu. *J Penelitian UNIB* 9:42-44.

KAJIAN PRODUKSI MIKROALGA DENGAN MEDIA LIMBAH CAIR RUMAH PEMOTONGAN HEWAN

Suprihatin, Muhammad Romli, Andes Ismayana

Bagian Teknik dan Manajemen Lingkungan, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas
Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, PO. Box 220 Bogor

Telp./Fax: 0251 – 8621 974, E-mail: suprihatin@indo.net.id

Abstrak

Dipicu oleh semakin mendesaknya kebutuhan akan energi alternatif (bioenergi) dan isu pemanasan global yang semakin memanas, potensi tinggi penggunaan biomassa mikroalga untuk produksi biodiesel baru-baru ini semakin mencuat. Kajian ini bertujuan untuk analisis kemungkinan produksi mikroalga dengan media limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH), mencakup karakteristik pertumbuhan, laju produksi dan produktivitas mikroalga. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah cair RPH dapat digunakan sebagai media tumbuh mikroalga. Pada fase pertumbuhan eksponensial produktivitas volumetrik mikroalga berkisar antara 140 dan 180 mg/(l.hari), dengan rata-rata 160 mg/(l.hari). Dengan kedalaman kolam 0,2 m, nilai tersebut setara dengan produktivitas area rata-rata (selang) 32 (28-35) g/(m².hari). Analisis dengan menggunakan pendekatan stoikiometris dan berbagai asumsi, nilai tersebut setara dengan laju penyisihan unsur hara fosfor (P) dan nitrogen (N) dari media tumbuh masing-masing sekitar 0,32 g/m²/hari dan 3,2 g/(m².hari). Pada saat yang sama proses fotosintesis tersebut mengikat karbon dioksida sekitar 60 g CO₂/(m².hari) dan melepas oksigen sekitar 22 g O₂/(m².hari). Analisis aspek finansial menunjukkan ketergantungan tingkat kompetisi biomassa mikroalga untuk biodiesel pada kadar minyak biomassa mikroalga dan tingkat harga petroleum yang merupakan pesaing utama dalam konteks produksi biodiesel.

Kata kunci: mikroalga, limbah cair RPH, energi terbarukan, produktivitas mikroalga

1. PENDAHULUAN

Sistem produksi mikroalga dengan media limbah cair dapat memberikan manfaat ganda berupa manfaat lingkungan dan mafaat ekonomi dari biomassa mikroalga. Dalam sistem produksi mikroalga dari limbah cair, misalnya limbah cair agroindustri, bahan organik dioksidasi oleh mikroorganisme baik dalam kondisi aerobik maupun anaerobik. Hasil oksidasi bahan organik adalah H₂O, karbon dioksida, nitrat dan fosfat. Alga memanfaatkan produk-produk oksidasi tersebut (CO₂, NO₃⁻, PO₄³⁻) untuk pembentukan sel mikroalga dengan menggunakan energi surya. Pengambilan unsur hara oleh mikroalga tersebut dapat mencegah terjadinya eutrofikasi di badan air penerima. Di sisi lain, bakteri aerobik menggunakan oksigen yang dihasilkan selama proses fotosintesis untuk mengoksidasi polutan organik. Biomassa alga mengandung berbagai bahan bernilai,

seperti protein, minyak/lemak, gliserol, pigmen, enzim, asam amino, antibiotik, dan pupuk organik. Bahan-bahan ini dapat digunakan sebagai bahan energi, pangan, pakan atau farmasi. Potensi tinggi penggunaan biomassa mikroalga yang baru-baru ini semakin mencuat adalah sebagai bahan baku pembuatan biodiesel (Chisti, 2007; Avagyan, 2008).

Sistem produksi mikroalga dari limbah cair dapat digolongkan sebagai bentuk lain pertanian tropika, yang dapat memanen energi surya melalui proses fotosintesis secara lebih efisien, dan sebagai sistem daur-ulang yang relatif mudah dan ramah lingkungan. Karena karakteristiknya tersebut, penelitian yang memanfaatkan komponen keanekaragaman hayati ini dapat dipandang sebagai penelitian strategis dalam konteks pembangunan berkesinambungan (*sustainable development*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi pada pemecahan masalah energi, pangan dan lingkungan.

Dipicu oleh semakin mendesaknya kebutuhan akan energi alternatif (bioenergi) dan isu lingkungan yang semakin memanas, potensi tinggi penggunaan biomassa mikroalga baru-baru ini semakin mencuat sebagai alternatif bahan baku pembuatan biodiesel (Chisti, 2007; Avagyan, 2008). Generasi ketiga produksi biodiesel dari mikroalga ini dapat menjadi jawaban terhadap kompetisi antara sumber pangan dan energi, dan limbah cair sebagai media tumbuh mikroalga dapat menjadi opsi terbaik untuk mereduksi kendala yang terkait dengan kultivasi biomassa mikroalga (Singh *et al.*, 2010). Limbah cair RPH merupakan salah satu alternatif sebagai media tumbuh mikroalga karena limbah ini mengandung banyak nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga seperti nitrogen, fosfor dan kalium. Karakteristik limbah cair RPH sangat bervariasi. Li *et al.* (2008) melaporkan limbah cair RPH mengandung SS, COD, T-N dan TP masing-masing 250-5.000 mg/l, 1.000-20.000 mg/l, 150-10.000 mg/l dan 22-217 mg/l. Merzouki *et al.* (2005) melaporkan variasi karakteristik limbah cair RPH sebagai berikut: $COD_t \pm 7.700 \pm 4.190$ mg/l, $COD_s 6.210 \pm 3.230$ mg/l, $TSS 870 \pm 590$ mg/l, $N-NH_4 84 \pm 10$ mg/l, $TKN 410 \pm 196$ mg/l, dan $PO_4-P 18 \pm 5$ mg/l. Karena kandungan bahan organik limbah cair RPH sangat tinggi, limbah tersebut umumnya selama ini diolah secara biologis menggunakan sistem bioreaktor anaerobik (Borja *et al.*, 1995; Masse and Masse, 2001; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2002). Pada pengolahan secara anaerobik konsentrasi nutrisi umumnya tidak mengalami penurunan secara signifikan, dan bila dibuang ke badan air dapat menyebabkan masalah lingkungan berupa eutrofikasi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh kembali (*recovery*) nutrisi dari limbah cair RPH, karakterisasi pertumbuhan mikroalga mencakup laju produksi dan produktivitas mikroalga, serta analisis tingkat kompetisi biomassa mikroalga sebagai sumber biodiesel relatif terhadap petroleum yang saat ini merupakan sumber biodiesel utama saat ini.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah cair limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) yang telah mengalami praperlakuan aerasi. Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran karakteristik limbah cair yang digunakan untuk penelitian ini. Limbah cair RPH diperoleh dari RPH Bubulak, Bogor. Analisis karakteristik limbah cair dilakukan sesuai metode APHA (2005) di laboratorium yang terakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN), Laboratorium Pengujian Departemen Teknologi Industri Pertanian IPB. Untuk mempercepat pertumbuhan mikroalga, ke dalam media limbah cair diberi inokulum yang diambil dari air danau LSI Kampus IPB Darmaga Bogor, dimana teramati adanya pertumbuhan mikroalga (ditandai oleh warna hijau pada air).

Tabel 1. Karakteristik limbah cair RPH sebelum dan sesudah diaerasi yang digunakan untuk penelitian

No	Parameter	Satuan	Sebelum diaerasi	Sesudah diaerasi
1	COD	mg/l	2600	740
2	Ortofosfat	mg/l	11,86	16,22
3	N-NH ₃	mg/l	4,48	1,12
3	N-NO ₃	mg/l	2,99	7,25
5	N-Organik	mg/l	25,94	16,38
6	TSS	mg/l	730	240
7	pH	-	6,7	7,0

Alat yang digunakan terdiri atas peralatan penumbuhan meliputi unit kolam pertumbuhan alga masing-masing berukuran (panjang x lebar x tinggi): 1 m x 0,6 m x 0,4 m (kedalaman: 0,2 m dan volume kerja: 120 L). Untuk penelitian pendahuluan digunakan toples plastik transparan berukuran 5 Liter (volume kerja: 3,7 L). Peralatan pengukuran / analisis meliputi pH-meter, DO-meter, COD apparatus, spektrofotometer, haemocytometer, mikroskop, dan peralatan laboratorium standar untuk pengukuran konsentrasi biomass mikroalga. Penelitian dilakukan di laboratorium Teknologi dan Manajemen Lingkungan, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

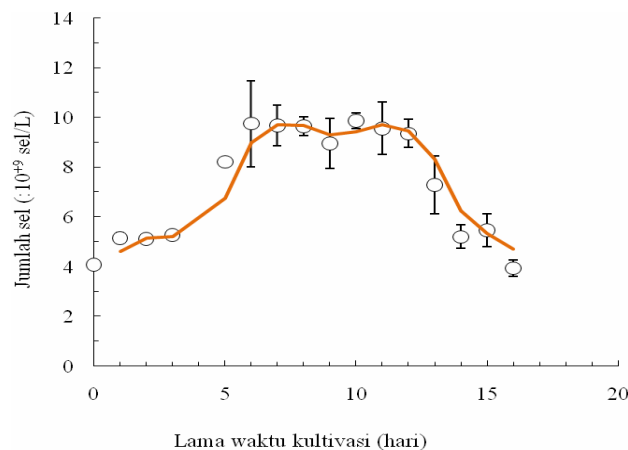
Karakterisasi pertumbuhan mikroalga meliputi pengamatan kurva pertumbuhan (fase lag, fase eksponensial, fase penurunan pertumbuhan, fase stationer, dan fase kematian). Penentuan karakteristik pertumbuhan dilakukan pertama dengan menentukan perubahan jumlah sel dan konsentrasi biomassa. Konsentrasi biomassa mikroalga diukur dengan parameter padatan tersuspensi yang dengan metode grafimetri. Biomassa yang dimaksud dalam bahasan ini adalah biomassa kasar yang kemungkinan tercampur dengan komponen lain seperti bakteri, partikel organik, dan partikel anorganik. Pengukuran jumlah sel dilakukan dengan menggunakan metode *Haemocytometer*. Sel

yang dihitung adalah seluruh sel yang hidup, berwarna kehitaman, baik dalam bentuk uniseluler atau koloni.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Laju Pertumbuhan Mikroalga

Gambar 1 menunjukkan pertumbuhan jumlah sel mikroalga dalam media limbah cair RPH yang dihasilkan dari penelitian pendahuluan. Jumlah mikroalga tersebut tidak membedakan jenis mikroalga. Dari gambar tersebut terlihat bahwa pertumbuhan mikroalga secara umum menunjukkan lima fase pertumbuhan, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stationer, dan fase kematian. Fase eksponensial teramati terjadi mulai sekitar hari ke-3. Setelah hari ke-12 terjadi fase kematian (penurunan jumlah sel mikroalga).



Gambar 1. Perkembangan jumlah sel mikroalga dalam media limbah cair RPH (error bar menunjukkan standar deviasi pengulangan penghitungan)

Laju pertumbuhan mikroalga dalam fase eksponensial dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$\frac{dC}{dt} = \mu \cdot C,$$

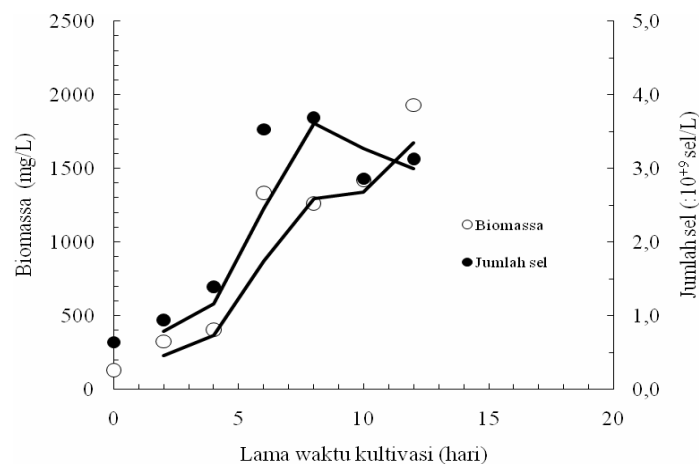
dimana μ adalah laju pertumbuhan spesifik. Dalam fase pertumbuhan eksponensial jumlah sel meningkat sebagai fungsi waktu t dalam fungsi eksponensial (FAO, 1996; Lim, Chu, dan Phang, 2010):

$$C_t = C_0 \cdot e^{\mu \cdot t} \text{ atau } \mu = \ln(C_t / C_0) / (t_1 - t_0),$$

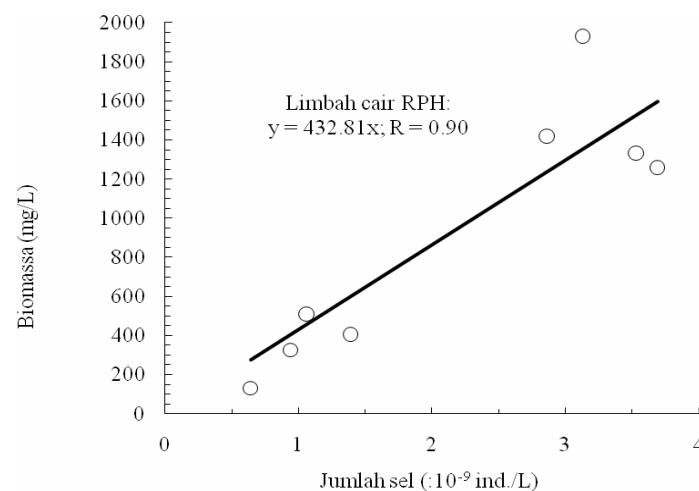
dengan C_t dan C_0 adalah jumlah sel pada waktu ke- t dan ke-0, dan μ adalah laju pertumbuhan spesifik. Dari hasil pengamatan dan perhitungan menggunakan persamaan

tersebut di atas, laju pertumbuhan mikroalga dalam media limbah cair RPH $0,14 \pm 0,09$ hari⁻¹. Hasil tersebut sesuai dengan Brennan dan Owende (2010) yang menyatakan bahwa pada laju eksponensial mikroalga mampu menggandakan diri dalam periode waktu 3,5 jam.

Gambar 2 menunjukkan hasil percobaan pada skala lebih besar (volume kerja: 120 L). Pertumbuhan eksponensial teramati mulai hari ke-3. Setelah 12 mulai teramati terjadi fase kematian. Selama fase eksponensial konsentrasi biomassa meningkat dari 400 menjadi 1930 mg/L, setara dengan jumlah sel $3,0 \times 10^6$ sel/L. Peningkatan konsentrasi biomassa disebabkan oleh peningkatan jumlah sel maupun ukuran mikrolaga. Hubungan antara jumlah sel dan konsentrasi biomassa mikroalga dalam media tumbuh limbah cair RPH disajikan pada Gambar 3.



Gambar 2. Pertumbuhan biomassa dan jumlah sel selama pertumbuhan dalam limbah cair RPH



Gambar 3. Hubungan antara jumlah sel dan konsentrasi biomassa mikroalga dalam media tumbuh limbah cair RPH

3.2. Produktivitas

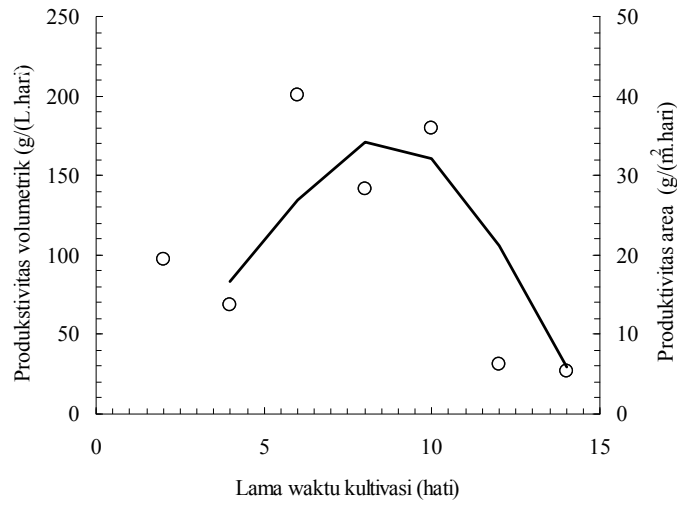
Produktivitas area mikroalga (P) merupakan laju pertumbuhan biomassa mikroalga per satuan luas lahan ($\text{kg}/\text{m}^2/\text{hari}$). Ekspresi ini dimaksudkan untuk memudahkan perbandingan hasil produksi satu sistem dengan sistem lainnya. Hubungan antara produktivitas area dan produktivitas volumetrik ($\text{kg}/\text{m}^3/\text{hari}$) dapat dinyatakan dalam bentuk formula berikut:

$$\frac{P}{D} = \mu \cdot C$$

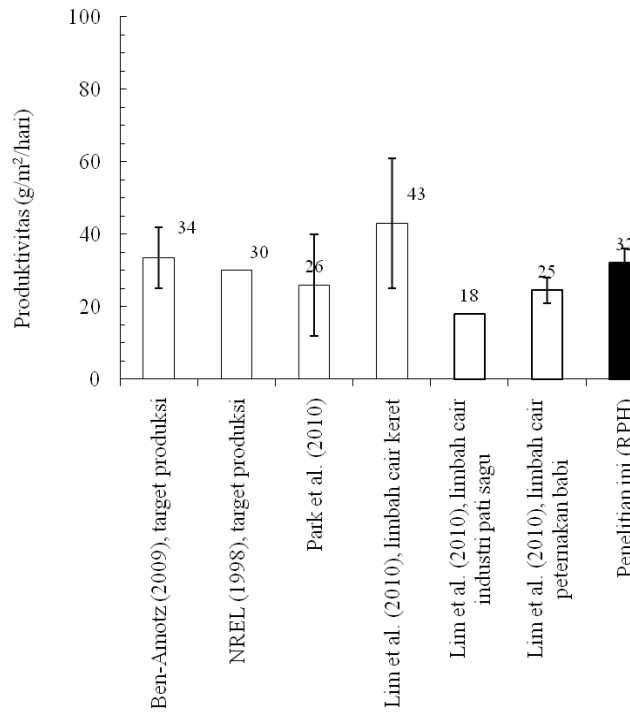
dengan P adalah laju pertumbuhan biomassa per satuan luasan lahan ($\text{kg}/\text{m}^2/\text{hari}$), D kedalaman kolam (m), C konsentrasi biomassa mikroalga (kg/m^3), dan P/D produktivitas volumetrik ($\text{kg}/\text{m}^3/\text{hari}$). Gambar 4 menunjukkan produktivitas volumetrik dan produktivitas area pada berbagai lama waktu kultivasi. Terlihat dari gambar tersebut bahwa tingkat produktivitas dipengaruhi oleh lama waktu kultivasi. Secara umum produktivitas maksimum dicapai pada akhir masa fase pertumbuhan eksponensial dan fase stasioner. Oleh karena itu, selang waktu pemanenan mikrolaga harus memperhatikan selain konsentrasi biomassa juga harus memperhatikan produktivitas.

Dalam fase pertumbuhan eksponensial, diperoleh produktivitas volumetrik rata-rata (selang) 160 (140-180) $\text{mg}/\text{L}/\text{hari}$, setara dengan produktivitas area rata-rata (selang) 32 (28-35) $\text{g}/\text{m}^2/\text{hari}$. Gambar 5 menunjukkan perolehan produktivitas penelitian ini dibandingkan dengan beberapa data literatur terkini. Perolehan produktivitas dalam penelitian ini relatif sama dengan literatur. Namun perlu dicatat bahwa produktivitas dinyatakan dalam bobot biomassa kasar yang kemungkinan masih mengandung komponen-komponen tersuspensi lainnya.

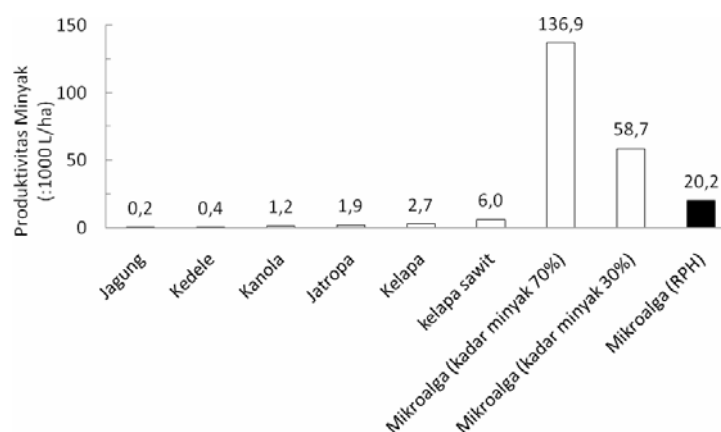
Gambar 6 menunjukkan perbandingan produktivitas minyak dari mikrolaga dibandingkan dengan produktivitas minyak dari sumber minyak nabati lainnya. Pada penyajian tersebut digunakan data hasil penelitian kadar minyak biomassa mikroalga dalam media limbah cair RPH sebesar 14,7%. Dengan kadar minyak ini produktivitas mikroalga 32 $\text{g}/\text{m}^2/\text{hari}$ setara dengan produktivitas minyak 20,2 $\times 10^3$ L/ha relatif lebih besardibandingkan dengan produktivitas minyak dari sumber nabati lain seperti jagung, kedele, kanola, jatropha, kelapa da kelapa sawit, meskipun masih jauh di bawah dibandingkan dengan potensi produktivitas mikroalga yang dapat dicapai yaitu (58,7-136,9) $\times 10^3$ L/ha (Chisti, 2007).



Gambar 4. Produktivitas volumetrik (atas) dan produktivitas area (bawah) pada berbagai lama waktu kultivasi



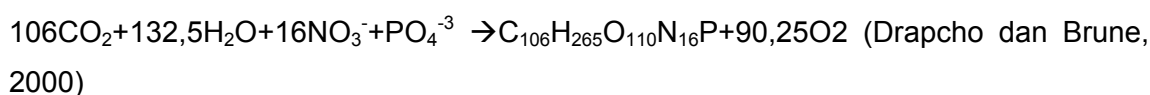
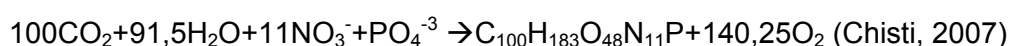
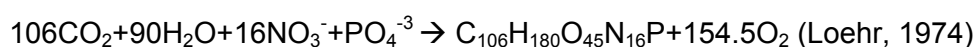
Gambar 5. Perbandingan produktivitas area berbagai hasil penelitian



Gambar 6. Perbandingan produktivitas minyak mikroalga dibandingkan sumber minyak nabati lainnya

3.3. Stoikiometri Pembentukan Biomassa Mikroalga

Mikroalga banyak diteliti karena tingginya efisiensi fotosintesis dan kemampuan menghasilkan minyak (lipida) (bahan baku biodiesel). Dalam proses pembentukan biomassa, mikroalga membutuhkan nutrisi dari media tumbuhnya. Untuk memperkirakan kebutuhan minimum nutrisi (atau dalam konteks pengolahan limbah cair, laju penyisihan nutrisi) dapat digunakan rumus kimia empiris molekul biomassa mikroalga yang terdapat di literatur: $106\text{CO}_2 + 90\text{H}_2\text{O} + 16\text{NO}_3^- + \text{PO}_4^{3-}$ (Loehr, 1974), $\text{CO}_{0,48}\text{H}_{1,83}\text{N}_{0,11}\text{P}_{0,01}$ (Chisti, 2007; Singh *et al.*, 2010), atau $\text{C}_{106}\text{H}_{265}\text{O}_{110}\text{N}_{16}\text{P}$ (Drapcho dan Brune, 2000). Dengan menggunakan formula tersebut dapat diturunkan persamaan reaksi pembentukan biomassa mikroalga melalui proses fotosintesis dan dengan bantuan persamaan ini dapat diperkirakan laju penyisihan nutrisi (N, P) serta laju pengikatan karbon dioksida dan laju pelepasan oksigen:



Dengan nilai produktivitas area rata-rata $32 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{hari})$, dan dengan bantuan persamaan tersebut di atas, serta mengabaikan tingkat kemurnian biomassa mikroalga yang dipanen, maka diperkirakan laju penyisihan unsur hara fosfor (P) dan nitrogen (N) dari media tumbuh RPH masing-masing sekitar $0,32 \text{ g}/\text{m}^2/\text{hari}$ dan $3,2 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{hari})$. Pada saat yang sama terjadi pengikatan karbon dioksida sekitar $60 \text{ g CO}_2/(\text{m}^2 \cdot \text{hari})$ dan pelepasan oksigen sekitar $22 \text{ g O}_2/(\text{m}^2 \cdot \text{hari})$. Laju penyisihan fosfor sepuluh kali lebih

besar dibandingkan dengan laju penisisan nitrogen, sehingga dalam beberapa kasus unsure fosfor sering menjadi pembatas pertumbuhan mikroalga.

3.4. Aspek Finansial

Biodiesel dari mikroalga berkompetisi langsung dengan bahan bakar petroleum, yang saat ini merupakan bahan bakar yang paling murah untuk kegiatan transportasi. Tingkat kompetisi biodiesel dari mikroalga terhadap diesel dari petroleum sangat tergantung pada biaya produksi biodiesel dari mikroalga dan pada harga diesel petroleum pada waktu yang bersangkutan. Salah pendekatan untuk menganalisis tingkat daya saing ini adalah pendekatan Chisti (2007), yaitu dengan mengestimasi harga maksimum yang dapat dibayar secara rasional untuk biomassa mikroalga dengan kandungan minyak tertentu, jika bahan bakar petroleum kasar sebagai sumber energi dapat dibeli dengan tingkat harga tertentu. Harga estimasi ini kemudian dibandingkan dengan harga produksi biomassa mikroalga untuk mengetahui tingkat kelayakan produksi mikroalga untuk biodiesel.

Kuantitas biomassa mikroalga (M , ton) yang setara dengan energi satu barrel petroleum kasar (massa biomassa mikroalga yang memiliki kandungan energi setara dengan satu barrel minyak) dapat diestimasi dengan persamaan (Chisti, 2007):

$$M = \frac{E_{\text{petroleum}}}{q(1-w)E_{\text{biogas}} + y.w.E_{\text{biodiesel}}} \quad (1)$$

dengan $E_{\text{petroleum}}$ merupakan energi yang terkandung dalam satu barrel petroleum kasar (≈ 6.100 MJ), q volume biogas dari proses degradasi anaerobik residu biomassa mikroalga setelah diekstrak minyaknya (m^3/ton), w kadar minyak biomassa mikroalga (% berat), E_{biogas} kandungan energi biogas (MJ/m^3), y perolehan biodiesel dari minyak mikroalga (tipikal: 80% berat), dan $E_{\text{biodiesel}}$ kandungan energi rata-rata biodiesel (≈ 37.800 MJ/ton). Dengan E_{biogas} dan q masing-masing $23,4$ MJ/ m^3 dan 400 m^3/ton , nilai M dalam persamaan (1) dapat dihitung untuk nilai w dan $E_{\text{petroleum}}$ tertentu.

Dengan asumsi bahwa biaya konversi satu barrel minyak kasar menjadi minyak diesel yang siap pakai untuk transportasi sekitar sama dengan biaya konversi M ton biomassa mikroalga menjadi biodiesel, harga biomassa mikroalga ($H_{\text{mikroalga}}$, US\$/ton) harus maksimum sama dengan harga satu barrel minyak kasar ($H_{\text{petroleum}}$, US\$/barrel):

$$H_{\text{mikroalga}} = \frac{H_{\text{petroleum}}}{M} \quad (2)$$

Kombinasi persamaan (1) dan (2) menghasilkan persamaan berikut:

$$H_{\text{mikroalga}} = \frac{q(1-w)E_{\text{biogas}} + y.w.E_{\text{biodiesel}}}{E_{\text{petroleum}}} \cdot H_{\text{petroleum}} \quad (3)$$

Pada tingkat harga minyak kasar saat ini sekitar \$100/barrel, biomassa mikroalga dengan kandungan minyak sekitar 14,7% (hasil penelitian ini) diproduksi pada tingkat biaya harus kurang dari US\$200/ton (sekitar Rp 2 jt/ton) agar dapat berkompetisi terhadap diesel petroleum.

Analisis tersebut di atas belum memperhatikan kemungkinan keuntungan lain baik keuntungan ekonomis maupun keuntungan lingkungan seperti produksi biogas pada pra-perlakuan limbah cair untuk mereduksi kandungan bahan organik (potensi sekitar 0,26 L CH₄ per g COD yang disisihkan (Borja *et al.*, 1995; Debik dan Coskun, 2009)), produksi pupuk organik dari digester anaerobik, hasil samping berupa bahan pakan atau produk bernilai tinggi lainnya, penurunan emisi gas rumah kaca, pengolahan limbah cair, recycling nutrien, recycling air, dan pencegahan eutrofikasi di badan air penerima, serta keuntungan sosial.

Produksi mikroalga untuk produksi energi skala besar saat ini masih dalam fase pengembangan (Roesch *et al.*, 2009). Biaya produksi biodiesel berbasis mikroalga masih memerlukan penurunan secara signifikan agar dapat kompetitif sumber diesel lainnya.

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Limbah cair RPH berpotensi untuk digunakan sebagai substrat pertumbuhan mikroalga. Pertumbuhan eksponensial mikroalga dalam medium ini terjadi mulai hari ke-3 dan berlangsung selama hingga sekitar hari ke-12. Selama fase eksponensial tersebut produktivitas volumetrik mikroalga berkisar antara 140 dan 180 mg/(L.hari), atau setara dengan produktivitas area 28-35 g/(m².hari). Analisis menggunakan pendekatan stoikiometri, nilai tersebut setara dengan laju penyisihan unsur hara fosfor (P) dan nitrogen (N) dari media tumbuh masing-masing sekitar 0,32 g/m²/hari dan 3,2 g/(m².hari), pada saat yang sama terjadi pengikatan karbon dioksida sekitar 60 g CO₂/(m².hari) dan melepas oksigen sekitar 22 g O₂/(m².hari). Analisis aspek finansial menunjukkan tingkat daya saing produksi mikroalga untuk biodiesel sebagai fungsi dari kadar minyak biomassa mikroalga dan tingkat harga minyak bumi sebagai pesaing utama dalam konteks produksi biodiesel. Produksi biomassa mikroalga selama ini masih pada tahap pengembangan dan belum ada laporan produksi skala besar (komersial) di Indonesia. Semakin tinggi tingkat harga minyak petroleum, semakin tinggi tingkat kompetisi biomassa mikroalga sebagai sumber biodiesel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Hasil penelitian ini merupakan bagian dari hasil Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional TA 2008-2010 yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional. Terima kasih disampaikan juga pada Rachmad Danausubrata, STP., Wynda Julia Rahmasari, STP., dan Suryana Manulu, STP. atas bantuannya dalam pelaksanaan pekerjaan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th, ed. American Public Health Association (APHA), Washington DC
- Avagyan, A. 2008. Global prospects for microalgae production for biofuels and for the preservation of nature. *Global Fuels Magazine* February 2008, pp. 22-27
- Ben-Amotz, A. 2009. production of microalgae in open ponds. The Natural Institute of Oceanography, Israel Oceanographic and Limnology research Haifa, Israel
- Borja, R., Banks, C.J and Wang, Z. 1995. Effect of organic loading rate on anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater in a fluidized-bed reactor. *Biores Technol.* 157-162
- Brennan, L and Owende, P. 2010. "Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extraction of biofuels and co-products. *Renew Sustain En Rev.* 14: 557-577
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv.* 25: 294-306
- Debik, E. and T. Coskun: 2009. Use of the Static Granular Bed Reactor (SGBR) with anaerobic sludge to treat poultry slaughterhouse wastewater and kinetic modeling *Biores Technol.* 100: 2777-2782
- Drapcho, C.M. and D.E. Brune. 2000. The partitioned aquaculture system: impact of design and environmental parameters on algal productivity and photosynthetic oxygen production. *Aquacultural Engineering.* 21:151-168
- FAO. 1996. Manual on the production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. <http://www.fao.org> . [11 Februari 2009]
- Li, J.P., M.G. Healy, X.M. Zhan, M. Rodgerg. 2008. Nutrients removal from slaughterhouse wastewater in an intermittently aerated sequencing batch reactor. *Biores Technol.* 99: 7644-7650
- Lim, S.-L., Chu, W.-L., Phang, S.-M. 2010. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Biores Technol.* 101, p.7314–7322
- Loehr. R. C. 1974. Agricultural Waste Management: Problem, Process, and Approach. Academic Press, New York.
- Masse, D.I and Masse, L. 2001. The effect of temperature on slaughterhouse wastewater treatment in anaerobic sequencing batch reactors. *Biores Technol.* 76: 91-98
- Merzouki, M., N. Bernet, J.P. Delgenes, M. Benlemlich. 2005. Effect of prefermentation on denitrifying phosphorous removal in slaughterhouse wastewater. *Biores Technol.* 96: 1317-1322
- NREL. 1998. A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Microalgae. US National Energy Department

- Park, J.B.K., Craggs, R.J., and Shilton, A.N., (2010). "Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production". Article in press. *Biores Technol.* doi:10.1016/j.biortech.2010.06.158
- Rodriguez-Martinez, J., Rodriguez-Garza, I., Pedraza-Flores, E., Balagurusamy, N., Sosa-Santillan, G., Garza-Garcia, Y. 2002. Kinetics of anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater in batch and upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biores Technol* 85: 235–241
- Roesch, C., J. Skarka, J. And A. Patyk. 2009. Mikroalgae – Opportunities and Challenges of an innovative energy source. 17th European Biomass Conference and Exhibition, 29 June – 3 July, Hamburg, Germany
- Singh, A., Nigam, P.S., Murphy, J.D. 2010. Renewable fuels from microalgae: An answer to debatable land based fuels. *Biores. Technol.* In press, doi:10.1016/j.biortech.2010.06.032

RESPON MORFOLOGI BUAH DAN KEMUNCULAN GETAH KUNING TERHADAP APLIKASI KALSIMUM SECARA EKSTERNAL PADA BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana*)

Yahmi Ira Setyaningrum, Hamim, Dorly

Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor

Abstract

Mangosteen is one of the important export commodities but so far the qualified fruits for export is less than 10% of national product. One of the reasons is the presence of yellow latex (*gamboges*). This substance is due to the damage of epithelium wall in the yellow latex secretory gland on the pericarp. This damage presumably caused by lack of calcium. The application of calcium to the soil did not increase calcium on the fruit's pericarp sufficiently, therefore the alternative calcium application may need to be investigated. The experiment aimed to study the effect of calcium application to growing fruit on mangosteen fruit morphology and the emergence of yellow latex. Research was carried out in mangosteen farm in Leuwiliang which has been established for approximately 30 years. The Randomized Block Design with three replications was applied. The treatments were CaCl_2 0.25 M, CaCl_2 0.5 M, CaCl_2 1 M, Ca(OH)_2 0.25 M, Ca(OH)_2 0.5 M, and Ca(OH)_2 1 M. Calcium application was performed in four phase to fruits aged between 2, 4, 6, 8 weeks after anthesis. The result showed that yellow latex tended to increase gradually in the age of 13 weeks and declined by the age of 16 weeks after anthesis in all experiments. External calcium application generally was able to decrease yellow latex emergence on the skin as well as in the arillus. The lowest yellow latex on the fruit skin was showed by the application of Ca(OH)_2 1 M (0.6575) while the highest by control plant (without Ca application, 1.2387). On arillus, the lowest latex provided by application of CaCl_2 0.5 M (0.1310) while the highest was showed by control plant (0.5834). The reduction of latex score by exogenous application of Ca might suggested the role of Ca in strengthening cell wall of latex secretory glands in mangosteen fruit,

Keywords: *Garcinia mangostana*, calcium, yellow latex

1. PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu tanaman buah tropika yang digemari oleh masyarakat dan dijuluki sebagai *Queen of tropical fruit* (Ramage *et al.* 2004). Indonesia merupakan negara pengekspor manggis utama di pasar internasional. Volume ekspor tahun 2007 sebesar 7.411 ribu ton dan tahun 2008 meningkat menjadi 9.093 ribu ton atau 15% dari produksi nasional (Deptan 2009).

Buah manggis memiliki nilai ekonomi tinggi dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan sebagai komoditi ekspor. Akan tetapi kualitas buah manggis yang layak diekspor kurang dari 15% total produksi nasional (Deptan 2009). Hal ini disebabkan

kualitas buah manggis yang dihasilkan petani umumnya kurang baik, sehingga tidak memenuhi syarat untuk ekspor. Salah satu penyebab rendahnya kualitas buah manggis adalah adanya getah kuning. Getah kuning menyebabkan penampilan buah menjadi tidak menarik, buah mengeras, mencemari daging buah (aril) sehingga rasanya pahit dan tidak layak untuk dikonsumsi.

Menurut Dorly *et al.* (2008), getah kuning yang dijumpai pada aril dan bagian luar buah disebabkan kerusakan sel epitel penyusun saluran sekretori getah kuning pada perikarp. Menurut Verheij (1997) getah kuning disebabkan oleh tusukan serangga penghisap (capsids), angin kencang, pemetikan dan penanganan secara kasar. Syah *et al.* (2007) melaporkan getah kuning diakibatkan adanya perubahan air tanah yang berfluktuatif dan ekstrim selama manggis dalam fase berbuah, sehingga terjadi perubahan tekanan turgor yang menyebabkan dinding sel yang tidak terlalu kuat pecah kemudian membuka lubang saluran getah kuning.

Fenomena pecah buah pada buah leci (Huang *et al.* 2005) dan ceri manis diduga kuat disebabkan oleh kekurangan kalsium (Callan 1986). Hal tersebut dapat dibuktikan bahwa penyemprotan kalsium efektif dan berpotensi menurunkan pecah buah pada ceri manis (Brown *et al.* 1995). Chen dan Zhou (2004) melaporkan penyemprotan kalsium pada permukaan buah apel muda meningkatkan kandungan kalsium buah.

Berdasarkan hasil penelitian Dorly (2009), aplikasi pengapuran dolomit menunjukkan kandungan kalsium pada daun lebih tinggi dibandingkan pada perikarp buah. Hal ini berhubungan dengan mekanisme pergerakan kalsium pada tanaman. Unsur kalsium bersifat imobil, translokasi melalui jaringan xilem mengikuti aliran transpirasi (White 2000).

Pengapuran pada tanah kurang efektif meningkatkan kalsium pada perikarp buah. Oleh karenanya, agar lebih efektif kalsium diaplikasikan secara langsung pada buah. Namun penyemprotan kalsium dalam bentuk cair mengandung komponen hidrofilik yang menghambat penetrasi dalam buah (Baur 1999). Penambahan surfaktan dan agen pengkelat diperlukan untuk menarik residu kalsium agar penyerapan dan penetrasi kalsium pada buah meningkat. Penambahan agen pengkelat seperti asam sitrat memberikan efek nyata meningkatkan kandungan kalsium buah (Callan 1986). Penyemprotan perlakuan kalsium dilakukan pada permukaan buah muda selama tahap awal perkembangan buah, paling efektif setelah 2 minggu setelah antesis (Huang *et al.* 2005). Efektifitas aplikasi kalsium secara eksternal untuk mengurangi getah kuning perlu dikaji lebih jauh dalam suatu penelitian.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari respon morfologi, struktur anatomi saluran getah kuning dan respon fisiologi berupa akumulasi kalsium pada perikarp buah pada

berbagai stadium perkembangan manggis setelah adanya aplikasi kalsium secara eksternal.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Oktober 2009-sekarang, di sentra produksi manggis yaitu di kampung Cengal, Desa Karacak, Kecamatan Leuwiliang, Kabupaten Bogor, laboratorium PKBT (Pusat Kajian Buah Tropik), laboratorium Mikroteknik Departemen Biologi IPB dan BPT (Balai Penelitian Tanah).

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yaitu pohon manggis yang berumur kurang lebih 30 tahun, bahan kimia untuk analisis kualitas buah, anatomi struktur sekretori getah kuning dan kandungan kalsium. Alat-alat yang digunakan antara lain jangka sorong, penetrometer, refraktometer, perangkat titrasi, AAS (*Atomic Absorption Spektometer*) merk Perkin Elmer-Model 1100B dan mikroskop.

2.3. Pelabelan dan Penyemprotan Kalsium

Rancangan yang digunakan rancangan acak kelompok, 7 perlakuan dengan 3 ulangan. Jumlah pohon yang diperlukan 21 pohon. Pelabelan bunga dilakukan pada saat antesis (bunga mekar), sebanyak 40 bunga/pohon dilabel. Ada 7 perlakuan dilakukan dalam penelitian yaitu S_1 : kontrol, S_2 : CaCl_2 0.25 M, S_3 : CaCl_2 0.5 M, S_4 : CaCl_2 1 M, S_5 : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25 M, S_6 : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.5 M dan S_7 : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1 M.

Kalsium dilarutkan dengan 1 l air kemudian ditambahkan *surfactant* pro stiker dengan konsentrasi 0.5 ml/l larutan dan asam sitrat 5 gr. Penyemprotan larutan kalsium dilakukan dengan menggunakan hand sprayer secara langsung ke buah dengan beberapa kali semprotan sampai seluruh permukaan buah basah dengan volume semprot sekitar 10 ml per buah pada buah berumur 2, 4, 6, dan 8 minggu setelah aplikasi (MSA).

2.4. Pengamatan Data Morfologi

Pengamatan morfologi sifat fisik buah yang diamati meliputi skor getah kuning pada kulit dan aril mengikuti Kartika (2004), ukuran buah manggis yaitu diameter longitudinal dan transversal, tebal kulit (perikarp), bobot buah dan kekerasan kulit buah. Pengamatan sifat kimia buah meliputi padatan total terlarut (PTT) dan total asam tertitrasi (TAT) mengikuti AOAC (2007).

2.5. Pengumpulan Data Fisiologis

Data fisiologis dikumpulkan dengan cara mengukur kandungan kalsium dilakukan pada buah berumur 10, 13 dan 16 MSA. Kalsium pada buah dapat berupa kalsium terlarut dan kalsium terikat. Kalsium dapat terikat dalam bentuk pektat, fosfat dan oksalat (Chen dan Zhou 2004). Metode penentuan kalsium terlarut dan kalsium terikat menurut Suwwan dan Poovaiah (1978) yang dimodifikasi dengan prosedur sampel buah dibersihkan, perikarp dipisahkan dari aril dan biji, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 60°C sampai kering dan dihancurkan sampai berukuran 50 mesh. Sampel ditambahkan air bebas ion, kemudian dikocok sampai homogen dan disentrifugasi pada kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Supernatan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no 541 untuk memisahkan filtrat dan pellet. Filtrat diencerkan dengan akuades, kemudian dianalisis kalsium terlarut dengan alat AAS. Pellet (endapan suspensi) diekstraksi secara bertingkat mengikuti prosedur ekstraksi berbagai bentuk kalsium terikat mengikuti metode Chen dan Uetomo (1976). Ekstraksi dianalisis dengan AAS untuk mendapatkan data kalsium pektat, kalsium fosfat dan kalsium oksalat.

2.6. Pengamatan Anatomi Struktur Sekretori Getah Kuning

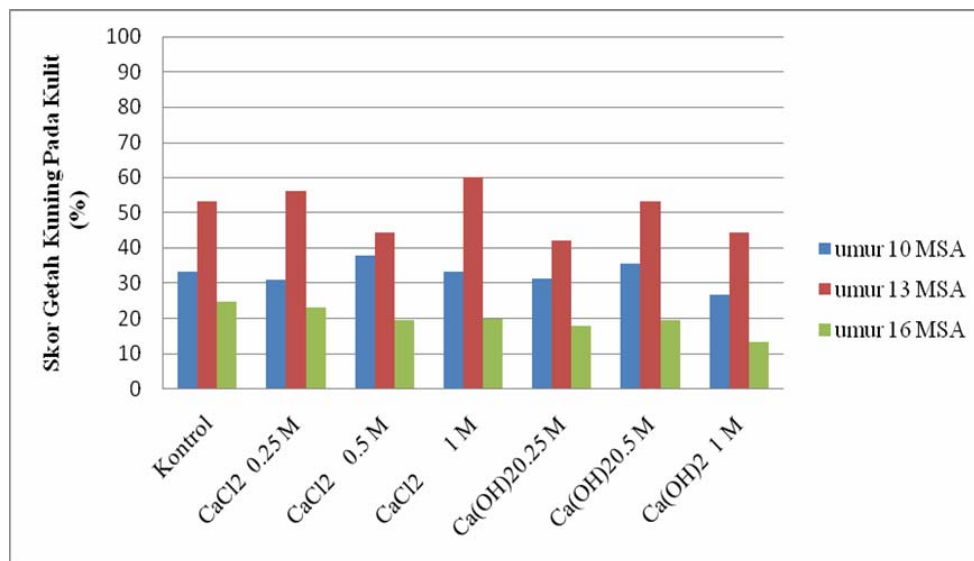
Pengamatan anatomi struktur sekretori getah kuning dilakukan setelah aplikasi pemberian kalsium secara eksternal mulai 10 MSA, 13 MSA dan 16 MSA. Sampel buah sebanyak 3 ulangan diambil, kemudian diamati struktur sekretorinya pada perikarp buah. Karakter yang diamati antara lain diameter saluran getah kuning dan ketebalan dinding sel epitelium penyusun saluran getah kuning. Metode yang digunakan dengan pengamatan sediaan mikrosopi dengan metode parafin (Johansen 1940).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Respon Morfologi

Aplikasi kalsium dilakukan 4 kali yaitu pada umur 2, 4, 6 dan 8 MSA. Pengamatan skor getah kuning dilakukan pada umur 10, 13 dan 16 MSA. Hasil pengamatan skor getah kuning pada kulit buah dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan pada umur 10 MSA skor getah kuning pada kulit tertinggi 38% pada perlakuan CaCl_2 0.5 M dan terendah 27% pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1 M. Skor Getah pada umur 13 MSA tertinggi 60% pada perlakuan CaCl_2 1 M dan terendah 52% perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25 M. Hal ini berbeda dengan skor getah kuning pada kulit manggis berumur 16 MSA tertinggi pada kontrol 25% dan terendah perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1 M sebesar 13%. Secara umum pada semua perlakuan menunjukkan skor getah kuning pada kulit meningkat pada 13 MSA dan menurun pada umur 16 MSA. Tren yang sama juga ditunjukkan pada tingkat pecah

buah pada buah leci yang meningkat pada umur 2-5 MSA, kemudian menurun pada umur 8 MSA (Huang *et al* 2008)



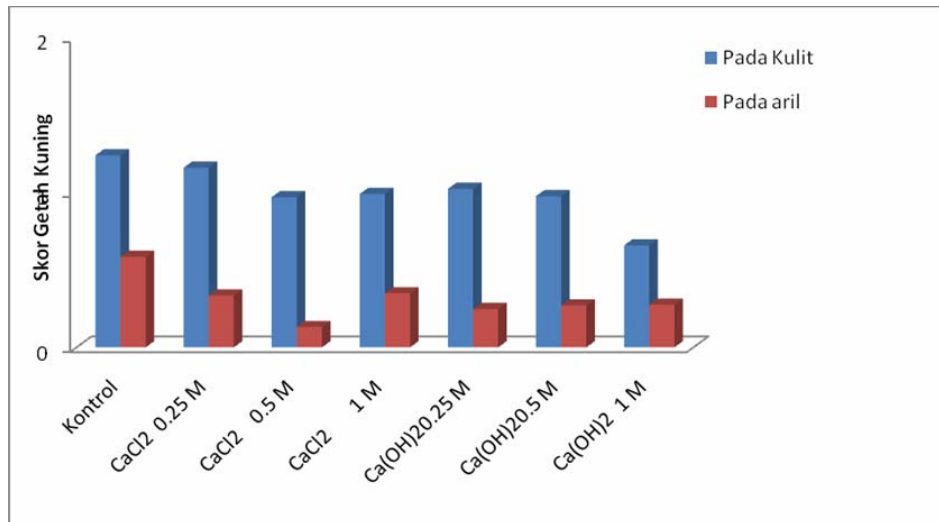
Gambar 1. Grafik Skor Getah Kuning Pada Kulit Semua Perlakuan umur 10, 13 dan 16 MSA

Berdasarkan hasil penelitian Ropiah (2009), terhadap diameter, bobot basah dan bobot kering menunjukkan pola pertumbuhan buah manggis bersifat sigmoid yang mengalami pertumbuhan cepat pada umur 5-15 MSA, dan cenderung stabil pada umur 15-17 MSA. Menurut Salisbury dan Ross (1995), dinding sel yang sedang tumbuh lebih lunak dari pada sel yang tidak tumbuh. Hal ini diakibatkan peregangan dinding sel sangat cepat, tetapi tidak diikuti dengan sintesis bahan untuk dinding baru yang cepat pula.

Berdasarkan hal tersebut, diduga peningkatan skor getah pada minggu 10-13 disebabkan dinding sel epitel yang melindungi sekretori getah kuning yang bersifat lunak dan tipis sehingga getah kuning lebih mudah keluar dan mencemari kulit buah. Pada umur 16 MSA skor getah kuning berkurang diduga sintesis bahan untuk dinding sel sudah cukup memadai sehingga dinding sel epitel lebih tebal, dan getah tidak mudah keluar dari saluran sekretori. Dugaan ini akan dibuktikan lebih lanjut melalui analisis anatomi dengan cara mengukur ketebalan dinding sel epitel pelindung saluran sekretori pada umur 10, 13 dan 16 MSA.

Skor getah kuning pada umur 16 MSA dari yang tertinggi sampai terendah pada kulit buah berturut-turut pada perlakuan kontrol sebesar 1.2387 ± 0.61 , CaCl₂ konsentrasi 0.25 M sebesar 1.1587 ± 0.80 , Ca(OH)₂ 0.25 M dengan skor 1.0224 ± 0.75 , CaCl₂ 1 M sebesar 0.9896 ± 0.57 , Ca(OH)₂ 0.5 M sebesar 0.9757 ± 0.64 , CaCl₂ konsentrasi 0.5 M sebesar 0.9688 ± 0.58 dan Ca(OH)₂ konsentrasi 1 M dengan skor 0.6579 ± 0.46 . Skor getah kuning pada aril tertinggi sampai terendah berturut-turut pada perlakuan kontrol,

CaCl₂ 1 M, CaCl₂ 0.25 M, Ca(OH)₂ 1 M, Ca(OH)₂ 0.5 M, Ca(OH)₂ 0.25 M, CaCl₂ 0.5 M dengan skor 0.5834 ± 0.88 , 0.3485 ± 0.66 , 0.3337 ± 0.52 , 0.2753 ± 0.55 , 0.2704 ± 0.60 , 0.2463 ± 0.49 dan 0.1310 ± 0.27 . Grafik skor getah dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Aplikasi Kalsium Secara Eksternal terhadap Skor Getah Buah Manggis

Berdasarkan Gambar 2, terlihat bahwa pengaruh aplikasi kalsium secara eksternal terhadap skor getah kuning umur 16 MSA menunjukkan perbedaan skor getah pada kulit dan pada aril. Skor getah pada kulit terendah perlakuan Ca(OH)₂ 1 M sebesar 0.6579, tidak diikuti skor getah pada aril yang terendah. Begitupun sebaliknya skor getah kuning terendah pada aril yaitu pada perlakuan CaCl₂ 0.25 M sebesar 0.1310, tetapi skor getah pada kulit cukup tinggi. Menurut Syah *et al.* (2007) tidak ada korelasi antara getah yang terdapat pada kulit bagian luar dengan getah pada aril. Hal ini diduga penyebab getah pada bagian aril lebih disebabkan faktor endogen (fisiologi), sedangkan getah pada kulit disebabkan faktor endogen dan gangguan mekanis seperti tusukan/ gigitan serangga, benturan dan cara panen.

Tabel 1. Pengaruh Aplikasi Kalsium Secara Eksternal Terhadap Skor Getah Kuning Umur 16 MSA (Nilai rata-rata dan standard deviasi)

Perlakuan	Diameter buah (cm)		Edible Portion (%)	Ketebalan kulit buah (cm)	Kekerasan kulit buah (kg)
	Transversal	Longitudinal			
Kontrol	5.21±0.43	4.84±0.42	31.28±3.39	0.70±0.08	0.81±0.06
CaCl ₂ 0.25 M	5.07±0.40	4.74±0.33	29.81±3.93	0.71±0.06	0.84±0.03
CaCl ₂ 0.5 M	5.25±0.42	4.77±0.39	31.52±3.33	0.68±0.09	0.83±0.03
CaCl ₂ 1 M	5.13±0.53	4.76±0.40	31.61±5.62	0.72±0.10	0.82±0.03
Ca(OH) ₂ 0.25 M	5.29±0.45	4.84±0.45	29.84±3.74	0.70±0.09	0.82±0.03
Ca(OH) ₂ 0.5 M	5.30±0.38	4.74±0.43	30.15±2.93	0.70±0.07	0.84±0.03
Ca(OH) ₂ 1 M	5.25±0.35	4.79±0.39	29.97±3.36	0.70±0.08	0.79±0.06

Pada Tabel 1 terlihat bahwa diameter transversal buah terbesar pada perlakuan penyemprotan Ca(OH)₂ konsentrasi 0.5 M sebesar 5.3 cm, sedangkan terendah pada

perlakuan CaCl_2 konsentrasi 0.25 M sebesar 5.07. Berbeda dengan diameter longitudinal tertinggi pada kontrol dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25 M sebesar 4.84, sedangkan terendah pada perlakuan CaCl_2 dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ konsentrasi 0.5 M. Edible portion tertinggi pada CaCl_2 konsentrasi 1 M (31.61%) dan terendah pada perlakuan CaCl_2 0.25 M (29.81%). Aplikasi CaCl_2 memiliki tebal kulit terendah sebesar 0.68 cm, dan tertinggi 0.71 cm pada aplikasi CaCl_2 0.25 M. Kekerasan kulit buah yang paling tinggi pada perlakuan CaCl_2 0.25 M dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.5 M. Berdasarkan data hasil uji kualitas fisik menunjukkan tidak ada beda nyata antara semua perlakuan dan kontrol. Hal ini menunjukkan penyemprotan kalsium tidak mempengaruhi kualitas fisik buah seperti diameter, edible portion, ketebalan kulit dan kekerasan kulit buah.

Tabel 2. Pengaruh Aplikasi Kalsium Secara Eksternal Terhadap Kualitas Kimia Buah Manggis (Nilai rata-rata dan standard deviasi)

Perlakuan	PTT ($^{\circ}$ brix)	TAT (%)	Rasio PTT/TAT
Kontrol	19.15±1.22	0.65±0.07	29.46
CaCl_2 0.25 M	19.33±1.16	0.65±0.06	29.74
CaCl_2 0.5 M	18.88±1.13	0.64±0.05	29.50
CaCl_2 1 M	18.81±1.36	0.64±0.06	29.39
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25 M	19.44±1.19	0.65±0.07	29.91
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.5 M	19.37±1.80	0.67±0.67	28.91
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1 M	18.94±1.11	0.66±0.04	28.70

Pada Tabel 2 terlihat bahwa padatan total terlarut tertinggi 19.44 $^{\circ}$ brix pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25M, sedangkan terendah 18.81 $^{\circ}$ brix pada perlakuan CaCl_2 1 M. Nilai tersebut berbeda dengan total asam tertitiasi yang tertinggi 0.67% pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.5 M, dan terendah 0.64% pada perlakuan CaCl_2 0.5 dan 1 M. Rasio PTT/TAT tertinggi 29.91 pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.25 M dan terendah 28.70 pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 1 M. Berdasarkan data hasil uji total padatan terlarut (PTT) dan total asam tertitiasi (TAT) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara semua perlakuan dan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi kalsium secara eksternal tidak mempengaruhi kualitas kimia buah manggis.

4. KESIMPULAN

Skor getah kuning meningkat hingga umur 13MSA dan menurun pada 16 MSA. Skor getah kuning pada umur 16 MSA menunjukkan tidak ada korelasi antara getah kuning pada kulit dengan getah pada aril. Secara umum getah kuning pada kontrol, baik pada aril maupun pada kulit menunjukkan skor getah yang paling tinggi dibandingkan dengan seluruh perlakuan aplikasi kalsium secara eksternal. Skor getah kuning pada kulit terendah pada perlakuan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ konsentrasi 1 M, sedangkan skor getah pada aril terendah pada perlakuan CaCl_2 konsentrasi 0.5 M. Berdasarkan hasil pengukuran

diameter buah, edible portion, tebal kulit, kekerasan, PTT dan TAT menunjukkan tidak ada pengaruh perlakuan aplikasi kalsium secara eksternal terhadap kualitas fisik maupun kimia buah.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, Horwitz W, Latimer GW, editor. 2007. *Official Methods of Analysis*. Maryland: USA Association of Official Analytical International
- Baur P. 1999. Surfactant effects on cuticular penetration of neutral polar compound: dependence on humidity and temperature. *J Agric Food Chem* 47: 753-761
- Brown G, Wilson S, Boucher W, Graham B, McGlasson B. 1995. Effects of copper calcium spray on fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium*). *J Scientia Hort* 62:75-80
- Callan NW. 1986. Calcium hydroxide reduces splitting of 'lambert' sweet cherry. *J Amer Soc Hort Sci* 111: 173-175
- Chen JH, Zhou W. 2004. Effect of calcium deficiency in apple (*Malus pumila*) fruit on calcium fractions, subcellular distribution and ultrastructure of pulp cells. *J Scientia Aglicult Sinica* 37 : 572-576
- Chen WS, Uetomo S. 1976. Studies on calcium absorption in vegetable crops the absorption and physiological significance of calcium in vegetative and reproductive phase of plant growth. *J Japan Soc Hort Sci* 45: 33-42
- Dorly, Tjitrosemito S, Poerwanto R, Juliarni. 2008. Secretory duct structure and phytochemistry compounds of yellow latex in mangosteen fruit. *Hayati J Biosci* 15: 99-104
- Dorly. 2009. Studi Struktur Sekretori Getah Kuning dan Pengaruh Kalsium terhadap Cemar Getah Kuning pada Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Disertasi]. Bogor: IPB
- [Deptan]. 2009. *Ekspor Holtikultura Indonesia : Nilai dan Volume Ekspor Buah-buahan*. <http://www.deptan.go.id>. [1 Maret 2010].
- Huang *et al.* 2005. An Overview of Calcium's Role in Lychee Fruit Cracking. Di dalam: Chomchalow N and Sukhvilul N, editor. *Proceedings of the 11th International Symposium on lychee, Longan, Rambutan, and Other Sapindaceae Plants*. Chiang Mai, Thailand, Agt. 25-28, 2003. Belgium: ISHS. hlm :231-240.
- Johansen DA. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill
- Kartika JG. 2004. Studi Pertumbuhan Buah, Gejala Getah Kuning dan Burik pada Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Ramage CM, Sando L, Peace CP, Carroll BJ, Drew RJ. 2004. Genetic diversity revealed in the apomict fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). *Euphytica* 136:1-10
- Ropiah, S. 2009. Perkembangan Morfologi dan Fisiologi Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) selama Pertumbuhan dan Pematangan. [Tesis]. Departemen Biologi, FMIPA, IPB. Bogor.
- Salisbury FB dan Ross CW. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. Lukman DR, Sumaryono, Penerjemah. Bandung : Penerbit ITB Terjemahan dari : *Plant Physiology*

- Suwwan MA, Poovaiah BW. 1978. Association between elemental content and fruit ripening in rin and normal tomatoes. *Plant Physiol* 61: 883-885
- Suyanti, Roosmani ABST, Sjaifullah. 1997. Karakterisasi sifat fisik dan kimia buah manggis dari beberapa cara panen. *J Hort* 5:493-507
- Syah MJA, Ellina M, Titin, Dewi, Firdaus U. 2007. Teknologi Pengendalian Getah Kuning pada Buah Manggis. <http://www.pustaka-deptan.go.id/inovasi/kl070102.pdf>. [3 Maret 2010]
- Verheij EWM. 1997. *Garcinia Manggostana L.* Di dalam Verheij EWM, Coronel RE, editor. *PROSEA, Edible Fruit and Nuts*. Wageningen : Pudoc. hlm 177-181.
- White PJ. 2000. The pathways of calcium movement to the xylem. *J of Experimental Botani* 52: 891-899
- Huang XM, Wanga CW, Zhong WL, Yuan WQ, Lu JM. 2008. Spraying calcium is not an effective way to increase structural calcium in lytchee pericarp. *J Scientia Horticulturae* 117 : 39–44.

AKTIVITAS OKSIDASI METAN DAN AKUMULASI AMMONIUM ISOLAT BAKTERI METANOTROF ASAL SAWAH

Ari Fina Bintarti dan Iman Rusmana

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB.
Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680. Telp./Fax. (0251) 8328837
E-mail: bintar_tiee@yahoo.com

Abstrak

Bakteri metanotrof mampu menggunakan gas metan sebagai sumber karbon dan energi. Oleh karena itu, bakteri metanotrof mempunyai potensi untuk mereduksi gas metan di atmosfer. Sebagian besar bakteri metanotrof juga mampu memfiksasi nitrogen di atmosfer menjadi ammonium. Sehingga bakteri metanotrof juga berpotensi sebagai penyedia sumber nitrogen di lahan sawah. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari aktivitas oksidasi metan dan akumulasi ammonium isolat bakteri metanotrof. Tiga isolat bakteri metanotrof yang diisolasi dari lahan sawah di Bogor yaitu BGM1, BGM3, dan BGM9 digunakan sebagai isolat uji. Konsentrasi gas metan pada bagian *headspace* diukur dengan menggunakan kromatografi gas setiap dua hari sekali. Konsentrasi ammonium dalam supernatan kultur diukur dengan metode *phenate* berdasarkan pada pembentukan senyawa indofenol yang berwarna biru. Konsentrasi gas metan isolat BGM1 di *headspace* pada hari kedua sebesar 13980.4 μmol dan pada hari ke-12 menjadi 13439 μmol . Penurunan konsentrasi gas metan juga terjadi pada isolat BGM3 yaitu dari 13631.9 μmol pada hari kedua menjadi 13202 μmol pada hari ke-12. Pada isolat BGM9, konsentrasi gas metan sebesar 13782 μmol pada hari kedua menjadi 13241.5 μmol pada hari ke-12. Akumulasi ammonium tertinggi terjadi pada hari inkubasi ke-19 sebesar 24.79 μM pada isolat BGM1, BGM3 sebesar 17.77 μM , dan BGM9 sebesar 13.98 μM . Isolat BGM1 mempunyai aktivitas oksidasi metan dan akumulasi ammonium tertinggi.

Kata kunci: metanotrof, oksidasi metan, akumulasi ammonium

1. PENDAHULUAN

Bakteri metanotrof adalah kelompok bakteri yang dapat tumbuh dan memanfaatkan gas metan sebagai sumber karbon dan energi. Karena kemampuan tersebut, bakteri metanotrof memiliki potensi untuk mengurangi gas metan di atmosfer sebagai salah satu gas rumah kaca (Hanson & Hanson 1996). Mossier *et al.* (1994) melaporkan bahwa ada beberapa gas yang dapat menimbulkan pemanasan global seperti metan (CH_4) dan dinitro oksida (N_2O) yang dihasilkan dari lahan sawah. Kedua gas tersebut merupakan gas rumah kaca yang mampu mengikis lapisan ozon. Gas N_2O dan CH_4 menyumbang 6 % dan 15 % dari total efek gas rumah kaca. Kontribusi gas metan terhadap pemanasan global sebesar 15% dan berada pada peringkat kedua sebagai komponen gas rumah

kaca setelah karbondioksida (Suprihati *et al.* 2006). Gas metan mempunyai kemampuan sangat tinggi untuk meningkatkan suhu bumi dengan potensi menyerap panas 21 kali lebih besar daripada gas karbondioksida (Lestari 2006). Oksidasi gas metan oleh bakteri metanotrof di lahan sawah dapat mencapai 80% dari metan yang diproduksi oleh bakteri metanogen (Conrad & Rothfus 1991). Enzim yang digunakan untuk mengoksidasi metan menjadi metanol ialah metan monooksigenase (MMO) (Auman *et al.* 2001).

Sebagian besar bakteri metanotrof adalah bakteri diazotrof yang mampu memfiksasi nitrogen bebas di atmosfer (N_2) menjadi ammonium (NH_3) (Fedorov *et al.* 2007). Sugitha dan Kumar (2009) melaporkan bahwa N_2 hidup bebas bakteri pengikat merupakan sumber potensial penting dari fiksasi N_2 di sawah. Enzim nitrogenase adalah enzim penting yang bertanggung jawab untuk proses fiksasi nitrogen menjadi ammonium. Nitrogenase merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari protein Fe-Mo (dinitrogenase) dan protein Fe (dinitrogenase reduktase) yang dikodekan oleh gen *nif* (Sugitha & Kumar 2009). Informasi tentang aktivitas oksidasi metan dan fiksasi nitrogen di Indonesia masih sedikit. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas oksidasi metan dan fiksasi nitrogen isolat bakteri metanotrof asal sawah di Bogor.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Tiga isolat bakteri metanotrof (BGM1, BGM3, dan BGM9) yang diisolasi dari sawah di Bogor.

2.2. Uji Oksidasi Metan

Uji aktivitas oksidasi metan dilakukan dengan mengkulturkan ketiga isolat ke dalam media cair *Nitrate Mineral Salt* (NMS). Lima ml kultur diinokulasikan ke dalam 40 ml media NMS cair pada botol serum volume 120 ml. Komposisi gas di *headspace* diatur menjadi 50 % metan dan 50 % udara. Lalu diinkubasi di atas inkubator bergoyang pada suhu 30 °C dengan kondisi gelap selama 12 hari. Uji aktivitas oksidasi metan dilakukan dengan mengukur konsentrasi gas metan pada bagian *headspace* menggunakan kromatografi gas setiap dua hari sekali (Kumaraswamy *et al.* 2001).

2.3. Uji Akumulasi Ammonium

Proses fiksasi nitrogen dapat diketahui melalui uji akumulasi ammonium. Uji ini dilakukan dengan mengkulturkan masing-masing isolat ke dalam 40 ml media cair NMS bebas nitrat dan ammonium lalu diinkubasi pada suhu 30 °C selama 19 hari di atas inkubator bergoyang. Untuk pembuatan kurva standar ammonium digunakan konsentrasi

ammonium 5, 10, 40, 80, dan 100 μM dari stok larutan NH_4Cl 1 mM. Kultur bakteri diambil setiap tiga hari sekali lalu disentrifugasi pada 4000 g selama 10 menit, supernatan yang didapatkan digunakan sebagai sampel. Dua ml sampel dan larutan standar diuji konsentrasi ammoniumnya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 640 nm. Densitas sel juga dihitung pada panjang gelombang 620 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil

3.1.1. Uji Akumulasi Ammonium

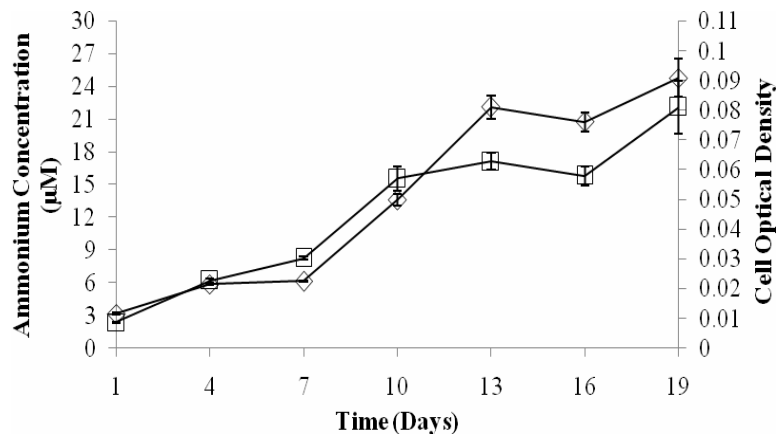
Hasil uji akumulasi ammonium memperlihatkan bahwa ketiga isolat bakteri metanotrof BGM1, BGM3, dan BGM9 yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen dan ammonium, mampu mengakumulasi ammonium. Konsentrasi ammonium terakumulasi tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri BGM1 pada hari inkubasi ke-19 yaitu sebesar 24.79 μM (Tabel 1).

Tabel 1 *Optical Density* (OD) sel dan konsentrasi ammonium bakteri metanotrof yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen pada suhu 30 °C selama 19 hari.

Hari	Isolat Bakteri	OD sel (OD _{620 nm})	Konsentrasi Ammonium (μM)
1	BGM 1	0.0087	3.17
	BGM 3	0.0077	4.16
	BGM 9	0.0057	4.70
4	BGM 1	0.0227	5.87
	BGM 3	0.0223	7.14
	BGM 9	0.0100	4.79
7	BGM 1	0.0303	6.14
	BGM 3	0.0227	6.86
	BGM 9	0.0137	6.23
10	BGM 1	0.0570	13.62
	BGM 3	0.0260	13.71
	BGM 9	0.0170	7.23
13	BGM 1	0.0627	22.09
	BGM 3	0.0347	15.60
	BGM 9	0.0200	8.31
16	BGM 1	0.0580	20.74
	BGM 3	0.0237	16.96
	BGM 9	0.0210	8.22
19	BGM 1	0.0810	24.79
	BGM 3	0.0247	17.77
	BGM 9	0.0237	13.98

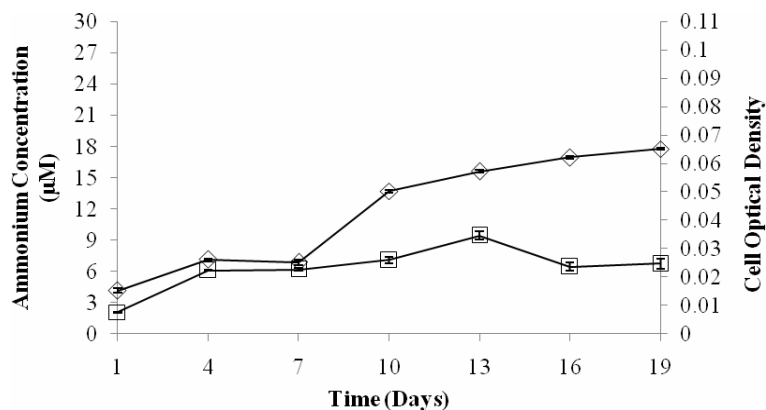
Isolat bakteri BGM1 memperlihatkan fase pertumbuhan eksponensial dari hari ke empat sampai hari ke-13. Pertumbuhan sel tertinggi terlihat pada hari inkubasi ke-19 dengan nilai OD sebesar 0.081. Konsentrasi ammonium juga meningkat selama fase

pertumbuhan eksponensial dengan konsentrasi ammonium tertinggi pada hari inkubasi ke-19 sebesar 24.79 μM (Gambar 1).



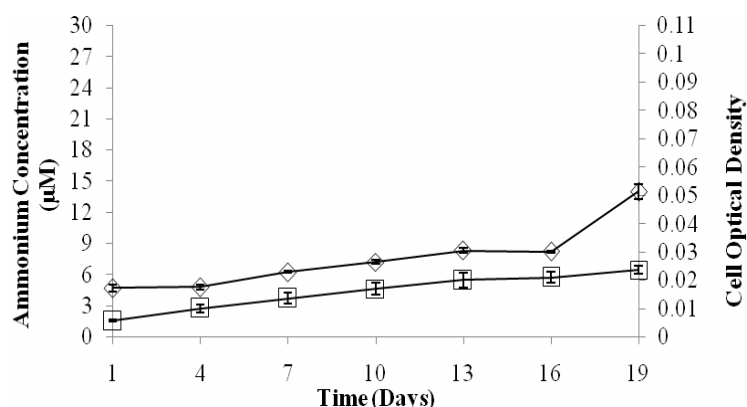
Gambar 1. Konsentrasi Ammonium (\diamond) dan OD sel (\square) isolat BGM1 selama 19 hari inkubasi pada media NMS bebas nitrogen.

Nilai OD sel tertinggi isolat BGM3 terjadi pada inkubasi hari ke-13 sebesar 0.347. konsentrasi ammonium terakumulasi meningkat dari hari ketujuh sampai hari ke-19 dan konsentrasi akumulasi ammonium tertinggi yaitu sebesar 17.77 μM pada hari ke-19 (Gambar 2).



Gambar 2. Konsentrasi Ammonium (\diamond) dan OD sel (\square) isolat BGM3 selama 19 hari inkubasi pada media NMS bebas nitrogen.

Isolat bakteri BGM9 tumbuh secara eksponensial sampai hari ke-19 dengan nilai OD sel tertinggi sebesar 0.237. Konsentrasi akumulasi ammonium tertinggi pada hari ke-19 sebesar 13.98 μM . (Gambar 3).



Gambar 3. Konsentrasi Ammonium (\diamond) dan OD sel (\square) isolat BGM9 selama 19 hari inkubasi pada media NMS bebas nitrogen.

3.1.2. Uji Oksidasi Metan

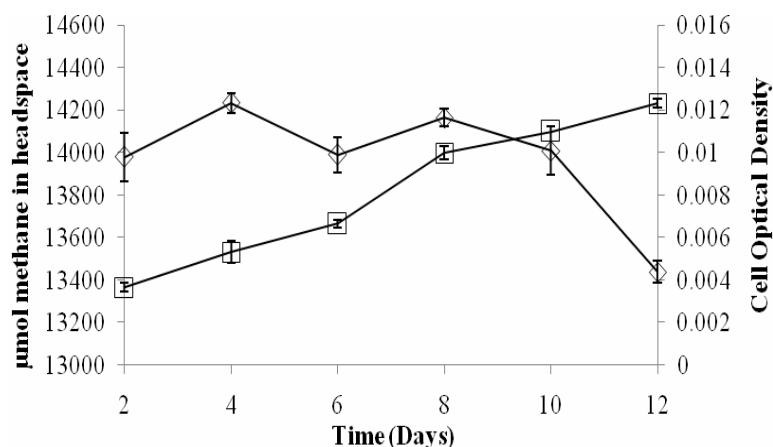
Bakteri metanotrof mampu menggunakan metan sebagai sumber karbon dan energi. Uji oksidasi metan dilakukan untuk menentukan apakah isolat bakteri mampu mengoksidasi metan selama periode inkubasi.

Tabel 2. OD sel dan konsentrasi gas metan di *headspace* bakteri metanotrof yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen pada suhu 30 °C selama 12 hari.

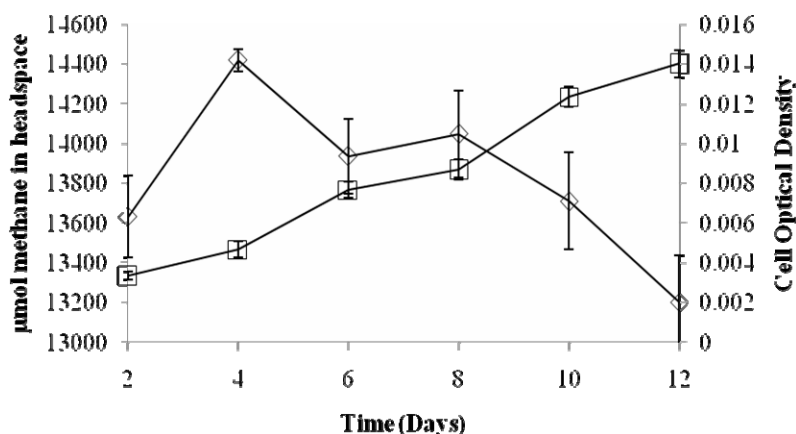
Hari	Isolat Bakteri	OD sel (OD _{620 nm})	Total Headspace Methane (µmol/120 ml)
2	BGM 1	0.0037	13980.4
	BGM 3	0.0033	13631.9
	BGM 9	0.0033	13782
4	BGM 1	0.0053	14233.8
	BGM 3	0.0047	14418.6
	BGM 9	0.0040	14239.4
6	BGM 1	0.0067	13990.9
	BGM 3	0.0077	13936.8
	BGM 9	0.0050	14087.7
8	BGM 1	0.0100	14165.7
	BGM 3	0.0087	14047
	BGM 9	0.0077	13946.2
10	BGM 1	0.0110	14010.4
	BGM 3	0.0123	13709.2
	BGM 9	0.0087	13869.5
12	BGM 1	0.0123	13439
	BGM 3	0.0140	13202
	BGM 9	0.0120	13241.5

Ketiga isolat bakteri metanotrof, BGM1, BGM3, dan BGM9 ditumbuhkan pada media NMS dengan menggunakan metan sebagai sumber karbon dan energi dan diinkubasi selama 12 hari. Konsentrasi gas metan di *headspace* diukur setiap dua hari sekali. Konsentrasi gas metan di *headspace* pada kultur isolat BGM1 pada hari kedua adalah 13980.4 µmol dan menurun pada hari ke-12 menjadi 13439 µmol. Penurunan

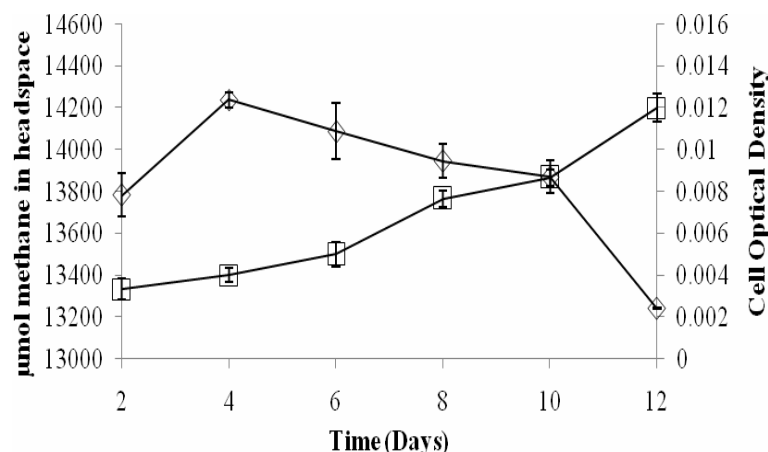
konsentrasi gas metan di *headspace* juga terjadi pada kultur isolat BGM3 dari 13631.9 μmol pada hari kedua menjadi 13202 μmol pada hari ke-12. Sedangkan konsentrasi gas metan kultur isolat BGM9 menurun dari 13782 μmol pada hari kedua menjadi 13241.5 μmol pada hari ke-12 (Tabel 2; Gambar 4, 5, 6). Total gas metan yang hilang selama periode inkubasi merupakan jumlah gas metan yang dioksidasi oleh bakteri metanotrof.



Gambar 4. Konsentrasi gas metan di *headspace* (◇) dan OD sel (□) isolat BGM1 yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen selama 12 hari.



Gambar 5. Konsentrasi gas metan di *headspace* (◇) dan OD sel (□) isolat BGM3 yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen selama 12 hari.



Gambar 6. Konsentrasi gas metan di headspace (◇) dan OD sel (□) isolat BGM9 yang ditumbuhkan pada media NMS bebas nitrogen selama 12 hari.

3.2. Pembahasan

Bakteri metanotrof merupakan bakteri pengoksidasi metan pada kondisi aerobik. Kemampuan bakteri metanotrof untuk mengoksidasi metan disebabkan oleh adanya enzim spesifik yang disebut metan monooksigenase (MMO) (Madigan *et al.* 2009). Disamping mengoksidasi metan, bakteri metanotrof ternyata juga dapat memfiksasi nitrogen bebas di atmosfer menjadi ammonium yang kemudian terakumulasi di dalam media. Dari data yang didapatkan, diketahui bahwa setiap isolat bakteri metanotrof mempunyai aktivitas dan kemampuan untuk mengoksidasi metan dan memfiksasi nitrogen yang berbeda-beda.

Kurva pertumbuhan bakteri terdiri dari tiga fase utama antara lain fase lag, fase log atau eksponensial, dan fase stasioner. Pada fase lag, bakteri beradaptasi pada lingkungan dan metabolisme sel akan meningkat untuk biosintesis makromolekul, enzim-enzim primer, dan persiapan untuk menuju fase berikutnya. Pada fase ini, terjadi pembesaran sel tetapi pembelahan sel tidak terjadi sehingga jumlah sel tidak meningkat secara signifikan. Pada fase log, nutrisi dan faktor fisik seperti lingkungan dalam kondisi fisiologis yang optimal sehingga sel akan bereproduksi secara konstan dan cepat. Pada fase tersebut terjadi penambahan jumlah sel secara eksponensial. Lamanya waktu fase log tergantung pada jenis bakteri dan komposisi media yang digunakan. Pada umumnya bakteri mengalami fase log selama 6-12 jam. Akan tetapi, pertumbuhan isolat bakteri metanotrof yang diuji sangat lambat dan membutuhkan waktu sekitar 12 sampai 15 hari untuk mencapai fase eksponensial. Kecilnya peningkatan nilai OD sel pada isolat bakteri BGM3 dan BGM9 menunjukkan bahwa isolat tersebut mempunyai pertumbuhan yang sangat lambat. Hal ini umum terjadi pada bakteri metanotrof, Hrsa'k dan Begonja 1998 melaporkan bahwa bakteri metanotrof mempunyai pertumbuhan yang sangat lambat.

Konsentrasi ammonium yang terakumulasi di dalam media kultur isolat BGM1 lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi ammonium yang dihasilkan dua isolat lainnya. Kurva pertumbuhan isolat BGM 1 memperlihatkan bahwa pertumbuhan isolat BGM1 lebih tinggi dibandingkan dengan isolat BGM3 dan BGM9. Auman *et al.* 2001 melaporkan bahwa adanya perbedaan konsentrasi akumulasi ammonium dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim nitrogenasenya. Aktivitas enzim nitrogenase akan terhambat apabila terdapat oksigen, tetapi oksigen juga diperlukan dalam respirasi aerobik bakteri metanotrof untuk menghasilkan ATP untuk mendukung aktivitas nitrogenase. Bakteri metanotrof tipe II umumnya hanya mampu memfiksasi nitrogen dalam kondisi mikroaerofil (Hanson & Hanson 1996). Enzim nitrogenase ini sangat sensitif terhadap oksigen, tingginya konsentrasi oksigen akan menghambat ekspresi gen *nifD* dan *nifH* yang menyandikan enzim nitrogenase (Dedysh *et al.* 2004).

Uji aktivitas oksidasi metan menunjukkan bahwa ketiga isolat mampu mengoksidasi metan. Hal ini ditunjukkan dari penurunan konsentrasi gas metan di *headspace* dari hari kedua sampai hari ke-12. Oksidasi Metan merupakan tahap awal metabolisme bakteri metanotrof untuk menghasilkan energi. proses metabolisme ini melibatkan beberapa enzim penting bagi bakteri untuk bertahan di lingkungan. Metan monooksigenase adalah enzim yang berperan dalam proses oksidasi metan. Enzim ini akan mengoksidasi metan menjadi metanol (Capone *et al.* 2006).

Pada uji oksidasi metan, bakteri isolat diinkubasi dengan inkubator bergoyang sehingga terjadi aerasi dan menghasilkan oksigen. Hal ini dilakukan karena tanpa oksigen, bakteri metanotrof tidak dapat mengoksidasi metan menjadi karbon dioksida, air, dan biomassa. Oleh karena itu, oksidasi metan dapat terjadi dalam lingkungan mikro yang masih terdapat oksigen seperti zona akar dan pada bagian lapisan permukaan tanah.

4. SIMPULAN DAN PROSPEK

Ketiga isolat bakteri metanotrof BGM1, BGM3, dan BGM9 mampu memfiksasi nitrogen bebas menjadi ammonium yang ditunjukkan dengan adanya ammonium yang terakumulasi di dalam media. Konsentrasi ammonium terakumulasi tertinggi yaitu pada isolat BGM1 pada hari ke-19 sebesar 24.79 μM . Ketiga isolat tersebut juga mampu mengoksidasi metan sebagai sumber karbon dan energi. Aktivitas oksidasi metan tertinggi pada isolat BGM1 yang ditunjukkan dengan penurunan konsentrasi gas metan dari hari kedua sebesar 13980.4 μmol menjadi 13439 μmol pada hari ke-12. Dari hasil penelitian ini diharapkan didapatkan isolat bakteri metanotrof terpilih yang berpotensi sebagai agen hayati untuk menurunkan emisi metan serta *biofertilizer*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Dr. Iman Rusmana dan Prof. Dave B. Nedwell untuk bimbingan, bantuan serta segala masukannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Auman AJ, Speake CC, Lidstrom ME. 2001. *nifH* sequences and nitrogen fixation in type I and type II methanotrophs. *Appl Environ Microbiol* 67: 4009-4016.
- Boulygina ES, Kuznetsov BB, Marusina AI, Tourova TP, Kravchenko IK *et al.* 2002. A study of nucleotide sequences of *nifH* genes of some methanotrophic bacteria. *Microbiol* 71: 425-432.
- Capone DG, Popa R, Flood B, Nealson KH. 2006. Follow the nitrogen. *Science* 312: 708-709.
- Choo QC, Samian MR, Najimudin N. 2003. Phylogeny and characterization of three *nifH*-homologous genes from *Paenibacillus azotofixans*. *Appl Environ Microbiol* 69: 3658-3662.
- Conrad R, Rothfus F. 1991. Methane oxidation in the soil surface layer of a flooded rice field and the effect of ammonium. *Biol Fertil Soil* 12:28-32.
- Dedysh SN, Ricke P, Liesack W. 2004. NifH and NifD phylogenesis: an evolutionary basis for understanding nitrogen fixation capabilities of methanotrophic bacteria. *Microbiology* 150: 1301-1313.
- Fedorov DN, Ivanova EG, Doronina NV, Trotsenko YuA. 2008. A new system of degenerate oligonucleotide primers of detection and amplification of *nifHD* genes. *Microbiol* 77: 247-249.
- Hanson RS and Hanson TE. 1996. Methanotrophic bacteria. *Microbiol Rev.* 60: 439-471.
- Hrsa'k D, Begonja A. 1998. Growth characteristics and metabolic activities of the methanotrophic-heterotrophic groundwater community. *J of Appl Microbiol* 85: 448-456.
- Kumaraswamy P, Ramakrishnan B, Sethunathan N. 2001. Methane production and oxidation in an anoxic rice soil as influenced by inorganic redox species. *J environ Quality.* 30: 2195-2201.
- Lestari Y. 2006. The Potential of microbes in minimizing the risk of global warming. Final report of International Symposium (Food and Environmental Preservation in Asian Agriculture).
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. 2009. *Brock Biology of Microorganisms.* Twelfth edition. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Mossier AR. 1994. Nitrous oxide emissions from agricultural soils. *Fert Res* 37:191-200.
- Nercessian O, Biennu N, Moreira D, Prieur D, Jeanthon C. 2005. Diversity of functional genes of methanogens, methanotrophs, and sulfate reducers in deep-sea hydrothermal environments. *Environ Microbiol* 7: 118-132.
- Sambrook J, Clapham D, Arnold SV. 1989. *Molecular Cloning II : A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory Pr. New York. 533 p.
- Sugitha TCK and Kumar K. 2009. Identification of *nif* genes of heterotrophic and endophytic diazotrophs associated with rice (*Oryza sativa* L.) by targeted DNA finger printing. *African J Biotechnol* 8: 6249-6252.

Suprihati I, Anas D, Murdiyarso S, Sabiham, Djajakirana G. 2006. Fluks metana dan karakteristik tanah pada beberapa macam sistem budidaya. *Bul Agron* 34:181-187.

PRODUKSI PROTEASE SERIN DARI SEL AMOBIL *Brevibacillus agri* A-03 DENGAN MATRIKS ALGINAT

Anthoni Agustien

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia
e-mail : aagustien@gmail.com

Abstract

Thermopile Gram positive *Brevibacillus agri* A-03 has highest activities thermo stable serine protease producers. Scale up of thermo stable serine protease production can be by cells immobilized with Ca-alginate as matrix. The objective of the research is to thermo stable serine protease production of cell immobilization *B. agri* A-03. Thermostable serine protease activities were determined with modification of Walker method. Protein concentration of enzyme determined with Lowry method. Immobilization of cell by Ca-alginate as matrix with Adinarayana method, alginate concentration and amount of alginate bead effects with Beshay method. The result extracellular thermo stable serine protease of immobilized *B. agri* A-03 was maximum produced at 9 times incubation with activities as 9.86 U/mg. Three percent alginate has optimum activity. Three hundred alginate beads have optimum activity. Immobilized of *B. agri* A-03 cells has scale up of thermo stable serine protease activity at 100 percent than of free cells. Thermo stable serine protease produced by cell immobilized was ten cycles.

Keywords: Immobilization, *Brevibacillus agri* A-03, Ca-alginate, serine protease

1. PENDAHULUAN

Protease alkali (E.C.3.4.21 - 24, 99) merupakan protease yang aktif pada interval pH netral sampai alkali, mempunyai sisi aktif serin (protease serin) atau tipe metal (metalloprotease) dan mempunyai nilai komersial yang sangat penting (Gupta *et al.*, 2002). Protease serin alkali merupakan yang paling banyak dihasilkan oleh bakteri, aktivitas maksimum pada pH alkali dan tidak membutuhkan ion metal. Enzim ini sangat sesuai dan stabil sebagai bagian dari formulasi deterjen (Anwar dan Saleemuddin, 1998).

Protease serin alkali yang paling terkenal adalah subtilisin yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* (Priest, 1992). Protease serin-alkali (subtilisin) dihasilkan oleh berbagai jenis *Bacillus* sebagai bahan aditif deterjen, dengan produksi enzim murni mencapai 900 ton pada tahun 2002 di Uni Eropa (Maurer, 2004). Menurut Banik dan Prakash (2004) dan Maurer (2004), protease serin alkali sebagai aditif deterjen memiliki pengertian bahwa enzim tersebut merupakan sebagai bahan tambahan pada formulasi deterjen dan bersinergi untuk menghilangkan kotoran pada bahan yang dicuci.

Langkah pertama dalam perkembangan produksi enzim untuk industri adalah mengisolasi jenis mikroorganisme yang potensial untuk produksi enzim yang memiliki nilai komersial (Sumantha *et al.*, 2006). Bakteri Gram positif *Brevibacillus agri* A-03 asal sumber air panas Ambayan, Muaro Labuh, Sumatera Barat memiliki aktivitas protease serin yang tahan panas dan berindikasi dapat digunakan sebagai bahan aditif detergen (Agustien, 2010). Setelah diperoleh mikroorganisme yang sesuai, diperlukan peningkatan produksi enzim melalui proses optimisasi. Optimisasi kondisi lingkungan ekstrinsik dan intrinsik terhadap mikroorganisme penghasil protease bertujuan untuk meningkatkan sintesis enzim sehingga diperoleh aktivitas protease yang tinggi (Suhartono, 1991). Amobilisasi sel merupakan salah satu cara untuk meningkatkan aktivitas enzim (Chibata *et al.*, 1983).

Amobilisasi sel merupakan suatu metode di mana sel ditahan pergerakannya pada suatu ruang. Ada beberapa teknik amobilisasi seperti adsorpsi, ikatan kovalen, ikat silang dan penjebakkan. Sel amobil banyak digunakan untuk produksi enzim, asam organik dan alkohol (Ramakrishna dan Prakasham, 2007). Disamping meningkatkan produksi enzim, keuntungan lain menggunakan amobilisasi sel adalah kestabilan operasionalnya tinggi, biaya murah untuk produksi enzim (Chibata *et al.*, 1983), melindungi kerusakan sel, mengurangi kontaminasi, produktifitas tinggi dan meningkatkan proses kontrol (Quirós *et al.*, 1996). Sel amobil dengan menggunakan teknik penjebakkan sel dalam jaringan tiga dimensi polimer merupakan metode yang paling banyak digunakan. Matriks yang digunakan sebagai matriks sel amobil adalah poliakrilamid, kolagen, gelatin, agar, alginat dan κ - karagenan (Scragg, 1990). Amobilisasi sel mikroorganisme dengan teknik penjebakkan dengan produk yang dihasilkannya ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Penggunaan teknik penjebakkan pada amobilisasi sel (Scragg, 1990)

Matriks	Mikroorganisme	Produk
Poliakrilamid	<i>E. coli</i>	β -laktamase
	<i>E. coli</i>	6-APA
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Etanol
Agar	<i>E. coli</i>	Asam asetat
	<i>Saccharomyces pastorianus</i>	Sukrosa
Alginat	<i>Curvularia</i>	Kortison
	<i>Lactobacillus delbricii</i>	Asam laktat
κ - Karagenan	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	α - Amilase
	<i>Serratia marcescens</i>	L-isoleusin

Penggunaan sel amobil untuk fermentasi sangat penting sebagai alternatif bagi memperbaiki bioproses konvensional yang menggunakan sel bebas (Quirós *et al.*, 1996). Amobilisasi dari sel mikroorganisme dalam memproduksi enzim ekstraseluler adalah

untuk meningkatkan produksi enzim dan memisahkan sel-sel mikroorganisme dari produk ekstrak kasar enzim (Galazzo dan Bailey, 1990). Sel-sel yang dijebak menunjukkan stabilitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan dari pada sel pada keadaan bebas. Sel amobil memiliki kegunaan yang sangat praktis dalam bidang industri karena sistem biokatalis tersebut dapat digunakan lagi untuk reaksi berikutnya dan dapat diandalkan pada proses kontinue yang dilaksanakan dalam suatu fermentor/bioreaktor (Quintana dan Dalton, 1999).

Pemilihan teknik amobilisasi sel dan bahan matriks yang sesuai sangatlah diperlukan untuk mendapatkan hasil optimal dalam memproduksi enzim (Beshay, 2003). Amobilisasi sel dengan teknik penjebakkan paling populer dan banyak digunakan (Bregni *et al.*, 2000). Penjebakkan sel mikroorganisme dalam bahan matriks (seperti kalsium alginat) merupakan yang paling banyak dipelajari, hal ini disebabkan kehidupan dan aktivitas sel sangat tinggi (Quirós *et al.*, 1996). Teknik penjebakkan pada amobilisasi sel dengan menggunakan matriks alginat sangat disukai karena prosesnya satu tahap dibawah kondisi yang sangat terjaga dan sangat cocok dengan sel sehingga perolehan produknya tinggi (Bregni *et al.*, 2000).

Alginat merupakan polimer linear alami yang mengandung β -D-manuronat dan α -L-asam gluronat yang dihubungkan oleh ikatan 1,4-glikosida, dihasilkan dari alga coklat. Alginat monovalent bersifat larut air, adanya kation divalen (Ca, Sr dan Ba) menyebabkan terjadinya ikat silang antar rantai makromolekul sehingga membentuk gel yang dapat digunakan pada suhu tinggi (Longo *et al.*, 1991). Alginat banyak digunakan pada amobilisasi sel *Bacillus*, hal ini disebabkan alginat tidak bersifat racun terhadap sel, tingkat kecocokan yang tinggi dengan sel, mudah diperoleh, tekniknya sederhana dan murah (Adinarayana *et al.*, 2005). Matriks alginat memiliki porositas yang baik, sehingga substrat mudah masuk dan produknya mudah keluar, sementara sel-sel bakteri tetap tertahan dalam matriks, selain itu alginat memiliki suhu kerja sampai 80⁰ C dengan diameter pori 5 - 8,7 A⁰, diameter pori alginat ini cocok untuk distribusi dan pengeluaran makromolekul seperti protein (Smidsrod dan Sajak-Braek, 1990). Sel amobil di dalam kalsium-alginat mendapat nutrisi hanya dengan cara difusi, laju pertumbuhan dan sintesis produk ditentukan oleh konsentrasi substrat di sekeliling sel (Longo *et al.*, 1991).

2. BAHAN DAN METODE

Amobilisasi sel *Brevibacillus agri* A-03 dan produksi protease serin dilakukan dengan metode Adinarayana *et al.* (2005).

(1) Penyediaan inokulum

Sebanyak 5 ml air suling steril di masukkan ke dalam biakan miring bakteri yang berumur 14 jam dan suspensi sel bakteri tersebut di masukkan ke dalam labu ukuran 250 ml yang berisikan 45 ml medium. Kemudian diinkubasi pada shaker 150 rpm, suhu 55^o C selama 14 jam. Medium produksi enzim disentrifugasi pada 5000 g selama 20 menit. Pelet sel dilarutkan dan dicuci dengan larutan fisiologis NaCl 0,85% dan air suling steril, akhirnya sel dilarutkan dengan NaCl 0,85% steril.

(2) Amobilisasi sel dengan matriks alginat

Disiapkan larutan Na-Alginat 3% steril dan dicampurkan dengan 2 ml suspensi sel dan larutan alginat, distirer selama 1 menit. Sel pada larutan alginat di masukkan ke dalam *syringe* steril dan secara perlahan dikeluarkan dari *syringe* ke dalam wadah yang berisikan 0,2 M CaCl₂ sehingga terbentuk butiran alginat dan disimpan pada suhu 4^o C selama 1 jam dan dicuci dengan air steril sebanyak 3 kali.

(3) Produksi enzim dengan amobilisasi sel

Butiran alginat di masukkan ke dalam labu ukuran 500 ml yang berisikan 200 ml medium produksi enzim. Diinkubasi selama 24 jam dan setiap interval 3 jam dilakukan sampling dan ditentukan aktivitas spesifik enzim.

2.1. Efek konsentrasi Ca-alginat

Efek konsentrasi Ca-alginat terhadap produksi enzim dilakukan menurut Beshay (2003), dengan membuat variasi konsentrasi pengemban alginat: 2; 2,5; 3,0; 3,5 dan 4%. Larutan enzim diisolasi dan ditentukan aktivitas spesifik enzim.

2.2. Efek jumlah butiran Ca-alginat

Efek jumlah butiran Ca-alginat terhadap produksi enzim dilakukan menurut Beshay (2003), dengan membuat variasi jumlah butiran alginat sebanyak: 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 butir; menggunakan konsentrasi alginat yang terbaik. Larutan enzim diisolasi dan ditentukan aktivitas spesifik enzim.

2.3. Penggunaan berulang sel amobil

Penggunaan berulang sel amobil dilakukan menurut metode Adinarayana *et al.* (2005). Penghasilan protease serin dengan sel amobil pada kondisi konsentrasi dan jumlah butiran alginat yang terbaik. Larutan enzim diisolasi pada berdasarkan waktu panen, kemudian ditentukan aktivitas spesifik enzim dan aktivitas enzim total. Selanjutnya sel amobil dicuci 3 kali dengan menggunakan larutan NaCl 0,85%, kemudian dimasukkan medium yang baru untuk memproduksi enzim kembali, selanjutnya enzim dipanen

kembali dan sel amobil dicuci kembali. Operasional sel amobil dilakukan sampai menunjukkan aktivitas enzim menurun.

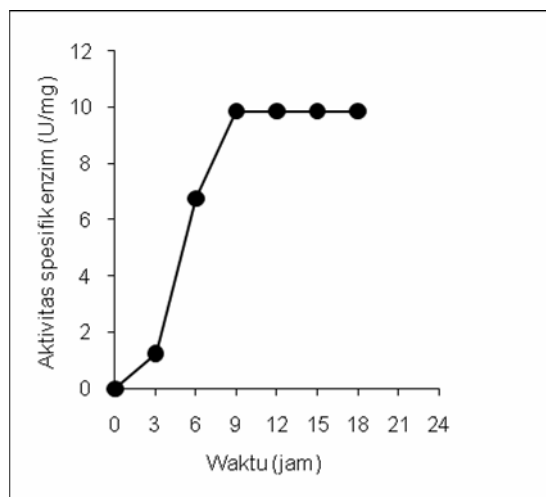
2.4. Pengukuran aktivitas protease serin dan kadar protein

Penentuan aktivitas protease serin dilakukan menurut metode Walker yang dimodifikasi (Mubarik, 2001) dan pengukuran kadar protein dilakukan menurut metode Lowry (1951).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Produksi protease dengan amobilisasi sel

Amobilisasi sel *Brevibacillus agri* A-03 menggunakan metode penjebakan dengan Ca-alginat sebagai matriks untuk memproduksi protease serin, memperlihatkan enzim maksimum dihasilkan pada 9 jam inkubasi dengan aktivitas spesifik enzim 9,860 U/mg yang relatif stabil sampai 18 jam inkubasi (Gambar 1). Adinarayana *et al.* (2005) melaporkan *Bacillus subtilis* PE-11 amobil dengan matriks alginat, menghasilkan protease maksimum pada 24 jam inkubasi. Amobilisasi sel *Bacillus pumilis* MTCC 2296 dengan matriks alginat menghasilkan protease alkali maksimum pada 30 jam inkubasi (Kumari *et al.*, 2009).



Gambar 1. Produksi protease serin dari sel *Brevibacillus agri* A-03 amobil

Produksi protease serin dengan teknik amobil sel, tidak hanya memiliki aktivitas spesifik enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan produksi enzim dengan menggunakan sel bebas (4,703 U/mg), juga waktu produksi enzim dengan teknik amobil sel lebih cepat dibandingkan jika produksi enzim dengan sel bebas yang memerlukan waktu selama 14 jam. Keuntungan menggunakan sel amobil dalam produksi enzim

adalah meningkatkan aktivitas enzim (Galazzo dan Bailey, 1990) dan mereduksi waktu produksi enzim (Quintana dan Dalton, 1999).

3.2. Efek konsentrasi alginat terhadap aktivitas enzim

Matriks alginat dengan konsentrasi 3% dapat menghasilkan aktivitas spesifik protease paling tinggi, dengan aktivitas spesifik enzim 9,860 U/mg dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata aktivitas spesifik enzim pada sel amobil dengan konsentrasi alginat yang berbeda

Konsentrasi alginat	Aktivitas spesifik protease (U/mg)
2,0 %	3,524 e
2,5 %	5,025 d
3,0 %	9,860 a
3,5 %	6,440 b
4,0 %	5,700 c

Keterangan : Angka-angka pada setiap baris yang tidak diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda sangat nyata pada $p < 0.01$.

Adanya perbedaan masing-masing perlakuan terhadap aktivitas spesifik enzim, kemungkinan disebabkan konsentrasi alginat dapat mempengaruhi sifat fisik dan pori dari matriks Ca-alginat. Butiran alginat dengan konsentrasi yang rendah menyebabkan butiran relatif lunak dan memungkinkan cepat terjadi kebocoran jika dibandingkan dengan alginat dengan konsentrasi tinggi sedangkan koefisien difusi glukosa menurun dengan peningkatan konsentrasi alginat (Beshay, 2003). Ca-alginat dengan konsentrasi 3%, mempunyai diameter pori yang maksimal (Hannoun dan Stephanopoulos, 1985). Hal ini menyebabkan proses transfer nutrisi dari medium ke sel bakteri yang berada dalam butiran alginat dan terjadi difusi produk dari sel melalui pori matriks ke lingkungan medium, oleh karena itu butiran matriks, substrat dan konsentrasi produk mempunyai peranan yang sangat penting dalam pertumbuhan dan produktivitas sel (Quiros *et al.*, 1995).

3.3. Efek jumlah butiran alginat terhadap aktivitas enzim

Jumlah butiran alginat sebanyak 300 buah dapat menghasilkan protease serin paling tinggi, dengan aktivitas spesifik enzim masing-masing 9,860 U/mg dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 3). Adanya perbedaan masing-masing perlakuan terhadap aktivitas spesifik enzim, ini kemungkinan disebabkan jumlah butiran alginat dapat memberi efek terhadap sel untuk menghasilkan enzim. Beshay (2003), melaporkan bahwa peningkatan jumlah butiran dapat meningkatkan produksi protease

yang maksimum, sedangkan jumlah butiran di atas jumlah yang optimum menyebabkan reduksi terhadap perolehan enzim.

Tabel 3. Rata-rata aktivitas spesifik enzim dengan jumlah butiran alginat yang berbeda

Jumlah butiran Alginat	Aktivitas spesifik protease (U/mg)
100	2,400 f
200	4,575 e
300	9,860 a
400	7,775 b
500	6,525 c
600	4,980 d

Keterangan : Angka-angka pada setiap baris yang tidak diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda sangat nyata pada p.0,01.

3.4. Produksi enzim dari sel bebas dan sel amobil

Perbandingan produksi protease serin dengan menggunakan sel amobil dan sel bebas *Brevibacillus agri* A-03 adalah 2 kali atau terjadi peningkatan produksi sebesar 100% jika menggunakan sel amobil (Tabel 4).

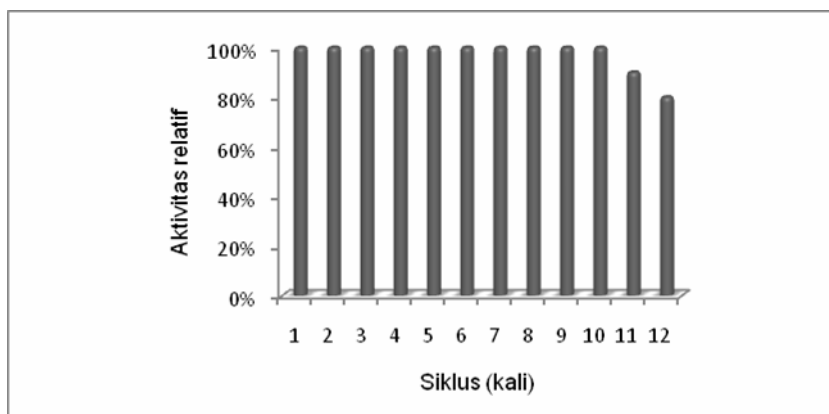
Tabel 4. Produksi protease serin dari sel bebas dan sel amobil

	Akt.spesifik (U/mg)	Peningkatan (%)
Sel bebas	4,703	
Sel amobil	9,860	100

Peningkatan produksi protease serin menunjukkan bahwa matriks alginat sangat sesuai digunakan sebagai penjebak sel untuk memproduksi enzim. Menurut Quiros *et al.* (1995), penjebakan sel dalam butiran alginat umumnya paling sesuai bagi viabilitas sel sehingga aktivitas sel sangat tinggi. Produksi protease menggunakan amobilisasi sel *Teredinobacter turnirae* dengan matriks alginat, meningkatkan aktivitas enzim sebesar dua kali dibandingkan dengan sel bebasnya (Beshay, 2003). Produksi protease alkali termotabil dari *Bacillus subtilis* dengan teknik amobil sel menggunakan Ca-alginat sebagai matriks meningkatkan aktivitas enzim sebesar 1,8 kali dibandingkan jika menggunakan sel bebas (Adinarayana *et al.*, 2005).

3.5. Penggunaan berulang sel amobil

Penggunaan berulang sel *Brevibacillus agri* A-03 amobil dengan pengemban alginat untuk menghasilkan protease serin dengan aktivitas relatif masih 100% setelah digunakan sebanyak 10 kali (Gambar 2).



Gambar 2. Histogram penggunaan berulang sel amobil

Adinarayana *et al.* (2005) melaporkan bahwa penggunaan berulang sel amobil *Bacillus subtilis* PE-11 dengan pengemban alginat dalam produksi protease alkali, aktivitas enzim masih 100% setelah 9 kali penggunaan.

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa protease serin dari sel amobil *Brevibacillus agri* A-03 dihasilkan maksimum pada 9 jam inkubasi dengan aktivitas spesifik enzim 9.86 U/mg. Alginat dengan konsentrasi 3% yang berjumlah 300 butir menghasilkan enzim dengan aktivitas yang paling tinggi dan meningkatkan produksi enzim sampai 100 % serta dapat digunakan berulang sampai 10 kali.

Prospek dari hasil penelitian ini adalah “scale up” produksi enzim dengan menggunakan fermentor atau bioreactor dan oleh karena aktivitas enzim yang dihasilkan tinggi, mengindikasikan enzim dapat diaplikasikan sebagai bahan aditif detergen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Prof.Dr. Jetty Nurhajaty, Dr. Linar Z. Udin, MS, APU, Dr. Pingkan Aditiawati, MS atas bimbingannya, Kepala Pusat Penelitian Kimia LIPI, Bandung atas fasilitas yang diberikan serta DIKTI atas pemberian dana melalui Hibah Penelitian Doktor.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinarayana, K., B. Jyothi and P. Ellaiah. 2005. Production of alkaline protease with immobilized cells of *Bacillus subtilis* PE-11 in various matrices by entrapment technique. **AAPS Pharmacol Sci Technol**, **6**: 391-397.
- Agustien, 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. UNPAD Press, Bandung.

- Anwar, A. and M. Saleemuddin. 1998. Alkaline proteases: a review. **Biores Technol** 64: 175-179.
- Banik, R.M. dan M. Prakash. 2004. Laundry detergent compatibility of the alkaline protease from *Bacillus cereus*. **Microbiol Res.** 159: 135-140.
- Beshay, U. 2003. Production of alkaline protease by *Teredinobacter turnirae* cells immobilized in ca-alginate beads. **African J Biotechnol** 2: 60-65.
- Bregni, C., J. Degrossi, R. Garcia, M.C. Lamas, R. Firenstein and M. D'Aquino. 2000. Alginate microspheres of *Bacillus subtilis*. **Ars Pharmaceutica**, 41: 245-248.
- Chibata, I. 1983. *Immobilized Enzyme*. A Halsted Press Book Kodansha Ltd. Tokyo.
- Galazzo, J.L. and J.E. Bailey. 1990. Growing *Saccharomyces cerevisiae* in calcium alginate beads induces cell alterations that accelerate glucose conversion to ethanol. **Biotechnol Bioengin** 36: 417-426.
- Gupta, R., Q.K. Beg and P. Lorenz. 2002. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **App Microbiol Biotechnol** 59:13-32.
- Hanoun, B.J.M and G. Stephanopoulos. 1985. Diffusion coefficients of glucose and ethanol in cell free and cell occupied calcium alginate membranes. **Biotechnol Bioengin** 28: 829-835.
- Lehninger, A.L.1988. *Dasar-Dasar Bio-kimia*. Alih bahasa M.T. Suhartono. Penerbit Airlangga, Jakarta.
- Longo, M.A., I.S. Novella, L.A. Garcia and M. Diaz. 1991. Difusión of proteases in calcium alginate beads. **Enzyme Microbiol Technol** 14: 586 -590.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randal. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem.** 193: 265-275.
- Maurer, K.H. 2004. Detergent protease. **Curr Opin Biotechnol** 15: 330-334.
- Mubarik, N.R., 2001. *Pemurnian dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Isolat Bakteri Termofilik GP-04*. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Priest, F.G. 1992. *Enzymes Extracellular*. In Encyclopedia of Microbiology. Ed. Joshua Lederberg Vol. 2. Academic Press Limited, Inc. New York.
- Ramakrishna S. V. and R. S. Prakasham. 2007. Microbial fermentation with immobilized cells. <http://www.ias.ac.in/currsci/jul10/articles17.htm>, 17 Oktober 2007.
- Quintana, M.G. and H. Dalton. 1999. Biotransformation of aromatic compounds by immobilized bacterial strain in barium-alginate. **J Enzyme Microb Technol** 24: 232-236.
- Quirós C., L.A. García and M. Díaz. 1996. The evolution of the structure of calcium alginate beads and cell leakage during protease production. **Proc Bio-chem** 31: 8, 813-822.
- Scragg, A.H.1990. *Biotechnology for Engineers, Biological Systems in Technological Processes*. Ellis Horwood Limited, Publishers. Chichester.
- Smidsrod, O dan G. Skjak-Braek. 1990. Alginat as immobilization matrix for cell. **Tib Technology**, 8, 71-78.
- Suhartono, M.T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*, PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Sumantha, A., C. Larroche and A. Pandey. 2006. Microbiology and industrial of food-grade proteases : A perspective. **Food Technol Biotech** 44: 211-220.

PEMERIKSAAN SEROLOGIK BRUCELLOSIS DAN MIKROBIOLOGIK SUSU DI PETERNAKAN SAPI PERAH KABUPATEN BOGOR DAN SUKABUMI

Rahmat Hidayat, Usamah Afiff dan Fachriyan Hasmi Pasaribu

Division of Medical Microbiology, Dept. of Animal Disease and Veterinary Public Health Science
Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University

Abstrak

Kabupaten Bogor dan Sukabumi Propinsi Jawa Barat merupakan dua wilayah yang telah lama memiliki usaha peternakan sapi perah. Salah satu penyakit yang masih merupakan kendala utama dalam pengembangan sapi perah adalah brucellosis akibat infeksi *Brucella abortus*. Kerugian yang ditimbulkan akibat penyakit brucellosis ini antara lain adalah penurunan jumlah kelahiran karena terjadinya keguguran, penurunan produksi susu, dan terjadinya infertilitas pada hewan yang terinfeksi. Penelitian yang dilakukan ini menggunakan 95 sampel susu kandang. Semua sampel susu diperiksa secara serologik dengan metode *milk ring test* (MRT). Hasil *screening* dengan MRT menunjukkan bahwa semua sampel susu kandang yang diserahkan pada hari pengambilan spesimen positif brucellosis. Selain itu pada kultur media diperoleh hasil pemeriksaan bahwa sampel susu sebagian besar mengandung *Escherichia coli*. Kesimpulan yang dapat ditarik adalah sapi-sapi yang diteliti di kabupaten Bogor dan Sukabumi diduga terkena infeksi *B. abortus*. Selain itu, susu segar yang baru diperah terkontaminasi bakteri *E. coli*.

1. PENDAHULUAN

Kabupaten Bogor dan Sukabumi merupakan dua wilayah dari Propinsi Jawa Barat yang telah lama memiliki usaha peternakan sapi perah di tingkat peternakan rakyat. Usaha pengembangan peternakan sapi perah tersebut masih mengalami pasang surut dan banyak menemui kendala yang dimulai dari sektor hulu, tengah, hingga hilir. Kendala yang terjadi di sektor hulu adalah sulitnya mencari bibit sapi perah yang unggul, di sektor tengah adalah masih rendahnya jumlah rata-rata kepemilikan ternak, dan di sektor hilir adalah rendahnya tingkat daya tawar peternak dalam memasarkan hasil produksi ternaknya berupa susu. Disamping itu manajemen kesehatan sapi perah juga masih merupakan faktor yang sangat perlu mendapat perhatian dan pembinaan. Salah satu penyakit yang masih merupakan kendala utama dalam pengembangan sapi perah adalah brucellosis.

Brucellosis merupakan salah satu penyakit pada sapi perah yang disebabkan oleh *Brucella abortus* yang dikenal juga sebagai penyakit keluron menular. Brucellosis pada sapi dapat juga disebabkan oleh *Brucella melitensis*, walaupun kejadiannya kurang sering. Penyakit ini dapat terjadi pada hewan domestik (kambing, babi, sapi anjing dan

lain-lain) dan manusia, menyebar di seluruh dunia terutama pada negara berkembang (CDC 2007). Brucellosis sudah lama dikenal di Indonesia sejak tahun 1925. Brucellosis juga bersifat zoonosis yang dapat membahayakan kesehatan manusia terutama peternaknya sendiri. Oleh karena itu, penyakit ini memiliki arti yang sangat penting baik bidang ekonomi maupun kesehatan masyarakat peternak. Secara klinis, penyakit ini ditandai dengan salah satu atau lebih tanda-tanda berikut, yaitu aborsi, plasenta tertahan, orchitis, epididymitis, dan arthritis dengan kejadian yang jarang, dan bakteri penyebab brucellosis dapat diekskresikan dalam cairan dari uterus dan dalam susu. Demam yang tidak diketahui penyebabnya *fever unknown origin* (FUO) dapat dicurigai sebagai permulaan Brusellosis pada area endemik rendah. Gejala lain dapat terjadi pada saluran pencernaan, seperti sakit perut, konstipasi, diare; dan pada saluran pernafasan, seperti batuk dan sesak napas (*dyspnea*) (Nassir 2007). Kerugian yang ditimbulkan akibat penyakit brucellosis antara lain adalah penurunan jumlah kelahiran karena terjadinya keguguran, penurunan produksi susu, dan terjadinya infertilitas pada hewan yang terinfeksi.

Proses perjalanan penyakit yang disebabkan oleh *B. abortus* pada sapi dan *B. militensis* pada kambing dimulai dengan masuknya kuman ke dalam tubuh melalui penetrasi selaput lendir mata, membran mukosa saluran reproduksi, saluran pencernaan, mulut, kulit dan saluran pernapasan (Hirsh *et al.* 2004). Sumber utama penularan *B. abortus* pada sapi adalah melalui cairan uterus, jaringan plasenta, janin, kolostrum dan susu dari sapi penderita (Quinn *et al.* 2006). Di dalam tubuh inang bersifat patogen fakultatif intraseluler anaerobik (Ghaffar 2005).

Besarnya persentase keguguran tergantung pada umur kebuntingan. Kebuntingan umur 5 bulan, kejadiannya sekitar 64,7%, umur kebuntingan 3-4 bulan kejadiannya 21,2%, dan umur kebuntingan dibawah 3 bulan sekitar 14%. Sapi pada kebuntingan pertama yang mengalami keguguran dapat menularkan ke sapi lainnya. Sapi penderita brucellosis yang tidak memperlihatkan gejala klinis juga sangat potensial sebagai sumber penularan bagi hewan lainnya. Abortus spontan pada hewan terjadi karena pada kotiledon uterus dihasilkan gula eritritol yang merupakan sumber energi yang sangat baik untuk pertumbuhan *B. abortus* sehingga terjadi infeksi di fetus dan plasenta (Misra *et al.* 1976). Masalah pada fertilitas seperti *orkhitis*, *epididymitis* dan dapat ditemukannya organisme di dalam semen (Ocholi *et al.* 2005; Davis dan Danelle 2007).

Pengendalian dan pemberantasan brucellosis pada ternak umumnya cukup sulit. Ada dua faktor utama yang menyebabkannya, yaitu a) bakteri penyebabnya bersifat intraseluler sehingga sulit untuk dilakukan pengobatan; dan b) adanya masalah sosial ekonomi. Pengendalian termudah dan tercepat adalah dengan *test and slaughter*, yaitu

apabila dalam pemeriksaan serologik sapi menunjukkan reaktor positif, maka sebaiknya dimusnahkan agar tidak menjadi sumber penularan lebih lanjut. Namun, pelaksanaan cara ini masih menghadapi kesulitan, terutama dibutuhkan adanya dana kompensasi untuk mengganti kerugian yang dialami peternak dalam jumlah yang relatif sangat besar apabila jumlah reaktor positifnya cukup besar. Cara pengendalian lain yang dapat dilakukan adalah dengan program vaksinasi.

Berbagai upaya telah dilakukan dalam mencegah penularan brucellosis pada sapi perah, diantaranya dengan hal yang telah disebutkan di atas. Namun, upaya tersebut belum terlihat dapat mengendalikan kasus brucellosis pada peternakan sapi perah. Mengingat kompleksnya permasalahan yang dihadapi, perlu diadakan kembali kaji ulang secara komprehensif dalam upaya pengendalian brucellosis.

Produk utama dari peternakan sapi perah adalah susu. Susu yang baik untuk dikonsumsi dan untuk pengolahan lebih lanjut adalah susu yang memiliki kualitas yang baik. Salah satu kualitas susu yang diutamakan adalah sedikitnya jumlah bakteri yang terkandung di dalamnya dan tidak terdapatnya bakteri patogen dalam susu tersebut. Susu dapat dengan mudah terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan sekitarnya, misalnya dari wadah penampung susu, alat penyaring, air, tempat pemerahan, cara pemerahan, orang yang pemerah, dan sapi sendiri.

Ada dua pendekatan yang dilakukan dalam kegiatan ini, yaitu: 1) pengambilan spesimen untuk pemeriksaan; dan 2) penelaahan faktor-faktor yang mempengaruhi kesehatan sapi perah dan produknya.

2. BAHAN dan METODE

Penelitian ini dilakukan pada awal tahun 2007 dimana pengambilan sampel berupa susu sapi segar berlokasi di Cibungbulang dan Cisarua (Kabupaten Bogor) dan Selabintana (Kabupaten Sukabumi). Pemeriksaan serologis dan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Bagian Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner (IPHK) Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Bahan dan alat yang digunakan adalah *ice box* sebagai tempat penyimpanan sampel agar tetap dingin dan menghindari kontaminasi saat pembawaan, batu es (katalisator agar suhu susu tetap stabil), kantung plastik penampung, kertas label yang dilekatkan pada kantung sampel agar sampel tidak bercampur satu dan lainnya. Sedangkan bahan yang digunakan dalam pemeriksaan serologis dan mikroskopis di laboratorium adalah sampel susu, antigen brucella *Milk Ring Test* (MRT), *plate count agar* (PCA), *Blood Agar*, *Nutrient Agar*, *aquadestillata steril*, dan NaCl fisiologis untuk penghitungan jumlah bakteri. Kristal violet, safranin, aceton alkohol, *aquadestillata steril*,

lugol uji KOH dan uji pewarnaan Gram. Susu *real good*, *milk kuat* dan susu UHT produk lokal Bogor (susu UHT) sebagai pembanding dalam pembacaan hasil (kontrol negatif).

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan di laboratorium adalah cawan petri, pipet, pinset, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *cotton swab steril*, *aluminium foil*, mikropipet 1 mililiter dan 0,3 mikroliter, ose, korek api, kapas, kertas label, *object glass*, *cover glass*, bunsen, inkubator, *stomacher* dan mikroskop.

Kegiatan dilaksanakan dengan beberapa metode sebagai berikut:

1. Mendatangi koperasi yang ada di tiga lokasi dan melakukan wawancara langsung dengan pengurus koperasi tentang kesehatan sapi perah dan produknya secara umum dan tentang brucellosis secara khusus.
2. Mendatangi pemilik ternak atau perawat ternak di tiga lokasi dan melakukan wawancara langsung dengan panduan kuesioner yang telah disiapkan sebelumnya.
3. Mengambil spesimen untuk pemeriksaan serologik kasus brucellosis. Spesimen yang direncanakan untuk diambil adalah darah dan susu sapi.
4. Melihat dan memperhatikan beberapa kondisi kandang dan lingkungan tempat memelihara sapi perah di tiga lokasi tersebut.
5. Melihat dan memperhatikan kondisi dan lingkungan tempat pengumpulan susu di koperasi dan cara peternak membawa susu sapi ke koperasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Profil Peternak dan Pemahaman tentang Kesehatan Ternak

Profil peternak yang diamati meliputi tujuan beternak, pengalaman beternak, pengetahuan peternak tentang kesehatan ternak secara umum. Informasi tersebut diperoleh melalui wawancara langsung dengan peternak menggunakan kuesioner dan dengan pengurus koperasi.

Tujuan peternak melakukan usaha beternak sapi perah ada dua, yaitu sebagai usaha pokok dan sebagai usaha sampingan. Pengalaman beternak sapi umumnya lebih dari lima tahun dan ada yang secara turun temurun. Tingkat pengetahuan dan pemahaman peternak tentang kesehatan hewan dan produknya bervariasi dari tidak tahu sampai tingkat yang tergolong baik. Tingkat pengetahuan ini berhubungan erat dengan tingkat pendidikan, pengalaman beternak, tujuan berusaha, dan aspek pembinaan yang dilakukan oleh koperasi dan dinas peternakan setempat yang mereka peroleh. Pengetahuan beternak diperoleh oleh peternak melalui dinas peternakan, dokter hewan praktek, paramedik, turun temurun, belajar sendiri, dan dari peternak lain.

Secara umum, peternak belum memahami tentang bagaimana mengelola kesehatan sapi perah secara umum dengan baik dan benar. Hal ini dapat diketahui setelah kunjungan ke lapang dengan memperhatikan kandang, pakan, dan air yang digunakan untuk pemeliharaan sapi perah. Ada peternak di salah satu lokasi pemantauan yang menempatkan sapi perah bersebelahan dengan tempat pembuangan feses manusia (WC). Peternak belum menempatkan pakan hewan pada tempat yang khusus, baik itu pakan hijauan seperti rumput, ampas tahu, dan konsentrat. Sebagian peternak bahkan meletakkannya begitu saja di tanah atau di jalan masuk dan keluar area kandang. Pakan hijauan atau rumput tercecer di lantai kandang yang kemungkinan besar bercampur dengan feses dan konsentrat diletakkan tepat di belakang sapi dan sangat berdekatan dengan feses. Kualitas air di beberapa peternak sangat tidak baik. Kesemua kondisi tersebut dapat menyebabkan penularan agen penyakit yang terdapat di lingkungan dan feses (sapi dan manusia) ke sapi melalui pakan atau air yang akan diberikan sebagai pakan dan air minum sapi. Selain itu, peternak masih menganggap bahwa sapi yang dikatakan sehat bila dapat memproduksi susu. Mereka tidak peduli apakah sapi perahnya mengalami kelainan anatomi. Hal ini memperkuat bahwa pemahaman peternak tentang hewan yang sehat masih minim.

3.2. Pengetahuan dan Persepsi Peternak tentang Brucellosis

Persepsi peternak dan pengurus koperasi tentang brucellosis dan pengujiannya secara umum tergolong kurang baik, terutama di Kabupaten Bogor. Hal ini berkaitan dengan tindakan yang akan dilakukan seandainya pengujian serologik terhadap brucellosis ditemukan positif. Sebagian besar peternak telah mengetahui tentang nama brucellosis pada sapi perah. Berdasarkan informasi yang diperoleh dari peternak, pengurus koperasi, dan paramedik, kegiatan yang berhubungan dengan pengujian brucellosis merupakan hal yang sensitif di kalangan peternak karena terkait penggantian yang diperoleh peternak tidak memadai, sehingga membuat peternak dan pengurus koperasi “alergi” dengan brucellosis.

3.3. Hasil Pengambilan Spesimen dan Pemeriksaan Serologik Brucellosis

Sampel yang diambil dari lapang adalah susu segar karena pengambilan spesimen darah kurang disetujui oleh pengurus koperasi terutama di Cibungbulang, dengan alasan bahwa peternak “trauma” dengan kasus di masa lalu bahwa hewan mereka “terpaksa” dipotong karena positif brucellosis. Susu yang diambil adalah susu kandang yang dikumpulkan ke koperasi, yaitu susu yang dikumpulkan dari kandang seorang peternak dari beberapa ekor sapi yang akan disetorkan ke koperasi. Pengambilan spesimen susu dilakukan pada penyeteroran sore hari.

Di daerah Cisarua, berdasarkan informasi dari pengurus koperasi dan beberapa peternak bahwa pada bulan Nopember 2006 telah diambil darah oleh petugas dari BPPV Wates Yogyakarta untuk pemeriksaan brucellosis dan setelah itu hewan divaksinasi dengan vaksin *Brucella*. Oleh karena itu, untuk Cisarua juga tidak diambil darah, spesimen yang diambil adalah susu kandang yang disetor ke koperasi atau yang dijemput oleh mobil koperasi. Pengambilan spesimen susu dilakukan pada sore hari dengan cara menunggu di koperasi dan menjemput bersama truk penjemput susu.

Di daerah Selabintana, spesimen yang diambil adalah susu kandang baik yang disetor ke koperasi atau yang dijemput dengan mobil koperasi. Darah juga tidak diambil untuk penyeragaman pemeriksaan karena daerah Cibungbulang dan Cisarua tidak diambil darah. Pengambilan spesimen dilakukan sore hari juga dengan cara menunggu di koperasi dan menjemputnya bersama dengan mobil penjemput susu.

Susu dari ketiga lokasi diperiksa secara serologik dengan metode *milk ring test* (MRT). Hasil dapat dilihat pada tabel 1 berikut. Untuk Cibungbulang, hasil *screening* dengan MRT menunjukkan bahwa semua kandang yang susu sapinya diserahkan pada hari pengambilan spesimen positif brucellosis. Hal ini berarti bahwa di setiap kandang sapi yang susunya diperiksa ada sapi perah yang positif brucellosis. Mengenai berapa jumlah hewan yang positif perlu dilakukan uji selanjutnya yang bersifat konfirmatif. Untuk daerah Cisarua, hasil *screening* juga positif, tetapi karena pada bulan Nopember 2006 telah dilakukan vaksinasi maka hasil ini kemungkinan besar karena vaksinasi bila memang semua sapi divaksinasi. Tetapi bila tidak semua divaksinasi, kemungkinan ada sapi yang terinfeksi alami.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Serologik Spesimen Susu dengan *Milk Ring Test*

Daerah	Jumlah Sampel	Hasil MRT	
		Positif	Negatif
Cibungbulang	95	95	0
Cisarua	57	57	0
Selabintana	35	35	0

Kesulitan yang dihadapi untuk menganalisis hasil uji adalah bahwa di ketiga lokasi tidak ada catatan yang jelas tentang sapi yang mana saja yang telah divaksinasi dan kapan tanggal divaksinasi. Untuk daerah Selabintana, hasil *screening* dari spesimen susu yang diperoleh juga positif seluruhnya. Pemeriksaan susu di laboratorium dengan MRT dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1 Pemeriksaan serologik spesimen susu kandang terhadap brucellosis dengan *milk ring test* (MRT). Hasil uji terlihat menunjukkan reaksi positif dari spesimen susu yang diperoleh dari lapang (terlihat ring berwarna biru di bagian atas susu).

Hasil positif pemeriksaan yang bukan karena vaksinasi menunjukkan bahwa di kandang tempat asal susu yang diperiksa ada sapi yang positif terinfeksi brucellosis. Untuk menentukan sapi yang mana yang terinfeksi perlu diperiksa lebih lanjut dengan uji konfirmatif dari setiap sapi yang laktasi maupun yang tidak laktasi. Sedangkan yang tidak laktasi diperiksa untuk mengetahui apakah sudah terjadi penularan apabila memang ditempatkan dalam satu kandang dengan sapi yang laktasi.

MRT yang dilakukan pada spesimen susu kandang (bulk milk) merupakan uji yang efektif untuk *screening* dan pemantauan brucellosis pada sapi perah, tetapi bila kelompok sapi dalam satu kandang terlalu besar kurang dapat diandalkan. Tidak ada uji serologik tunggal yang sesuai untuk semua kondisi lapang. Oleh karena itu, spesimen yang bereaksi positif dalam uji *screening*, harus dikonfirmasi menggunakan uji konfirmatif.

3.4. Hasil Pemeriksaan Bakteriologi Susu

Selain pemeriksaan serologik untuk kasus brucellosis, spesimen susu yang diperoleh juga diperiksa terhadap kemungkinan adanya bakteri patogen yang terkandung di dalamnya. Pemeriksaan ini dilakukan berdasarkan kunjungan ke lapang dan hasil wawancara dengan pengurus koperasi maupun beberapa orang peternak. Mereka menyatakan bahwa kualitas mikrobiologi susu mereka masih rendah, terutama dalam hal jumlah mikroba yang terkandung di dalamnya. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri Gram negatif patogen dalam susu. Hasil pemeriksaan memperlihatkan bahwa susu dari ketiga lokasi sebagian besar mengandung *Escherichia coli* (Gambar 2).



Gambar 2 Hasil pemeriksaan mikrobiologik spesimen susu kandang terhadap cemaran *E. coli*.

Keberadaan *E. coli* dalam susu dapat menggambarkan 2 (dua) hal. Pertama, menggambarkan pemahaman peternak tentang kesehatan lingkungan sapi yang kurang baik, cara pemerahan yang tidak higienis, dan cara membawa susu ke koperasi. Hal ini sesuai dengan Sartika, dkk. (2005) yang menemukan hasil pemeriksaan bahwa semua daging (100% daging) yang berasal dari RPH dan pasar tradisional telah terkontaminasi oleh *E.coli* O157: H7, sebagian besar susu segar dan yang dipasteurisasi (73.7%) yang berasal dari Peternakan Sapi Perah (PSP) dan pedagang/industri skala rumah tangga telah terkontaminasi oleh *E.coli* O157: H7, demikian juga dengan sebagian besar sampel air (60%) dan tenaga penjamah (41.7%) telah terkontaminasi oleh mikroorganisme ini.

Kedua, menggambarkan tentang adanya resiko kemungkinan untuk menderita penyakit diare yang diakibatkan oleh *E. coli*, baik untuk manusianya yang akan mengkonsumsi susu bila tidak dimasak dengan sempurna maupun terhadap pedet yang diberikan susu terkontaminasi tersebut. Pedet yang mengalami diare akibat *E. coli* dapat mengalami kematian dan hal ini akan menyebabkan kerugian bagi peternak. Kualitas susu sangat dipengaruhi oleh kondisi sanitasi di lingkungan kandang sapi, cara perawatan sapi, kondisi kesehatan sapi, cara pemerahan, dan cara pengelolaan susu mulai dari diperah sampai dibawa ke koperasi. Hasil peneliti yang lain bahwa ada pengaruh pada perlakuan saat pemerahan dan tanpa pasteurisasi terhadap jumlah bakteri *Eschericia coli*, sedangkan pada perlakuan pasteurisasi tidak ada pengaruh terhadap jumlah bakteri *Eschericia coli*. Kemudian dibandingkan dengan SNI masih lebih tinggi dari batas yang ditentukan dimana sebagian besar sampel susu segar jumlah total bakterinya diatas 20 koloni /ml (Kurniasari 2007).

Pemahaman peternak tentang produk yang higienis belum memadai. Faktor yang sangat berpengaruh terhadap jumlah mikroba yang teramati ketika pengambilan spesimen susu untuk pemeriksaan adalah cara membawa susu ke koperasi yang tidak tepat. Hal ini bisa dilihat beberapa peternak ada yang membawa susunya dengan tempat seadanya, tidak pada tempat yang sesuai seperti *milk can*. Cara pemerahan yang tidak higienis dan penanganan di koperasi juga berperan dalam kualitas mikrobiologik susu.

4. KESIMPULAN dan PROSPEK

Berdasarkan hasil pengujian dan dialog di lapang dari kegiatan ini, maka dapat disimpulkan beberapa hal, yaitu:

1. Brucellosis masih menjadi masalah dalam peternakan sapi perah di ketiga lokasi
2. Pemahaman peternak tentang kesehatan sapi perah dan produknya masih rendah
3. Sistem manajemen kesehatan hewan belum memadai
4. Kualitas mikrobiologik susu masih rendah
5. Peternak dan pengurus koperasi berharap adanya pembinaan dalam manajemen kesehatan sapi perah dan produknya

Berdasarkan hasil dari pemeriksaan spesimen terhadap kasus brucellosis dan kualitas mikrobiologik susu serta hasil kunjungan dan wawancara dari ketiga daerah tersebut, maka perlu adanya tindak lanjut tentang hasil *screening* kasus brucellosis. Kegiatan yang sangat dibutuhkan dan direkomendasikan untuk dilakukan meliputi:

1. Melakukan uji konfirmatif untuk menentukan individu sapi yang positif brucellosis;
2. Melakukan pembinaan kepada peternak untuk:
 - a. Mencegah dan menanggulangi kasus brucellosis secara nyata;
 - b. Meningkatkan pemahaman dan pengetahuan peternak untuk menyeleksi bibit sapi perah, dan
 - c. Meningkatkan pemahaman dan pengetahuan tentang manajemen kesehatan sapi perah dan produknya

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis dan tim mengucapkan terimakasih kepada Pemerintah Provinsi Jawa Barat, Pengurus Koperasi di Cibungbulang, Cisarua, dan Selabintana serta Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor yang telah mendanai dan mendukung kegiatan penelitian lapangan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [CDC] Center for Disease Control and Prevention. 2007. *Brucellosis (Brucella melitensis, Brucella abortus, Brucella suis and Brucella canine)*
<http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/Bruselosis.dhtm> [27 Sept 2007].
- Davis and Danelle BW. 2007. Bruselosis. The centre for food security & public health (CFSPH). Iowa State University.
<http://www.cfsph.iastate.edu/factsheet/pdfs/Bruselosis.pdf> [27 September 2007].
- Ghaffar A. 2005. Zoonoses, *Listeria, Francella, Brucella, Bacillus* and *Yersinia*. Microbiology and Immunology on line. University of South Care School Medicine.
<http://www.med.sc.edu:85/ghaffar/zoonoses.htm> [26 September 2007].
- Kurniasari MD. 2007. Uji Kualitas Air Susu Sapi Segar Ditinjau dari Jumlah Koloni *Escherichia coli* pada Saat Pemerahan, Sebelum Proses Pasteurisasi, dan Sesudah Proses Pasteurisasi di KUD Sembada Puspo Pasuruan. Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Misra DS, Kumar A, Sethi MS. 1976. Effect of erythritol and sex hormones on the growth of brucella spesies. *J. Exp Biol* 14,1: 65-66.
- Nassir W. 2007. Brucellosis. <http://emedicine.cum/ped/byname/Bruselosis.htm> [25 September 2007].
- Ocholi RA, Keaga JKP, Ajogi I, Bale JOO. 2005. Antibodiortion due to *Brucella abortus* in sheep in Negeria.[*Rev*] *J. Sci Tech Epiz* 3: 973-979.
- Quinn P.J., B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly, F.C. Leonard. 2006. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell publishing. 162-167.
- Sartika RAD, Indrawani YM, Sudiarti T. 2005. Analisis mikrobiologi *escherichia coli* O157:H7 pada hasil olahan hewan sapi dalam proses produksinya. *Makara, Kesehatan*, vol. 9, no. 1, juni 2005: 23-28.

PERUBAHAN IKLIM: OBSERVASI PERUBAHAN FUNGSI SUPPLY DAN DEMAND TERHADAP CO₂ PADA TANAMAN DAN IMPLIKASINYA

Tania June

Laboratorium Agrometeorologi
Fakultas Matematika dan IPA
Institut Pertanian Bogor
tania.june@yahoo.com (+62 081318431469)

Abstrak

Perubahan iklim, yang ditunjukkan dengan kenaikan suhu (serta perubahan waktu kejadian dan intensitas curah hujan) yang disebabkan oleh kenaikan konsentrasi gas CO₂ di atmosfer memberikan pengaruh yang cukup besar terhadap ekofisiologis di tingkat proses pada tanaman. Kenaikan suhu, peningkatan konsentrasi gas CO₂ dan perubahan ketersediaan air akan merubah *supply function* CO₂ ke dalam tanaman melalui perubahan pembukaan/penutupan stomata dan *demand function* dari penggunaan CO₂ oleh proses fotosintesis melalui perubahan aktivitas enzim di dalam kloroplas daun. Makalah ini membahas bagaimana tanaman, dalam hal ini tanaman yang mewakili kelompok C₃, dapat merubah *supply* dan *demand function*-nya terhadap CO₂ yang kemudian merubah produksi primer bersihnya pada saat dihadapkan kepada kondisi suhu dan CO₂ yang meningkat. Respon tanaman terhadap perubahan iklim melalui perubahan *supply* dan *demand function*-nya terhadap CO₂ ini mempunyai implikasi yang penting bagi perencanaan adaptasi tanaman (menyusun rencana kegiatan pertanian ke depan seperti pemilihan jenis, pemilihan waktu tanam serta pemilihan manajemen (suplai air misalnya) yang lebih sesuai) dan menentukan kapasitas tanaman sebagai salah satu cara paling alamiah dan murah untuk mitigasi peningkatan gas CO₂ di atmosfer.

Keywords: fotosintesis, fungsi *supply* CO₂, fungsi *demand* CO₂, respon fotosintesis terhadap suhu, respon fotosintesis terhadap CO₂, perubahan iklim.

1. PENDAHULUAN

Perubahan iklim, yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi CO₂ di atmosfer dan diikuti dengan perubahan suhu dan ketersediaan air memberikan dampak yang besar terhadap tanaman dan pertanian (IPCC 2007). Selain adanya pengaruh langsung dari kenaikan konsentrasi CO₂, pengaruh tidak langsung dari perubahan suhu akan merubah produksi primer tanaman. Tanaman membutuhkan CO₂ untuk pertumbuhannya. Peningkatan konsentrasi CO₂ di atmosfer akan merangsang proses fotosintesis (pengikatan CO₂ untuk membentuk karbohidrat), meningkatkan pertumbuhan tanaman dan produktivitas

pertanian diikuti dengan penurunan kebutuhan terhadap air (transpirasi). Sebaliknya kenaikan suhu dapat mempunyai pengaruh yang "kurang menguntungkan" terhadap tanaman, karena dapat mengurangi bahkan menghilangkan pengaruh positif dari kenaikan CO_2 , yaitu melalui peningkatan laju respirasi (yang 'membuang' karbon dari tanaman dalam bentuk CO_2). Hal ini disebabkan karena tanaman yang tumbuh dan berkembang biak di suatu lokasi tertentu, produktivitas primernya beroperasi pada suhu optimum, sehingga kenaikan suhu dari kondisi optimum tersebut dapat mengakibatkan turunnya fotosintesis dan naiknya respirasi sehingga penurunan produktivitas dapat terjadi.

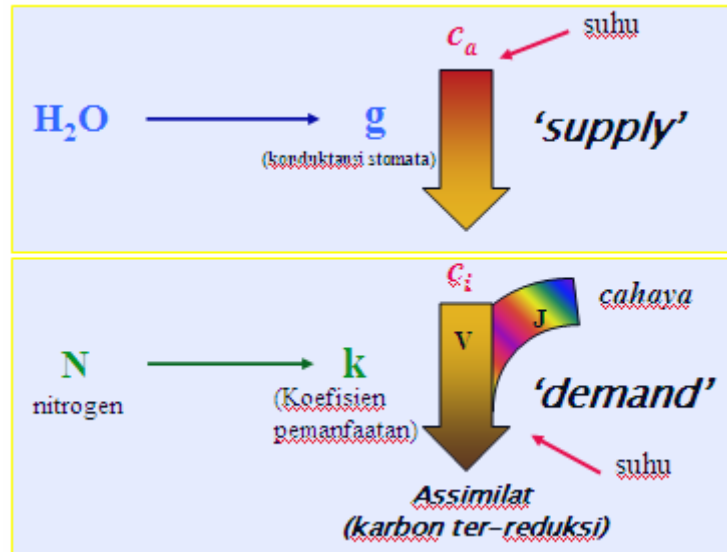
Tulisan ini akan menjelaskan hubungan antara kenaikan CO_2 dan suhu yang terjadi di permukaan bumi dengan reaksi yang diberikan tanaman, baik reaksi terhadap kenaikan CO_2 secara langsung maupun reaksi terhadap kenaikan suhu. Pembahasan dititikberatkan pada proses di tingkat daun dengan beberapa contoh-contoh hasil penelitian (June 2002, 2004, dan 2005). Hasil penelitian yang menunjukkan respon tanaman kedelai (tanaman C_3) terhadap perubahan suhu dan CO_2 diberikan sebagai ilustrasi respon tanaman terhadap perubahan iklim.

2. PERUBAHAN IKLIM DAN RESPON TANAMAN: FUNGSI SUPPLY DAN DEMAND

Beberapa jenis gas yang dihasilkan oleh kegiatan manusia, seperti CO_2 , CH_4 , dan N_2O mempengaruhi iklim permukaan bumi karena kemampuannya dalam menghambat keluarnya radiasi gelombang panjang dari permukaan bumi. Meningkatnya konsentrasi gas-gas ini di atmosfer menyebabkan meningkatnya radiasi yang tertahan di atmosfer, sehingga suhu permukaan bumi bertambah.

Isu utama yang menjadi perhatian pada saat kita melihat hubungan perubahan iklim dengan tanaman (pertanian) adalah dampak perubahan iklim terhadap tanaman (serta langkah adaptasi apa yang diperlukan) dan kontribusi tanaman terhadap perlindungan iklim (mitigasi). Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa penyerapan CO_2 oleh tanaman (untuk pembentukan asimilat sebagai produksi primer) membutuhkan CO_2 dan air serta diatur oleh ketersediaan cahaya (matahari), suhu serta nitrogen (dan tentunya unsur nutrisi lainnya). Perubahan iklim (yang ditunjukkan dengan kenaikan suhu permukaan, kenaikan konsentrasi CO_2 serta ketersediaan air) akan menyebabkan tanaman merubah konduktansi stomatanya (g) sehingga merubah *supply* CO_2 dari atmosfer (C_a) ke dalam kloroplas (C_i). Kenaikan suhu dan CO_2 ini juga akan merubah aktivitas penangkapan cahaya (J) dan penangkapan gas CO_2 (V) dalam proses asimilasi di dalam daun (*demand*). Nitrogen dimanfaatkan didalam

pembentukan jaringan tanaman yang berfungsi sebagai penangkap cahaya (*tylakoid membrana*) dan penangkap gas CO₂ (*Rubisco*). Terdapat hubungan yang linier antara nitrogen dengan *J* dan *V* dengan besarnya keterikatan ditunjukkan dengan koefisien *k*.



Gambar 1. Diagram asimilasi CO₂ yang menunjukkan faktor-faktor pendukungnya baik untuk supply CO₂ maupun pengikatan CO₂ (demand)

Pada tanaman C₃, laju fotosintesis daun dikendalikan oleh aktivitas *Rubisco* (mengikat CO₂) dan oleh laju transpor elektron (mengikat kuantum cahaya). Nilai aktual laju fotosintesis (*A*) adalah nilai terkecil dari *A_j* (laju fotosintesis pada fase "dependent" terhadap cahaya) atau *A_v* (laju fotosintesis pada fase "independent" terhadap cahaya) pada tekanan parsial CO₂ (*C_i*) dan O₂ tertentu, seperti ditunjukkan oleh persamaan 1 dan 2 serta Gambar 2.

$$A_v = V_{c \max} \left(\frac{c_i - \Gamma^*}{K_c \left(1 + \frac{O}{K_o} \right) + c_i} \right) - R_d \quad (1)$$

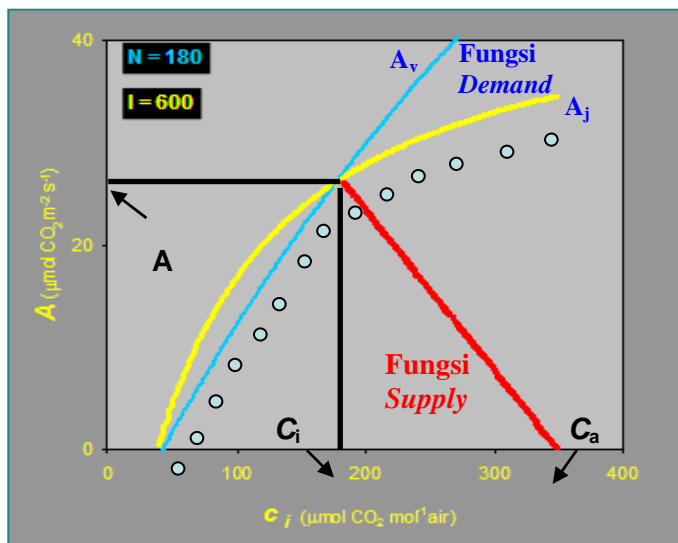
$$A_j = \frac{J}{4} \left(\frac{c_i - \Gamma^*}{c_i + 2\Gamma^*} \right) - R_d \quad (2)$$

$$A = \min (A_j \text{ atau } A_v).$$

A adalah laju fotosintesis ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) yang tercatat pada alat pengukur, C_i adalah tekanan parsial CO_2 di dalam daun (μbar); Γ^* = titik kompensasi tekanan parsial CO_2 pada kondisi respirasi gelap = 0 (μbar); R_d = respirasi gelap di dalam daun yang berlanjut pada kondisi bercahaya ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); O = tekanan parsial *ambient* dari oksigen (mbar); K_c dan K_o adalah konstanta Michaelis-Menten untuk karboksilase dan oksigenase oleh Rubisco (masing-masing dalam μbar dan mbar); $V_{c_{\text{max}}}$ adalah laju aktivitas maksimum Rubisco di dalam daun ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); dan J laju aktual transpor elektron ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Respon terhadap suhu mengikuti fungsi Arrhenius (June, 2002). Fungsi *supply* merupakan garis lurus dengan kemiringan sama dengan $-1/\text{tahanan}$ (atau konduktansi stomata, g_s) yang memotong sumbu x pada C_a dan memotong fungsi *demand* pada titik operasional konsentrasi CO_2 (C_i) dan laju fotosintesis aktual (A). Konduktansi stomata dapat dijelaskan oleh model empiris dari Ball *et al.*, 1987, sebagai berikut:

$$g_s = g_0 + g_1(A.RH/C_a) \tag{3}$$

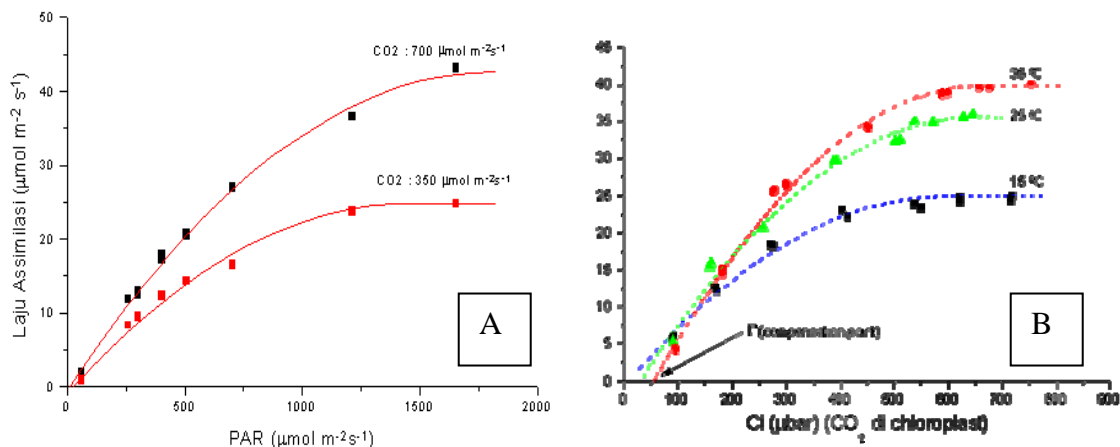
dimana g_0 = konduktansi stomata minimum ketika $A = 0$ dan g_1 adalah koefisien empiris yang menunjukkan sensitivitas konduktansi stomata terhadap perubahan RH dan C_a . Parameter-parameter ini dapat diperoleh dari intersep dengan sumbu y dan garis kemiringan hubungan konduktansi stomata g_s terhadap $A.RH/C_a$.



Gambar 2. Respon fotosintesis A (yang merupakan minimum dari A_j atau A_v) terhadap konsentrasi CO_2 di dalam daun. A ditunjukkan oleh bulatan-bulatan terbuka pada kurva A_v pada $C_i < 200$ dan A_j pada $C_i > 200 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol udara}$. Kurva *demand* dan *supply* diproduksi pada nitrogen daun $N = 180 \mu\text{mol/m}^2$, cahaya $I = 600 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ dan konsentrasi CO_2 di atmosfer $350 \mu\text{mol/mol}$.

3. PENGARUH PERUBAHAN SUHU DAN CO₂ TERHADAP FOTOSINTESIS, RESPIRASI DAN KONDUKTANSI STOMATA

Pengaruh fisiologis utama dari kenaikan CO₂ adalah meningkatkannya laju fotosintesis di dalam daun. Efisiensi penggunaan faktor-faktor yang menentukan pertumbuhan lainnya (seperti radiasi matahari, air dan nutrisi) juga akan ikut meningkat. Hubungan antara CO₂ "ambient" dengan proses fotosintesis, baik di tingkat daun maupun di tingkat kanopi tanaman, dan kontribusinya terhadap akumulasi biomasa telah banyak diteliti. Salah satu karya ilmiah yang dengan sangat menarik membahas proses ini adalah "Modelling canopy photosynthesis from the biochemistry of the C₃ chloroplast" (Evans and Farquhar, 1991). Energi untuk terlaksananya proses fotosintesis datang dari radiasi matahari pada panjang gelombang tertentu (PAR, *Photosynthetically Active Radiation* = 400-700 nm). Konsentrasi CO₂ di atmosfer saat ini masih sub-optimal dan menjadi faktor pembatas bagi proses fotosintesis sehingga dengan meningkatnya CO₂, pada kondisi PAR rendah maupun tinggi, laju fotosintesis akan mengalami peningkatan (Gambar 3A).



Gambar 3. Peningkatan laju asimilasi tanaman kedelai (C₃) dengan pertambahan PAR pada konsentrasi CO₂ 350 dan 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (A) dan peningkatan laju asimilasi dengan meningkatnya CO₂ pada suhu pengukuran 15, 25 dan 35 °C (B). Tanaman tumbuh pada suhu 25/20 °C siang/malam dan [CO₂] 350 $\mu\text{mol/mol}$. Metode penelitian dan pengukuran mengikuti June (2002).

Tanaman terbagi atas dua grup utama, C₃ dan C₄, yang dibedakan oleh cara mereka mengikat CO₂ dari atmosfer dan produk awal yang dihasilkan dari proses asimilasi. Pada tanaman C₃, enzim yang menyatukan CO₂ dengan RuBP (RuBP merupakan substrat untuk pembentukan karbohidrat dalam proses fotosintesis) dalam proses awal asimilasi, juga dapat

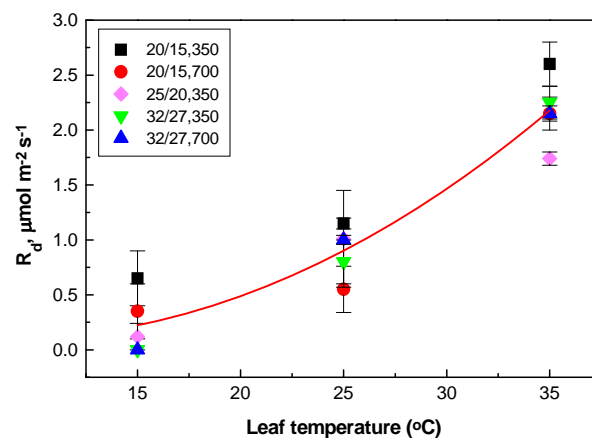
mengikat O_2 pada saat yang bersamaan untuk proses fotorespirasi (fotorespirasi adalah proses pengikatan O_2 oleh Rubisco yang berakibat pada lepasnya kembali CO_2 , yang terjadi pada siang hari saat fotosintesis berlangsung), sehingga ada kompetisi antara CO_2 dan O_2 dalam menggunakan RuBP. Jika konsentrasi CO_2 di atmosfer ditingkatkan, hasil dari kompetisi antara CO_2 dan O_2 akan lebih menguntungkan CO_2 , sehingga fotorespirasi terhambat dan asimilasi akan bertambah besar. Contoh tanaman C_3 antara lain : kedele, kacang tanah, kentang, sedang contoh tanaman C_4 adalah jagung, sorgum dan tebu.

Pada saat CO_2 di permukaan daun berkurang, mencapai suatu titik dimana CO_2 yang diserap tanaman sama dengan yang dihasilkannya, maka titik ini disebut " CO_2 compensation point" (titik kompensasi CO_2) (Gambar 3B), dan diberi simbol Γ . Titik kompensasi cahaya ini merupakan gambaran yang menunjukkan besarnya nilai fotorespirasi tanaman. Nilai Γ tanaman C_3 umumnya berkisar pada $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pada suhu 25°C , dan meningkat dengan meningkatnya suhu permukaan daun. Untuk tanaman kedele pada June (2002) nilai Γ lebih rendah, yaitu sekitar $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pada 25°C . Nilai ini penting di dalam konteks perubahan iklim yang berkaitan dengan kenaikan suhu. Dengan kenaikan suhu, produksi biomasa akan berkurang (atau bahkan menjadi minus) jika CO_2 di permukaan daun mencapai titik kompensasinya (biasa terjadi di siang hari pada saat matahari terik dan kecepatan angin sangat rendah atau pada tanaman yang tumbuh di bawah kanopi hutan tropis), karena fotorespirasi meningkat.

Respirasi (gelap), yang diberi simbol R_d (Gambar 4), merupakan bagian dari karbon tanaman yang hilang (digunakan untuk sumber energi proses *maintenance* dan pertumbuhan tanaman). Nilainya sangat dipengaruhi oleh suhu, sehingga merupakan bagian penting dari respon tanaman terhadap perubahan iklim. Dengan terjadinya kenaikan suhu, karbon yang hilang dari biomassa tanaman akan semakin besar dan dapat mengakibatkan penurunan produksi primer tanaman. Tanaman yang tumbuh pada suhu lebih tinggi mempunyai kecenderungan mempunyai laju respirasi yang lebih besar dari tanaman yang tumbuh pada suhu yang lebih rendah.

Pada tanaman C_4 , CO_2 diikat oleh PEP (enzym pengikat CO_2 pada tanaman C_4) yang tidak dapat mengikat O_2 sehingga tidak terjadi kompetisi antara CO_2 dan O_2 pada tipe tanaman ini. Lokasi terjadinya asosiasi awal ini adalah di sel-sel mesofil (sekelompok sel-sel yang mempunyai klorofil yang terletak di bawah sel-sel epidermis daun). CO_2 yang sudah terikat oleh PEP kemudian ditransfer ke sel-sel *bundle sheath* (sekelompok sel-sel di sekitar

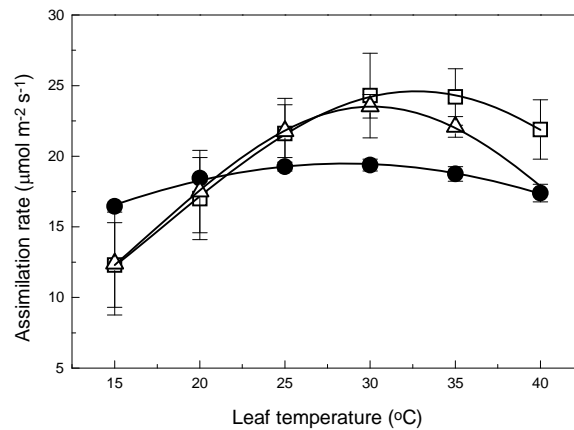
xylem dan phloem) dimana kemudian pengikatan dengan RuBP terjadi. Karena tingginya konsentrasi CO_2 pada sel-sel *bundle sheath* ini, maka O_2 tidak mendapat kesempatan untuk bereaksi dengan RuBP, sehingga fotorespirasi sangat kecil dan Γ sangat rendah, sekitar $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. PEP mempunyai daya ikat yang tinggi terhadap CO_2 , sehingga pada tanaman C_4 reaksi fotosintesis terhadap suplai CO_2 di bawah $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sangat tinggi. Pada kisaran konsentrasi CO_2 $300\text{-}500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, laju asimilasi tanaman C_4 hanya bertambah sedikit dengan meningkatnya CO_2 , walaupun PAR sangat tinggi. Sehingga, dengan meningkatnya CO_2 di atmosfer, tanaman C_3 akan lebih beruntung dari tanaman C_4 dalam hal pemanfaatan CO_2 yang berlebih.



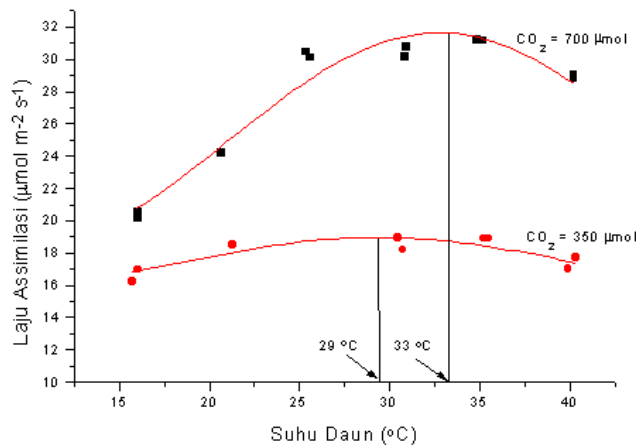
Gambar 4. Respon respirasi daun (kehilangan CO_2) dengan peningkatan suhu pada tanaman kedelai yang tumbuh pada berbagai suhu yang ditunjukkan oleh simbol yang berbeda.

Jika kita kembali ke Gambar 3A, terlihat bahwa meningkatnya suhu (pengukuran) daun dari $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ke $35 \text{ }^\circ\text{C}$ menyebabkan laju asimilasi bertambah besar. Meningkatnya asimilasi dengan kenaikan suhu merupakan fenomena umum yang terjadi setiap hari dengan perubahan diurnal suhu di permukaan. Kenaikan ini terus berlangsung sampai suhu optimum tercapai, lalu akan terjadi penurunan dengan bertambahnya suhu. Tanaman yang tumbuh pada suhu tinggi ($32/27 \text{ }^\circ\text{C}$ siang/malam), laju fotosintesisnya akan mempunyai respon yang berbeda terhadap kenaikan suhu, dibandingkan tanaman yang tumbuh pada suhu lebih rendah ($20/15 \text{ }^\circ\text{C}$) (Gambar 5). Pada suhu (pengukuran) lebih rendah, laju fotosintesis tanaman yang tumbuh pada suhu rendah akan lebih tinggi dari tanaman yang tumbuh pada suhu tinggi, dan sebaliknya. Terlihat juga terjadinya perubahan suhu optimum dari laju fotosintesis, dengan tanaman yang tumbuh pada suhu tinggi mempunyai suhu optimum yang lebih besar dibandingkan tanaman yang tumbuh pada suhu rendah.

Adanya kenaikan CO₂ di atmosfer akan merubah suhu optimum tanaman (Gambar 6). Untuk tanaman kedele yang digunakan pada penelitian ini, kenaikan suhu optimumnya mencapai 12 % pada saat CO₂ untuk pertumbuhannya ditingkatkan dari 350 menjadi 700 μmol/mol (June 2002, 2004, 2005). Bertambah besarnya suhu optimum ini menguntungkan bagi tanaman karena pada saat konsentrasi CO₂ di atmosfer meningkat lebih dari 450 ppm maka estimasi kenaikan suhu rata-rata global bisa mencapai lebih dari 2 °C (IPCC, 2007). Tentunya di tingkat lokal variasi kenaikan suhu bisa mencapai lebih dari 2 °C.



Gambar 5. Respon fotosintesis terhadap perubahan suhu pada tanaman kedelai yang tumbuh pada suhu siang/malam 20/15 °C (●), 25/20 °C (Δ) dan 32/27 °C (□). Tanaman tumbuh pada konsentrasi [CO₂] 350 μmol mol⁻¹ dan diukur pada [CO₂] yang sama. PAR diberikan pada 1200 μmol m⁻² s⁻¹ (June 2002,).

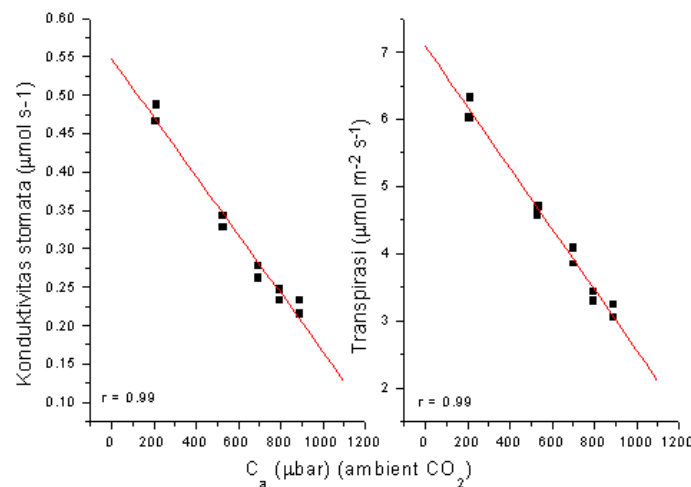


Gambar 6. Suhu optimum untuk proses asimilasi akan berubah dengan kenaikan CO₂ di atmosfer. Data diperoleh dari tanaman kedelai yang tumbuh pada suhu 25/20 °C, CO₂ 350 μmol mol⁻¹ dan "fitting" menggunakan persamaan kurva Gauss untuk mendapatkan suhu optimum.

Selain pengaruh positif terhadap proses fotosintesis, kenaikan CO_2 juga akan mempunyai pengaruh positif terhadap penggunaan air oleh tanaman. Stomata mempunyai fungsi sebagai "pintu gerbang" masuknya CO_2 dan keluarnya uap air ke/dari daun. Besar kecilnya pembukaan stomata merupakan regulasi terpenting yang dilakukan oleh tanaman, dimana tanaman berusaha memasukkan CO_2 sebanyak mungkin tetapi dengan mengeluarkan H_2O sesedikit mungkin, untuk mencapai efisiensi pertumbuhan yang tinggi.

Daya ikat yang tinggi terhadap CO_2 pada tanaman C_4 , menyebabkan perbandingan antara pemasukan CO_2 dan konduktivitas stomata (kemampuan stomata menyalurkan H_2O persatuan waktu) optimum. Dengan kata lain, tanaman-tanaman C_4 mempunyai efisiensi penggunaan air yang tinggi, artinya jumlah air yang dikeluarkan untuk sejumlah CO_2 yang dimasukkan jauh lebih sedikit pada tanaman C_4 dibandingkan tanaman C_3 . Pada tanaman C_3 , daya ikat yang rendah terhadap CO_2 menyebabkan tanaman ini boros dalam penggunaan air.

Jika CO_2 di atmosfer meningkat, tanaman tidak membutuhkan pembukaan stomata maksimum untuk mencapai konsentrasi CO_2 optimum di dalam daun, sehingga laju pengeluaran H_2O dapat dikurangi. Gambar 7 menunjukkan bagaimana pembukaan stomata mengecil dengan meningkatnya CO_2 (ditunjukkan dengan data konduktansi stomata).



Gambar 7. Kenaikan CO_2 di atmosfer (C_a) menyebabkan pembukaan stomata mengecil (ditunjukkan dengan menurunnya konduktansi stomata) sehingga transpirasi dari permukaan daun menurun.

Terlihat bahwa dengan kenaikan CO_2 dari 350 ke 700 $\mu\text{mol/mol}$, konduktivitas stomata menurun sebesar 32 %, menghasilkan penghematan air sebesar 28 %. Besarnya penurunan

dipengaruhi (sebagian) dengan respon asimilasi tanaman terhadap peningkatan CO₂ yang berkisar dari 0 % pada tanaman C₄ sampai 40 % pada tanaman C₃ (Morison, 1987). Efisiensi penggunaan air (ratio antara CO₂ yang diikat tanaman dengan jumlah air yang dikeluarkan), baik pada tanaman C₃ maupun C₄ akan meningkat dengan bertambah besarnya CO₂. Pada tanaman C₃, peningkatan ini disebabkan oleh meningkatnya asimilasi dan menurunnya transpirasi, sedang pada tanaman C₄ hanya disebabkan oleh menurunnya transpirasi.

4. RESPON PADA TINGKAT PERTANAMAN DAN PEMODELAN

Pertanaman adalah sekumpulan tanaman sejenis yang tumbuh berdampingan. Respon pada tingkat pertanaman akan berbeda dari respon di tingkat daun, karena adanya faktor iklim mikro (iklim di sekitar tanaman) yang menyebabkan timbulnya gradien faktor-faktor pertumbuhan dengan kedalaman kanopi, seperti gradien PAR, nitrogen, kecepatan angin, uap air dan CO₂. Adanya gradien ini menyebabkan besarnya respon yang ditunjukkan pada tingkat daun akan berkurang pada tingkat pertanaman, apalagi kalau *coupling* antara kanopi dengan atmosfer sangat jelek, yang biasa terjadi bila kecepatan angin rendah dan kanopi tanaman menutup permukaan tanah dengan sempurna, sehingga mengurangi distribusi faktor-faktor pertumbuhan ke dalam kanopi. Rosenberg *et al.* (1990), dengan menggunakan simulasi iklim mikro, mendapatkan bahwa, penurunan konduktivitas stomata sebesar 40 % di tingkat daun hanya menurunkan penggunaan air sebesar 9 % di tingkat pertanaman. Hal ini mungkin terjadi karena penutupan kanopi yang sempurna menyebabkan gradien kelembaban relatif antara daun dan udara meningkat, sehingga transpirasi bertambah besar. Proses asimilasi, sebaliknya, mempunyai reaksi yang tidak jauh berbeda dari reaksi di tingkat daun, karena meningkatnya CO₂ di atmosfer akan menghilangkan gradien CO₂ di kanopi bagian bawah dan meningkatkan asimilasi. Hasilnya, walaupun transpirasi berkurang dibandingkan dengan pengurangan di tingkat daun, asimilasi akan bertambah besar/atau sama dari penambahan di tingkat daun. Kimball (1983) memperoleh 40 % kenaikan biomasa pada tanaman C₃ dan 15 % pada tanaman C₄.

Memperkirakan reaksi pertanaman terhadap kenaikan CO₂ merupakan pekerjaan yang tidak mudah mengingat kompleksnya interaksi antara mekanisme di dalam tanaman dengan mekanisme di luar tanaman (iklim lapisan perbatas, *boundary layer climate*). Pemodelan merupakan salah satu alat mempermudah pekerjaan ini. Keluarnya model mekanistik fotosintesis tanaman C₃ di tingkat daun (Farquhar *et al.*, 1980; Farquhar and Caemmerer, 1982; dimodifikasi oleh June (2002) merupakan suatu sumbangan besar terhadap bidang

ekofisiologi tanaman, karena untuk pertama kalinya mekanisme reaksi tanaman (di tingkat daun) terhadap kenaikan CO₂, suhu dan PAR secara bersamaan dapat dimengerti, dimana sebelumnya perkiraan reaksi tanaman terhadap kenaikan CO₂ dan suhu menggunakan model fotosintesis empiris yang kemampuan prediksinya terbatas pada tanaman tertentu dan lokasi tertentu. Dengan keluarnya model mekanistik fotosintesis ini, tingkat kemampuan prediksi akan semakin tinggi. Langkah berikutnya adalah *scaling-up* dari tingkat daun ke tingkat pertanaman dan produksi biomasa.

Lloyd *et al.* (1995) keluar dengan "big-leaf" modelnya, dimana kanopi pertanaman dianggap sebagai sebuah daun besar, sehingga parameter asimilasi dan konduktivitas stomata di tingkat daun dapat digunakan di tingkat pertanaman, sepanjang distribusi PAR di dalam kanopi ikut diperhitungkan. Model ini kemudian digunakan untuk memperkirakan NPP (Net Primary Production, Produksi Bahan Kering Netto) per tahun di hutan hujan tropis di Amazon, dengan hasil yang memuaskan (Lloyd *et al.*, 1995; Lloyd dan Farquhar, 2007). De Pury and Farquhar (1997) kemudian keluar dengan "Sun/Shade" model, yang memilah kanopi atas dua bagian besar, yaitu bagian yang terkena sinar matahari (*sun*) dan bagian yang terlindungi (*shade*). Parameter fotosintesis dan konduktivitas stomata dianggap berbeda pada kedua bagian kanopi ini. *Sun/shade* model merupakan model yang sangat kompleks, membutuhkan parameter yang lebih banyak dari pada big leaf model. Model ini dapat memprediksi laju fotosintesis dan transpirasi dalam skala waktu yang kecil (detik) di tingkat pertanaman dengan sangat akurat, dibandingkan dengan big leaf model. Kompleks model yang memilah-milah kanopi atas beberapa bagian merupakan alat yang penting untuk mempelajari mekanisme fotosintesis kanopi dalam skala waktu kecil, tetapi tidak praktis untuk digunakan meng-estimasi pertumbuhan atau produksi karena besarnya input parameter yang dibutuhkan. Goudriaan (1997, unpublished data), telah mencoba membandingkan estimasi produksi dari big leaf dan "multiple layer" model (model yang membagi kanopi atas beberapa bagian vertikal, kemudian memilah setiap bagian atas dua bagian yaitu bagian tersinari (*sun*) dan terlindungi (*shade*)) dan mendapatkan hasil yang tidak berbeda, walaupun variasi fotosintesis diurnal menunjukkan bahwa *multiple layer model* lebih akurat. Hal ini mungkin terjadi karena perbedaan estimasi fotosintesis di tingkat kanopi tidak cukup besar untuk menimbulkan perbedaan estimasi produksi. Selain itu, produksi akhir tanaman tidak hanya ditentukan oleh besarnya fotosintesis/asimilasi; partisi hasil fotosintesis ke bagian-bagian tanaman merupakan faktor sangat penting yang penguasaan mekanisme prosesnya tidak sebaik penguasaan terhadap proses fotosintesis.

Pemilihan model yang akan digunakan dalam prediksi respon tanaman terhadap CO₂, tergantung dari seberapa jauh detail dari jawaban yang kita inginkan. *Big leaf model* merupakan model yang lebih sederhana, membutuhkan parameter lebih sedikit sedangkan *Sun/Shade model* atau *Multiple Layer model* merupakan model yang membutuhkan penelitian awal yang intensif (untuk mendapatkan parameter yang diperlukan sebagai input model) terhadap tanaman yang akan diteliti. Untuk skala yang lebih besar (regional), integrasi teknologi *remote sensing* dan GIS dengan pemodelan semi-mekanistik merupakan bidang penelitian yang menantang (June, 2006).

5. TANAMAN DAN ISU PERUBAHAN IKLIM: ADAPTASI DAN MITIGASI

Bahasan di dalam tulisan ini masih sangat kurang untuk dapat mengupas secara lengkap pengaruh perubahan iklim terhadap produktivitas pertanian, baik secara langsung (meningkatnya CO₂ dan suhu) maupun secara tidak langsung (berubahnya keawanan dan curah hujan, berubahnya defisit tekanan uap pada tanaman), karena tulisan ini lebih menitik beratkan kepada pengaruh perubahan iklim (meningkatnya CO₂ dan suhu) terhadap proses ekofisiologis tanaman dalam skala spatial yang relatif kecil (daun dan tanaman). Untuk melihat dampak perubahan iklim pada skala wilayah, maka proyeksi harus dilakukan dengan tepat (suhu, ketersediaan air, CO₂, dan faktor terkait lainnya) agar rencana adaptasi dan mitigasi dapat dilakukan dengan tepat pula. Beberapa hal yang perlu diperhatikan untuk adaptasi tanaman pertanian serta mitigasi terhadap perubahan iklim antara lain berkait hal-hal berikut:

- Meningkatnya CO₂ akan meningkatkan produksi primer tanaman dan pertumbuhan biomassa, dengan konsekuensi peningkatan kebutuhan nutrisi.
- Efisiensi penggunaan air tanaman C₃ dan C₄ akan meningkat, akibat naiknya laju fotosintesis (C₃), diikuti dengan penurunan penggunaan air (C₃ dan C₄) sehingga akan terjadi perubahan kebutuhan air tanaman.
- Perubahan intensitas dan waktu kejadian hujan akan merubah waktu tanam di suatu wilayah.
- Perlu penelitian lebih lanjut mengenai respon spesifik beberapa spesies penting untuk menentukan berapa besar penghematan air dapat dilakukan? berapa besar *shift* suhu optimum? Berapa potensi penyerapan CO₂ dan pertumbuhan tanaman dapat terjadi pada tingkat perubahan iklim yang terjadi pada suatu wilayah.

- Bagaimana perubahan iklim mempengaruhi partisi hasil fotosintesis ke bagian produksi.
- Perlu dilakukan penelitian dan pemuliaan tanaman-tanaman (terutama tanaman pangan) yang tahan terhadap suhu tinggi atau dapat melakukan adaptasi dengan merubah suhu optimumnya dan dapat berproduksi tinggi pada kondisi di luar kondisi optimum dimana dia sudah beradaptasi.
- Penelitian tanaman-tanaman (kehutanan) dengan potensi penyerapan CO₂ tinggi dengan meningkatnya CO₂ dan suhu (mitigasi). Indikasi kenaikan Produksi Primer dan Pertumbuhan Tanaman (Hutan) dengan meningkatnya CO₂ telah tercatat pada beberapa lokasi (June 2006; Lloyd & Farquhar 2007). Dengan tingkat penutupan lahan (hutan) di Indonesia yang masih tinggi, kuantifikasi dinamikanya perlu dilakukan.

Perubahan iklim menyebabkan *regional temperature shifting* yaitu bergesernya zona suhu ke arah kutub, yang mengakibatkan semakin luasnya daerah tropis dan mengecilnya daerah kutub. Kalau pergerakan ini terjadi maka daerah yang biasanya bukan daerah pertanian produktif, karena suhu terlalu rendah, akan menjadi daerah pertanian baru. Untuk daerah-daerah yang keadaan suhunya sudah optimum untuk pertumbuhan tanaman, dengan adanya kenaikan suhu, akan mengurangi fotosintesis dan mempercepat perkembangan tanaman sehingga produksi akan relatif lebih rendah. Kajian di tingkat lokal besarnya *shift* yang akan terjadi akan sangat berguna untuk pemilihan jenis tanaman atau jenis pengelolaan pengganti yang lebih tepat.

Perubahan iklim juga dapat menyebabkan berpindahnya hama dan penyakit tanaman dari satu daerah ke daerah lainnya, atau berubahnya intensitas penyerangan yang disebabkan karena kondisi lingkungan menjadi lebih optimum bagi hama dan penyakit, bagaimana tanaman melakukan respon terhadap serangan hama penyakit melalui regulasi proses ekofisiologinya akan sangat penting di dalam penanggulangan terhadap serangan.

Masih banyak penelitian yang harus dilakukan untuk mempersiapkan pertanian kita terhadap kemungkinan terburuk dari perubahan iklim, baik dengan melakukan penelitian di lapang terhadap respon berbagai jenis tanaman pertanian penting maupun dengan penyempurnaan model proyeksi perubahan iklim di tingkat lokal untuk keperluan penyusunan langkah adaptasi yang diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

- De Pury, D. G. G. and Farquhar, G. D. 1997. Simple scaling of photosynthesis from leaves to canopies without the errors of big-leaf model. *Plant, Cell and Environment*. 20: 537-557.
- Evans, J. R. and Farquhar, G. D. 1991. Modelling canopy photosynthesis from the biochemistry of the C₃ Chloroplast. In Boote, K. J. and Loomis, R. S. (eds.) Modelling crop photosynthesis-from biochemistry to canopy. CSSA Special Publication no. 19. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America. Madison.
- Farquhar, G. D. and von Caemmerer, S. 1982. Modelling of photosynthesis response to environmental conditions. p. 550-587. In O.L. Lange *et al.* (ed.) *Encycl. Plant Physiol.* New Ser. Vol. 12B. Springer-Verlag, Berlin.
- Farquhar, G. D., von Caemmerer, S., and Berry, J. A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*. 149:78-90.
- IPCC. 2007. *Climate change : The science of climate change*. Cambridge University Press.
- Lloyd, J., Wong, S. C., Styles, J. M., Batten, D., Priddle, R., Turnbull, C., and McConchie, C. A. 1995. Measuring and modelling whole-tree gas exchange. *Aust. J. Plant Physiology*. 22 : 987-1000.
- Lloyd, J., Grace, J., Miranda, A. C., Meir, P., Wong, S. C., Miranda, H. S., Wright, I. R., Gash, J. H. C. and McIntyre, J. 1995. A simple calibrated model of Amazon rainforest productivity based on leaf biochemical properties. *Plant, Cell and Environment*. 18: 1129-1145.
- Lloyd, J. Farquhar, G.D. 2007. Effects of rising temperature and [CO₂] on the physiology of tropical forest trees. *Phil. Trans. R. Soc.* Doi: 10 .1098/rstb.2007.0032.
- June, T. 2002. Environmental effects on photosynthesis of C₃ plants: Scaling up from electron transport o the canopy (study case: *Glycine max* L. Merr.) [disertasi]. Canberra: Australian National University.
- June, T., Evans, J. and Farquhar G.D. 2004. A simple new equation for the reversible temperature dependence of photosynthetic electron transport: a study on soybean leaf. *Journal of Functional Plant Biology-Australia*, Volume 31 Number 3, March
- June, T., 2005. The light gradients inside soybean leaves and their effect on the curvature factor of the light response curves of photosynthesis. *BIOTROPIA, The Southeast Asian Journal of Tropical Biology* 25: 29-49. Southeast Asian Regional Center for Tropical Biology, Bogor, Indonesia.
- June, T., Ibrom, A., Gravenhorst, G. 2006. Integration of NPP Semi Mechanistic – Modelling, Remote Sensing and GIS in Estimating CO₂ absorption of Forest Vegetation in Lore Lindu National Park. *BIOTROPIA The Southeast Asian Journal of Tropical Biology* 13, No. Southeast Asian Regional Center for Tropical Biology, Bogor, Indonesia.
- Morison, J. I. L.. 1987. Intercellular CO₂ concentration and irradiance on the stomatal response to CO₂. In E. Zeiger *et al.*,(ed.) *Stomatal function*. Stanford Univ. Press. California.
- Kimball, B. A.. 1983. Carbon dioxide and agricultural yield: An assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agron. J.* 75:779-788.

Rosenberg, N. J., Kimball, B. A., Martin, Ph. and Cooper, C. F. 1990. From climate and CO₂ enrichment to evapotranspiration. p. 151-175. *In* P. E. Waggoner (ed.) Climate change and US water resources. John Wiley & Sons, New York.

PENGEMBANGAN GEOINDIKATOR UNTUK PENATAAN RUANG

Baba Barus^{1,2}, U.Sudadi¹, B. Tahjono¹ dan L.S. Iman²

¹ staf pengajar di Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, IPB

² staf peneliti di Pusat Pengkajian Perencanaan dan Pengembangan Wilayah, IPB

Email : Bababarus@yahoo.com ; No Hp 081383600745

Abstrak

Saat ini revisi rencana ruang merupakan pesan UU Penataan ruang yang harus dilaksanakan secepat mungkin khususnya terkait dengan masalah kebencanaan. Untuk merevisi rencana ruang diperlukan alat untuk mempermudah para perencana. Alat yang spesifik adalah geoindikator yang sudah banyak dipakai untuk keperluan pemantauan lingkungan khususnya untuk jangka pendek dan menengah. Untuk keperluan perencanaan ruang diperlukan indikator yang bersifat jangka menengah, dan idealnya dikembangkan dari indikator yang mudah diukur dan operasional untuk diterjemahkan ke bentuk ruang. Geoindikator adalah objek atau proses yang terjadi yang merubah fisik bentang lahan yang dapat diamati, baik cepat maupun lambat, dalam kurun waktu kurang dari 100 tahun, yang layak dijadikan petunjuk evaluasi dan atau perencanaan. Pengkajian pengembangan geoindikator yang sudah dilakukan menunjukkan ada beberapa geoindikator yang mudah dikembangkan dengan menggunakan teknologi spasial seperti penginderaan jauh dan SIG. Geoindikator untuk bahaya longsor, abrasi, erosi dan banjir dapat diletakkan dalam perencanaan ruang, sedangkan geoindikator untuk kebakaran hutan dan lahan, kekeringan dan pencemaran masih sulit diletakkan dalam perencanaan ruang secara langsung. Proses dan cara peletakan geoindikator ke dalam bentuk ruang adalah salah satu inovasi dalam penelitian ini, selain pengembangan geoindikator kebencanaan untuk perencanaan ruang. Hasil penelitian ini akan sangat membantu proses revisi dokumen perencanaan ruang ataupun keperluan penataan ruang secara keseluruhan.

Kata kunci : perencanaan ruang, bencana, geoindikator, Inderaja dan SIG, inovasi implementasi.

1. PENDAHULUAN

Banyaknya bahaya di Indonesia menuntut kecepatan upaya menekan risiko yang mungkin terjadi. Upaya menekan risiko bencana tersebut sudah diamanatkan oleh UU No 26, 2006 tentang Penataan Ruang, supaya memasukkan komponen kebencanaan dalam penataan ruang. Selain itu dalam UU No 32, 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan juga ditekankan tentang perlunya akomodasi daya dukung lingkungan dalam penataan ruang dan pembuatan sistem informasi bahaya lingkungan yang wajib dipublikasikan. Semua amanah ini merupakan kewajiban pemerintah daerah untuk menjalankannya (UU No 32, 2004 tentang Pemerintah Daerah), sehingga saat ini banyak pemerintah daerah sedang merevisi rencana tata ruang wilayahnya.

Faktor yang terkait dengan kebencanaan untuk dimasukkan ke dalam dokumen tata ruang sudah ada dalam dokumen perundangan, tetapi masih bersifat umum, dan pedoman operasional belum ada. Untuk itu diperlukan sarana tertentu misalnya indikator tertentu. Pemanfaatan indikator tertentu sering dimanfaatkan untuk melakukan penilaian terhadap status atau suatu fenomena dengan ukuran-ukuran kuantitatif ataupun kualitatif. Berbagai indikator yang sudah dominan dari aspek sosial atau bio, yang cenderung bersifat jangka pendek, sedangkan indikator fisik yang merupakan wadah masih bervariasi kondisinya.

Salah satu indikator fisik yang sudah dikenal adalah geoinikator. Geoinikator kebencanaan adalah suatu objek atau fenomena yang terjadi di permukaan bumi baik yang bersifat tiba-tiba atau gradual, tetapi terjadi dalam kurun waktu kurang dari 100 tahun, yang dapat diamati dan diukur untuk melihat perubahan bentang alam. Geoinikator kebencanaan sudah banyak dipakai untuk keperluan pengelolaan bencana dan lingkungan khususnya di Taman Nasional di USA, Kanada, Brazil dan beberapa negara lain, khususnya untuk keperluan perencanaan jangka panjang. Penggunaan geoinikator untuk kebencanaan di Indonesia sudah ada baik dalam kegiatan sehari-hari maupun dalam perundangan tetapi belum terstruktur dan dipakai dengan baik. Dalam peraturan perundangan kita objek yang sama dengan istilah lain sudah ada, tetapi belum jelas cara mengimplementasikannya. Sehingga pencarian dan pengembangan geoinikator menjadi perlu dilakukan untuk menekan kebencanaan di Indonesia khususnya ditujukan untuk bahan atau sarana bagi pemerintah daerah yang sedang merevisi tata ruang.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Lokasi dan Waktu

Pengkajian dilakukan di P4W, LPPM IPB dengan dukungan pendanaan dari Kementrian Riset dan teknologi, dari bulan Juni - November 2010.

2.2. Material dan Sarana

Untuk menghasilkan konsep dan geoinikator sampai saat ini dilakukan melalui sarana teknologi informasi (media internet dan pendukungnya) dan diskusi dengan berbagai pakar yang mempunyai latar belakang kelilmuan di IPB.

2.3. Kerangka Berfikir

Untuk keperluan pencarian indikator kebencanaan dapat dilakukan dengan mengumpulkan berbagai hasil pengetahuan yang sudah dipraktekkan dan mudah,

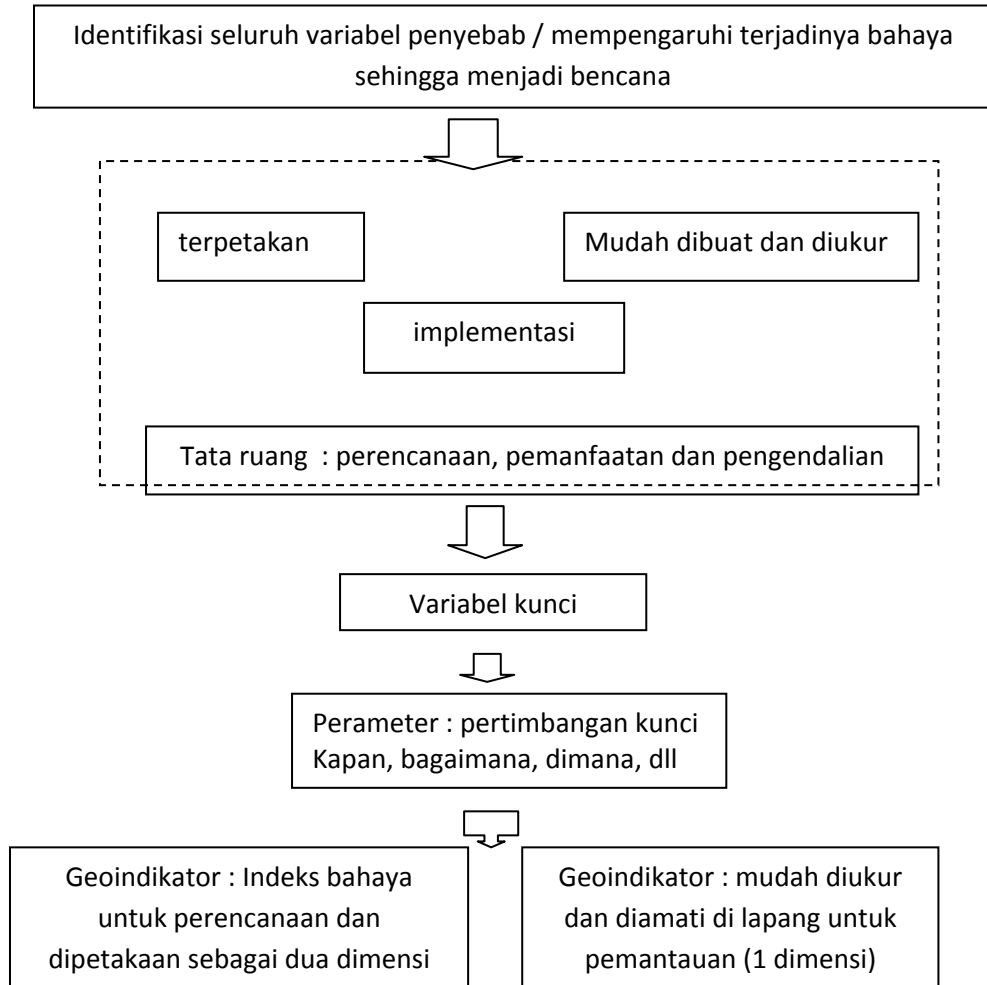
dibandingkan dengan melakukan eksperimen. Untuk keperluan penataan ruang di Indonesia diperlukan indikator fisik, yang lebih dapat dijadikan sebagai dasar perencanaan karena bersifat jangka panjang, yang saat ini dalam peraturan yang sudah ada masih umum, atau belum operasional. Selain itu indikator yang ada juga belum diketahui proses pemanfaatannya ke dalam dokumen penataan ruang. Berdasarkan konsep ini maka pencarian indikator ini dilakukan melalui penelusuran data sekunder di internet dan sumber lainnya dan serangkaian diskusi pakar secara intensif, yang selanjutnya diupayakan pendekatan pemasukan ke dalam dokumen penataan ruang..

2.4. Metode Pelaksanaan

Untuk mendapatkan definisi geoindikator yang dimaksud maka dilakukan serangkaian proses diskusi, yang mengacu ke pencarian indikator sebagai berikut:

- a. Definisi bahaya (*hazard*) untuk masing-masing aspek kebencanaan.
- b. Identifikasi seluruh variabel penyebab atau yang mempengaruhi terjadinya bahaya sehingga menjadi bencana.
- c. Pilih seluruh komponen variabel penyebab tersebut, yang dapat dan atau mampu dipetakan untuk implementasi perencanaan ruang, dan juga dapat untuk keperluan pemantauan dan evaluasi ruang.
- d. Tetapkan variabel kunci (dari komponen variabel penyebab), untuk selanjutnya ditetapkan parameter geoindikatornya. Parameter yang dikembangkan sedianya diarahkan juga untuk mengetahui situasi/ lokasional secara spesifik sebagai salah satu kunci penetapan, seperti *where, when, how, dsb*, untuk dapat diujicobakan dalam dimensi ruang
- e. Menetapkan geoindikator berdasarkan Indeks Bahaya yang diperoleh dari parameter kunci untuk keperluan perencanaan, dan pencarian indikator lain untuk keperluan pemantauan sebagian bagian dari pengendalian,

Untuk memudahkan pemahaman tahapan kerja maka prosesnya disajikan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Tahapan penentuan geoindikator untuk perencanaan dan pengendalian ruang

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Bahaya yang Diinvestigasi dan Parameter

Kejadian bencana yang sudah banyak dikenal di Indonesia antara lain letusan gunung api (vulkan), gempa, tsunami, longsor, abrasi, erosi, kekeringan, kebakaran, pencemaran, penurunan air tanah, dll, mempunyai faktor-faktor yang sebagian sama, seperti lereng/morfologi, batuan/struktur geologi, tanah, penggunaan lahan, curah hujan, gelombang, dan lainnya (Tabel 1), yang masing-masing mempunyai peran spesifik.

Perbedaan peran setiap faktor ini membuat parameter kunci dalam proses penentuan variabel utama akan berbeda. Dalam setiap proses bahaya bencana, variabel tertentu berperan sebagai variabel utama, misalnya seperti pada gempa, dan vulkan maka unsur proses endogemik yang lebih berperan (unsur struktur/batuan), sedangkan pada tsunami unsur gelombang yang sangat berperan. Untuk longsor, maka unsur topografi sebagai kontrol utama (untuk gravitasi). Untuk erosi, kekeringan dan kebakaran,

maka unsur iklim (curah hujan) sangat berperan penting. Isu pencemaran dan penurunan air tanah, maka peran manusia dianggap sangat menonjol.

Tabel 1. Beberapa Tipe Bahaya di Indonesia dengan Faktor yang Berperan Penting

No	Bahaya	Lereng/ morfo	Batuan /struktur	Tanah	Penggunaan lahan	Curah hujan/air	Gelombang
1	gempa	v	v	v	-	-	-
2	vulkan	v	v	-	v	-	-
3	tsunami	v	v	-	v	-	v
4	longsor	v	v	v	v	v	-
5	abrasi	v	v	v	v	v	v
6	erosi	v	v	v	v	v	-
7	kekeringan	-	-	v	v	v	
8	kebakaran	v	-	v	v	v	
9	pencemaran	v	v	v	v	v	
10	penurunan air tanah		v	v	v	v	v

V = berarti berperan penting dalam menentukan proses kemunculan bahaya

Dari berbagai faktor yang dianggap berperan tersebut, unsur iklim, gelombang, batuan, dan struktur geologi lebih sulit dimodifikasi, dibandingkan dengan unsur penggunaan lahan, lereng dan tanah. Rekayasa ini biasanya dilakukan dalam bentuk penggunaan lahan. Tetapi peran manusia juga dapat mendorong terjadinya bahaya yang menjadi bencana.

3.2. Geoindikator yang Sudah Berkembang untuk Pemantauan

Geoindikator yang sudah banyak dipakai di negara lain dominan untuk keperluan pemantauan lingkungan, sedangkan di Indonesia geoindikator ini juga diarahkan untuk keperluan penataan ruang (perencanaan, pemanfaatan dan pengendalian), sehingga berbagai geoindikator dikembangkan berbeda. Untuk keperluan pengelolaan lingkungan sudah lazim menggunakan berbagai indikator. Indikator yang sudah berkembang pesat adalah untuk aspek ekonomi, aspek biologi, yang keduanya cenderung bersifat sangat dinamik dan cepat; sedangkan indikator dari aspek geo relatif belum berkembang karena umumnya dipersepsikan prosesnya lama sekali, padahal komponen fisik merupakan wadah aspek biologi dan sosial. Mengingat keperluan perencanaan yang membutuhkan waktu lama, maka di USA, IUGS mengembangkan indikator geo yang bersumber dari proses fisik bumi yang perubahannya terjadi dalam kurun waktu kurang dari 100 tahun, cepat atau perlahan, yang dapat diobservasi, sehingga dapat dipakai dalam pemantauan dan pelaporan perubahan lingkungan (IUGS, 2010).

Saat ini di USA sudah ada 27 geoindikator yang dipakai untuk keperluan pengelolaan taman nasional. Geoindikator tersebut dipengaruhi proses alami yang relatif cepat, manusia dan pengaruh kegiatan bumi masa lalu. Beberapa geoindikator yang

relevan di Indonesia disajikan di Tabel 2. Peran dari berbagai pengaruh ini disimpulkan berbeda, tetapi secara umum sebagian besar proses perubahannya sangat terlihat saat ini, dengan dominasi tinggi khususnya perubahan alami. Adapun pengaruh manusia relatif bervariasi dan yang berpengaruh sedang juga banyak, sedangkan efek dari konstruksi masa lalu relatif sedikit. Kondisi ini menegaskan geoindikator merupakan hasil interaksi alami dan manusia.

Tabel 2. Beberapa Geoindikator di USA untuk Pemantauan Lingkungan (IUGS, 2010)

No	Geoindikator	Bahaya	Pengaruh alami	Pengaruh manusia	Rekonstruksi masa lalu
1	reaktivasi dan formasi gumuk	kerusakan pantai	T	S	S
2	kimia air tanah di zona unsaturated	kerusakan air tanah	T	T	T
3	paras air tanah	kerusakan air tanah	S	T	R
4	kualitas air tanah	kerusakan lahan	T	T	L
5	aktivitas kapur	kerusakan kapur	T	S	T
6	komposisi dan pelapisan sedimen	kerusakan infrastruktur	T	T	T
7	seismisitas	gempa bumi	T	S	R
8	posisi garis pantai	abrasi	T	T	T
9	longsor	longsor	T	T	S
10	erosi dan sedimen	erosi	T	T	S
11	kualitas tanah	kerusakan / pencemaran	T	T	T
12	morfologi saluran sungai	kerusakan sungai	T	T	R
13	kandungan/ kapasitas sedimen	/waduk	T	T	S
14	suhu permukaan bawah tanah	Kekeringan	T	S	T
15	pergeseran permukaan	gempa bumi	T	S	S
16	kualitas air permukaan	pencemaran air sungai	T	T	R
17	gerakan tubuh vulkan	ledakan vulkanis	T	R	T
18	hidrologi, struktur, ukuran lahan basah	lahan basah	T	T	T

v = relevan di Indonesia x = tidak relevan di Indonesia; t=tinggi; S= sedang; r=rendah

Beberapa isu bencana di Indonesia seperti kebakaran dan kekeringan, malah tidak dikenal dalam geoindikator yang sudah dikenali pada Tabel 2 di atas. Contoh lain adalah kondisi lingkungan spesifik, seperti daerah gambut di tropis, dan saat ini sering menjadi daerah utama yang rawan kebakaran, juga memerlukan indikator dalam pengelolaannya. Dalam hal ini berarti geoindikator yang sudah diadopsi di negara lain, ada yang dapat dipakai dan mungkin perlu diadopsi di Indonesia, khususnya untuk pemantauan, sedangkan untuk keperluan perencanaan masih diperlukan identifikasi secara spesifik.

3.3. Perundangan Terkait dengan Penataan Ruang

Aspek legalitas untuk memanfaatkan data geoindikator dapat dilihat dari UU No 26, tahun 2007 tentang Penataan Ruang, yang sudah menyatakan bahwa Indonesia sebagai kawasan rawan bencana. Sehingga dalam penataan ruang diperlukan kawasan lindung berbasis kerawanan bencana, selain kategori kerawanan yang lain karena aspek lingkungan dan kondisi spesifik baik karena fisik maupun non-fisik (PP No 26 tahun 2008 tentang Rencana Tata Ruang Nasional). Sejauh ini berbagai kriteria yang diperlukan untuk menentukan kawasan rawan bencana belum detail sehingga pelaksanaan penataan ruang masih jarang dilakukan atau walaupun sudah diakomodasi akan ditujukan untuk penentuan kawasan lindung saja, tetapi belum dengan kriteria mantap dan detail.

Geoindikator yang pada awalnya dominan dipakai untuk keperluan pemantauan perubahan lingkungan, dan hal ini juga dipertegas dalam dalam UU No 32 tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup, yang menyatakan Pemerintah dan Pemda wajib mengembangkan sistem informasi lingkungan, dan salah satunya peta rawan lingkungan hidup. Selain itu, produk ini wajib dipublikasikan. Hal ini relevan dengan kondisi lingkungan tentang pentingnya pertimbangan daya dukung lingkungan untuk perencanaan ruang.

Penanggung jawab penataan ruang dan pengelolaan lingkungan berdasarkan UU No 32 tahun 2004 tentang Pemerintah Daerah, menegaskan bahwa hal tersebut merupakan urusan wajib. Pemda mempunyai kewajiban menata wilayahnya dan memasukkan komponen kebencanaan. Lebih lanjut berdasarkan UU No 24 tahun 2007 tentang Penanggulangan Bencana, menegaskan perlunya lembaga tentang penanggulangan bencana di daerah, yang bertanggung jawab untuk menyelenggarakan penanggulangan bencana, yang salah satunya untuk menyusun dan mendesiminasikan peta rawan.

3.4. Geoindikator dalam Penataan Ruang

Untuk keperluan perencanaan ruang diperlukan indikator yang dapat disajikan dalam dokumen RTRWP/K atau dipetakan. Berdasarkan variabel penyebab dan variabel mempengaruhi yang menghasilkan kenampakan fisik di lapangan, maka perlu dikembangkan suatu indeks komposit yang mencerminkan adanya interaksi antara berbagai faktor. Indeks komposit dibangun sebagian berdasarkan pertimbangan keilmuan dengan perhitungan kepentingan setiap faktor dan diberikan skor (nilai tertentu) dan pembobotan tertentu, yang selanjutnya dikalikan sehingga membentuk nilai tertentu.

Untuk penentuan indeks yang dibuat dalam bentuk peta, maka penggunaan teknologi SIG sangat disarankan karena kemampuannya mengintegrasikan berbagai data

ruang, yang sudah disajikan dengan mempertimbangkan skor dan bobot tertentu, dan akhirnya menghasilkan nilai tertentu (Barus dan Wiradisastra, 2000). Penggunaan teknologi SIG jika diintegrasikan dengan sarana penginderaan jauh juga efektif dalam mengamati kemungkinan adanya perubahan fisik tertentu di permukaan bumi, yang sudah jika diamati dari lapangan.

Interaksi berbagai faktor-faktor tersebut umumnya menghasilkan peta, tetapi beberapa peta dianggap sulit untuk diletakkan dalam dokumen perencanaan ruang seperti peta terkait dengan indeks kekeringan, kebakaran dan pencemaran. Gambaran singkat tentang indeks komposit yang dihasilkan untuk keperluan perencanaan dan pemantauan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Tipe Rawan dan Geoinikator yang Disarankan untuk Dipakai dalam Perencanaan Ruang dan Keberadaannya dalam Perundangan Saat Ini

No	Tipe Rawan	Geoinikator perencanaan	Kombinasi dari faktor-faktor	Geoinikator pemantauan
1	Longsor	Indeks bahaya longsor	Indeks ini merupakan gabungan faktor geologi, lereng, tanah, dan penggunaan / penutupan lahan	Mata air Kenampakan pohon
2	Abrasi	Indeks bahaya abrasi	Indeks ini merupakan gabungan faktor energi laut, kemiringan pantai, bahan induk di pantai, dan tutupan lahan	Perubahan garis pantai
3	Erosi	Indeks bahaya erosi untuk kemampuan lahan	Indeks ini merupakan gabungan dari tanah, curah hujan, lereng, dan penggunaan lahan	Kedalaman tanah Sedimentasi di sungai
4	Banjir	Indeks bahaya banjir untuk kemampuan lahan	Indeks ini merupakan gabungan faktor posisi, curah hujan, lereng, tanah, dan karakter sungai	Daerah banjir dan frekuensi
5	Kekeringan	-	Faktor iklim, tutupan lahan, geologi	Rekahan paras muka air
6	Kebakaran hutan dan lahan	-	Faktor curah hujan, tanah, tutupan lahan, bentuk lahan	Hotspot
7	Pencemaran tanah	Indeks bahaya pencemaran	Batuan, penggunaan/tutupan lahan, air	Kualitas tanah

Untuk keperluan perencanaan ruang, maka geoinikator perlu dipakai untuk penentuan kawasan rawan bencana. Geoinikator ini perlu dijadikan peta ruang, yang selanjutnya daerah yang paling rawan perlu direkomendasikan sebagai daerah kawasan lindung bencana (Barus, *et al.* 2010). Misalnya daerah rawan longsor, yang geoinikatornya sudah dibuat dengan pernyataan 'daerah rawan bencana longsor', dan hal ini perlu diperjelas dengan definisi rawan bencana longsor. Kalau sudah ada definisinya misalnya dari kombinasi sifat fisik lereng, batuan, dan lainnya yang spesifik, yang menghasilkan daerah rawan longsor, maka hasil dari kombinasi ini diterjemahkan dalam bentuk peta, yang selanjutnya direkomendasikan ke kawasan lindung.

Ilustrasi lain adalah daerah rawan erosi, juga mempunyai faktor mirip dengan longsor, tetapi dalam konteks peraturan penataan ruang, geoindikator ini diletakkan dalam bagian dari kemampuan lahan, yang biasanya kelas kemampuan lahan VII (kelas kemampuan yang rendah). Kelas kemampuan rendah ini jika dipetakan maka dapat direkomendasikan ke kawasan lindung. Secara operasional berarti adanya peta geoindikator yang menyatakan kategori peta rawan bencana akan mempermudah perencanaan ruang atau pembuatan peta RTRW. Tetapi mengingat terdapat berbagai kategori rawan bencana, maka perlu pemahaman secara cermat tentang tipe rawan bencana yang layak secara langsung diletakkan sebagai kawasan lindung bencana.

Untuk meletakkan geoindikator dalam dokumen perencanaan maka terdapat minimal dua pendekatan, yaitu (a) langsung didelineasikan dalam wujud ruang sebagai kawasan lindung bencana tertentu, dan (b) Secara tidak langsung masuk dalam ruang yang terkait dengan daya dukung lahan, salah satunya kemampuan lahan. Selain itu untuk menjadikan sebagai suatu ruang tersendiri, maka pertimbangan posisi dan ukuran secara ruang juga diperlukan. Jika ukuran terlalu kecil, maka tidak ideal dibuat sebagai suatu kawasan khusus.

3.4.1. Pemanfaatan ruang

Suatu zona yang sudah ditetapkan untuk peruntukan tertentu, masih memerlukan aturan atau teknik pengelolaan sesuai kemampuan atau kesesuaian kawasan. Peruntukan kawasan masih memerlukan pedoman lebih lanjut. Jika kawasan lindung sudah ditetapkan berdasarkan daerah bencana, maka otomatis penggunaannya sangat terbatas, tetapi jika kawasan tersebut mempunyai kategori tertentu dalam hal kebencanaan, maka untuk menahan kejadian bencana tidak muncul, maka metode pemanfaatan ruang harus sesuai kaidah lingkungan.

Dalam hal ini berarti adanya peta rawan bencana tertentu tidak selalu diletakkan sebagai dalam konteks penentuan kawasan lindung bencana, tetapi untuk memudahkan dalam pengelolaan ruang, atau dalam hal ini keperluan proses teknik adaptasi yang dikembangkan. Ilustrasi rawan bencana yang terkait dengan ilustrasi ini adalah rawan kekeringan (Effendi, 2010). Daerah yang paling kering tidak mudah dijadikan secara langsung sebagai kawasan lindung; tetapi yang perlu direkomendasikan adalah, kalau komoditas pertanian, maka perlu dilakukan pemilihan komoditas yang yang adaptif terhadap kondisi ekstrim kering, seperti jambu mete. Bila tidak terkait langsung dengan komoditas tahan kering, maka perlu upaya menyimpan air pada waktu musim hujan, dan lainnya.

Ilustrasi lain adalah kawasan yang rawan kebakaran, yang merupakan salah upaya teknologi untuk membuat kawasan sesuai untuk perusahaan tertentu (Komarsa, 2010), misalnya untuk menciptakan lingkungan tertentu sehingga tanah menjadi subur. Hal ini berkebalikan dengan daerah yang rawan sekali longsor, yang direkomendasikan menjadi kawasan lindung karena lebih mahal dan tidak efisien menjadikan kawasan tersebut sebagai daerah budidaya. Dalam konteks ini, geoindikator kebencanaan malah belum dikenali dalam perundangan di Indonesia (dalam peraturan penataan ruang tidak dikenali rawan bencana kebakaran, walaupun rutin muncul di Indonesia).

Untuk keperluan pemanfaatan maka peta geoindikator yang sudah dibuat hendaknya tetap dijadikan sebagai referensi untuk pemanfaatan ruang, selain dokumen RTRW; dan selanjutnya dilengkapi dengan petunjuk pengelolaannya.

3.4.2. Pengendalian ruang

Ruang yang sudah ditetapkan peruntukannya, jika dimanfaatkan maka secara rutin perlu dipantau dan selanjutnya dievaluasi. Proses pengendalian secara umum dilakukan oleh pemerintah daerah melalui pemantauan data perizinan yang diberikan oleh pihak otoritas. Jika sudah diberikan perizinan, dan ternyata merusak lingkungan, berarti isu teknis menjadi penting dievaluasi. Salah satu bahan mengevaluasinya adalah data atau peta geoindikator. Tetapi mengingat untuk penilaian kondisi lapangan yang perlu cepat dan mudah maka indikator-geo yang dipakai juga perlu disesuaikan. Indikator geo untuk perencanaan biasanya diorientasikan untuk mencegah, sedangkan indikator geo untuk penilaian cepat sebaiknya berbeda (Tabel 3). Dalam peraturan perundangan di penataan ruang, komponen pemantauan belum disinggung, dan baru diarahkan ke aspek administratif, dan jika terjadi kesalahan maka akan diberikan sanksi, baik untuk pemberi izin maupun untuk perusak lingkungan atau pengguna ruang.

Mengingat pertimbangan penting dalam keperluan pengendalian adalah pemantauan, maka teknologi yang layak dilakukan untuk memantau ruang adalah teknologi inderaja, karena mempunyai karakter seperti adanya ketersediaan secara rutin dan sudah berkembang teknologi dan datanya. Demikian juga sudah tersedianya banyak tenaga akhlinya. Data inderaja juga selanjutnya dapat dengan mudah diintegrasikan dengan SIG khususnya untuk keperluan menganalisis data yang bersifat waktu yang berbeda.

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Kesimpulan

- i. Geoindikator yang sudah teridentifikasi adalah untuk untuk bahaya longsor, abrasi, erosi, kekeringan, kebakaran, banjir dan pencemaran, yang secara detil masih akan dikembangkan.
- ii. Geoindikator untuk perencanaan disajikan dalam bentuk indeks bahaya, yang merupakan komposit dari berbagai faktor, dan diterjemahkan dalam bentuk peta dengan bentuk data dimensi dua (data area). Kategori data yang bernilai sangat bahaya direkomendasikan sebagai daerah yang disajikan sebagai kawasan lindung dalam perencanaan ruang.
- iii. Geoindikator untuk pemanfaatan disajikan tetap sebagai indeks bahaya yang diletakkan dalam peta dimensi dua, tetapi sebagai referensi pemanfaatan ruang, selain peta RTRW. Dalam pemanfaatan ruang kawasan budidaya diharapkan mempertimbangkan potensi ruang menjadi daerah bencana jika salah pengelolaan.
- iv. Geoindikator untuk pemantauan dibuat berbentuk kenampakan fisik yang mudah dilihat dan diukur dan disajikan dalam bentuk dimensi satu (titik), selain itu kemungkinan kemudahan dipantau dari teknologi inderaja.
- v. Semua indeks bahaya untuk erosi, longsor, banjir, abrasi, dan pencemaran tanah dapat diarahkan untuk ke komponen perencanaan dan pengendalian, kecuali untuk kekeringan dan kebakaran yang diarahkan untuk keperluan pemanfaatan dan pengendalian.
- vi. Penggunaan teknologi seperti SIG dan inderaja disarankan dipakai untuk penataan ruang, karena kemampuannya yang spesifik mengelola data ruang.

Prospek

Pengkajian lebih lanjut tentang kuantifikasi indikator berupa indek atau bentuk lain diperlukan terutama dikaitkan dengan kondisi lokal. Selain itu upaya memasukkan data geoindikator ke dalam teknologi spasial masih diperlukan khususnya untuk tingkat kedetilan bencana yang berbeda, sesuai kondisi data di Indonesia

UCAPAN TERIMA-KASIH

Pengkajian ini dapat dilakukan atas dukungan pembiayaan Kementerian Ristek pada tahun 2010, dan kepada lembaga ini disampaikan ucapan terima-kasih. Selain itu sebagian tulisan ini berkembang karena proses diskusi dengan beberapa nara-sumber, dan kepada mereka diucapkan terima-kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Barus, B. dan U.S. Wiradisastra, 2000. SIG : Sarana Manajemen Sumberdaya. Jurusan Tanah, IPB
- Barus, B. U. Sudadi, B. Tjahjono dan L.S. Imam. 2010. Pengembangan Indikator-geo untuk Pengelolaan Risiko bencana dan penataan ruang di Indonesia. Makalah (draft)
- Effendi, S. 2010. Pengembangan indikator-geo untuk bahaya kekeringan di Indonesia. Makalah (draft)
- WWW2.nature.nps.gov/grd/geology/monitoring/parameters.htm (about descriptions of the 27 geoindicators)
- www.igt.it/geoin (web site of the IUGS geoindicators)
- UU No 32 tahun 2004 tentang Pemerintah Daerah PP No 26 tahun 2008 tentang Rencana Tata Ruang Nasional
- UU No 26, tahun 2007 tentang Penataan Ruang
- UU NO 24 TAHUN 2007 tentang Penanggulangan Bencana
- UU No 32 tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup

EKSPRESI FRAGMENT ANTIBODI Fab YANG SPESIFIK TERHADAP VIRUS DENGUE DEN-2 DI *Escherichia coli*

Wien Kusharyoto dan Martha Sari

Pusat Penelitian Bioteknologi – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Cibinong Science Center, Jalan Raya Bogor Km. 46, Cibinong-Bogor 16911
Tel.: 021-8754587 Fax.: 021-8754588 Email: wien.kyoto@gmail.com

Abstrak

Melalui pendekatan genetika molekuler telah terbuka kemungkinan untuk memproduksi antibodi rekombinan (rAb) dalam sel bakteri *Escherichia coli*. Telah dilakukan pembentukan fragmen antibodi Fab (*antigen binding fragment*) yang spesifik terhadap virus dengue DEN-2. Virus dengue DEN-2 dan tiga serotipe lainnya DEN-1, DEN-3 dan DEN-4 adalah virus yang merupakan penyebab dari demam dengue (*dengue fever*, DF) dan demam berdarah (*dengue hemorrhagic fever*, DHF), dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Terlebih dahulu dikonstruksi vektor plasmid untuk produksi fragmen antibodi Fab. Konstruksi vektor plasmid diawali dengan isolasi cDNA dari domain rantai berat (VH) dan rantai ringan (VL) dari vektor phagemid pCANTAB 5E, dan dilanjutkan dengan kloning ke dalam vektor plasmid pASK85. Setelah transformasi vektor plasmid ke dalam sel *E. coli*, produksi fragmen antibodi dilakukan pada suhu 27°C. Dengan memanfaatkan His₆-tag yang terdapat pada fragmen antibodi Fab, purifikasi dilakukan dengan afinitas kromatografi pada ion metal yang terimmobilisasi (IMAC) pada Ni-NTA untuk memperoleh fragmen antibodi Fab dengan tingkat kemurnian yang tinggi.

Kata kunci: fragmen antibodi Fab, IMAC, pASK85, virus dengue DEN-2

1. PENDAHULUAN

Dengan berdasarkan pada metode-metode genetika telah terbuka kemungkinan untuk memproduksi antibodi rekombinan (rAb) dalam bakteri, kapang, baculovirus atau sel-sel mamalia. Ekspresi fragmen antibodi dalam sel-sel bakteri *Escherichia coli* merupakan metode yang paling sering digunakan. Keuntungan *E. coli* sebagai inang untuk ekspresi fragmen antibodi terletak pada kemudahan dalam penggunaan dan penanganan, kecepatan pertumbuhan, dan terutama pada efisiensi transformasi *E. coli* yang tinggi yang memudahkan pembentukan pustaka gen (*gene library*) (Breitling dan Dübel, 1997). Di samping itu, telah tersedia pula teknologi genetika untuk melakukan modifikasi dan manipulasi terhadap fragmen antibodi dengan menggunakan mutagenesis dan *phage display*, terutama dalam peningkatan afinitas atau spesifitasnya terhadap antigen maupun dalam peningkatan stabilitasnya (Kusharyoto *et al.*, 2002).

Demam dengue (*dengue fever*, DF) dan terutama demam berdarah (*dengue hemorrhagic fever*, DHF) yang disertai dengan DSS (*dengue shock syndrome*) adalah

penyakit yang banyak memakan korban, terutama pada anak-anak. Penyebab penyakit tersebut adalah virus dengue (family: *Flaviviridae*, genus: *Flavivirus*) yang terdiri dari empat serotipe, DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4 (Gubler, 1998). Virus-virus tersebut ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* atau *A. albopictus*.

Dengan memanfaatkan teknologi antibodi rekombinan, dalam penelitian ini telah dilakukan pembentukan fragmen antibodi Fab (*antigen binding fragment*) yang spesifik terhadap virus dengue DEN-2. Untuk memproduksi fragmen antibodi Fab di *E. coli*, terlebih dahulu dikonstruksi vektor plasmid untuk tujuan tersebut. Konstruksi vektor plasmid diawali dengan isolasi cDNA dari domain rantai berat VH dan rantai ringan VL dari vektor phagemid pCANTAB 5E yang mengandung gen-gen tersebut (Kusharyoto *et al.*, data tidak dipublikasikan), dan dilanjutkan dengan kloning ke dalam pASK85 yang merupakan vektor plasmid untuk kloning dan ekspresi fungsional dari fragmen antibodi Fab rekombinan di *E. coli* (Skerra, 1994; Kusharyoto, 2005). Setelah transformasi vektor plasmid pASK85 ke dalam sel *E. coli*, produksi fragmen antibodi dilakukan pada suhu 27°C dalam medium Luria-Broth (LB) melalui induksi dengan anhidrotetrasiklin. Dengan memanfaatkan His₆-tag yang terdapat pada fragmen antibodi Fab, purifikasi dilakukan dengan afinitas kromatografi pada ion metal yang terimmobilisasi (IMAC) pada resin Ni-NTA.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Konstruksi Vektor Plasmid

Primer-primer yang digunakan dalam isolasi gen-gen V_H dan V_L dari vektor phagemid pCANTAB 5E didisain pula untuk menciptakan situs-situs restriksi untuk kloning ke dalam vektor plasmid pASK85 (Skerra, 1994). Primer-primer yang digunakan adalah 5'-CAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGGGAGG-3' dan 5'-GCGGAAACGGTGACCGTGGTACCCTGGCCCCAGTAAGC-3' untuk mengisolasi gen V_H, serta 5'-GACATTGAGCTCACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTA-3' dan 5'-TTTTATCTCGAGCTTGGTGCCACCGCCGAATGTGAGAGG-3' untuk isolasi gen V_L. Sekuen-sekuen yang bergaris bawah berturut-turut adalah sekuen-sekuen untuk enzim-enzim restriksi *Pst*I, *Bst*EII, *Sac*I dan *Xho*I. Isolasi gen-gen V_H dan V_L dilakukan melalui PCR dengan menggunakan primer-primer tersebut di atas. Isolasi gen V_H dilakukan terpisah dari isolasi gen V_L. Prosedur PCR yang digunakan adalah sebagai berikut: denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 58°C selama 1 menit dan polimerisasi pada 72°C selama 1 menit dan dilakukan sebanyak 30 siklus PCR.

Terhadap gen V_H yang telah dipurifikasi dengan *gel extraction kit* (Novagen) dilakukan pemotongan (*digestion*) dengan enzim-enzim restriksi *Pst*I dan *Bst*EII,

sedangkan gen V_L dipotong dengan enzim-enzim restriksi *SacI* dan *XhoI*. Setelah agarose-elektroforesis, gen-gen V_H dan V_L yang terpotong diisolasi dengan *gel extraction kit* (Novagen). Gen-gen V_H dan V_L tersebut kemudian diligasikan dengan T4-DNA ligase secara berurutan dengan vektor plasmid yang sebelumnya telah dipotong dengan menggunakan enzim-enzim restriksi yang sesuai. Setelah dilakukan agarose-elektroforesis, produk hasil ligasi diisolasi dengan *gel extraction kit* (Novagen). Hasil ligasi tersebut kemudian disebut sebagai plasmid pASK-DEN2. Plasmid pASK-DEN2 kemudian ditransformasikan melalui *heat shock* pada suhu 42°C selama 45 detik ke dalam *E. coli* DH5 α dengan menggunakan TSS medium (85 ml LB-medium, 10 g PEG 6000, 5 ml DMSO dan 10 ml 1M MgCl₂ untuk 100 ml TSS medium). Setelah kultur *E. coli* yang mengandung plasmid tersebut selama 16 jam, pASK-DEN2 diisolasi dengan menggunakan *plasmid isolation kit* (Novagen). Terhadap plasmid pASK-DEN2 kemudian dilakukan pemotongan dengan enzim-enzim restriksi *PstI* dan *XhoI* untuk pengecekan ukuran plasmid yang diperoleh setelah ligasi. Hal yang sama juga dilakukan terhadap plasmid pASK85. Hasil pemotongan tersebut diuji dengan agarose-elektroforesis.

2.2. Produksi Fragmen Antibodi Fab

Plasmid pASK-DEN2 ditransformasikan dengan *heat shock* pada 42°C selama 45 detik ke dalam *E. coli* BL21 dengan menggunakan TSS-medium. *E. coli* yang membawa plasmid pASK-DEN2 kemudian ditumbuhkan pada LB-agar yang mengandung ampicillin (100 μ g/ml). Koloni tunggal diambil dan dikultur selama 16 jam dalam LB-medium yang mengandung ampicillin pada suhu 27°C. Empat mililiter dari kultur tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam 200 ml LB-medium ber-ampicillin dan dikultur pada suhu 27°C. Setelah kerapatan optik (OD) pada 550 nm mencapai 0,8 – 1,0 (lebih kurang setelah 3 jam kultur) produksi fragmen antibodi Fab diinduksi melalui penambahan anhidrotetrasiklin (IBA, Göttingen, Jerman) hingga konsentrasi akhirnya mencapai 0,2 μ g/ml, dan kultur dilanjutkan selama 4 jam. *E. coli* kemudian dipanen dengan sentrifugasi pada 15°C, 5000 rpm dan disuspensikan ke dalam 10 ml larutan penyangga pengikat (*binding buffer*: 20 mM Tris-HCl, 0,5 M NaCl dan 5 mM imidazol, pH 7,9). Suspensi tersebut kemudian disonikasi selama 4 x 30 detik untuk mengisolasi fragmen antibodi Fab dari periplasma sel *E. coli*.

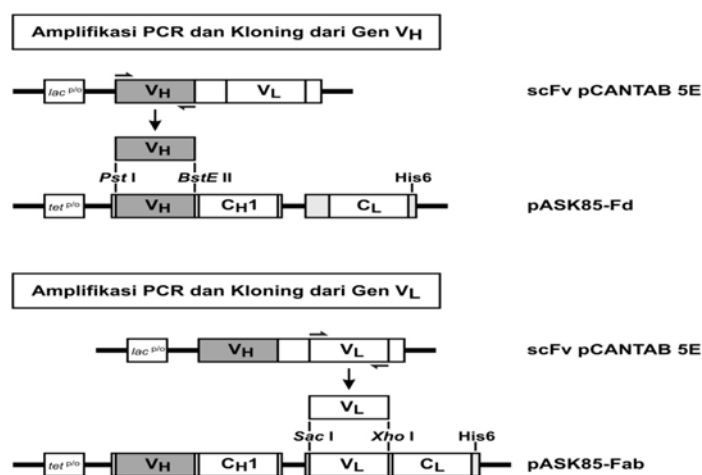
2.3. Purifikasi Fragmen Antibodi Fab

Purifikasi dari fragmen antibodi Fab dilakukan dengan kromatografi afinitas pada ion metal yang terimmobilisasi (IMAC) pada resin Ni-NTA (Amersham-Pharmacia). Satu mililiter resin Ni-NTA diaplikasikan ke dalam kolom dan diekuilibrasi dengan binding buffer. Sepuluh mililiter ekstrak periplasma kemudian diaplikasikan pada resin, dicuci

dengan 10 ml binding buffer dan dilanjutkan dengan pencucian dengan 6 ml larutan pencuci (*washing buffer*: 20 mM Tris-HCl, 0,5 M NaCl dan 60 mM imidazol, pH 7,9). Fragmen antibodi Fab yang terikat pada resin dielusi dengan 6 x 1 ml larutan pengelusi (*elution buffer*: 20 mM Tris-HCl, 0,5 M NaCl dan 1 M imidazol, pH 7,9). Identifikasi protein berdasarkan pemisahan berat molekulnya dilaksanakan dengan SDS-PAGE gel-elektroforesis (SDS-PAGE) (Laemli, 1970). Komposisi larutan dan gel serta pelaksanaan SDS-PAGE adalah menurut protokol SDS-PAGE (Biorad). Sampel protein didenaturasi terlebih dahulu selama 10 menit pada suhu 95°C. Setelah elektroforesis pewarnaan gel dilakukan dengan larutan Coomassie-staining selama 2 jam dan dilanjutkan dengan inkubasi dalam larutan untuk *destaining* sampai pita-pita (*band*) protein terlihat.

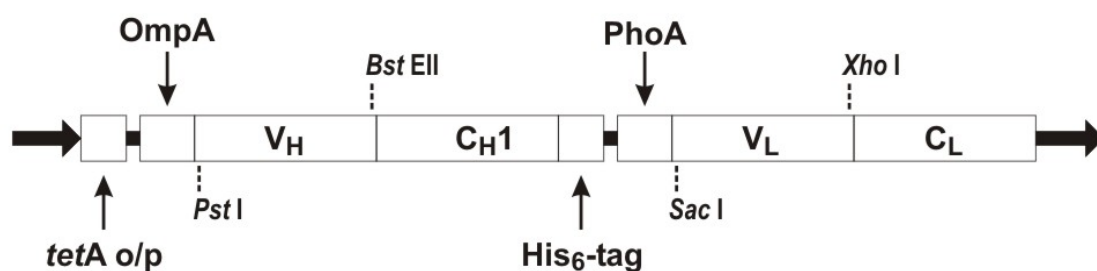
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Konstruksi vektor plasmid untuk produksi fragmen antibodi Fab terhadap virus Dengue DEN-2 dilakukan berdasarkan gen-gen V_H dan V_L yang telah diklonkan ke dalam vektor phagemid pCANTAB 5E (Kusharyoto *et al.*, 2004, data tidak dipublikasikan). Vektor plasmid yang digunakan adalah pASK85 yang merupakan vektor plasmid untuk kloning dan ekspresi fungsional dari fragmen antibodi Fab rekombinan di *E. coli*. Plasmid pASK85 telah memiliki sekuen DNA yang menyandi domain konstan C_{H1} untuk rantai berat (*heavy-chain*) dan domain konstan C_L untuk rantai ringan (*light-chain*) yang berasal dari antibodi dengan subkelas IgG1 (Skerra, 1994). Pada ujung C-terminal dari C_{H1} dari pASK85 terdapat sekuen untuk His₆-tag yang akan merupakan fasilitas untuk pemurnian fragmen antibodi Fab dengan kromatografi pada metal-ion terimobilisasi atau IMAC. Tahap-tahap pelaksanaan dalam konstruksi vektor plasmid tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahap-tahap untuk konstruksi vektor plasmid pASK85-Fab (pASK-DEN2) untuk produksi fragmen antibodi di *E. coli*.

Amplifikasi dengan PCR dari gen V_H dilakukan secara terpisah dari amplifikasi gen V_L . Primer-primer yang digunakan untuk amplifikasi gen-gen V_H dan V_L didisain untuk menciptakan pula situs-situs restriksi *Pst* I pada ujung 5' dan *Bst*E II pada ujung 3' dari gen V_H , serta situs-situs restriksi *Sac* I pada ujung 5' dan *Xho* I pada ujung 3' dari gen V_L . Hasil agarose-elektroforesis menunjukkan keberadaan pita-pita pada gel yang masing-masing berukuran lebih kurang 370 bp untuk V_H dan 350 bp untuk V_L (Gambar 3.A). Setelah agarose-elektroforesis, ekstraksi DNA dan pemotongan (*digestion*) dengan enzim-enzim restriksi yang sesuai, gen-gen V_H dan V_L kemudian disisipkan ke dalam tempatnya masing-masing dalam plasmid pASK85 yang telah dipotong dengan enzim-enzim restriksi yang sama. Gen V_H disisipkan terlebih dahulu dan diikuti dengan penyisipan gen V_L ke dalam pASK85, sehingga diperoleh plasmid untuk produksi fragmen antibodi Fab yang kemudian disebut sebagai pASK-DEN2. Susunan dari gen-gen penyandi fragmen antibodi Fab dalam pASK-DEN2 dapat dilihat pada Gambar 2.

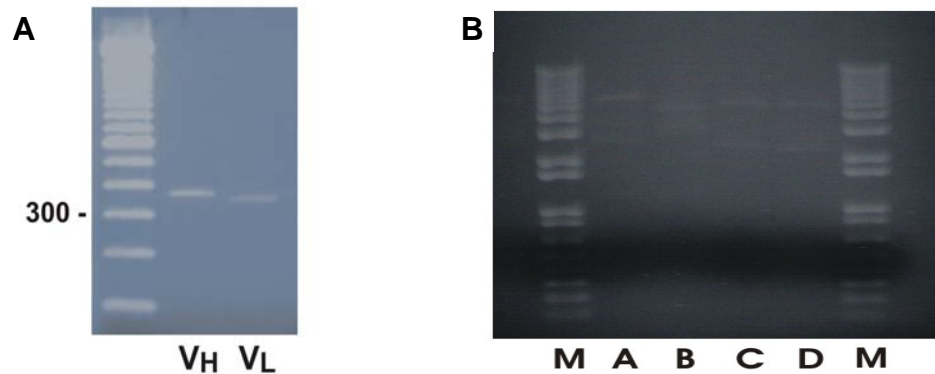


Gambar 2. Susunan gen-gen penyandi fragmen antibodi Fab dalam plasmid pASK-DEN2.
tetA o/p: *tetA* operator/promoter, *OmpA* dan *PhoA*: sekuen pemandu (*leader sequence*) untuk ekspresi di periplasma, *His₆-tag*: gen penyandi untuk *His₆* yang digunakan untuk purifikasi fragmen Fab dengan IMAC

Terhadap plasmid pASK-DEN2 kemudian dilakukan pemotongan dengan enzim-enzim restriksi *Pst*I dan *Xho*I untuk pengecekan ukuran plasmid yang diperoleh. Hal yang sama juga dilakukan terhadap plasmid pASK85. Hasil agarose-elektroforesis (Gambar 3.B) menunjukkan bahwa gen-gen V_H dan V_L telah disisipkan ke dalam plasmid pASK85 seperti yang diperlihatkan oleh ukuran plasmid pASK-DEN2 (4700 bps) yang lebih besar (sekitar 700 bps) daripada plasmid pASK85, serta ukuran plasmid yang berkurang kira-kira sebesar 1000 bps setelah pemotongan ganda (*double-digestion*) dengan *Pst*I dan *Xho*I yang sesuai dengan ukuran dari konstruksi gen-gen V_H , C_{H1} dan V_L dalam pASK-DEN2.

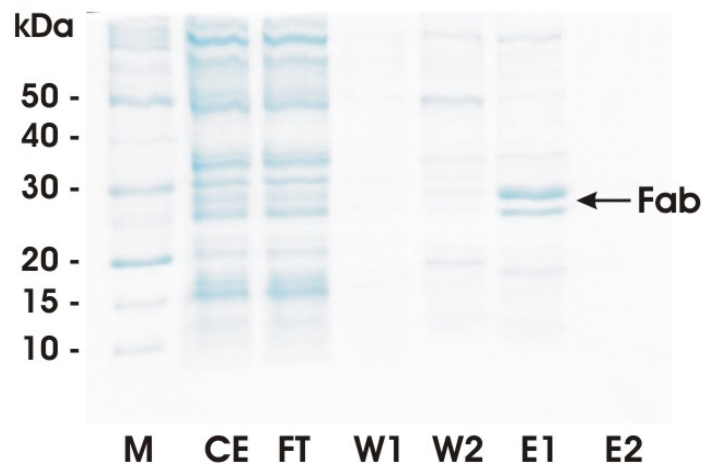
Dalam proses kloning, gen V_H maupun V_L disisipkan dalam daerah gen penyandi domain variabel dari fragmen antibodi Fab, sehingga selain dari phagemid pCANTAB 5E, prosedur yang digunakan dapat pula diadaptasikan untuk mentransfer gen-gen V_H dan V_L

dari sistem ekspresi lainnya seperti pHEN-1 (Hoogenboom, *et al.*, 1991) atau pSEX (Dübel *et al.*, 1993) ke dalam pASK85. Proses transfer tersebut akan selalu diiringi dengan perubahan format dari format scFv (*single-chain variable fragment*) ke format Fab. Berbeda dengan scFv yang distabilkan oleh sebuah peptida penyambung (*peptide linker*) antara kedua domain variabel V_H dan V_L , domain rantai berat dan rantai ringan dari Fab distabilkan oleh ikatan disulfida antara kedua domain konstan C_{H1} dan C_L .



Gambar 3. (A) Gel-elektroforesis dari isolasi gen-gen V_H dan V_L dengan amplifikasi PCR (B) Agarose-elektroforesis dari pASK-DEN2 dan pASK85. A: pASK-DEN2 dipotong dengan *PstI*; B: dipotong dengan *PstI* dan *XhoI*; C: pASK85 dipotong dengan *PstI* dan D: dipotong dengan *SacI*

Setelah transformasi plasmid pASK-DEN2 ke dalam *E. coli* dilakukan ekspresi fragmen antibodi Fab melalui kultur dalam LB-medium yang mengandung ampicillin pada suhu 27°C. Purifikasi fragmen antibodi Fab dilakukan melalui IMAC pada resin Ni-NTA dan kemudian diverifikasi dengan SDS-PAGE elektroforesis. Pada gel SDS-PAGE terdapat pita ganda pada sekitar 25 dan 26 kDa yang menunjukkan ukuran dari fragmen antibodi Fab (sekitar 51 kDa) yang telah terpotong menjadi dua pada ikatan disulfida antara domain C_L dan C_{H1} oleh kondisi reduksi dari SDS-PAGE (Gambar 4). Hasil tersebut menunjukkan bahwa fragmen antibodi telah berhasil dipurifikasi melalui satu tahap dengan IMAC pada resin Ni-NTA. Melalui penentuan konsentrasi protein dengan metode Bradford diperoleh tingkat produksi fragmen antibodi Fab sekitar 2 mg tiap liter kultur *E. coli*.



Gambar 4. SDS-PAGE dari purifikasi fragmen antibodi Fab dengan IMAC pada resin Ni-NTA. M: protein penanda (*marker*); CE: ekstrak periplasma; FT: *flow-through*, fraksi yang tidak terikat; W1 dan W2: pencucian 1 (dengan *binding buffer*) dan 2 (dengan *washing buffer*); E1 dan E2: elusi 1 dan 2.

4. KESIMPULAN

Telah berhasil dikonstruksi plasmid vektor untuk produksi fragmen antibodi Fab rekombinan yang spesifik terhadap virus Dengue DEN-2. Ekspresi fragmen antibodi Fab tersebut di *E. coli* dan pemurniannya dengan IMAC berhasil mendapatkan fragmen antibodi Fab dengan tingkat kemurnian yang memadai yang antara lain dapat digunakan dalam pendeteksian adanya infeksi oleh virus Dengue DEN-2 melalui immunoassay.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. Dr. Arne Skerra dari Lehrstuhl für biologische Chemie, Universität München, Jerman atas pemberian vektor plasmid pASK85. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada A. Febiyanti, yang telah memberikan bantuan dalam pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Breitling, F. dan S. Dübel. 1997. *Rekombinante Antikörper*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg-Berlin.
- Dübel S, F. Breitling, P. Fuchs, M. Braunagel, I. Klewinghaus, M. Little. 1993. A family of vectors for surface display and production of antibodies. *Gene* 128: 97–101.
- Gubler, D.J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 480-496.

- Hoogenboom, H., A. Griffiths, K. Johnson, D. Chiswell, D. Hudson dan G. Winter. 1991. Multi-subunit proteins on the surface of filamentous phage: methodologies for displaying antibody (Fab) heavy and light chains. *Nucleic Acids Res.* **19**: 4133–4137
- Kusharyoto, W., J. Pleiss, T. T. Bachmann dan R. D. Schmid. 2002. Mapping of a hapten binding site: molecular modeling and site-directed mutagenesis study of an anti-atrazine antibody. *Prot. Eng.* **15**: 233–241
- Kusharyoto, W. 2005. Subcloning, expression and characterisation of recombinant antibody Fab fragment specific towards 2,4-D. *Annales Bogorienses* **10**: 23–30
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680–685
- Malone, J.A. 1994. pCANTAB 5 E: a vector designed for the expression of antibody variable regions as phage-displayed or soluble single-chain proteins (scFv). Direct Submission, Amersham-Pharmacia Inc.
- Skerra, A. 1994. A general vector, pASK84, for cloning, bacterial production, and single-step purification of antibody Fab fragments. *Gene* **141**: 79–84

BIOCHEMISTRY

DAYA INHIBISI EKSTRAK PEGAGAN, KUMIS KUCING, SAMBILOTO DAN TEMPUYUNG TERHADAP AKTIVITAS ACE SECARA *In Vitro*

Dyah Iswantini^{1,2}, Latifah K Darusman^{1,2}, Lany Yulinda², Octivia Trisilawati³,
Min Rahminiwati¹, dan Trivadila^{1,2}

¹ Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl. Taman Kencana no 3 Bogor.

² Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga,
Bogor. E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

³ Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor

Abstrak

Hipertensi adalah salah satu jenis penyakit pembunuh paling dahsyat di dunia saat ini. *Back to nature* mendorong menemukan obat hipertensi berbahan baku tanaman obat Indonesia. Salah satu cara untuk menangani hipertensi adalah dengan menggunakan obat atau tanaman obat yang berfungsi sebagai inhibitor *Angiotensin I converting enzyme* (ACE), karena ACE diketahui memegang peranan penting dalam pembentukan angiotensin II yang merupakan salah satu faktor penyebab hipertensi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan daya inhibisi ekstrak pegagan, kumis kucing, sambiloto dan tempuyung terhadap aktivitas enzim ACE secara *in vitro*. Penelitian didahului dengan penentuan kadar flavonoid dari semua tanaman dari berbagai tempat. Hasil menunjukkan bahwa kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari kumis kucing putih cicurug diikuti kumis kucing ungu Manoko dan pegagan Bogor. Untuk pegagan selain yang berasal dari Bogor, pegagan dengan nomor harapan CASI 007 dan CASI 016 yang mempunyai kandungan flavonoid tinggi. Dari semua ekstrak yang diuji, ekstrak kumis kucing 50 ppm mempunyai daya inhibisi tertinggi terhadap ACE secara *in vitro* yaitu sebesar 76,98 % yang melebihi captopril (30,49 %) sebagai kontrol positif atau obat hipertensi yang biasa diresepkan oleh dokter. Maka ekstrak kumis kucing berpotensi dikembangkan sebagai obat antihipertensi.

Kata kunci: hipertensi, ACE, inhibisi, *in vitro*, pegagan, kumis kucing, sambiloto, tempuyung

1. PENDAHULUAN

Indonesia dikelilingi oleh 17.000 pulau dan merupakan negara kepulauan terbesar di dunia. Hampir 60% wilayahnya tertutup oleh hutan, sehingga menjadi rumah bagi sekitar 90% spesies tanaman obat yang telah di kawasan Asia. Sekitar 40% masyarakat Indonesia menggunakan obat-obatan herbal, dimana 70% dari obat-obatan tersebut berasal dari pedalaman (Handa *et al.* 2006). Menurut DEPKES RI, definisi tanaman obat Indonesia sebagaimana tercantum dalam SK Menkes No- 149/SK/Menkes/IV/1978, yaitu tanaman atau bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan obat tradisional atau jamu. Tanaman atau bagian tanaman yang digunakan sebagai formula bahan baku obat; atau

tanaman atau bagian tanaman, yang diekstraksikan dan ekstraksi tersebut digunakan sebagai obat.

Berbagai macam tanaman obat telah diteliti untuk diketahui aktivitasnya terhadap berbagai macam penyakit, seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikrobia, antifungal, antikanker dan lain-lain. Salah satu penyakit yang mengancam masyarakat sekarang ini adalah hipertensi. Hipertensi atau tekanan darah di atas batas normal, merupakan faktor utama yang menyebabkan terjadinya stroke dan penyakit jantung koroner.

Tanaman obat yang diketahui berkhasiat sebagai antihipertensi diantaranya adalah alpukat, bawang putih, belimbing waluh, boroco, buni, cincau, jagung, jombang, ketapang kecil, ketimun, kumis kucing, mahoni, mengkudu, mundi kecil, murbei, pegagan, pulai, pule pandak, sambiloto, seledri, semangka, tapak dara, tempuyung, teratai, tomat dan sambung nyawa (Handayani dan Budijanto 1997; UPT-Balai Informasi Teknologi LIPI 2009).

Salah satu cara untuk menangani hipertensi adalah dengan menggunakan obat atau tanaman obat yang berfungsi sebagai inhibitor *Angiotensin I converting enzyme* (ACE), karena ACE diketahui memegang peranan penting dalam pembentukan angiotensin II yang merupakan salah satu faktor penyebab hipertensi karena angiotensin II ini merupakan suatu senyawa kimia yang menyebabkan konstiksi pembuluh darah penyebab tekanan darah tinggi. Dengan menghambat aktivitas ACE maka pembentukan angiotensin II dapat dibatasi sehingga dapat mencegah hipertensi.

Penelitian tentang antihipertensi dengan pendekatan kemampuan penghambatan terhadap ACE menggunakan tanaman herbal telah dilakukan. Hansen *et al.* (1995) telah mempelajari kemampuan penghambatan aktivitas ACE dari tanaman yang berasal dari India, China dan Chili. Dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pegagan mempunyai kemampuan penghambatan yang paling baik dan hasil penelitian Muangnoi *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol pegagan yang berasal dari Thailand dapat menghambat aktivitas ACE dengan IC_{50} yang cukup kecil. Selain itu Tsutsumi *et al.* (2000), telah melakukan penelitian penapisan tanaman obat Indonesia dan Peru yang memiliki kemampuan penghambatan terhadap aktivitas ACE, diantaranya adalah tanaman tempuyung. Pada umumnya senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan penghambatan aktivitas ACE adalah senyawa golongan flavonoid. Beberapa senyawa golongan flavonoid yang telah diketahui dapat menghambat aktivitas ACE adalah flavan-3-ol, prosianidin (Actis-Goretta *et al.* 2003), kuersetin (Actis-Goretta *et al.* 2006), isoflavan (Wu & Muir 2008), astilbin yang diisolasi dari tanaman *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz (Lucas-Filho *et al.* 2010), antosianin delfinidin dan sianidin-3-o-sambubiosida dari *Hibiscus sabdariffa* (Ojeda *et al. in press*) Namun demikian, sampai saat ini belum

ditemukan obat hipertensi dengan menggunakan tanaman obat Indonesia yang teruji secara ilmiah baik secara *in vitro* maupun preklinik (*in vivo*) dengan pendekatan mekanisme kerjanya sebagai inhibitor ACE.

Hasil penelitian-penelitian kami sebelumnya (Dyah Iswanti, *et.al.* 2005, 2008, 2009a dan 2009b) menunjukkan bahwa pegagan, sambiloto, seledri, kumis kucing, dan tempuyung mengandung senyawa flavonoid dan dapat menghambat aktivitas enzim tirosin kinase (sambiloto) dan enzim xantin oksidase (seledri, kumis kucing dan tempuyung). Penelitian kami yang telah dilakukan juga menunjukkan bahwa ekstrak tunggal pegagan dan ekstrak gabungan pegagan dan tempuyung dapat menghambat aktivitas ACE, tetapi daya inhibisinya terhadap enzim tersebut masih rendah dan mempunyai *reproducibility* yang rendah (Darusman, *et.al.* 2009). Hal ini mungkin disebabkan karena kualitas pegagan dan tempuyung yang digunakan masih kurang baik karena kandungan flavonoidnya masih rendah juga teknik ekstraksinya masih harus ditingkatkan kualitasnya. Atas dasar hal tersebut, maka dilakukan kembali penelitian untuk mengetahui daya hambat senyawa golongan flavonoid dari masing-masing tanaman obat yang dipilih sebagai inhibitor dari ACE, dengan terlebih dahulu dilakukan uji kuantitatif dari masing-masing simplisia tanaman untuk diperoleh simplisia dengan kadar flavonoid tertinggi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian daya inhibisi ekstrak air dan etanol dari kumis kucing, pegagan, sambiloto dan tempuyung yang mempunyai kandungan flavonoid tertinggi terhadap *Angiotensin I converting enzyme* (ACE) secara *in vitro*.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah simplisia pegagan, sambiloto, kumis kucing dan tempuyung yang diperoleh dari tiga tempat yang berbeda, etanol 96%, aseton, HCl, $AlCl_3$, air, etanol 30%, telur udang *Artemia salina*, air laut, *tween-80*, hippuryl-L-histidyl-L-leucine, NaCl, buffer HEPES, *Angiotensin I converting enzyme* (ACE) dan etil asetat.

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Tampak, *rotary evaporator*, oven, pengering beku, vial uji, dan inkubator.

2.2. Metode

2.2.1. Analisis Kandungan Flavonoid Secara Kuantitatif

Analisis kandungan flavonoid dilakukan terhadap simplisia pegagan, kumis kucing, sambiloto dan tempuyung yang berasal dari 3 tempat yang berbeda. Setiap 5 g simplisia tersebut diekstraksi dengan cara maserasi dengan etanol 96% (24 jam), selanjutnya

direfluks selama 6 jam dan pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*. Hasil ekstraksi tersebut, diambil 200 mg dan ditambahkan 1.0 mL larutan 0.5% b/v heksametilentetramina, 20.0 mL aseton dan 2.0 mL larutan HCl 25%, kemudian dilakukan pemanasan sampai mendidih selama 30 menit dan disaring menggunakan kapas. Selanjutnya ditambahkan kembali aseton sebanyak 20 mL hingga mendidih, pengerjaan dilakukan sebanyak dua kali, tepatkan volume hingga 100 mL dan kocok hingga tercampur sempurna. Larutan dipipet sebanyak 20 mL dan dimasukkan ke dalam corong pemisah serta ditambahkan akuades sebanyak 20 mL, kemudian ditambahkan 15 mL etil asetat untuk pengocokan pertama dan 10 mL etil asetat untuk pengocokan kedua dan ketiga. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditera dengan etil asetat. 10 mL filtrat yang dihasilkan ditambah 1 mL larutan AlCl_3 dalam asam asetat glasial 5% v/v. Absorbans diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang 370,8 nm dengan kuersetin sebagai standar.

2.2.2. Penetapan Kadar Air

Cawan porselin yang bersih dipanaskan ke dalam oven bersuhu $(105\pm 3)^\circ\text{C}$ selama 30 menit dan ditimbang hingga diperoleh bobot konstan cawan kosong. Serbuk simplisia kering ditimbang sebanyak ± 2 g ke dalam cawan tersebut dan dipanaskan ke dalam oven bersuhu $(105\pm 3)^\circ\text{C}$ selama tiga jam. Setelah tiga jam, cawan dipindahkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Pengeringan sampel dilakukan lagi selama satu jam sampai diperoleh bobot konstan.

2.2.3. Ekstraksi Sampel

Serbuk kering simplisia pegagan, tempuyung, kumis kucing dan sambiloto yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi, masing-masing sebanyak 1000 g dimaserasi sebanyak 2 kali (@ 24 jam), dengan pelarut etanol 30%, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh, diuapkan pelarutnya atau dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan pengering beku dan disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan analisis.

2.2.4. Pengujian Toksisitas Larva Udang

Telur udang *Artemia salina* ditetaskan dalam gelas piala yang berisi air laut yang telah disaring. Penetasan dibantu oleh aerasi agar kadar oksigen terlarut dalam air tercukupi sehingga telur udang tersebut menetas menjadi larva. Larutan ekstrak dibuat menjadi 2000 ppm, yaitu sebanyak 0.02 g ekstrak dilarutkan dalam 10 mL air laut. Ekstrak yang sukar larut dapat dibantu dengan penambahan *tween-80*. Setelah 48 jam, sebanyak 10 ekor larva udang dan 1000 μL air laut dimasukkan ke dalam vial uji. Selanjutnya diikuti

dengan penambahan 1000 μL larutan ekstrak sehingga konsentrasi akhir dari vial adalah 1000 ppm. Penambahan 500 μL larutan ekstrak dan 1500 μL air laut untuk konsentrasi 500 ppm, penambahan 100 μL larutan ekstrak dan 1900 μL air laut untuk konsentrasi 100 ppm, dan penambahan 10 μL larutan ekstrak dan 1990 μL air laut untuk konsentrasi 10 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol dilakukan tanpa penambahan larutan ekstrak. Setelah 24 jam, larva udang yang mati dihitung.

2.2.5. Penentuan Daya Inhibisi Ekstrak Tunggal dan Gabungan Pegagan dan Kumis Kucing, Sambiloto dan Tempuyung terhadap Aktivitas *Angiotensin I Converting Enzyme* (ACE) Secara *In Vitro*

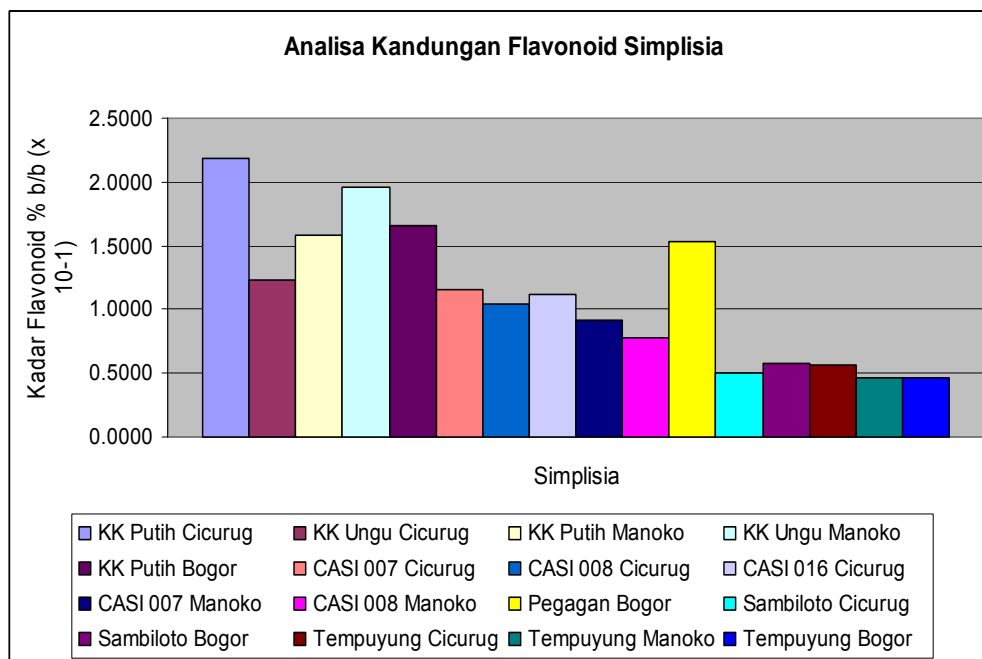
Aktivitas penghambatan ACE diukur dengan Chusman dan Cheung (1981) dengan sedikit modifikasi pada komposisi substrat yang digunakan oleh Zhao et al. (2007). Larutan sampel sebanyak 50 μL dengan 50 μL larutan ACE (25 mU/mL) di pre-inkubasi pada 32°C selama 10 menit, kemudian campuran diinkubasi dengan 50 μL substrat (8 mM Hip-His-Leu dalam 50 mM buffer HEPES mengandung 300 mM NaCl pada pH 8.3) selama 10 menit pada suhu yang sama. Reaksi diakhiri dengan penambahan 10 M HCl (200 μL). Asam hipurat yang dihasilkan dari reaksi diekstraksi dengan 1.5 mL etil asetat setelah sentrifugasi (4000 x g, 15 menit). 1 mL supernatan dipindahkan ke tabung reaksi yang lain dan dievaporasi pada suhu ruang selama 2 jam dalam suatu vakum atau pengering oven. Asam hipurat dilarutkan dalam 3 mL air destilasi dan absorbans ditentukan pada panjang gelombang 220-280 nm menggunakan spektrofotometer.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian terdiri dari pengujian analisis kandungan flavonoid simplisia, pengujian kadar air simplisia, ekstraksi simplisia, pengujian toksisitas larva udang dan pengujian aktivitas antihipertensi dengan menentukan daya inhibisi semua ekstrak baik tunggal maupun gabungan terhadap aktivitas enzim ACE secara *in vitro*.

3.1. Analisis Kandungan Flavonoid Secara Kuantitatif

Pengujian kadar senyawa flavonoid yang setara kuersetin menggunakan metode DepKes RI. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar kuersetin paling tinggi untuk jenis ekstrak kumis kucing adalah kumis kucing putih asal Cicurug sebesar 2.1860×10^{-1} % (b/b), sedangkan untuk jenis ekstrak pegagan, sambiloto dan tempuyung yaitu pegagan asal Bogor, sambiloto asal Bogor dan tempuyung asal Cicurug dengan masing-masing nilai sebesar 1.5325×10^{-1} %, 0.5787×10^{-1} % dan 0.5601×10^{-1} %. Oleh karena itu, analisis selanjutnya untuk pengujian toksisitas dan antihipertensi menggunakan kumis kucing putih Cicurug, pegagan Bogor, sambiloto Bogor dan tempuyung Bogor.



Grafik 1. Kadar flavonoid dari masing-masing simplisia

3.2. Kadar Air dan Rendemen Ekstrak

Hasil analisis kadar air simplisia dan rendemen ekstrak, memperlihatkan bahwa kadar air simplisia tanaman kumis kucing, pegagan, sambiloto dan tempuyung yang berasal dari Manoko sesuai dengan standar kadar air yang baik untuk simplisia, yakni lebih kecil dari 10 %. Simplisia tanaman yang berasal dari daerah Bogor memiliki kadar air yang sesuai dengan standar untuk simplisia tanaman sambiloto dan tempuyung, namun tidak pada simplisia tanaman pegagan dengan kadar air mencapai 12 %. Sedangkan simplisia tanaman yang berasal dari daerah Cicurug baik kumis kucing, pegagan, sambiloto dan tempuyung memiliki kadar air melebihi 10 %.

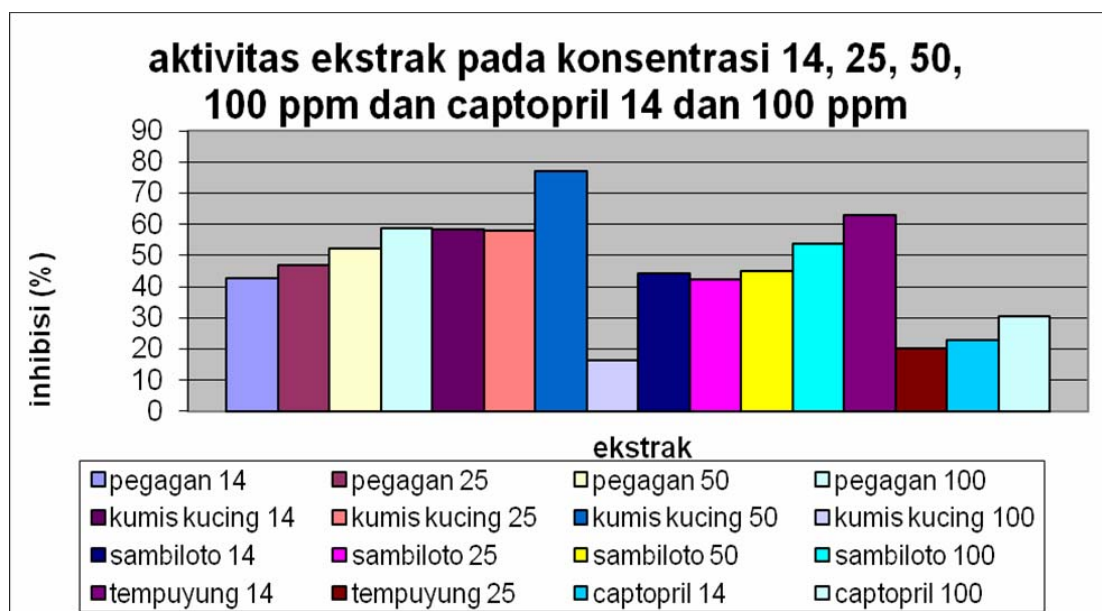
Rendemen ekstrak yang dihasilkan dari masing-masing simplisia dengan pelarut etanol 30% sangat bervariasi, berturut-turut untuk kumis kucing putih, pegagan, sambiloto dan tempuyung adalah sebesar 6.82 %, 5.96 %, 7.12 % dan 9.05 %.

3.3. Pengujian Toksisitas Larva Udang

Hasil pengujian toksisitas larva udang menunjukkan bahwa ekstraksi pegagan dengan etanol 30 % menghasilkan ekstrak yang memiliki toksisitas paling tinggi yaitu 485,68 ppm. Sedangkan ekstrak kumis kucing, sambiloto dan tempuyung memiliki toksisitas rendah yaitu masing-masing 1211,18 ppm untuk ekstrak sambiloto dan tempuyung, 1254,83 ppm untuk ekstrak kumis kucing.

3.4. Daya Inhibisi Ekstrak Tunggal dan Gabungan Pegagan, Tempuyung, Sambiloto, dan Kumis Kucing terhadap Aktivitas Enzim Ace Secara *in vitro*

Berdasarkan hasil pengujian semua jenis ekstrak tunggal pada konsentrasi 14 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm, diketahui bahwa masing-masing jenis ekstrak memiliki kemampuan penghambatan aktivitas ACE tertinggi secara *in vitro* pada konsentrasi yang berbeda-beda. Kumis kucing memiliki inhibisi tertinggi sebesar 76,98 % pada konsentrasi 50 ppm, pegagan memiliki inhibisi tertinggi sebesar 58,69 % pada konsentrasi 100 ppm, sambiloto memiliki inhibisi tertinggi sebesar 53,35 % pada konsentrasi 100 ppm dan tempuyung memiliki inhibisi tertinggi sebesar 62,88 % pada konsentrasi 14 ppm. Semua jenis ekstrak menunjukkan kemampuan penghambatan lebih besar daripada kontrol positif yakni kaptopril baik pada konsentrasi 14 ppm sebesar 22,87 % dan konsentrasi 100 ppm sebesar 30,49 %.



Grafik 2. Daya inhibisi ekstrak tunggal terhadap aktivitas enzim ACE secara *in vitro* dibandingkan dengan kaptopril sebagai kontrol positif

4. KESIMPULAN

Kadar flavonoid dari semua tanaman dari berbagai tempat, hasil menunjukkan bahwa kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari kumis kucing putih Cicurug diikuti kumis kucing ungu Manoko dan pegagan Bogor. Untuk pegagan selain yang berasal dari Bogor, pegagan dengan nomor harapan CASI 007 dan CASI 016 yang mempunyai kandungan flavonoid tinggi. Ekstraksi tanaman kumis kucing, pegagan, sambiloto dan tempuyung dengan etanol 30 % menghasilkan potensi aktivitas antihipertensi dalam penghambatannya terhadap enzim ACE secara *in vitro*. Semua ekstrak tunggal kecuali

ekstrak tempuyung dapat menghambat aktivitas enzim ACE secara *in vitro* secara signifikan bila dibandingkan dengan kaptopril, dengan ekstrak kumis kucing 50 ppm mempunyai daya inhibisi tertinggi sebesar 76,98 % yang melebihi captopril (30,49 %) sebagai kontrol positif atau obat hipertensi yang biasa diresepkan oleh dokter. Daya inhibisi tersebut diduga karena ekstrak tanaman-tanaman obat tersebut mengandung senyawa flavonoid. Maka ekstrak kumis kucing berpotensi dikembangkan sebagai obat antihipertensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Fraga CG. 2006. Inhibition of Angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *J. Agric. Food Chem.* 54:229-234.
- Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Keen CL, Fraga CG. 2003. Inhibition of Angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. *FEBS Lett.* 555:597-600.
- Darusman LD, Iswantini D, Susi A. 2009. Formulasi dan mikroenkapsulasi ekstrak pegagan dan tempuyung sebagai antihipertensi: Daya inhibisinya terhadap ACE secara *in vitro*. Laporan akhir Penelitian Strategis Internasional.
- Iswantini D, Dwieka AM, dan Latifah K Darusman. 2008. Inhibisi ekstrak air dan etanol herba kumis kucing dan daun salam terhadap aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vitro*, Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXXV, Gedung Dewan Riset Nasional, Puspiptek, Serpong, Indonesia, 218-231, 13-14 November 2008. ISSN: 2085-3122.
- Iswantini D, Latifah K Darusman, Chintya Galuh TW. 2009a. Potensi Ekstrak Tempuyung (*Sonchus arvensis*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri*) sebagai Anti Asam Urat: Aktivitas Inhibisinya terhadap Xantin Oksidase, Prosiding Seminar Nasional Sains II 2009 FMIPA IPB, Bogor-Indonesia, 89-102, 14 November 2009. ISBN: 978-979-95093-5-2.
- Iswantini D, Gustini Syahbirin, Maya PS. 2009b. Inhibisi Ekstrak Air dan Etanol Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase secara *In Vitro*, Prosiding Seminar Nasional Sains II 2009 FMIPA IPB, Bogor-Indonesia, 59-72, 14 November 2009. ISBN: 978-979-95093-5-2.
- Iswantini D. 2005. Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) and seledri (*Apium graveolans* L.) as anti-gout: *in vitro*, *in vivo* assays and bioactive compounds. *International Conference On Medicinal Plants: Sustainable Management and Utilization of Medicinal Plant Resources*. Kuala Lumpur, 5-7 Des 2005. Malaysia: Universiti Putra Malaysia dan Jabatan Perhutanan Semenanjung Malaysia. hlm 242-253.
- Cushman, DW and Cheung, HW. 1981. Spectrophotometric Assay and Properties of The Angiotensin Converting Enzyme of The Rabbit Lung. *Biochem. Pharmacol.* 20 : 1637 – 1648.
- DEPKES RI. Hipertensi Faktor Risiko Utama Penyakit Kardiovaskular, [terhubung berkala] www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=3348 [12 November 2009].

- Handa SS, Rakesh DD, Vasisht K. 2006. Compendium of medicinal and aromatic plants ASIA. Italia: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Handayani L dan Budijanto D. 1997. Efek ramuan buah mengkudu dan daun kumis kucing untuk menurunkan tekanan darah pada penderita hipertensi. [terhubung berkala].
<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/10EfekRamuanBuahMengkudu116.pdf/10EfekRamuanBuahMengkudu116.html>. [30 Mei 2010].
- Hansen, K, Nyman, U, Smith, UW, Adersen, A, Gudiksen, L, Rajasekharan, S dan Pushpangadan, P. 1995. In vitro Screening of Traditional Medicines for Anti-hypertensive Effect Based on Inhibition of The Angiotensin Converting Enzyme (ACE). *J. Ethnopharmacol.* 48 : 43 – 51.
- Lucas-Filho et al. 2010. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz. *Phytomed.* 17:383-387.
- Muangnoi *et.al.* 2009. Anti-inflammatory activities of extracts of Thai spices and herbs with lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 murine macrophages. *J Med Food* 12: 1213–1220.
- Ojeda D et al.. 2009. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin and cyaanidin-3-o-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *J. Eth. Pharm.* In press.
- Tsutsumi, Y, Fuji, N, Nishida, T, Soda, R, dan Oshiman, K. 2000. In Vitro Screening of Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Activities in Traditional Plant Medicines of Indonesia and Peru. *Nat Med* 54: 7 – 13.
- UPT-BALAI INFORMASI TEKNOLOGI LIPI. 2009. Hipertensi. [terhubung berkala].
http://www.bit.lipi.go.id/pangan_kesehatan/artikel_hipertensi/tanaman_obat.pdf. [27 Mei 2010].
- Wu J, Muir AD. 2008. Isoflavone content and its potential contribution to the antihypertensive activity in soybean angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides". *J. Agric. Food. Chem.* 56:9899-9904.
- Zhao et.al. 2007. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate. *Proc Biochem.* 42: 1586–1591.

**DAYA INHIBISI EKSTRAK RIMPANG JAHE MERAH DAN KULIT KAYU MANIS
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SIKLOOKSIGENASE-2 DAN ENZIM XANTIN
OKSIDASE SECARA *In Vitro***

Christofferus SY² dan Dyah Iswantini^{1,2}

¹ Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl.Taman Kencana no 3 Bogor.

² Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga, Bogor. E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan daya inhibisi ekstrak air dan etanol dari rimpang jahe merah dan kulit kayu manis terhadap aktivitas siklooksigenase 2 (COX-2) dan xantin oksidase (XO) secara *in vitro* yang dibandingkan dengan diklofenak, ibuprofen dan alopurinol berturut-turut sebagai kontrol positif obat antiinflamasi dan antigout. Berdasarkan uji fitokimia, senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak air dan etanol rimpang jahe merah meliputi alkaloid, steroid, dan flavonoid, sedangkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak air kulit kayu manis meliputi alkaloid, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tanin. Hasil analisis probit terhadap ekstrak air dan etanol rimpang jahe merah dan kulit kayu manis menunjukkan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 143,85 ppm, 108,37 ppm, 124,83 ppm, dan 106,71 ppm. Ekstrak etanol rimpang jahe merah menunjukkan daya inhibisi yang sangat rendah terhadap aktivitas COX-2 (8,39%) dibandingkan kontrol positif diklofenak (94,50%) dan ibuprofen (92,29%). Ekstrak air dan etanol kulit kayu manis yang memiliki daya inhibisi lebih dari 50% terhadap XO, yaitu sebesar 54,64% dan 56,80%, dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 69,45 ppm dan 63,23 ppm. Ekstrak air dan etanol kulit kayu manis dapat menghambat aktivitas xantin oksidase secara *in vitro*.

Kata kunci: daya inhibisi, rimpang jahe merah, kulit kayu manis, enzim Cox-2, enzim xantin oksidase, *in vitro*

1. PENDAHULUAN

Beberapa penelitian mengenai khasiat rimpang jahe merah telah dilakukan, seperti campuran rimpang jahe merah dan mengkudu sebagai obat penanganan tuberkolosis (Evi 2006). Setelah melakukan penelusuran paten pada situs kantor paten Amerika (www.uspto.gov) pada tanggal 14 Agustus 2008, telah terdapat paten mengenai jahe sebagai obat rematik dan antiinflamasi. US Patent No. 6713096 tahun 2004 (Cho & Suk 2004) dan US Patent No. 6949260 tahun 2005 (Krumhar 2005) memuat khasiat *Zingiber officinale* sebagai antiinflamasi. Paten-paten tersebut tidak memuat khasiat jahe merah sebagai antiinflamasi, baik dalam ekstrak tunggal maupun gabungan, sehingga dilakukan studi mengenai daya inhibisi ekstrak rimpang jahe merah terhadap aktivitas sikklo oksigenase 2.

Kulit kayu manis merupakan salah satu tanaman obat yang berasal dari Indonesia. Lee *et al.* (2005) menyatakan bahwa ekstrak metanol dalam fraksi etil asetat dan n-butanol memiliki kemampuan menghambat xantin oksidase, kayu manis berkhasiat sebagai antirematik dan analgesik.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai daya inhibisi ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Linn. var. *Rubrum*) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap aktivitas enzim siklooksigenase 2 (COX-2) dan xantin oksidase (XO) penyebab rematik dan asam urat.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Linn. var. *Rubrum*), kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), alopurinol dan kit ELISA.

Alat yang digunakan ialah ELISA *reader*, dan spektrofotometer UV-Vis Hitachi.

2.2. Metode Penelitian

Penentuan kadar air (AOAC 1984). Kadar air ditentukan dengan metode dari *Association of Official Analytical Chemist*.

Ekstraksi air dan etanol (BPOM 2004). Serbuk rimpang jahe merah dan kulit kayu manis diekstraksi dengan pelarut air menggunakan metode maserasi selama 6 jam sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses diulangi 1 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan radas penguap berputar hingga diperoleh ekstrak kental. Hal yang sama dilakukan juga untuk pelarut etanol 70%.

Uji Fitokimia. Uji fitokimia yang dilakukan, yaitu uji alkaloid, uji triterpenoid, uji steroid, uji saponin, uji flavonoid, dan uji tanin.

Uji Toksisitas Ekstrak terhadap *A. salina* L dengan Menentukan Nilai LC₅₀. Kista *Artemia salina* L ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi air laut yang sudah disaring, setelah diaerasi kista dibiarkan selama 48 jam di bawah pencahayaan lampu agar menetas sempurna. Larva yang sudah menetas diambil untuk digunakan dalam uji toksisitas.

Uji Daya Inhibisi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah terhadap Enzim COX-2 Secara *In Vitro* (Cayman Chemical Catalog No. 560131). Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah konsentrasi di bawah LC₅₀nya. Uji daya inhibisi dilakukan dengan metode ELISA, dengan menggunakan *COX Inhibitor Screening Assay Kit (Cayman*

Chemical Catalog No. 560131), kemudian dibandingkan dengan produk komersil yang ada di pasaran, yaitu diklofenak, ibuprofen dan antalgin.

Uji Daya Inhibisi Ekstrak Air dan Etanol Rimpang Jahe Merah dan Kulit Kayu Manis terhadap Enzim XO Secara *In Vitro* (Tamta *et al.* 2005). Uji daya inhibisi ekstrak air dan etanol rimpang jahe merah dan kulit kayu manis terhadap xantin oksidase dilakukan pada kondisi optimumnya. Menurut Tamta *et al.* (2005), yaitu pada waktu inkubasi 45 menit, suhu 20°C, pH 7,5, konsentrasi xantin oksidase 0,1 unit/ml, dan konsentrasi substrat (xantin) 0,7 mM. Daya inhibisi yang diperoleh dibandingkan dengan produk komersil yang ada di pasaran, yaitu alopurinol.

Penentuan IC₅₀. *Inhibition concentration 50* atau IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi minimal ekstrak yang dapat menghambat enzim sampai 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dari masing-masing kurva ekstrak sampel dengan memasukkan nilai $Y = 50$.

$$Y = a + bX \text{ (fungsi linear)}$$

$$Y = aX^2 + bX + c \text{ (fungsi kuadrat)}$$

$$Y = a + b \ln(X) \text{ (fungsi ln)}$$

Keterangan:

a dan b = konstanta

X = IC₅₀

Dipilih satu persamaan yang paling sesuai untuk masing-masing sampel dengan melihat nilai R² tertinggi yang diperoleh.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kadar air

Kadar air yang diperoleh dari rimpang jahe merah dan kulit kayu manis masing-masing adalah 7,34% dan 9,37%. Menurut Winarno (1997), yaitu bila kadar air yang terkandung dalam suatu bahan kurang dari 10%, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi.

3.2. Ekstraksi

Rendemen ekstrak air rimpang jahe merah dan kulit kayu manis masing-masing 13,58% dan 9,61%. Rendemen ekstrak etanol rimpang jahe merah dan kulit kayu manis masing-masing 6,28% dan 28,89%. Rendemen ekstrak etanol rimpang jahe merah yang diperoleh sedikit di bawah standar yang ditetapkan oleh BPOM, yaitu kurang dari 6,6%, sedangkan rendemen ekstrak kulit kayu manis sudah memenuhi standar.

3.3. Uji Fitokimia

Senyawa metabolit sekunder dapat diketahui dengan uji fitokimia.

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak air rimpang jahe merah dan kulit kayu manis

Golongan senyawa	Hasil uji	
	Rimpang Jahe Merah	Kulit Kayu Manis
Alkaloid	+	+
Triterpenoid	-	+
Steroid	++	-
Saponin	-	+
Flavonoid	+	+
Tanin	-	++

Ket : (+) tingkat intensitas warna, (-) menunjukkan senyawa metabolit sekunder tidak terdapat pada ekstrak.

Tabel 2. Uji fitokimia ekstrak etanol rimpang jahe merah dan kulit kayu manis

Golongan senyawa	Hasil uji	
	Rimpang Jahe Merah	Kulit Kayu Manis
Alkaloid	+	+
Triterpenoid	-	-
Steroid	++	-
Saponin	-	+
Flavonoid	+	+
Tanin	-	+++

Ket : (+) tingkat intensitas warna, (-) menunjukkan senyawa metabolit sekunder tidak terdapat pada ekstrak.

Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan golongan senyawa yang terdapat dalam masing-masing ekstrak berdasarkan hasil uji fitokimia. Aroma jahe dihasilkan oleh minyak atsiri yang dikandung jahe, yang sebagian besar merupakan golongan monoterpenoid, dan seskiterpenoid (Ali *et al.* 2008). Komponen-komponen tersebut dapat terdegradasi menjadi senyawa kurang beraroma akibat adanya pengeringan. Hal ini ditunjukkan dengan hasil negatif senyawa golongan terpenoid baik pada ekstrak air maupun etanol rimpang jahe merah.

3.4. Uji Toksisitas Larva Udang

Uji toksisitas LC₅₀ menggunakan larva udang *A. salina* L dilakukan dengan konsentrasi ekstrak sebesar 10, 100, dan 1000 ppm. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu sampel bersifat bioaktif.

Tabel 3. Nilai LC₅₀ ekstrak rimpang jahe merah dan kulit kayu manis terhadap *A. salina* L

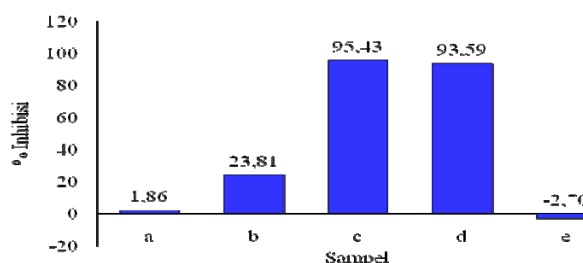
Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Air Rimpang Jahe Merah	143,85
Air Kulit Kayu Manis	124,83
Etanol Rimpang Jahe Merah	108,37
Etanol Kulit Kayu Manis	106,71

Tabel 3 menunjukan nilai LC₅₀ masing-masing ekstrak. Setiap ekstrak tersebut memiliki potensi bioaktif dan dapat dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki nilai LC₅₀ di bawah 1000 ppm. Nilai ekstrak air rimpang jahe merah dan kulit kayu manis menunjukkan bahwa ekstrak etanol lebih bersifat bioaktif daripada ekstrak air, karena dengan konsentrasi yang lebih rendah dapat mematikan 50% populasi larva udang. Nilai

LC₅₀ masing-masing ekstrak dapat dijadikan batas konsentrasi tertinggi pada penentuan ragam konsentrasi ekstrak dalam uji enzimatis aktivitas siklooksigenase 2 dan xantin oksidase secara *in vitro*.

3.5. Uji Daya Inhibisi Ekstrak Rimpang Jahe Merah terhadap Aktivitas COX-2

Uji daya inhibisi ekstrak jahe merah terhadap aktivitas COX-2 dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 50 dan 100 ppm, yaitu konsentrasi di bawah nilai LC₅₀. Ekstrak yang diuji adalah ekstrak etanol karena berdasarkan hasil uji toksisitasnya, ekstrak tersebut lebih bersifat bioaktif dibanding dengan ekstrak air dan merupakan metode standar yang sesuai dengan monografi BPOM untuk menghasilkan sediaan obat herbal yang aman dan terstandar.



Gambar 2. Persen inhibisi sampel terhadap aktivitas COX-2 secara *in vitro*

Keterangan:

a = Ekstrak Rimpang Jahe Merah 50 ppm

c = Diklofenak 0,20 mg/100 g

e = Antalgin 6,12 mg/100 g

b = Ekstrak Rimpang Jahe Merah 100 ppm

d = Ibuprofen 2,45 mg/100 g

Gambar 2. menunjukkan hasil uji daya inhibisi ekstrak etanol rimpang jahe merah terhadap aktivitas COX-2. Daya inhibisi ekstrak etanol yang rendah diduga disebabkan kecilnya senyawa aktif yang memiliki potensi inhibisi terhadap COX-2 yang terdapat pada ekstrak tersebut. Kandungan oleoresin seperti gingerol dan sogaol dalam rimpang jahe merah memiliki aktivitas inhibisi yang tinggi daripada komponen-komponen lain, kandungan gingerol ekstrak etanol rimpang jahe merah dengan metode maserasi hanya sekitar 2,44%. Nilai tersebut masih di bawah standar yang ditetapkan BPOM, yaitu lebih dari 2,81%.

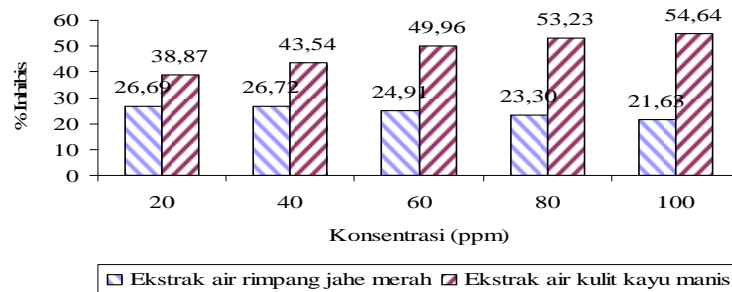
3.6. Uji Daya Inhibisi Ekstrak Rimpang Jahe Merah dan Kulit Kayu Manis terhadap Aktivitas XO

Persamaan linear kurva standar yang diperoleh adalah $Y = 0,2688 + 2,0315X$ dan nilai $R^2 = 90,71\%$. Serapan xantin dengan penambahan ekstrak yang terukur dilambangkan dengan Y, dan X adalah konsentrasi xantin sisa yang tidak terkonversi menjadi asam urat. Konsentrasi tersebut dikonversi menjadi konsentrasi xantin yang bereaksi untuk mengetahui seberapa besar aktivitas xantin oksidase dalam mengubah

xantin menjadi asam urat, sekaligus dapat ditentukan seberapa besar persen inhibisi ekstrak yang diujikan terhadap aktivitas xantin oksidase.

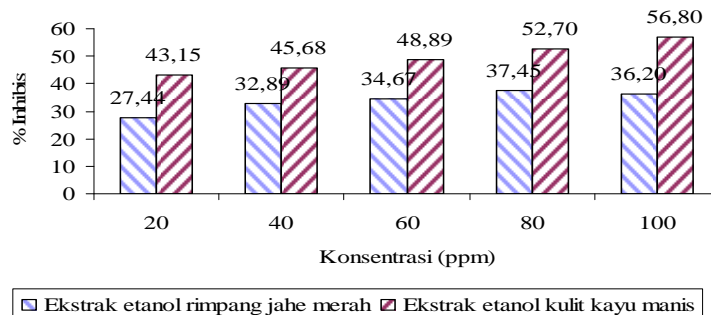
Panjang gelombang yang digunakan pada penelitian ini adalah 264 nm karena berdasarkan hasil optimisasi dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis Hitachi, panjang gelombang maksimalnya adalah 264 nm. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, karena dimungkinkan masih mengandung ion-ion pengganggu yang mempengaruhi penyerapan maksimumnya.

Hasil uji menunjukkan bahwa semua ekstrak yang diuji memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan blanko. Hal ini menunjukkan bahwa semua ekstrak rimpang jahe merah dan kulit kayu manis berpotensi menghambat aktivitas xantin oksidase.



Gambar 3. Persen inhibisi aktivitas xantin oksidase ekstrak air

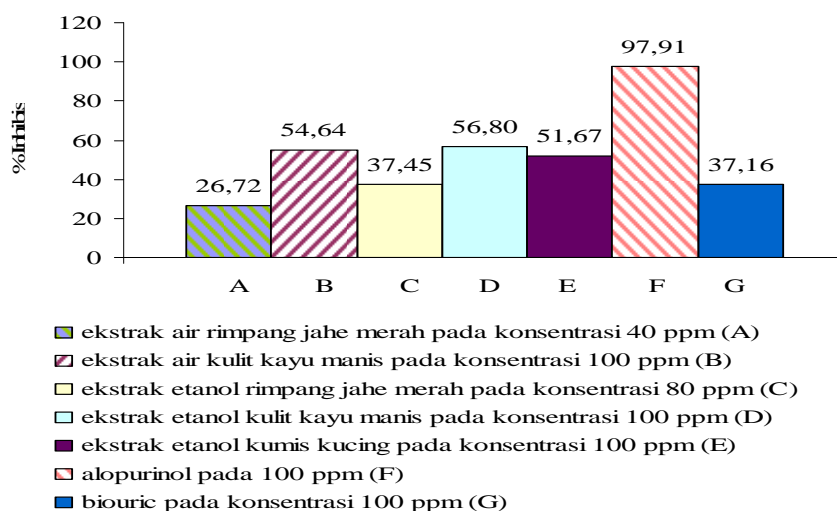
Gambar 3 menunjukkan daya inhibisi ekstrak air rimpang jahe merah dan kulit kayu manis terhadap aktivitas xantin oksidase. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat inhibisi terhadap xantin oksidase lebih banyak terdapat dalam ekstrak air kulit kayu manis, yang ditunjukkan dengan nilai yang lebih tinggi. Penurunan daya inhibisi ekstrak air rimpang jahe merah dapat disebabkan karena tidak adanya senyawa golongan terpenoid, rendahnya kandungan flavonoid, tidak diketahuinya kandungan gingerol, dan kemungkinan adanya senyawa yang bersifat aktivator terhadap xantin oksidase pada ekstrak kasar tersebut. Lin *et al.* (2000) menyatakan bahwa senyawa golongan flavonoid dapat menghambat aktivitas xantin oksidase.



Gambar 4. Persen inhibisi aktivitas xantin oksidase ekstrak etanol

Gambar 4 menunjukkan daya inhibisi ekstrak etanol rimpang jahe merah dan kulit kayu manis. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu manis memiliki daya inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol rimpang jahe merah. Hal ini diduga karena efek sinergis dari senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin dalam kulit kayu manis berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase. Penelitian Khare (2007) dan Umaheswari *et al.* (2007) menyatakan kandungan flavonoid, diterpenoid, triterpenoid, alkaloid yang terdapat dalam ekstrak metanol tanaman *Vivex negundo* L atau saponin dan polifenol dalam ekstrak air tanaman *Coccinia grandis* L serta saponin, flavonoid dan tanin dalam ekstrak tanaman *Rheum officinale* dapat berperan dalam menghambat xantin oksidase.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol kulit kayu manis memiliki daya inhibisi yang lebih besar dari 50% pada konsentrasi di bawah LC₅₀. Hasil ini memberi informasi bahwa ekstrak tersebut selain memiliki bioaktivitas juga berpotensi sebagai obat asam urat. Noro *et al.* (1983) menyatakan bahwa ekstrak-ekstrak dikatakan berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase dan dapat dimanfaatkan sebagai obat asam urat bila memiliki daya inhibisi lebih besar dari 50%.



Gambar 5. Persen inhibisi terbaik dari seluruh ekstrak dan kontrol positif terhadap xantin oksidase

Kurva estimasi ditentukan menggunakan data persen inhibisi masing-masing ekstrak dengan program *Minitab* versi 14. Hasil pengujian menunjukkan bahwa daya inhibisi ekstrak air rimpang jahe merah memiliki R sebesar 99,00% pada persamaan kuadratik. Ekstrak etanol rimpang jahe merah digunakan persamaan logaritmik dengan R sebesar 96,47%. Persamaan yang digunakan untuk menentukan R ekstrak air dan etanol kulit kayu manis adalah persamaan linear dengan nilai R masing-masing 97,57% dan 99,55%. Penambahan konsentrasi ekstrak mempunyai kaitan erat dengan daya

inhibisinya terhadap enzim xantin oksidase dan secara statistik terdapat pengaruh yang signifikan pada penambahan konsentrasi ekstrak terhadap daya inhibisinya.

Tabel 4. Persamaan ekstrak rimpang jahe merah dan kulit kayu manis

Ekstrak	Persamaan
Air Rimpang Jahe Merah	$Y = 27,11 + 1,04 \times 10^{-3} X + 5,73 \times 10^{-4} X^2$
Etanol Rimpang Jahe Merah	$Y = 10,27 + 5,9345 \ln(X)$
Air Kulit Kayu Manis	$Y = 35,68 + 0,0206 X$
Etanol Kulit Kayu Manis	$Y = 39,15 + 0,1716 X$

Nilai konsentrasi dari seluruh ekstrak yang dapat menghambat xantin oksidase sebesar 50% ditunjukkan dalam Tabel 5. Nilai LC_{50} yang merupakan batas konsentrasi maksimum ekstrak yang aman digunakan untuk pengujian enzim xantin oksidase, sedangkan nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan konsentrasi efektif dari masing-masing ekstrak untuk menghambat aktivitas xantin oksidase.

Tabel 5. Nilai IC_{50} ekstrak rimpang jahe merah dan kulit kayu manis

Ekstrak	IC_{50} (ppm)
Air Rimpang Jahe Merah	198,96
Etanol Rimpang Jahe Merah	808,44
Air Kulit Kayu Manis	69,45
Etanol Kulit Kayu Manis	63,23

KESIMPULAN

Ekstrak etanol rimpang jahe merah pada konsentrasi 100 ppm menunjukkan daya inhibisi sebesar 23,81% terhadap aktivitas siklookasigenase 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe merah memiliki potensi yang rendah menghambat aktivitas siklooksigenase 2 dan sebagai obat rematik. Ekstrak air dan etanol kulit kayu manis memiliki daya inhibisi di atas 50%, yaitu sebesar 54,64% dan 56,80%, dengan nilai IC_{50} 69,45 dan 63,23 ppm pada konsentrasi 100 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol kulit kayu manis berpotensi sebagai obat asam urat dengan mekanisme menghambat aktivitas xantin oksidase. Daya inhibisi tertinggi terhadap xantin oksidase ditunjukkan oleh ekstrak etanol kulit kayu manis (56,80%).

DAFTAR PUSTAKA

Ali BH, Blunden G, Tanira MO, dan Nemmar A. 2008. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.). A review of recent research. *Food Chem. Tox* 46: 409-420.
 [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1984. *Official methods of analysis*. Virginia: AOAC.

- [BPOM RI] Balai Penelitian Obat dan Makanan, Republik Indonesia. 2004. *Fitofarmaka dan Obat Herbal Terstandar*. Jakarta: BPOM RI.
- Cho, Suk H. 2004. Dietary supplements and methods for treating pain and inflammation. US Patent 6713096.
- Iswantini D. 2005. Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) and seledri (*Apium graveolans* L.) as anti-gout: in vitro, in vivo assays and bioactive compounds. *International Conference On Medicinal Plants: Sustainable Management and Utilization of Medicinal Plant Resources*. Kuala Lumpur, 5-7 Des 2005. Malaysia: Universiti Putra Malaysia dan Jabatan Perhutanan Semenanjung Malaysia. hlm 242-253.
- Evi S, Elin YS dan Tintin G. 2006. Khasiat Ekstrak Buah Mengkudu dan Rimpang Jahe Merah Sebagai Obat Penunjang dalam Penanganan Tuberkulosis. [Tesis]. Sekolah Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>
- Lee HJ, Hyun EA, Weon JY, Byung HK, Man HR, Hee KK, Jae YC dan Eun S Y. 2005. In vitro anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts. [Journal]. <http://www.sciencedirect.com>
- Lin LZ, Lindenmaier M, Yang J, Cleary M, Qiu SX. 2000. LC/ESI/MS study of the flavonoid glycoside malonates of red clover (*Trifolium pratense*). *J Agric Food Chem* 48: 354-356.
- Khare CP. 2007. Indian medical plants. *Library of Congress Control Number*: 2007922446.
- Krumhar KC. 2005. Method for treatment of inflammation and pain in mammals. *US Patent Document No.* 6949260. <http://www.uspto.gov>. [14 Agustus 2008].
- Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S. 1983. Inhibition of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chem Pharm Bull* 31:3984-3987.
- Tamta H, Sukirti K, Anup KM. 2005. Biochemical characterization of some pyrazolopyrimidine-based inhibitors of xanthine oxidase. *Biochemistry* 71:49-50.
- Umaheswari M *et al.* 2007. Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plant. *J Ethnopharmacol Comm* 109:547-551.
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

KINETIKA INHIBISI EKSTRAK TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) TERHADAP ENZIM XANTIN OKSIDASE SECARA *In Vitro*

Anggi Susanti² dan Dyah Iswanti^{1,2}

1 Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl.Taman Kencana no 3 Bogor
Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga, Bogor
E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

Abstrak

Tempuyung merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki potensi dalam mengobati asam urat. Hal tersebut didukung oleh penelitian kami sebelumnya yang menyatakan tempuyung dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase sampai 83.02%, namun belum diketahui tipe kinetika inhibisi yang terjadi. Penelitian tipe kinetika inhibisi dari suatu senyawa yang akan digunakan sebagai obat, penting dilakukan untuk mengetahui mekanisme hambatan yang terjadi. Hal tersebut yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol tempuyung memiliki IC_{50} pada 929,27 ppm. Kinetika inhibisi ekstrak kasar tempuyung pada 1000 ppm menyebabkan peningkatan nilai K_M (5,78 mM) dan tanpa perubahan V_{max} . Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan inhibisi hambatan yang terjadi mengarah pada mekanisme inhibisi kompetitif.

Kata kunci : *Sonchus arvensis* L., enzim xantin oksidase, kinetika inhibisi, *in vitro*

1. PENDAHULUAN

Gout merupakan penyakit atau sindrom yang disebabkan oleh adanya pembengkakan atau inflamasi karena menumpuknya kristal monosodium urat pada tulang sendi sebagai akibat dari tingginya kadar asam urat dalam darah (Johnstone 2005). *Gout* dalam dasawarsa terakhir ini baik di negara-negara maju maupun yang sedang berkembang semakin meningkat terutama pada pria usia 40-50 tahun seperti di Amerika, *gout* menyerang lebih dari 5 juta penduduk (Yu 2006). Tercatat pada tahun 2001, penderita asam urat di Pulau Jawa berjumlah 1.7% dari total populasi penduduk Jawa (Heryanto 2003).

Pengobatan komplikasi asam urat bisa dilakukan dengan pengobatan secara medis melalui pemberian allopurinol (Connor 2009), akan tetapi penggunaan allopurinol yang terlalu sering atau berlebihan dapat menimbulkan efek samping seperti sakit kepala, kebotakan, kegagalan ginjal dan hati, hingga resiko kematian akibat adanya difusi vaskuler (Sydpath 1999). Oleh karena itu, lebih sesuai bila menggunakan obat tradisional karena efek samping yang ditimbulkannya kecil. Tanaman obat yang sering digunakan untuk mengobati *gout* adalah alang-alang, belimbing wuluh, bangle, brotowali, cengkeh,

kumis kucing, gandarusa, daun sendok, kapulaga, kembang pukul empat, kemukus, seledri, sidaguri, dan tempuyung (Dalimartha 2006).

Penelitian mengenai khasiat tanaman obat sebagai anti asam urat melalui mekanisme inhibisi enzim xantin oksidase telah banyak dilakukan seperti di Amerika (Owen *et al.* 1998), China (Kong *et al.* 2004), India (Behera *et al.* 2003; Umamaheswari *et al.* 2006), dan Taiwan (Tung *et al.* 2010). Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa tanaman obat yang diteliti dapat menghambat enzim xantin oksidase dengan daya inhibisi dari 20% sampai 80%. Berdasarkan hasil penelitian di Indonesia, beberapa tanaman asli Indonesia dapat menghambat enzim xantin oksidase diantaranya sidaguri Iswantini *et al.* (2003), seledri (Ramdhani 2004). gabungan ekstrak sidaguri dan seledri (Iswantni *et al.* 2004), tempuyung dan meniran (Wardani 2008). Izzah (2010) membuktikan bahwa ekstrak tunggal tempuyung dapat menghambat XO sebesar 83,02%. Selain itu, penelusuran melalui situs paten Amerika (www.uspto.gov) pada tanggal 4 Maret 2010, menunjukkan beberapa hasil penelitian yang memuat khasiat tanaman herba sebagai *antigout*, seperti sub keluarga Asteridae seperti *Carthamus tinctorious* (Zhang 2006; US Patent No. 7195790). US Paten publikasi No. 2004/0161480 A1 mengenai produk suplemen makanan yang mengandung seledri yang digunakan untuk mengatasi gangguan sendi pada mamalia (*in vivo*) yang diantaranya disebabkan oleh *gout* (Rose & Chrisope 2004), terdapat juga aplikasi paten mengenai makanan yang dikonsumsi untuk mengobati atau mencegah hiperurisemia dan mengobati *gout* yang mengandung kondroitin sulfat protein kompleks dan seledri, yaitu US Paten publikasi No. 2005/0222010 A1 (Murota *et al.* 2005).

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan salah satu jenis tanaman obat potensial di Indonesia. Penelitian yang mengungkap peran senyawa aktif pada tempuyung dalam menghambat enzim xantin oksidase pernah dilakukan (Chairul 1999), Wardani (2008) dan Izzah (2010), tetapi uji kinetika inhibisi ekstrak kasar untuk menentukan mekanismenya belum pernah dilakukan. Mekanisme hambatan yang terbentuk penting diketahui karena dapat menjelaskan kekuatan ikatan antara enzim sebagai target dan senyawa calon obat, apakah ikatan tersebut bersifat sementara (inhibisi kompetitif dan inhibisi unkompetitif) ataukah permanen (inhibisi nonkompetitif). Beberapa senyawa alam seperti flavonoid dan senyawa polifenol dilaporkan berperan sebagai inhibitor kompetitif terhadap enzim xantin oksidase, di antara senyawa itu adalah teaflavin, teaflavin-3-galat, teaflavin-3,3'-digalat, (-)- epigalokatekin-3-galat, dan asam galat (Jen *et al.* 2000), teaflavin-3,3'-digalat (Dew *et al.* 2005), serta apigenin-4'-O-(2"-O-p-coumaroyl)- β -D-glukopiranosida yang merupakan derivat apigenin (Jiao *et al.* 2006). Senyawa aktif dari tanaman seledri termasuk dalam golongan flavonoid

yaitu 5,7-dihidroksi-2-(4-hidroksipenil)-4H-I-benzopiran-4-on dan asam 2,3-dihidro-6-hidroksi-5-benzofuran karboksilat memiliki mekanisme inhibitor kompetitif (Nadinah 2007), senyawa aktif pada sidaguri termasuk golongan flavonoid dengan mekanisme kerja kompetitif (Iswantini *et al.* 2009), melanoxetin dan okanin menunjukkan pola inhibisi campuran (nonkompetitif dan kompetitif) (Tung 2010).

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Iswantini *et al.* 2010), yaitu ekstrak tunggal tempuyung mempunyai potensi untuk menghambat asam urat sebesar 83.02% sehingga sangat perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui mekanisme penghambatannya.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel tempuyung, CHCl_3 , MeOH, EtOH, NaOH, NH_4OH , H_2SO_4 , heksana, HCl, aseton, etil asetat, pereaksi Meyer, Dragendorf, dan Wagner, xantin dari sigma, buffer fosfat, enzim xantin oksidase dari sigma, kertas saring, dan air bebas ion.

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat kaca, cawan porselin, neraca analitik, *hotplate*, oven, desikator, incubator, rak tabung reaksi, *waterbath*, pH meter, autopipet, stopwatch, *vorteks mixer*, dan Instrumen Spektrofotometer UV Vis

2.2. Metode

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap, yaitu tahap persiapan sampel, penentuan kadar air, ekstraksi, uji fitokimia, uji inhibisi, dan uji kinetika.

2.2.1. Persiapan Sampel

Bahan baku tempuyung diperoleh dari kebun percobaan Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor. Semua bahan dipisahkan dari kotoran atau bahan-bahan asing lainnya lalu dicuci dan dirajang, kemudian sampel dikeringkan di udara terbuka. Uji pendahuluan seperti pengukuran kadar air dan uji fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak kasar tempuyung (AOAC 1984).

2.2.2. Uji Daya Inhibisi terhadap Enzim Xantin Oksidase

Uji daya inhibisi diawali dengan *scanning* panjang gelombang dan pembuatan kurva standar xantin pada berbagai konsentrasi. Uji daya inhibisi ekstrak kasar terhadap xantin oksidase dilakukan pada kondisi optimumnya. Kondisi optimum pengujian mengacu pada Iswantini (2003).

Ekstrak kasar dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah dengan variasi konsentrasi tertentu. Variasi konsentrasi didasarkan pada hasil uji sitotoksin (Wardani 2008). Selanjutnya kedalamnya ditambahkan larutan buffer kalium fosfat 50 mM pH 7.5

sampai volumenya menjadi 1.9 ml. Campuran kemudian ditambah 1 ml xantin 2.1 mM dan xantin oksidase 0.1 unit/ml sebanyak 0.1 ml lalu diinkubasi pada suhu 20°C selama 45 menit. Setelah masa inkubasi, ke dalam campuran dengan segera ditambahkan HCl 0.58 M sebanyak 1 ml untuk menghentikan reaksi. Campuran selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofometer UV pada panjang gelombang 269 nm.

2.2.3. Uji Kinetika Inhibisi terhadap Enzim Xantin Oksidase Secara *In vitro*

Prosedur uji kinetika inhibisi mirip dengan pelaksanaan uji penentuan daya inhibisi, hanya saja pada uji kinetika, konsentrasi substrat (xantin) divariasikan dan konsentrasi ekstrak dibuat konstan. Sebelum uji dilakukan perlu diketahui terlebih dahulu pada konsentrasi berapa ekstrak kasar memberikan hambatan maksimumnya. Ekstrak dengan konsentrasi yang memberikan daya inhibisi terbaik dan masih berada di bawah nilai LC_{50} -nya yang kemudian dijadikan kandidat bagi pelaksanaan uji kinetika inhibisi. Data yang diperoleh kemudian dikonversi dan diinterpretasikan ke dalam persamaan Lineweaver-Burk dalam bentuk grafik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Potensi ekstrak kasar tempuyung dalam mengobati asam urat dapat ditentukan dengan uji inhibisi ekstrak terhadap aktivitas enzim XO. Hasil uji pendahuluan menunjukkan simplisia tempuyung memiliki kadar air sebesar 11.4736 % dan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak kasar tempuyung mengandung flavonoid dan tannin. Adapun rendemen ekstrak kasar tempuyung diperoleh sebesar 20%.

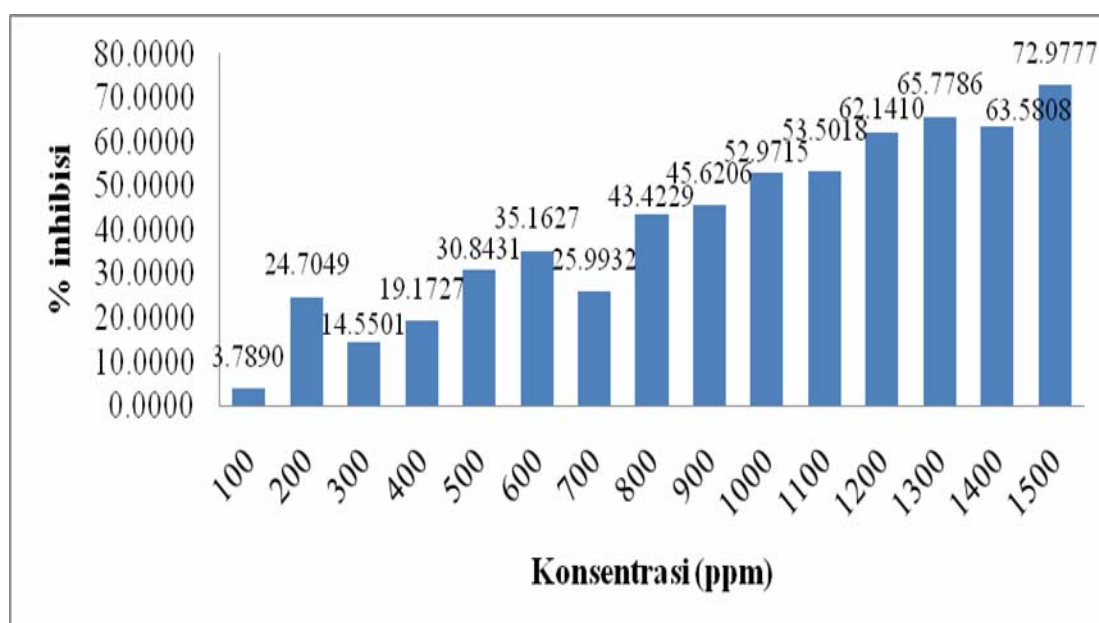
Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan sebelum uji inhibisi XO dengan rentang panjang gelombang 220-320 nm karena senyawa yang akan diukur tidak berwarna. Selain itu, senyawa xantin yang akan diukur diduga memiliki panjang gelombang 263 nm (Westerfeld *et al.* 1959). Hasil uji pencarian panjang gelombang maksimum diperoleh pada panjang gelombang 269 nm.

Uji inhibisi terhadap enzim xantin oksidase dilakukan pada ekstrak tempuyung dengan varian konsentrasi, mulai dari ekstrak 100 ppm sampai 1500 ppm. Variasi konsentrasi ini bertujuan untuk mencari konsentrasi terbaik dan memiliki daya inhibisi terbaik. Selain itu juga dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak (blanko) untuk melihat pengaruh inhibisi ekstrak terhadap aktivitas enzim yang kemudian diukur pada spektro dengan panjang gelombang 269 nm. Serapan yang terukur merupakan sisa xantin yang tidak terkonversi menjadi asam urat. Serapan ini nantinya dapat diubah menjadi konsentrasi xantin berdasarkan pada persamaan linear kurva standar yaitu $y=1,4957x+0,6353$ dengan nilai $r=0,9363$. Konsentrasi ini nantinya dapat

diubah menjadi konsentrasi xantin yang bereaksi sehingga dapat ditentukan seberapa besar aktivitas xantin oksidase dan seberapa besar persen inhibisi ekstrak yang diujikan terhadap aktivitas xantin oksidase.

Hasil uji berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa semua ekstrak yang diuji memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan blanko. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak tempuyung dapat berpotensi menghambat aktivitas xantin oksidase. Daya inhibisi yang didapatkan tidak seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak. Peningkatan yang tidak signifikan ini diduga adanya karakteristik komponen senyawa yang berbeda dalam sampel yang ikut terekstrak oleh etanol. Golongan senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai inhibitor ataupun aktivator enzim. (Harborne 1987).

Melihat tingginya daya inhibisi ekstrak kasar etanol tersebut (72.9777%) dengan konsentrasi 1500 ppm, menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol berpotensi sebagai obat asam urat. Hal ini diperkuat oleh Izzah (2010) yang melaporkan bahwa daya inhibisi ekstrak kasar tempuyung mencapai di atas 50%.

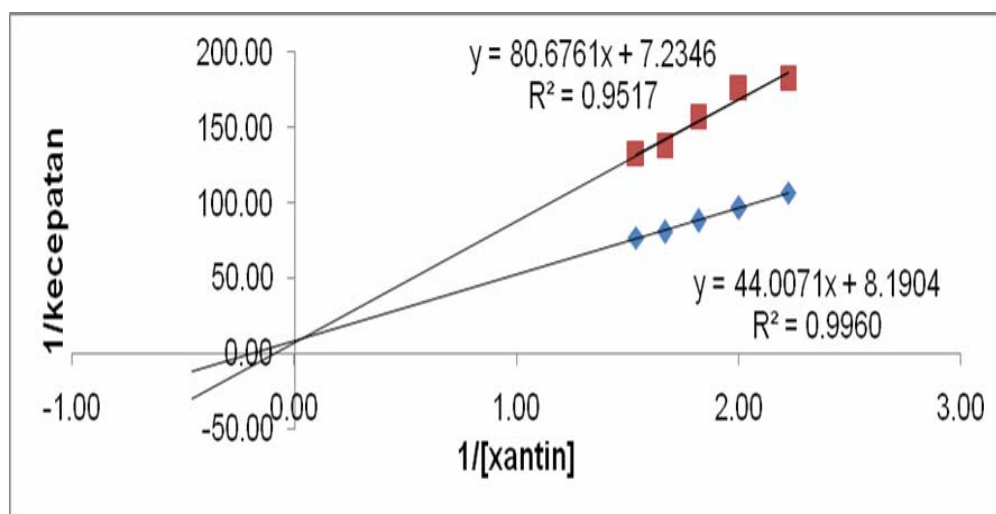


Gambar 1. Persen inhibisi ekstrak etanol tempuyung terhadap enzim xantin oksidase dalam berbagai konsentrasi.

Data persen inhibisi ekstrak kasar tempuyung dapat digunakan untuk mencari nilai IC_{50} , dengan cara memplot Log konsentrasi sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan yang didapatkan yaitu $y=56,4460x-117,5398$ dengan R^2 sebesar 0,8421. Berdasarkan persamaan tersebut didapat nilai IC_{50} sebesar 929,2723 ppm, artinya pada konsentrasi 929,2723 ppm ekstrak kasar tempuyung dapat menghambat sebesar 50%. Nilai ini tidak berbeda jauh dari yang didapatkan Wardani (2008), berdasarkan kurva estimasinya didapatkan IC_{50} sebesar 893,28 ppm.

Pada uji kinetika ini digunakan konsentrasi ekstrak kasar 1000 ppm, pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada nilai inhibisinya yang lebih dari 50% dengan konsentrasi yang masih dibawah nilai LC_{50} , yaitu 1942,7612 ppm (Wardani 2008). Selain itu alasan lain dipilih konsentrasi 1000 ppm adalah ekstrak tersebut tidak terlalu pekat karena dikhawatirkan keragaman senyawa yang terdapat pada ekstrak yang terlalu pekat dapat mengganggu reaksi enzimatik dan akan mempengaruhi hasil.

Hasil analisis kinetika enzim dapat ditentukan melalui bantuan grafik Michaelis-Menten atau turunannya Lineweaver-Burk. Grafik hasil analisis Lineweaver-Burk selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan analisis grafik diperoleh perubahan nilai K_M yang cukup signifikan dan perubahan V_{max} yang kecil. Pola kinetika yang terbentuk setelah penambahan ekstrak mengakibatkan peningkatan K_M sebesar 5,7761 mM dari 5,3733 mM menjadi 11,1494 mM dan perubahan V_{max} sebesar 0,0161 mM/menit dari 0,1221 mM/menit menjadi 0,1382 mM/menit. Kecilnya perubahan V_{max} diasumsikan tidak ada menurut Voet & Voet (2001). Berdasarkan peningkatan nilai K_M dan nilai V_{max} yang tetap inilah dapat dikatakan tipe hambatan yang terjadi mengarah pada jenis inhibisi kompetitif (Voet & Voet 2001).



Keterangan: ■ = 1/kecepatan ekstrak ◆ = 1/kecepatan standar

Gambar 2 Kinetika inhibisi ekstrak etanol tempuyung

Pada tipe hambatan kompetitif, inhibitor berkompetisi dengan substrat untuk memperebutkan sisi aktif enzim dan kejadian ini menyebabkan perubahan nilai K_M menjadi lebih besar dari keadaan normalnya. Besarnya daya afinitas inhibitor (α) terhadap enzim xantin oksidase dapat dihitung berdasarkan nisbah nilai K_M setelah ditambahkan inhibitor dengan K_M dalam keadaan normal ($11,1494 \text{ mM}/5,3733 \text{ mM}$). Berdasarkan persamaan yang terbentuk diketahui bahwa nilai α ekstrak kasar tempuyung sebesar 2,0750. Nilai α di atas menunjukkan bahwa inhibisi kompetitif yang terjadi cukup

kuat, seperti dijelaskan oleh Voet & Voet (2001) bahwa nilai afinitas inhibitor yang lebih besar dari 1 menunjukkan inhibisinya cukup kuat. Pola kinetika inhibisi kompetitif yang terjadi pada penelitian ini menguatkan penelitian sebelumnya (Jen *et al.* 2000) yang mengungkapkan bahwa senyawa alam seperti flavonoid dan senyawa polifenol dilaporkan berperan sebagai inhibitor kompetitif bagi xantin oksidase.

4. KESIMPULAN

Pengujian daya inhibisi ekstrak kasar tempuyung terhadap xantin oksidase menunjukkan adanya aktivitas hambatan dengan daya inhibisi mulai dari 3,7890-72,9777% pada rentang konsentrasi ekstrak 100-1500 ppm. Melalui uji inhibisi dapat diketahui nilai IC_{50} yaitu sebesar 929,27 ppm. Melalui uji kinetika diketahui bahwa mekanisme hambatan yang terbentuk antara ekstrak kasar tempuyung 1000 ppm dengan xantin oksidase adalah mekanisme inhibisi kompetitif.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC]. Association of Official Analytical Chemist. 1984. *Official Methods of Analysis*. Ed ke-14. Arlington: Association of Chemist.
- Behera BC, Adawadkar B, Makhija U. 2003. Inhibitory activity of xanthine oxidase and superoxide-scavenging activity in some taxa of the lichen family graphidaceae. *Phytomed* 10:536-543.
- Chairul. 1999. Tempuyung untuk menghadang asam urat. [terhubung berkala]. www.indonesia.com/intisari/1999/tempuyung.
- Conner, M., 2009. Allopurinol for pain relief : More than just crystal clearance. *Br. J. Pharmacol.* 156: 4-6.
- Dalimartha. 2006. *Resep Tumbuhan Obat untuk Asam Urat*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Dew TP, Day AJ, Morgan MRA. 2005. Xanthine Oxidase Activity in Vitro : Effects of Food Extract and Components. *J Agric Food Chem* 53: 6510-6515.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed. Ke-2. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB Press, Bandung.
- Heryanto R. 2003. *Biofarmaka: Definisi dan Fungsinya Dalam Pengobatan Gout*. Makalah dan Pelatihan Tanaman Obat dan Produksi Obat Tradisional, Pusat Studi Biofarmaka IPB.
- Iswantini D, Darusman LK. 2003. Effect of sidaguri extract as an uric acid lowering agent on the activity of xanthine oxidase enzyme. *Proceedings of International Symposium On Biomedicines*. Biopharmaca Research, Bogor Agricultural University.
- Iswantini D, Darusman LK, Rahminiwati M, Iskandar, Heryanto H, penemu; Institut Pertanian Bogor. 2 Agustus 2004. Formula Ekstrak Gabungan *Apium Graveolens* dan *Sida Rombifolia* L. sebagai Fitofarmaka untuk Penyakit Gout: Inhibitor Xantin Oksidase. ID P00200400339

- Iswantini D, Darusman L.K, Hidayat R. 2009. Indonesian sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) as antigout and inhibition kinetics of flavonoids crude extract on the activity of xantin oksidase. *J Biol Sci* 9: 504-508.
- Izzah, Dian Ifkarul. 2010. Ekstrak seledri (*Apium graveolens*), sidaguri (*Sida rhombifolia*), dan tempuyung (*Sonchus arvensis* L) sebagai antihipererurisemia secara in vitro dan in vivo [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Jen *et al.* 2000. Allopurinol in addition to 5-aminosalicylic acid based drugs for the maintenance treatment of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 14:1159–1162.
- Jioa RH, Ge HM, Shi DA, Tan RX. 2006. An Apigenin-Derived Xanthine Oksidase Inhibitor from *Palhinhae cernua*. *J Nat Prod.* 69 : 1089-1091.
- Johnstone A.2005. Gout; The Disease and Non-drug Treatment. *Hospital Pharmacist.* 12: 391-393.
- Kong, L.D., C. Yang, F. Ge, H.D. Wang and Y. Song Guo, 2004. A Chinese herbal medicine Ermiao wan reduces serum uric acid level and inhibits liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in mice. *J Ethnopharmacol.* 93: 325-330.
- Lee, Young H., 2003. *Biosensors*. Engineering Biotechnology Gateway Project. Drexel University
- Murota I, Nishikawa M, Tamai T, Yoshiaki K, Kihasa M, penemu; Maruha Corporation, Tokyo. 6 Oktober 2005. Composition for treating or preventing hyperurycemia. Pub no. US 2005/022210 A1.
- Nadinah. 2007. Kinetika Inhibisi Etanol Seledri (*Apium graveolens* L.) dan fraksinasinya terhadap enzim xantin oksidase serta penentuan senyawa aktifnya [Tesis]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Owen PL, Timothy Johns. 1998. Xanthin oksidase inhibitory activity of North American plant remedies used for gout [Abstract]. *J Ethnopharmacol* 64: 149-160.
- Ramdhani TH. 2004. Isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif seledri dalam menghambat aktivitas xantin oksidase [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Rose R, Chrisope GL, penemu; In Clover, Inc., Denver. 19 Agustus 2004. Product and method for treating joint disorder in vertebrates. Pub No. US 2004/0161480 A1.
- Sydpah. 1999. *Allopurinol Monitoring with Blood Oxypurinol Levels*. www. Jbconline.com.
- Tung *et al.* 2010. Inhibition of xanthine oxidase by *Acacia confusa* extracts and their Phytochemicals. *J Agric Food Chem*, 58 :781–786.
- Umamaheswari M. 2006. Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology* 109:547-51.
- Voet D, JG Voet & CW Pratt. 2001. *Biochemistry*. New York : John Wiley and Sons.
- Wardani CGT. 2008. Potensi ekstrak tempuyung dan meniran sebagai anti asam urat [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Voet D, JG Voet & CW Pratt. 2001. *Biochemistry*. John Willey and Sons, New York.
- Westerfield W, Richert D, Bloom R. 1959. The Inhibition of Xanthine and Succinic Oxidase by Carboxyl Reagents. *J Biol Chem* 234.1889. [http:// www.worthingtoniochem.com /XO/...](http://www.worthingtoniochem.com/XO/...)

- Yu Kuang-Hui. 2006. FebuXOstat: A novel non-purine selective inhibitor of xanthine oxidase for the treatment of hyperuricemia in gout. *70 Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 1:1.
- Zhang *et al.* 2006. EULAR evidence based recommendations for gout. Part I: Diagnosis. Report of a task force of the standing committee for international clinical studies including therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*. 65: 1301–1311.
- Zhang P, Yacilla P. 2007. Modification of cyclooxygenase and lipoxygenase activity with asteridae axtract and optionally boswellic acid. US Patent Document No.7195790 [terhubung berkala]. www.upsto.gov [4 Maret 2010].

PENGARUH EKSTRAK BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM KOLESTEROL OKSIDASE SECARA *In vitro***Dyah Iswantini^{1,2}, Deden Saprudin¹ dan R Aghyar Rudita¹**

¹ Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga, Bogor.
E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

² Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl. Taman Kencana no 3 Bogor.

Abstrak

Ekstrak kasar bangle yang mengandung flavonoid, steroid, dan tanin yang mampu meningkatkan aktivitas lipase mungkin dapat juga meningkatkan aktivitas kolesterol oksidase, seperti halnya dwifungsi daun jati belanda sebagai pelangsing dan penurun kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh beberapa ekstrak kasar bangle (*Z.cassumunar*) dan gabungannya terhadap aktivitas enzim kolesterol oksidase yang diukur secara *in vitro*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak air seduhan dan ekstrak etanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan steroid. Ekstrak kasar flavonoid hanya mengandung flavonoid, ekstrak kasar tanin hanya mengandung tanin, dan ekstrak kasar steroid mengandung flavonoid dan steroid. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak air, ekstrak kasar metanol, tanin dan steroid dapat meningkatkan aktivitas enzim kolesterol oksidase secara *in vitro* dengan aktivitas tertinggi diperoleh dari ekstrak air 300 ppm (30,23 %). Sedangkan ekstrak air (100 dan 200 ppm), air panas (100, 200, dan 300 ppm), ekstrak etanol (100, 200 dan 300 ppm), flavonoid (100, 200 dan 300 ppm), tanin (100 dan 200 ppm) dan steroid (200 dan 300 ppm) dapat menghambat aktivitas enzim kolestrol oksidase secara *in vitro* dengan ekstrak metanol yang mempunyai daya inhibisi tertinggi (83,72 %).

Kata kunci: ekstrak bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), aktivitas, enzim kolesterol oksidase, *in vitro*.

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan hujan tropis yang sangat kaya akan keanekaragaman flora. Diperkirakan flora Indonesia memiliki 30.000-40.000 spesies tumbuhan berbunga. Dari jumlah tersebut terdapat tidak kurang dari 1.100 spesies tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional dan 940-1000 spesies telah digunakan sebagai obat tradisional (Heyne 1987). Selain itu diperkirakan masih banyak spesies tumbuhan berkhasiat obat yang saat ini belum banyak diketahui kandungan senyawa kimia dan bioaktivitasnya sehingga diperlukan penelitian khusus oleh pakar, ilmuwan, atau peminat penelitian bahan alam agar spesies-spesies tersebut dimanfaatkan dan berdaya guna bagi umat manusia.

Tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) merupakan salah satu tanaman obat yang secara tradisional telah dikenal lama oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini

adalah asli Pulau Jawa. Bangle dikenal mampu menghangatkan badan, menghilangkan rasa sakit kepala (*sedativum*), obat memar, obat nyeri sendi (rematik), obat sembelit, obat sakit perut (kolik), obat sakit kuning, memperkuat kontraksi rahim, serta pelangsing perut pasca persalinan. Dalam farmakologi Cina disebutkan, tanaman ini bersifat sebagai penurun panas (antipiretik), peluruh kentut (karminatif), peluruh dahak (ekspektoran), pembersih darah, pencahar (laksan), dan obat cacing (*vermifuge*). Selain itu, tanaman ini baik bagi penderita lemah jantung, gangguan syaraf, dan mengurangi kegemukan (Wijayakusuma *et al.* 1997). Secara tradisional, bangle bersama-sama dengan daun jati belanda dan temulawak biasa digunakan sebagai ramuan obat penurun kolesterol. Secara modern pun, telah dikembangkan obat penurun kolesterol yang mempunyai bahan dasar bangle (Prolipid produksi Indofarma). Efek farmakologi tanaman ini diperoleh dari rimpang dan daunnya.

Penelitian senyawa bioaktif bangle yang berpotensi sebagai pelangsing telah beberapa kali dilakukan (Darusman *et al.* 2001; Febriany 2004). Tetapi penelitian senyawa bioaktif bangle yang berpotensi sebagai penurun kolesterol belum pernah dilakukan, oleh sebab itu penelitian pengaruh bangle terhadap hipokolesterolemik dapat memberikan informasi terhadap penggunaannya sebagai fitofarmaka.

Kolesterol adalah senyawa golongan lipid yang sangat banyak mendapat perhatian. Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah (hiperkolesterolemia) dapat meningkatkan risiko terjangkit penyakit jantung koroner yang menempati urutan pertama penyebab kematian manusia di kota-kota besar Amerika, Eropa, dan Asia, termasuk Indonesia. Dewasa ini, penelitian tentang kolesterol sudah banyak dilakukan, terutama penelitian yang berhubungan dengan penyakit-penyakit akibat hiperkolesterolemia dan usaha-usaha ke arah penemuan obat baru untuk menanggulangnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh beberapa ekstrak kasar bangle (*Z.cassumunar*) dan gabungannya terhadap aktivitas enzim kolesterol oksidase yang diukur secara *in vitro*. Ekstrak kasar bangle yang mengandung flavonoid, steroid, dan tanin yang mampu meningkatkan aktivitas lipase (Darusman *et al.* 2000 dan Febriany 2004) mungkin dapat juga meningkatkan aktivitas kolesterol oksidase, seperti halnya dwifungsi daun jati belanda sebagai pelangsing (Iswantini *et al.* 2003) dan penurun kolesterol (Darusman 2003).

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah rimpang bangle. Peralatan yang digunakan adalah radas ekstraksi, spektrofotometer sinar tampak, *rotary evaporator*, potensiostat, dan elektroda elektrokimia.

2.2. Metode Penelitian

Penelitian ini dibagi dalam tiga tahap, yaitu persiapan contoh, penelitian pendahuluan, dan penelitian utama. Penelitian utama adalah pengujian potensi ekstrak rimpang bangle, kombinasinya, dan contoh obat penurun kolesterol komersil terhadap aktivitas enzim kolesterol oksidase dengan menggunakan substrat kolesterol murni secara spektrofotometri dan elektrokimia-amperometri.

2.2.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan adalah pembuatan beberapa ekstrak rimpang bangle dan dilanjutkan dengan pengujian fitokimia, seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin menggunakan metode Harborne (1996).

2.2.2. Penelitian Utama

2.2.2.1. Uji Toksisitas Larva Udang

Uji dilakukan untuk mengetahui potensi bioaktivitas berdasarkan metode Meyer *et al.* (1982). Telur udang (*Artemia salina* L.) ditetaskan dalam gelas piala yang berisi air laut yang telah disaring. Penetasan dibantu dengan aerasi agar kadar oksigen terlarut tercukupi sehingga telur udang tersebut menetas menjadi larva. Larutan ekstrak dibuat menjadi 5000 ppm. Sebanyak 0,125 g ekstrak dilarutkan dalam 25 ml air laut. Ekstrak yang sukar larut dapat dibantu dengan penambahan Triton X-100 sebanyak 10 µl. Setelah 48 jam, sebanyak 10 ekor larva udang dan 1000 µl air laut dimasukkan ke vial uji diikuti dengan 2000, 200, dan 20 µl larutan ekstrak sehingga konsentrasi akhir dalam tiap vial adalah 1000, 100, dan 10 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan larutan ekstrak. Setelah 24 jam, larva udang yang mati dihitung. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Probit Analysis Method* untuk menemukan LC₅₀ dengan selang kepercayaan 95%.

2.2.2.2. Preparasi Larutan Substrat Kolesterol

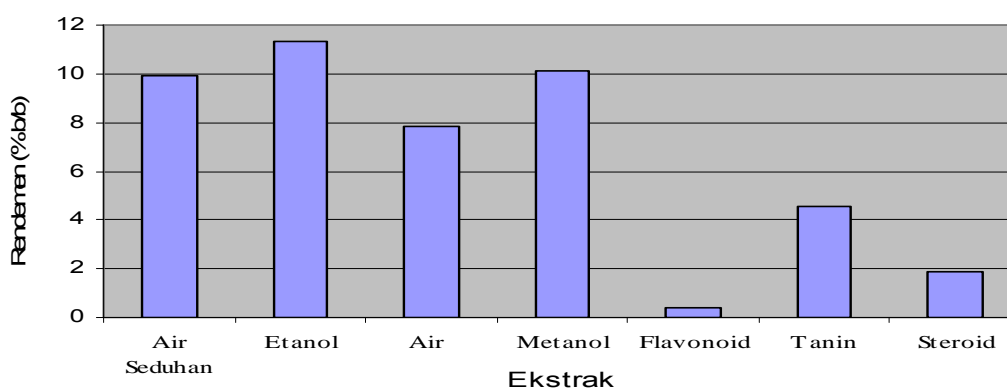
Sebanyak 20 mg kolesterol dilarutkan dalam 10 ml isopropanol, kemudian ditepatkan menjadi 100 ml dengan air bebas ion yang mengandung 4,0 ml/l Triton X-100.

2.2.2.3. Uji In Vitro Ekstrak terhadap Aktivitas Kolesterol Oksidase Metode Spektrofotometri

Metode pengukuran dilakukan menurut Allain *et al.* (1974) yang dimodifikasi. Reagen warna mengandung 50 mg 4-aminofenazon, 100 mg fenol, dan 1 mg peroksidase dalam 100 ml buffer fosfat 4 M (pH 7,0). Reagen ini disimpan dalam botol berwarna gelap pada suhu 4°C. Untuk pengukuran contoh, sebanyak 1,8 ml buffer fosfat (0,05 M; pH 7,0; mengandung 0,4% Triton X-100 dan ekstrak bangle); 0,1 ml larutan substrat kolesterol; dan 0,1 ml larutan kolesterol oksidase dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang dilapisi kertas hitam lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu dimasukkan 1,0 ml reagen warna dan tetap disimpan pada inkubator selama 10 menit pada suhu 37°C hingga terbentuk warna. Warna tersebut lalu diukur pada λ 520 nm. Blanko dibuat dengan konsentrasi substrat kolesterol 0,00% dengan perlakuan sama.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak rimpang bangle yang diperoleh adalah ekstrak air seduhan, etanol, air, metanol, flavonoid, tanin, dan steroid. Ekstrak air seduhan digunakan sebagai aplikasi jamu. Ekstrak etanol digunakan sebagai aplikasi farmasi karena pada umumnya obat-obatan fitofarmaka diekstrak dengan menggunakan etanol. Ekstrak-ekstrak lainnya dibuat berdasarkan asumsi bahwa ekstrak tersebut mampu menaikkan aktivitas enzim lipase. Ekstrak-ekstrak tersebut adalah ekstrak flavonoid, tanin, dan steroid (Febriany 2004). Rendemen yang diperoleh dari ekstrak air panas dan etanol berturut-turut adalah 9.91 % (b/b) dan 11.36 % (b/b). Rendemen yang diperoleh dari ekstrak air, metanol, flavonoid, tanin, dan steroid berturut-turut adalah: 7.84 % (b/b), 10.11 % (b/b), 0.41 % (b/b), 4.53 % (b/b), dan 1.89 % (b/b) (Gambar 1).



Gambar 1. Rendemen Berbagai Macam Ekstrak.

3.1. Uji Fitokimia

Penapisan fitokimia pada ekstrak air seduhan, etanol, air, metanol, flavonoid, tanin, dan steroid dilakukan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak-ekstrak tersebut. Hasil uji fitokimia (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak air seduhan dan ekstrak etanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan steroid. Menurut Febriany (2004), bangle segar mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin, sedangkan kandungan ekstrak metanol sama dengan kandungan ekstrak bangle segar, hanya tidak mengandung saponin. Ekstrak air menunjukkan adanya flavonoid dan triterpenoid.

Perbedaan kandungan ini disebabkan karena etanol dan metanol adalah pelarut umum yang dapat mengekstrak senyawa polar dan nonpolar, berbeda dengan air yang hanya dapat mengekstrak senyawa tertentu saja. Ekstrak air seduhan dapat mengekstrak jenis senyawa yang lebih banyak (alkaloid dan steroid) daripada ekstrak air, hal ini disebabkan pada ekstrak air seduhan, air yang digunakan adalah air panas mendidih sehingga proses ekstraksi dapat lebih optimal.

Ekstrak kasar flavonoid hanya mengandung flavonoid, ekstrak kasar tanin hanya mengandung tanin, dan ekstrak kasar steroid mengandung flavonoid dan steroid. Hal ini karena ekstrak steroid yang bersifat nonpolar akan terekstrak dalam lapisan amil alkohol yang digunakan pada uji flavonoid, sehingga uji tersebut memberikan hasil yang positif.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Rimpang Bangle.

Golongan Senyawa	Bangle Segar	Ekstrak						
		Air Seduhan	Etanol	Air	Metanol	Flavonoid	Tanin	Steroid
Alkaloid	+	+	+	-	+	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	-	+
Steroid	+	+	+	-	+	-	-	+
Triterpenoid	+	+	+	+	+	-	-	-
Tanin	+	-	-	-	+	-	+	-
Saponin	+	+	+	-	-	-	-	-

Keterangan: + : mengandung senyawa tersebut
- : tidak mengandung senyawa tersebut

3.2. Uji Toksisitas Larva Udang

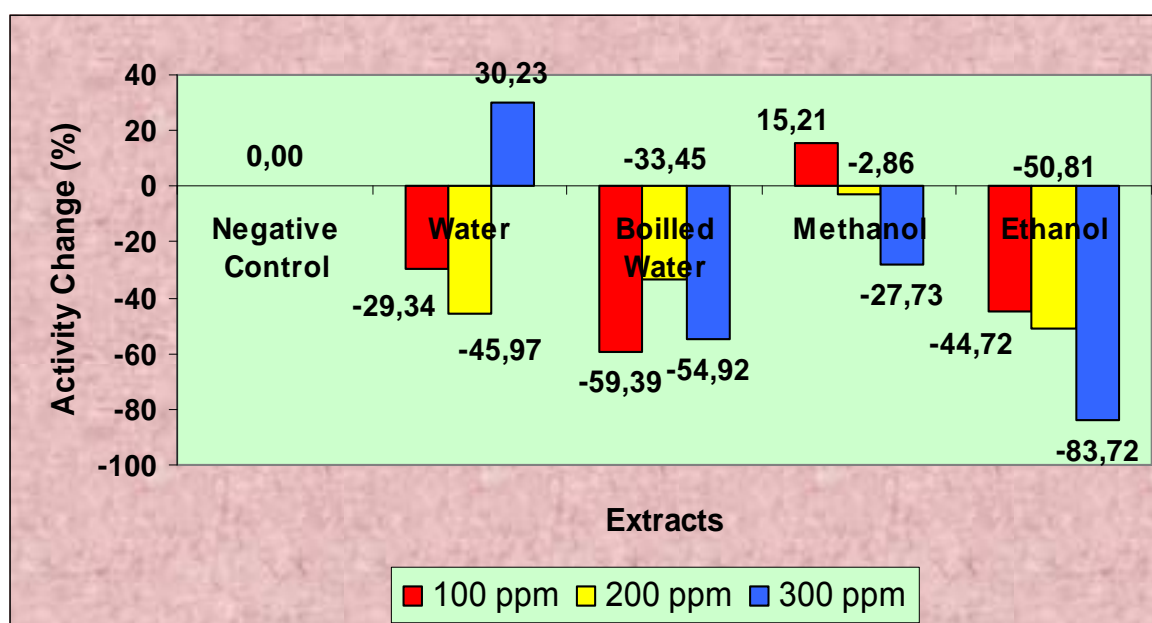
Uji toksisitas larva udang (*Brine Shrimp Lethality Test*/BSLT) dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. Nilai LC₅₀ yang diperoleh merupakan konsentrasi minimal yang dapat menyebabkan kematian 50% pada populasi hewan uji. Nilai LC₅₀ ekstrak air seduhan dan etanol yang diperoleh yaitu berturut-turut 664,600 ppm dan 407,762 ppm.

Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak air seduhan dan etanol memiliki potensi bioaktif karena memiliki efek positif terhadap uji kematian larva udang dan nilai LC_{50} -nya kurang dari 1000 ppm (Mayer *et al.* 1982). Menurut Febriany (2004), ekstrak air, metanol, flavonoid, tanin, dan steroid juga memiliki potensi bioaktif dengan nilai LC_{50} berturut-turut yaitu: 540.946; 330.916; 714.177; 616.691; dan 339.381 ppm (Tabel 2).

Tabel 2. Nilai LC_{50} Ekstrak

Ekstrak	LC_{50} (ppm)
Air Seduhan	664,600
Etanol	407,762
Air	540,964
Metanol	330,916
Flavonoid	714,177
Tanin	616,691
Steroid	339,381

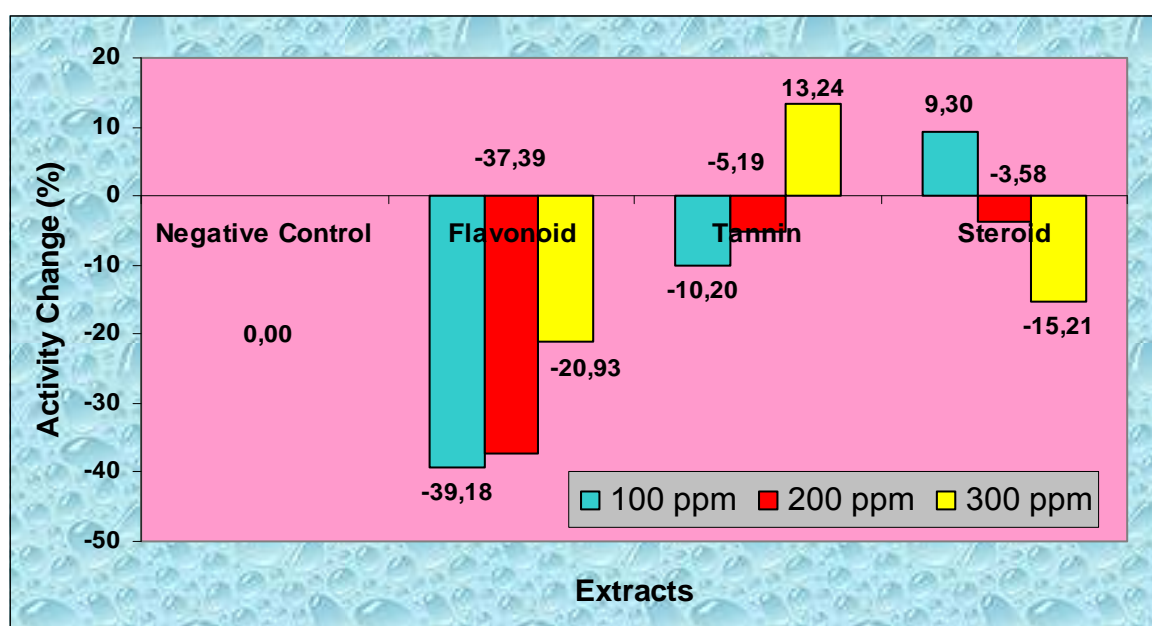
3.3. Uji *In Vitro* Ekstrak Terhadap Aktivitas Kolesterol Oksidase Metode Spektrofotometri



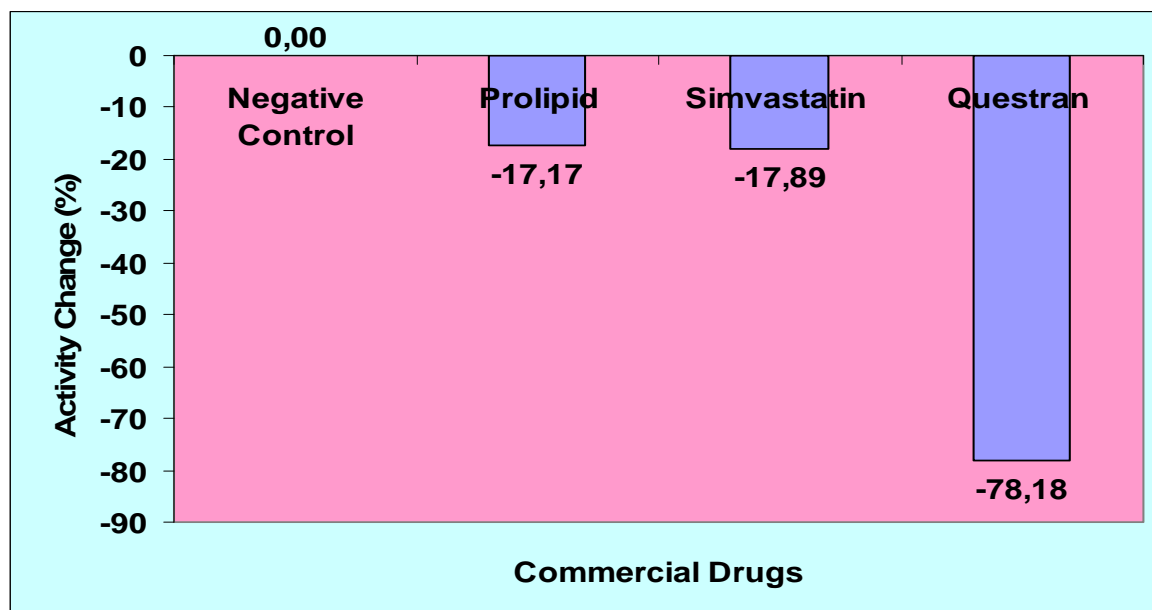
Gambar 2. Pengaruh ekstrak air, metanol dan etanol terhadap aktivitas kolesterol oksidase secara *in vitro*

Pengaruh semua ekstrak dan produk komersial terhadap aktivitas enzim kolesterol oksidase secara *in vitro* dapat dilihat dalam Gambar 2-4. Hasil menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak terhadap aktivitas enzim tersebut berbeda-beda dan tergantung pada konsentrasi. Dengan ekstrak yang sama dapat mempunyai pengaruh yang berbeda (Gambar 2 dan 3). Ada yang dapat menghambat aktivitas enzim tersebut yaitu: ekstrak air (100 & 200 ppm), air seduhan (100, 200, & 300 ppm), metanol (200 & 300 ppm),

etanol (100, 200, & 300 ppm), flavonoid (100, 200, & 300 ppm), tannin (100 & 200 ppm), and steroid (200 & 300 ppm). Tetapi juga ada yang dapat meningkatkan aktivitas enzim tersebut: Ekstrak air 300 ppm, metanol 100 ppm, tanin 300 ppm, dan steroid 100 ppm. Walaupun demikian, sebagian besar dapat berpotensi menghambat aktivitas enzim kolesterol oksidase. Demikian juga semua produk obat penurun kolesterol dapat menghambat aktivitas enzim kolesterol oksidase, dengan daya inhibisi terbesar ditunjukkan oleh questran (78.18 %). Hal ini menunjukkan bila suatu ekstrak dengan konsentrasi tertentu dapat menghambat aktivitas kolesterol oksidase, maka kemungkinan ekstrak tersebut mempunyai potensi sebagai penurun kolesterol. Walaupun hal ini masih harus dikaji lebih lanjut. Paling tidak, dalam penelitian ini dapat memberi gambaran tentang profil suatu ekstrak terhadap aktivitas kolesterol oksidase. Informasi ini dapat dijadikan informasi awal dalam pencarian potensi tanaman obat yang mempunyai potensi sebagai penurun kolesterol dengan menggunakan metode dan enzim lain. Karena kolesterol oksidase ini merupakan enzim yang biasa digunakan untuk mendeteksi kolesterol dalam suatu analat (biosensor kolestrol).



Gambar 3. Pengaruh ekstrak flavonoid, tanin dan steroid terhadap aktivitas kolesterol oksidase secara *in vitro*



Gambar 4. Pengaruh beberapa produk komersial terhadap aktivitas kolesterol oksidase secara *in vitro*

4. KESIMPULAN

Satu jenis ekstrak *Z.cassumunar* mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas enzim kolesterol oksidase secara *in vitro*. Ekstrak air 300 ppm, metanol 100 ppm I, tanin 300 ppm, dan steroid 100 ppm dapat meningkatkan aktivitas enzim kolesterol oksidase. Sedangkan ekstrak air (100 & 200 ppm), air seduhan (100, 200, & 300 ppm), metanol (200 & 300 ppm), etanol (100, 200, & 300 ppm), flavonoid (100, 200, & 300 ppm), tannin (100 & 200 ppm), dan steroid (200 & 300 ppm) dapat menghambat aktivitas kolesterol oksidase. Ekstrak air 300 ppm merupakan ekstrak yang mempunyai potensi meningkatkan aktivitas kolesterol oksidase tertinggi yaitu 30,23%. Sedangkan ekstrak metanol merupakan ekstrak yang paling menghambat aktivitas enzim tersebut. Tetapi, semua produk komersial mempunyai kemampuan menghambat aktivitas enzim kolesterol oksidase.

DAFTAR PUSTAKA

- Allain CC, LS Poon, CS Chan, W Richmond, & PC Fu. 1974. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clin. Chem.* 20:470-475.
- Darusman LK. 2003. *Standardisasi Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia), Keamanan, dan Kemanafaatannya Sebagai Pelangsing/Penurun Kolesterol*. Laporan Kemajuan Pekerjaan RUK VII. Bogor: Pusat Studi Biofarmaka, LP IPB.
- Darusman LK, E Rohaeti, & Sulistyani. 2001. *Kajian Senyawa Golongan Flavonoid Asal Tanaman Bangle Sebagai Senyawa Peluruh Lemak Melalui Aktivitas Lipase*. Bogor: Pusat Studi Biofarmaka.

- Febriany S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara *In Vitro*. Skripsi. Departemen Kimia FMIPA. Bogor. IPB.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah K Padmawinata & I Soediro. Editor S Niksolihin. Bandung: ITB.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Penerjemah Balitbang Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Warna Jaya.
- Iswantini D, LK Darusman, E Gunawan, & Y Nurulita. 2003. Identifikasi Senyawa Bioaktif Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) Sebagai Pelangsing dengan Menggunakan Metode Enzimatis (Enzim Lipase). *Gakuryoku*. 2:138-142.
- Meyer BN, NR Fergini, JE Putnam, LB Jacobsen, DE Nicholas, & McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plants Constituents. *Planta Medica*. 45:31-34.
- Wijayakusuma HMH, S Dalimartha, & AS Wirian. 1997. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jakarta: Pustaka Kartini.

AKTIVITAS DIURETIK FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA TIKUS SPRAGUE-DAWLEY

Rini Madyastuti, letje Wientarsih, Bayu Febram Prasetyo

Bagian Farmasi, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, FKH IPB.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat terhadap aktivitas diuretik pada tikus Sprague Dawley. Penapisan fitokimia terhadap fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat diperoleh bahan aktif yang terkandung adalah flavonoid, tanin dan kuinon. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan strain Sprague-Dawley dibagi menjadi 5 kelompok yaitu: kelompok normal yang diberi aquades; kelompok kontrol positif yang diberi furosemid dosis 1.8 mg/kg bb; kelompok fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat dosis 100 mg/kg bb; dan kelompok fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat dosis 300 mg/kg bb. Metode yang digunakan adalah Lipschitz. Metode pemberian bahan uji adalah dengan cara mencekikkan setiap bahan dengan dosis pemberian 1 ml/100 gram bb. Aktivitas diuretik dievaluasi dengan mengukur volume, pH dan warna urin. Pengukuran volume urin dilakukan dengan mengukur total urin selama 24 jam. Hasil dari penelitian ini adalah kelompok perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat berbeda nyata dengan kelompok normal dan positif ($P < 0.05$). Volume urin pada jam ke-24 yang dihasilkan pada kelompok positif adalah 12.10 ml sedangkan kelompok perlakuan etil asetat dosis 100 mg/kgbb dan dosis 300 mg/kgbb mengekskresikan urin sebanyak 20.36 ml dan 20.52 ml. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat dapat meningkatkan aktivitas diuretik dan memberikan warna urin yang cenderung lebih terang dibandingkan kelompok normal dan positif.

Kata kunci : fraksi, etil asetat, daun alpukat, *Persea americana*, diuretik

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara agraris yang memiliki keanekaragaman sumber kekayaan hayati, sekitar 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan terdapat di Indonesia, dan lebih kurang 9.600 termasuk tanaman berkhasiat obat. Berdasarkan informasi empiris terdapat beberapa tanaman obat yang memiliki aktivitas diuretik antara lain alang-alang, tempuyung, alpukat, mengkudu, pepaya dan lain-lain (Ceppy 2002). Penggunaan diuretik mampu mengatasi penyakit gagal jantung kongesti, sindrom nefritis, sirosis, gagal ginjal, hipertensi toksemia kebuntingan (Agunu *et al.* 2005), edema, diabetes insipidus, batu ginjal, dan hiperkalsemia (Ceppy 2002).

Alpukat merupakan salah satu tanaman yang empiris dapat digunakan sebagai diuretikum. Bagian tanaman alpukat yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk

peluruh batu ginjal dan rematik adalah bagian daunnya. Fungsi lain dari daun alpukat menurut penelitian adalah antimikroba (Flores *et al.* 2009), menurunkan glukosa darah, mempengaruhi metabolisme lipid saat hiperkolesterolemia (Brai *et al.* 2007), diuretik (Wientarsih *et al.* 2008), vasorelaksan (Owolabi *et al.* 2005), dan menurunkan tekanan darah (Ojewole *et al.* 2007). Menurut Adha (2009) kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun alpukat adalah flavonoid, tanin, dan kuinon.

Penelitian kali ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas diuretik fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) pada tikus Sprague-Dawley.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas diuretik dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) pada tikus Sprague-Dawley, melalui parameter volume, pH, dan warna urin.

1.3. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan dalam pengobatan alternatif untuk diuretik dibidang kedokteran hewan dan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang khasiat daun alpukat sebagai obat diuretik.

2. METODOLOGI

2.1. Bahan

Serbuk simplisia daun Alpukat diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih jantan Sprague Dawley, diperoleh dari Bagian Farmakologi FKH-IPB dengan bobot badan 180-200 g.

2.2. Alat

Timbangan tikus (OHAUS), pH Meter dan kandang metabolisme.

2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun Alpukat

Pembuatan ekstrak etanol daun alpukat dilakukan dengan cara maserasi. Ekstrak etanol dipartisi (cair-cair) dengan menggunakan corong pisah dengan pelarut etil asetat (1:1) sampai diperoleh dua lapisan terpisah (lapisan air dan etil asetat). Lapisan etil asetat dipisahkan dan ditampung.

2.3.2. Perlakuan

Desain penelitian aktivitas diuretik dilakukan dengan metode Lipschitz (1943) dalam Parial *et al.* (2009). Perlakuan dilakukan pada 20 ekor tikus putih yang ditempatkan dalam kandang metabolit yang terbagi menjadi beberapa kelompok yaitu :

1. Kelompok 1 yang diberi aquades merupakan kontrol normal (A),
2. Kelompok 2 yang diberi furosemid, merupakan kontrol positif (B),
3. Kelompok 3 yang diberi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat dosis 100 mg/kg bb (C),
4. Kelompok 4 yang diberi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat dosis 300 mg/kg bb (D),

Sebelum perlakuan, tikus dipuasakan minimal selama 18 jam. Pengujian metode ini dengan memberikan *loading dose* pada tikus berupa air hangat dengan dosis 50 ml/kg bb. Kemudian tikus dicekok dengan dosis 1 ml/100 gram bb pada masing-masing perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap jam selama 6 jam. Parameter yang diamati adalah volume dan warna pada tiap jamnya, serta pH urin pada jam pertama. Urin ditampung dengan menggunakan gelas piala.

2.3.3. Analisis Data

Analisis data dihitung dengan menggunakan metode ANOVA dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Analisis ini dihitung dengan tingkat kepercayaan 95% untuk melihat adanya perbedaan volume urin antara setiap perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Penapisan Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang ada dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat.

Tabel 1 Uji fitokimia fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat

Golongan Senyawa	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Saponin	-
Triterpenoid	-
Steroid	-
Tanin	+
Kuinon	-

3.2. Aktivitas Diuretik

Hasil analisis aktivitas diuretik selama 24 jam ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas diuretik selama 24 jam untuk kelompok perlakuan C dan D berbeda nyata dengan kelompok A dan B ($P < 0.05$). Aktivitas diuretik paling optimum selama 24 jam diperlihatkan oleh kelompok D. Onset untuk kelompok C dan D adalah pada jam ke-1 dan berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan kelompok A. Kelompok D merupakan kelompok dengan aktivitas diuretic paling optimum.

Tabel 2 Hasil analisis aktivitas diuretik tiap perlakuan selama 24 jam

Jam ke-	Volume urin (ml)			
	Aquades (A)	Furosemid (B)	EA dosis 100mg/kg bb (C)	EA dosis 300mg/kg bb (D)
1	0.56±0.74 ^a	1.04±0.71 ^{ab}	5.94±0.97 ^c	6.52±1.46 ^c
2	4.44±1.13 ^a	5.14±1.40 ^a	9.40±0.78 ^a	10.36±1.23 ^a
3	7.04±0.20 ^a	8.46±0.59 ^a	12.26±1.04 ^a	13.74±0.88 ^a
4	7.88±0.73 ^a	9.50±1.13 ^{ab}	14.42±0.64 ^{bc}	16.02±0.72 ^c
5	8.12±0.21 ^a	10.08±0.39 ^{ab}	15.70±0.82 ^{bc}	17.36±0.48 ^{bc}
6	8.26±0.17 ^a	10.60±0.38 ^{ab}	17.14±0.54 ^{cd}	18.46±0.58 ^{bcd}
24	9.48±0.44 ^a	12.10±0.28 ^{ab}	20.36±1.33 ^c	20.52±1.45 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan dari pengeluaran urin pada tiap perlakuan ($P < 0.05$).

Senyawa yang diduga berpengaruh pada aktivitas diuretik fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat adalah flavonoid (Tabel 1). Menurut Jouada *et al.* (2001), campuran flavonoid dapat meningkatkan laju filtrasi glomerulus (LFG) sehingga pembentukan urin sekunder meningkat dan mempengaruhi aktivitas urinasi serta pengeluaran elektrolit pada tikus normotensi. Peningkatan LFG terjadi karena adanya efek vasodilatasi pada pembuluh darah arteri sehingga menurunkan tekanan perfusi ginjal (Bevevino *et al.* 1994). Menurut Guyton dan Hall (1997), sedikit perubahan pada filtrasi glomerulus atau reabsorpsi tubulus, maka secara potensial dapat menyebabkan perubahan yang relatif besar pada ekskresi urin.

Selain volume urin, parameter lain yang diukur adalah warna dan pH urin. warna urin yang dihasilkan pada kelompok A, B, C dan D adalah kuning kecoklatan, kuning, kuning dan kuning pucat. Urin yang tidak berwarna cenderung sangat cair (Schrier 2007). Banyaknya volume urin yang dikeluarkan (diuresis) akan mempengaruhi warna urin yang terbentuk yaitu semakin banyak urin yang diekskresikan dalam satu waktu akan menghasilkan warna urin yang semakin jernih.

Ginjal yang berfungsi mengatur keseimbangan asam-basa berperan penting dalam mengoreksi abnormalitas konsentrasi H⁺ cairan ekstrasel dengan mengekskresikan asam atau basa pada kecepatan yang bervariasi (Guyton & Hall 2007). Tingkat keasaman pada

masing-masing perlakuan adalah kelompok A pH 7; B pH 6; C pH 6,8 dan D pH 6,6. Berdasarkan data tersebut setiap perlakuan mempunyai pH yang hampir sama. Rendahnya pH urin yang dihasilkan dapat disebabkan peningkatan ekskresi asam (Maalouf *et al.* 2007).

Daun alpukat selain memiliki flavonoid yang mempengaruhi aktivitas diuretik juga memiliki kandungan kalium (Adha 2009). Penumpukan kalium yang berlebih dalam darah merangsang kerja Na-K ATPase untuk menurunkan sekresi H^+ dan reabsorpsi HCO_3^- yang cenderung menyebabkan asidosis (Guyton & Hall 2007).

4. KESIMPULAN

Penapisan fitokimia terhadap fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat diperoleh fraksi mengandung flavonoid dan tanin. Peningkatan dosis pada setiap perlakuan berbanding lurus terhadap aktivitas diuretik hewan, hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun alpukat mampu digunakan sebagai diuretik. Pemberian fraksi etil asetat merubah suasana urin dan warna urin.

5. PROSPEK

Hasil dari penelitian ini dapat dilanjutkan untuk tahap isolasi senyawa aktif yang memberikan aktifitas diuretik. Isolasi senyawa tunggal dapat meningkatkan derajat herbal menjadi suatu sediaan fitofarmaka yang dapat digunakan dalam pengobatan formal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Institut Pertanian Bogor, penelitian ini dapat dilaksanakan melalui pendanaan Hibah Bersaing anggaran tahun 2008/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Adha AC. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Aktivitas Diuretik Tikus Putih Jantan Sprague-Dawley [skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Bevevino LH, Vieira FS, Cassola AC, Sanioto SM. 1994. Effect of crude extract of roots of *Bredemeyera floribunda* Willd. I. Effect on arterial blood pressure and renal excretion in the rat. *J Ethnopharmacol* 43:197-201.
- Brai BIC, Odetola AA, Agomo PU. 2007. Hypoglycemic and Hypocholesterolemic Potential of *Persea americana* Leaf Extracts. *J Medic Food*, 10: 356-360.
- Ceppy S. 2002. Budi Daya Tanaman Obat Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya

- Flores RG *et al.* 2008. Antimicrobial Activity of *Persea americana* Mill. (Lauraceae) (Avocado) and *Gymnosperma glutinosum* (Spreng.) Less (Asteraceae) Leaf Extracts and Active Fractions Against *Mycobacterium tuberculosis*. *Amer-Euras J Sci Res*, 3: 188-194.
- Jouada H, Lacaille-Dubois MA, Lyoussic B, Eddouks M. 2001. Effects of The Flavonoids Extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on Arterial Blood Pressure and Renal Function in Normal and Hypertensive Rats [Abstract]. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 76: 159-163. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03788741> [1 Juli 2010].
- Guyton AC, Hall JE. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed ke-11. Irawati dkk, penerjemah. Jakarta: ECG. Terjemahan: Textbook of Medical Physiology, 11th ed.
- Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW, Adams-Huet B, Sakhaee K. 2007. Low Urine pH: A Novel Feature of The Metabolic Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2: 883-888.
- Ojewole J *et al.* 2007. Cardiovascular Effects of *Persea americana* Mill (Lauraceae) (Avocado) Aqueous Leaf Extract in Experimental Animals. *Cardiovasc J South Af*.18: 69-76.
- Owolabi MA, Jaja SI, Coker HA. 2005. Vasorelaxant Action of Aqueous Extract of the Leaves of *Persea americana* on Isolated Thoracic Rat Aorta. *Fitoterapia* 76: 567-573.
- Parial S, Jain DC, Joshi SB. 2009. Diuretic Activity of The Extracts of *Limonia acidissima* in Rats. *Rasāyan J Chem* 2: 53-56.
- Schrier RW. 2007. Disease of The Kindey and Urinary Tract. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Wientarsih I, Iskandar, Prasetyo BF, Purwono RM. 2008. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Batu Kandung Kemih Buatan dan Diuretik pada Tikus Putih serta Pengembangannya menjadi Sediaan Sirup Elixir dan Tablet Salut Enterik. <http://lppm.ipb.ac.id/lppmipb/penelitian/hasilcari.php> [22 Juni 2010].

POTENSI EKSTRAK *Rhizophora sp.* SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE (Potency of *Rhizophora sp.* Extracts as Tyrosinase Inhibitor)

Eti Rohaeti¹, Irmanida Batubara^{1,2}, Anastasia Lieke LDN¹, Latifah K Darusman^{1,2}

¹ Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor

² Pusat Studi Biofarmaka LPPM Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Previous research showed that *Rhizophora sp.* was plant which has tyrosinase inhibitor activity. The purpose of this study is to find the parts and species of *Rhizophora sp.* which has the best tyrosinase inhibitory activity. The leaf, stems, and roots of *R. mucronata* and *R. stylosa* extracted with methanol and tested these activities to get the best tyrosinase inhibitory activity. Based on the results, extracts of leaf, stems, and roots of *R. mucronata* from Tritih Cilacap, Gebang Cirebon, Eretan Kulon Indramayu, Ujung Negoro Beach Batang, Sigundu Beach Batang, and Kapuk Beach Jakarta had no potency as inhibitor tyrosinase. The root of *R. mucronata* from Samboja East Kalimantan is the most potent extracts as tyrosinase inhibitor compare to the leaf and stems of *R. mucronata* from Samboja East Kalimantan, especially for monophenolase (IC₅₀: 15.34 µg/ml). The stems of *R. stylosa* from Samboja East Kalimantan is more potent than as tyrosinase inhibitor compared to stems of *R. mucronata*, especially for monophenolase (IC₅₀: 38.02 µg/ml).

Keywords: *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora stylosa*, tyrosinase

1. PENDAHULUAN

Tirosinase atau fenol oksidase adalah enzim utama yang terlibat dalam biosintesis melanin. Pigmen melanin yang diproduksi melalui proses fisiologis yang disebut melanogenesis, memegang peranan yang sangat penting dalam melindungi kulit terhadap fotokarsinogenesis. Tirosinase banyak ditemukan pada mamalia, buah-buahan, dan juga di dalam proses pencoklatan jamur secara enzimatik (Chang 2009). Inhibisi terhadap enzim tirosinase untuk mengatur metabolisme pigmentasi telah menarik banyak perhatian terutama dalam dunia kosmetika. Oleh karena itu, beberapa senyawa aktif yang berasal dari tumbuh-tumbuhan diteliti sebagai inhibitor tirosinase untuk menghindari produksi melanin secara berlebihan pada lapisan epidermal, sehingga dapat digunakan sebagai bahan kosmetik, atau sebagai bahan pemutih kulit (Zheng *et al* 2008).

Rhizophora sp. merupakan salah satu jenis tanaman di Indonesia yang dilaporkan dapat berfungsi sebagai bahan kosmetika. Senyawa aktif yang berada pada *Rhizophora sp.* berfungsi sebagai inhibitor tirosinase yang dapat menurunkan penyakit hiperpigmentasi dan melanogenesis pada kulit (Batubara *et al* 2010). Tanaman

Rhizophora sp. di Indonesia ditemukan dalam berbagai spesies, seperti *R. mucronata*, *R. stylosa*, dan *R. apiculata*. Oleh sebab itu, pada penelitian ini potensi ekstrak *R. mucronata* dan *R. stylosa* terhadap inhibisi tirosinase diteliti yang mana yang memberikan potensi terbaik.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rhizophora sp.* yang terdiri dari *R. mucronata* dan *R. stylosa* diambil dari berbagai daerah di Indonesia. Tanaman *R. mucronata* diambil dari daerah Eretan Kulon Kandanghaur Indramayu, Tritih Cilacap, Pantai Ujung Negoro Batang, Pantai Sigundu Batang, Gebang Cirebon, Pantai Kapuk Jakarta, dan Samboja Kalimantan Timur. Sedangkan tanaman *R. stylosa* diambil dari Samboja Kalimantan Timur. Identifikasi dan bukti spesifik dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bogor, Indonesia. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lempeng KLT analitik, kertas saring *Whatman* nomor 1, *chamber*, gelas piala, gelas ukur, pipet mohr, pipet volumetrik, pelat silika gel, tabung reaksi, neraca analitik, penguap putar, dan *vortex*.

2.2. Metode

2.2.1. Preparasi dan Ekstraksi *Rhizophora sp.*

Preparasi sampel ekstrak *Rhizophora sp.* dilakukan dengan memisahkan bagian daun, batang, dan akar yang kemudian dikeringkan dan direndam dalam larutan metanol. Sampel tanaman kering ini diekstraksi dengan metanol dengan perbandingan 1:10 selama 24 jam sebanyak 3 kali ulangan. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring *Whatman* nomor 1 dan dipekatkan dengan penguap putar pada suhu 30°C.

2.2.2. Uji Tirosinase

Uji tirosinase dilakukan sesuai dengan metode Batubara et al 2010.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun, batang, dan akar *R. mucronata* dari Eretan Kulon Kandanghaur Indramayu, Tritih Cilacap, Pantai Ujung Negoro Batang, Pantai Sigundu Batang, Gebang Cirebon, Pantai Kapuk Jakarta, Samboja Kalimantan Timur, dan *R. stylosa* dari Samboja Kalimantan Timur. Seluruh

sampel diuji kadar air, kadar abu dan juga fitokimianya. Data kadar air dan kadar abu dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji kualitatif fitokimia telah dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, tanin dan fenol. Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh bagian tanaman dari seluruh daerah yang diambil mengandung kelompok senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Kelompok senyawa fenol terdeteksi pada seluruh sampel daun, namun sampel batang dan akar tidak menunjukkan keberadaan golongan senyawa fenol.

Sampel daun, batang, dan akar *R. mucronata* dan batang *R. stylosa* yang telah kering selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut metanol. Rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil ekstraksi sampel *Rhizophora* sp. dari berbagai daerah, rendemen tertinggi dari ekstrak metanol daun, batang dan akar *Rhizophora* sp. berturut-turut terdapat pada daerah Gebang, Cirebon; Pantai Kapuk, Jakarta; dan Gebang, Cirebon, yaitu sebesar 28.33%; 16.06%; dan 14.36%.

Tabel 1 Kadar air daun, batang, dan akar *Rhizophora* sp. dari berbagai daerah

Spesies	Daerah	Kadar air			Kadar abu		
		Daun	Batang	Akar	Daun	Batang	Akar
<i>R. mucronata</i>	Cilacap	6.67	7.24	7.36	13.88	7.55	17.42
	Indramayu	9.34	9.18	6.73	13.24	6.95	8.56
	Cirebon	9.39	9.77	8.98	13.22	7.86	10.97
	Pantai Ujung Negoro	7.34	7.46	8.35	12.84	14.22	14.61
	Pantai Sigundu	6.47	6.27	7.57	13.41	11.54	11.89
	Pantai Kapuk	11.19	10.16	14.34	13.27	17.44	19.27
	Samboja Kalimantan Timur	5.43	5.55	6.18	13.13	10.10	7.09
<i>R. stylosa</i>	Samboja Kalimantan Timur		5.53			3.13	

Tabel 2 Rendemen ekstrak *R. mucronata* dan *R. stylosa* dari berbagai daerah

Spesies	Daerah	Rendemen (%)			IC ₅₀ monofenolase (µg/ml)			IC ₅₀ monofenolase (µg/ml)		
		Daun	Batang	Akar	Daun	Batang	Akar	Daun	Batang	Akar
<i>R. Mucronata</i>	Cilacap	24.80	8.35	8.85	-	-	-	-	-	-
	Indramayu	27.25	4.92	10.67	-	-	-	-	-	-
	Cirebon	28.33	10.58	14.36	-	-	-	-	-	-
	Ujung Negoro	25.01	5.73	14.26	-	-	-	-	-	-
	Pantai Sigundu	24.84	5.40	8.23	-	-	-	-	-	-
	Pantai Kapuk	27.99	16.06	8.34	-	-	-	-	-	-
	Samboja Kal-Tim	21.36	6.91	17.22	409.36	75.89	15.34	-	-	-
<i>R. stylosa</i>	Samboja Kal-Tim		8.62			38.02			-	
Asam Kojat	Kontrol positif					7.02			140.71	

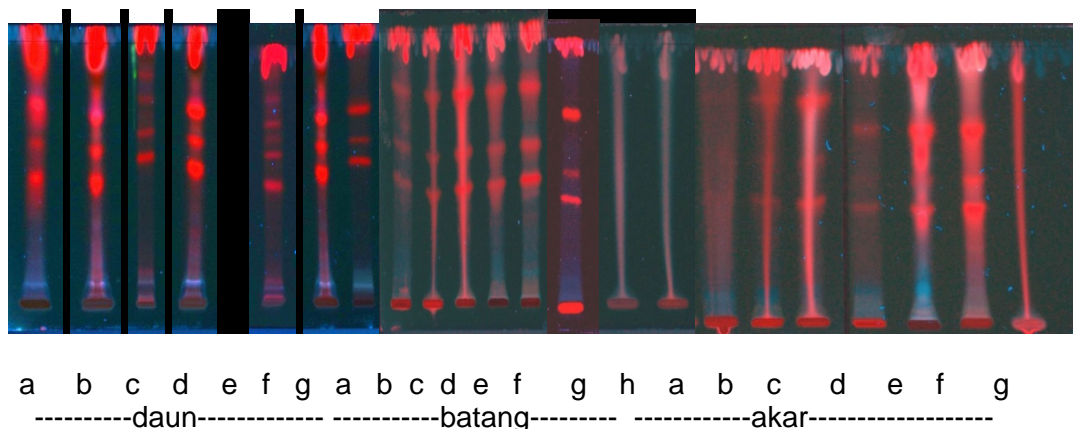
Keterangan: (-) sampel tidak menunjukkan hambatan aktivitas 50% hingga konsentrasi 2000 ppm

Uji aktivitas tirosinase dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya daya inhibisi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak metanol daun, batang, dan akar dari spesies *R. mucronata* dan *R. stylosa* dari berbagai daerah. Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas inhibitor tirosinase dari *Rhizophora* sp. adalah IC_{50} , yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas inhibitor tirosinase sebesar 50%.

Berdasarkan Tabel 2, diperoleh bahwa sebagian besar ekstrak daun, batang, dan akar yang berasal dari pulau Jawa tidak memberikan nilai IC_{50} pada monofenolase dan difenolase hingga konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini mengindikasikan bahwa bagian daun, batang, dan akar *R. mucronata* dari pulau Jawa tidak memiliki potensi inhibitor tirosinase.

Ekstrak daun, batang, dan akar *R. mucronata* dan *R. stylosa* dari Samboja, Kalimantan Timur memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase pada monofenolase. Ekstrak akar *R. mucronata* memiliki aktivitas inhibitor tirosinase lebih baik daripada daun dan batang dari segi monofenolase (IC_{50} : 15.34 $\mu\text{g/ml}$). Jika dibandingkan dengan batang *R. mucronata*, maka batang *R. stylosa* dari Samboja, Kalimantan Timur memiliki aktivitas inhibitor tirosinase yang lebih baik dalam hal monofenolase (IC_{50} : 38.02 $\mu\text{g/ml}$).

Selanjutnya dilakukan analisis pola kromatografi menggunakan kromatografi lapis tipis. Pelarut atau fase gerak yang digunakan untuk menentukan pola kromatografi lapis tipis seluruh ekstrak ialah pelarut terbaik, yaitu kloroform : metanol (9:1). Noda hasil elusi oleh berbagai pelarut dilihat di bawah sinar lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Pelarut yang akan dijadikan sebagai penyusun fase gerak adalah pelarut yang menghasilkan jumlah noda terbanyak dan memiliki pemisahan yang baik.



Gambar 1 Hasil elusi ekstrak maserasi (UV 366 nm) daun *R. mucronata* dari daerah Tritih Cilacap (a), Gebang Cirebon (b), Eretan Kulon Indramayu (c), Pantai UjungNegoro Batang (d), Pantai Sigundu Batang (e), Pantai Kapuk Jakarta (f), dan Samboja Kalimantan Timur (g)

Perbandingan pola KLT dilakukan pada daun *R. mucronata* dari berbagai daerah. Berdasarkan Gambar 1, pada masing-masing ekstrak daun *R. mucronata* dari berbagai daerah memberikan pemisahan spot. Nilai Rf yang diperoleh pada setiap spot yang dihasilkan memiliki kesamaan sehingga daun *R. mucronata* dari berbagai daerah memiliki senyawa yang sama.

Perbandingan pola KLT dilakukan pada batang *R. mucronata* dari berbagai daerah dan *R. stylosa* dari Samboja, Kalimantan Timur. Berdasarkan Gambar 6, pada masing-masing ekstrak batang *R. mucronata* dari berbagai daerah memberikan pemisahan spot. Nilai Rf (Tabel 6) yang diperoleh pada setiap spot yang dihasilkan memiliki kesamaan sehingga batang *R. mucronata* dari berbagai daerah memiliki senyawa yang sama. Sedangkan pada batang *R. mucronata* dan *R. stylosa* dari daerah Samboja Kalimantan Timur tidak memberikan spot pada hasil elusi. Hal ini dikarenakan eluen yang digunakan tidak dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak batang *R. mucronata* dan *R. stylosa*.

Perbandingan pola KLT dilakukan pada akar *R. mucronata* dari berbagai daerah dan *R. stylosa* dari Samboja, Kalimantan Timur. Berdasarkan Gambar 7, pada masing-masing ekstrak akar *R. mucronata* dari berbagai daerah memberikan pemisahan spot. Nilai Rf (Tabel 6) yang diperoleh pada setiap spot yang dihasilkan memiliki kesamaan sehingga akar *R. mucronata* dari berbagai daerah memiliki senyawa yang sama. Sedangkan pada akar *R. mucronata* dari daerah Samboja Kalimantan Timur tidak memberikan pemisahan spot yang baik pada hasil elusi. Hal ini dikarenakan eluen yang digunakan tidak dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak akar *R. mucronata*.

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Ekstrak *R. mucronata* yang berasal dari daerah pulau Jawa tidak memiliki aktivitas inhibitor tirosinase, sedangkan ekstrak *R. mucronata* dan *R. stylosa* daerah Samboja, Kalimantan Timur memiliki aktivitas inhibitor tirosinase. Aktivitas akar *R. mucronata* dan batang *R. stylosa* dari Samboja, Kalimantan Timur memberikan daya penghambatan yang lebih baik, yaitu dari segi monofenolase (IC_{50} : 15.34 μ g/ml dan IC_{50} : 38.02 μ g/ml).

Hasil dari KLT daun, batang, dan akar *R. mucronata* dari daerah Tritih Cilacap, Gebang Cirebon, Eretan Kulon Indramayu, Pantai Ujung Negro Batang, Pantai Sigundu Batang, Pantai Kapuk Jakarta, dan Samboja Kalimantan Timur memberikan pemisahan spot pada hasil elusi dan nilai Rf yang diperoleh pada setiap spot yang dihasilkan memiliki kesamaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahminiwati M, & Djauhari E. 2010. Potency of Indonesia medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. *Journal of Biological Sciences*. 10(2): 138-144. ISSN 1727-3048.
- Chang Te-Sheng. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*. 10: 2440-2475
- Zheng, Chao, & Wang. 2008. Tyrosinase inhibitors from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*). *Food Chemistry*. 106: 529-535.

KOMPOSISI DAN AKTIVITAS BIOFLOKULAN DARI *Flavobacterium* sp.**Popi Asri Kurniatin, Laksmi Ambarsari, Juliana**

Departemen Biokimia IPB
Ged. Fapet Lt.5 W.5 Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor
Telp. 0251-8423267
e-mail : popi_asri@ipb.ac.id

Abstrak

Flokulan sintetik telah banyak diaplikasikan secara luas di bidang industri sebagai agregat koloid. Flokulan sintetik tersebut bersifat neurotoksik dan karsinogen kuat serta tidak dapat didegradasi oleh mikroba, sehingga penggunaan flokulan sintetik tersebut dapat menimbulkan dampak negatif baik bagi kesehatan maupun kelestarian lingkungan. Adanya dampak negatif tersebut menjadikan bioflokulan sebagai alternatif pengganti flokulan sintetik. Bioflokulan yang berasal dari *Flavobacterium* sp. telah diketahui memiliki aktifitas flokulasi yang cukup besar, akan tetapi belum diketahui komposisi biokimianya. Komposisi bioflokulan perlu dianalisis agar dapat diaplikasikan secara tepat. Pada penelitian ini diproduksi dan diisolasi bioflokulan dari *Flavobacterium* sp. yang ditumbuhkan dalam 2 variasi media, dianalisis komponennya, serta diuji aktivitas flokulasinya terhadap suspensi kaolin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bioflokulan dari *Flavobacterium* sp. yang ditumbuhkan dalam media 1 (glukosa 1% dan sukrosa 1%) mengandung polisakarida dan protein masing-masing sebanyak 0,0800 mg/ml dan 0,0566 mg/ml. Sedangkan bioflokulan dari *Flavobacterium* sp. yang ditumbuhkan pada media 2 (glukosa 0,20% dan pati 3,00%) mengandung polisakarida 0,2284 mg/mL dan protein 0,5983 mg/mL. Aktivitas flokulasi dari kultur *Flavobacterium* sp pada media 1 sebesar 66,34%, sedangkan pada media 2 sebesar 51,18%. Sementara itu, aktivitas flokulasi dari bioflokulan hasil isolasi lebih kecil daripada aktivitas flokulasi kultur, yaitu masing-masing sebesar 12,78% (dari media 1) dan 24,93% (dari media 2).

Kata kunci : Bioflokulan, *Flavobacterium* sp., aktivitas flokulasi.

1. PENDAHULUAN

Flokulan adalah suatu materi yang dapat mempercepat proses flokulasi koloid dalam cairan sehingga menyatu dan membentuk *flok*. Flokulan juga dapat mempercepat proses pengendapan sehingga memisahkan padatan dari suatu campuran. Flokulan banyak digunakan dalam bidang industri, seperti pada produksi air minum, pengolahan limbah cair, industri gula dan pengolahan makanan. Flokulan yang digunakan terdiri dari berbagai jenis, flokulan sintetik anorganik (polialuminium klorida/PAC, aluminium sulfat); organik sintetik (poliakrilamid, polietilenimin, polivinilpirimidin); dan flokulan alami, misalnya gelatin, kitosan, *guargum* serta flokulan yang berasal dari mikroba atau *bioflokulan* (Nam *et al.* 1996; Salehizadeh & Shojaosadati 2002).

Flokulan sintetik memiliki aktivitas flokulasi dan nilai ekonomis yang cukup tinggi sehingga pemakaiannya terus meningkat. Namun, flokulan anorganik yang sering digunakan salah satunya merupakan turunan poliakrilamid, bersifat neurotoksik dan karsinogenik kuat terhadap manusia (Kurane & Nohata 1991; Toeda & Kurane 1991; Nam *et al.* 1996; Salehizadeh & Shojaosadati 2002). Flokulan jenis ini sering digunakan dalam proses pemurnian gula (Mochtar 1975 dalam Susanti 2007). Para ilmuwan juga berhasil menyingkapkan bahwa aluminium, bahan baku utama flokulan polialuminium klorida, berpotensi menyebabkan penyakit syaraf *Alzheimer* (Masters *et al.* 1985 dalam Salehizadeh & Shojaosadati 2002). Flokulan sintetik berbahaya lainnya juga digunakan pada pengolahan bahan makanan (Kurane & Nohata 1991; Nam *et al.* 1996; Zhang *et al.* 2002; Lu *et al.* 2005). Selain dapat menimbulkan dampak negatif untuk kesehatan, flokulan sintetik tersebut juga dapat merusak lingkungan karena tidak dapat diuraikan oleh mikroba (Yokoi *et al.* 1998).

Adanya dampak negatif tersebut, mendorong kebutuhan flokulan yang aman dan bersifat *biodegradable*, salah satunya adalah bioflokulan. Bioflokulan merupakan hasil sintesis polimer ekstraseluler oleh mikroba selama fase pertumbuhan dan setiap mikroba memproduksi bioflokulan dengan komposisi yang berbeda-beda (Salehizadeh *et al.* 1999; Zhang *et al.* 2002; Jie *et al.* 2006). Bioflokulan yang dihasilkan oleh beberapa bakteri atau fungi di antaranya memiliki komponen protein, polisakarida, glikoprotein maupun lipid (Kurane 1986; Koizumi *et al.* 1991; Takeda *et al.* 1991; Toeda & Kurane 1991; Lee *et al.* 1995; Wang *et al.* 1995; Yokoi *et al.* 1996; Shih *et al.* 2001). Beberapa mikroba telah diteliti dapat menghasilkan bioflokulan di antaranya *Corynebacterium* sp, *Aspergillus sojae*, *Dematinum* sp, *Paecilomyces* sp, *Agrobacterium* sp, dan *Rhodococcus erythropolis* (Kurane 1986), *Zoogloea* sp (Farah & Richard 1976 dalam Susanti 2007). Berikut adalah mikroba penghasil bioflokulan yang mengandung protein *Nocardia amarae* YK-1 (Koizumi *et al.* 1991), *Bacillus licheniformis* (Shih *et al.* 2001), dan *Rhodococcus erythropolis* (Takeda *et al.* 1991); bioflokulan yang mengandung polisakarida, yaitu *Alcaligenes cupidus* KT201 (Toeda & Kurane 1991), *Bacillus subtilis* IFO 3335 (Yokoi *et al.* 1996), *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, dan *Rhizobium* spp. (Yun & Park 2003). Selain itu, *Arcuadendron* sp. TS-4 (Lee *et al.* 1995) dan *Arathrobacter* sp (Wang *et al.* 1995) mengandung glikoprotein serta *Rhodococcus erythropolis* ditemukan mengandung lipid (Kurane *et al.* 1994).

Salah satu mikroba yang berpotensi sebagai penghasil bioflokulan adalah mikroba yang berasal dari lumpur aktif. Lumpur aktif telah banyak digunakan secara luas dalam proses pengolahan limbah cair di industri tekstil. Lumpur tersebut merupakan suspensi yang mengandung mikroba penghasil bioflokulan dan umumnya mempunyai komposisi

70-90% bahan organik dan 10% bahan anorganik. Istilah lumpur aktif digunakan karena mikroba aerobik umumnya tampak menggumpal seperti lumpur tanah. Lumpur aktif terdiri dari berbagai jenis mikroba yang terdiri dari 95% bakteri dan 5%-nya adalah fungi, alga, dan protozoa.

Hasil penelitian Dewi (2007) menunjukkan isolat lumpur aktif yang disolasi dari PT UNITEX, Bogor dan PT Indonesian Toray Synthetics, Tangerang memiliki aktivitas flokulasi lebih dari 50%. Identifikasi isolat dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri Gram negatif, dan berdasarkan identifikasi genus yang kemudian dicocokkan dengan kunci taksonomi yang terdapat dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* disimpulkan bahwa isolat dari lumpur aktif tersebut adalah bakteri *Flavobacterium* sp.

Pada penelitian ini dilakukan produksi dan pemurnian bioflokulan yang dihasilkan oleh *Flavobacterium* sp yang berasal dari isolat lumpur aktif, analisis komponen bioflokulan, serta pengujian aktivitas flokulasinya.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Pereaksi Kimia

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat-isolat lumpur aktif (LA-1, LA-2, LA-4, dan LA-7) yang disolasi dari PT UNITEX, Bogor dan PT Indonesian Toray Synthetics, Tangerang; media sintetik untuk pertumbuhan mikroba *Nutrient Agar* (NA); *Nutrient Broth* (NB); media produksi bioflokulan, pH 6 (Wang *et al.* 1995; Lu *et al.* 2005; Jie *et al.* 2006) terdiri dari 0.05% ekstrak khamir, 0.05% bakto pepton, 0.05% urea, 0.02% $MgSO_4$, 0.5% KH_2PO_4 , 0.05% $(NH_4)_2SO_4$, 0.01% NaCl, dan variasi sumber karbon; bahan uji standar aktivitas flokulasi, yaitu suspensi kaolin 0.05% (*caolin clay*); koagulan $AlCl_3$; etanol 95%; alkohol 75%; pereaksi Molisch; larutan ninhidrin 0.1%; larutan fenol 5%, H_2SO_4 pekat, standar glukosa untuk analisis kandungan gula total; standar Bovine serum albumin (BSA), reagen Bradford, dan NaCl 0.9 % untuk analisis kandungan protein bioflokulan.

2.1. Peremajaan Isolat

Satu ose isolat lumpur aktif dari stok gliserol diinokulasikan ke dalam media NA cawan dan agar miring, kemudian diinkubasi 16 jam pada suhu 30 °C. Koloni tunggal yang diperoleh pada cawan diambil dengan lup inokulasi dan ditumbuhkan dalam 5 ml media NB, kemudian diinkubasi selama 16 jam pada suhu 30 °C, kecepatan *shaker* 180 rpm. Lalu 1% dari media NB masuk ke tahap selanjutnya, yaitu ditumbuhkan pada media

produksi bioflokulan (Shimizu & Odawara 1985; Lu *et al.* 2005; Jie *et al.* 2006; El-tayeb & Khodair 2007).

2.3. Produksi Bioflokulan

Kultur cair media NB dipindahkan sebanyak 1% dari volume media produksi ke dalam media produksi bioflokulan lalu diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 180 rpm selama 42 jam pada suhu 30 °C. Media produksi terdiri dari 0.05% ekstrak khamir, 0.05% bakto pepton, 0.05% urea, 0.02% MgSO₄, 0.5% KH₂PO₄, 0.05% (NH₄)₂SO₄, 0.01% NaCl, dan variasi sumber karbon, dengan pH media diatur 6 (Wang *et al.* 1995; Lu *et al.* 2005; Jie *et al.* 2006)

Produksi bioflokulan dilakukan dalam 3 variasi media, yaitu media 1, mengandung glukosa 1% dan sukrosa 1%; media 2, mengandung glukosa 0.2% dan pati 3%; dan media 3, mengandung pati 1%. Ketiga media tersebut diuji pengaruhnya terhadap aktivitas flokulasi, kemudian dipilih media yang paling kecil pengaruhnya terhadap aktivitas flokulasi.

2.4. Isolasi Bioflokulan

Bioflokulan hasil produksi diisolasi dengan metode Zhang *et al.* 2002. Kultur produksi disentrifus pada 6.000 X g selama 15 menit untuk memisahkan sel. Supernatan yang diperoleh ditambahkan etanol 95% dingin sebanyak dua volume supernatan secara bertahap sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Perubahan yang terjadi selama penambahan etanol secara bertahap diamati. Setelah itu didiamkan selama kurang lebih 30 menit hingga mencapai kesetimbangan. Lalu fraksi endapan etanol disentrifus kembali pada 12.000 X g selama 15 menit untuk memperoleh endapan bioflokulan yang kemudian dikeringkan dalam oven. Hasil isolasi yang diperoleh berupa serbuk bioflokulan, kemudian diuji aktivitas flokulasinya dan dianalisis komponen biokimianya.

2.5. Uji Aktivitas Flokulasi

Pengujian aktivitas flokulasi dilakukan terhadap kultur produksi (bioflokulan kasar) dan bioflokulan hasil isolasi. Pengujian aktivitas flokulasi kultur produksi terhadap suspensi kaolin dilakukan dalam gelas ukur 100 ml. Sebanyak 80 ml suspensi kaolin (5,5 g/L) dicampur dengan 10 ml koagulan AlCl₃ 0.05% b/v dan 1.0 ml cairan kultur, ditambahkan akuades hingga mencapai volume total 100 ml. Campuran kemudian diaduk, suhu 27 °C dan dibiarkan tegak selama 2 menit (Kurane *et al.* 1986; Kurane *et al.* 1995; Zhang *et al.* 2002a; Jie *et al.* 2006). Pembentukan agregat visibel diamati untuk menentukan terbentuk atau tidaknya flok dalam campuran reaksi.

Aktivitas flokulasi ditentukan dengan mengukur penurunan turbiditas bagian atas campuran dalam gelas ukur. Kerapatan optis (OD) bagian atas campuran setelah 2 menit diukur serapannya pada panjang gelombang 550 nm. Aktivitas flokulasi dihitung menurut persamaan: $(A-B)/A \times 100\%$ dengan A adalah OD kontrol dan B adalah OD sampel. Untuk kontrol dilakukan dengan kondisi yang sama hanya tanpa penambahan cairan kultur.

2.6. Analisis Komponen Bioflokulan

Komponen bioflokulan yang dianalisis adalah kandungan karbohidrat (gula total) dan protein. Kandungan total gula/polisakarida ditentukan dengan metode Fenol-asam sulfat (Dubois *et al.* 1956) dengan glukosa sebagai standar. Sementara itu, kandungan protein ditentukan dengan metode Bradford (1976) dengan BSA sebagai standar. Sebelumnya, dilakukan uji kualitatif dengan uji Molish untuk mendeteksi karbohidrat dan uji Ninhidrin untuk mendeteksi protein.

Metode Fenol-asam sulfat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan total gula dalam sampel bioflokulan (Nam *et al.* 1996; Zhang *et al.* 2002; Lu *et al.* 2005; Jie *et al.* 2006). Langkah awal ialah membuat kurva standar dengan larutan glukosa (1 mg/ml) sebagai standar dari konsentrasi tertinggi hingga terendah. Kemudian sampel ditambahkan 0.5 ml larutan fenol 5% dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan 2.5 ml H₂SO₄ pekat. Setelah itu, campuran diinkubasi selama 15 menit di ruang asam. Lalu tabung berisi campuran dipanaskan dalam air (40 °C) selama 15-30 menit (hingga terjadi perubahan warna). Analisis kadar gula dilakukan dengan pembacaan serapan pada $\lambda = 490$ nm.

Langkah awal untuk menentukan kandungan protein ialah pembuatan kurva standar dengan BSA dengan berbagai variasi konsentrasi (Zhang *et al.* 2002; Zhang *et al.* 2002b; Lu *et al.* 2005; Jie *et al.* 2006). Setelah diperoleh persamaan kurva standar, langkah berikutnya ialah penentuan konsentrasi sampel. Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan NaCl 0.9% dan 5 ml reagen Bradford. Campuran dikocok hingga merata menggunakan *vortex* kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Produksi Bioflokulan

Isolat lumpur aktif yang dipilih untuk produksi bioflokulan adalah isolat yang menunjukkan aktivitas flokulasi yang tinggi berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Dewi 2007), yaitu isolat LA-1, LA-2, LA-4, dan LA-7. Dari keempat isolat tersebut dipilih

isolat LA-2 karena isolat ini yang menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan 3 isolat lainnya berdasarkan pengukuran kerapatan optis kultur setelah isolat ditumbuhkan dalam media NB cair selama 16 jam pada suhu 30 °C dengan kecepatan *shaker* 180 rpm.

Kondisi dan media produksi mempengaruhi bioflokulan yang dihasilkan. Pada penelitian ini dilakukan variasi sumber karbon dalam media produksi, yaitu media 1 mengandung glukosa 1% dan sukrosa 1% (Kurane *et al.* 1994; Wang *et al.* 1995; Yokoi *et al.* 1998; Lu *et al.* 2005), media 2 mengandung glukosa 0.2% dan pati 3% (Zhang *et al.* 2002), dan media 3 mengandung pati 1% (Kurane & Matsuyama 1994). *Preculture* yang digunakan untuk produksi sebanyak 1% (dari kultur NB cair), kondisi aerasi untuk produksi yaitu 1:8, bakteri ditumbuhkan pada suhu 30 °C selama 42 jam dalam *rotary shaker* dengan kecepatan 180 rpm.

Media produksi yang akan digunakan diuji pengaruhnya terhadap proses flokulasi, kemudian dipilih media yang memberikan pengaruh paling kecil terhadap proses flokulasi. Tabel 1 memperlihatkan hasil pengujian kemampuan flokulasi berbagai variasi media saja (tanpa bioflokulan) terhadap kaolin. Pengujian menunjukkan masing-masing media mempunyai aktivitas flokulasi < 50%. Media 3 (pati 1%) menunjukkan aktivitas flokulasi paling tinggi sebesar 21.94%. Sementara itu, aktivitas flokulasi paling kecil ialah media 2 (glukosa 0.2% dan pati 3%) yaitu sebesar 7.14%. Berdasarkan hasil uji tersebut, media yang akan digunakan menjadi media produksi bioflokulan isolat LA-2 ialah media 1 dan 2. Media tersebut memberikan pengaruh kecil saat flokulasi sehingga produk mikrob (bioflokulan) akan lebih berperan proses flokulasi.

Tabel 1 Aktivitas flokulasi berbagai variasi media (tanpa bioflokulan)

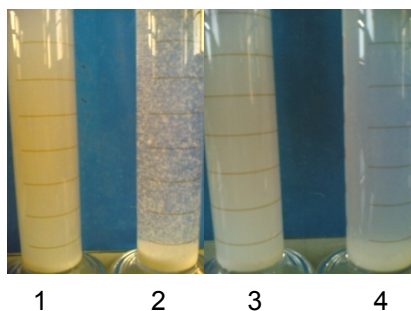
Variasi media produksi	OD kontrol $\lambda_{550\text{ nm}}$	OD sampel $\lambda_{550\text{ nm}}$	Aktivitas flokulasi (%)
1	1.750	1.472	15.88
2	1.750	1.625	7.14
3	1.750	1.366	21.94

Tahap selanjutnya adalah produksi bioflokulan pada media 1 dan 2. Setelah isolat LA-2 ditumbuhkan dalam media produksi selama 42 jam, kultur diukur nilai OD_{550nm}, hasilnya pada media 1 dan 2 secara berurutan sebesar 0.452 dan 0.638. Kemudian dilakukan uji aktivitas flokulasi dari kultur (bioflokulan kasar) yang hasilnya tercantum pada Tabel 2. Hasil uji menunjukkan bahwa bioflokulan dari kultur 1 mempunyai aktivitas flokulasi yang lebih tinggi yaitu sebesar 66.34%, sedangkan bioflokulan dari kultur 2 sebesar 51.18%. Glukosa dan sukrosa yang digunakan sebagai sumber C memberikan

pengaruh aktivitas flokulasi yang lebih baik daripada pati atau maltosa (Toeda & Kurane 1991; Yokoi *et al.* 1998). Pengamatan visual aktivitas flokulasi dari bioflokulan ditunjukkan pada gambar 2.

Tabel 2 Aktivitas flokulasi kultur isolat LA-2

Variasi media produksi	OD kontrol $\lambda_{550\text{ nm}}$	OD sampel $\lambda_{550\text{ nm}}$	Aktivitas flokulasi (%)
1	1.551	0.522	66.34
2	1.485	0.725	51.18



Gambar 2 Aktivitas flokulasi isolat LA-2. (1 & 3) kontrol, (2) media 1, (4) media 2

3.2. Isolasi Bioflokulan

Isolasi bioflokulan dilakukan dengan metode pengendapan dengan etanol (Yokoi *et al.* 1998; Zhang *et al.* 2002a; Zhang *et al.* 2002; Jie *et al.* 2006). Serbuk bioflokulan yang diperoleh dari kultur 2 lebih banyak daripada kultur 1. Hal ini dapat disebabkan oleh sumber karbon pada media 2 yang mengandung pati 3%. Adanya pati yang tidak larut sempurna sangat berperan untuk menginduksi mikroba untuk menghasilkan bioflokulan dengan kandungan polisakarida yang tinggi. Dari jumlah media produksi sebanyak 250 mL masing-masing diperoleh serbuk bioflokulan sebanyak 0.185 g dari kultur 1 dan sebanyak 2.6289 g dari kultur 2. Konsentrasi glukosa yang tinggi (1%) dalam media 1 dapat menghambat pertumbuhan sel dan produksi bioflokulan. Bobot serbuk bioflokulan yang diperoleh secara maksimum dari media 2 disebabkan oleh konsentrasi sumber C yang tepat. Berdasarkan penelitian Zhang *et al.* 2002, konsentrasi glukosa yang rendah (sekitar 0.1 - 0.2%) dapat menstimulasi sel mikroba untuk menggunakan pati sebagai sumber karbon dan menghasilkan bioflokulan yang lebih maksimum.

Serbuk bioflokulan yang diperoleh dari pengendapan etanol kemudian diuji aktivitas flokulasinya. Berdasarkan Tabel 3, nilai aktivitas flokulasinya kurang dari 50%, yaitu bioflokulan yang diisolasi dari media 1 sebesar 12.78%, sedangkan dari kultur 2 mempunyai aktivitas sebesar 24.93%. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas flokulasi

kultur bioflokulan lebih tinggi daripada bioflokulan hasil isolasi dengan pengendapan etanol.

Tabel 3 Aktivitas flokulasi bioflokulan hasil isolasi

Variasi media produksi	OD kontrol $\lambda_{550 \text{ nm}}$	OD sampel $\lambda_{550 \text{ nm}}$	Aktivitas flokulasi (%)
1	1.392	1.214	12.78
2	1.392	1.045	24.93

3.3. Analisis Komposisi Bioflokulan

Analisis karbohidrat dan protein secara kualitatif terhadap bioflokulan 1% hasil isolasi menunjukkan hasil yang positif. Uji kuantitatif lebih lanjut dengan metode fenol-asam sulfat (gula total) dan Bradford (protein) ditunjukkan pada tabel 4. Bioflokulan yang dihasilkan oleh *Flavobacterium* sp (isolat LA-2) pada media 1 memiliki kandungan gula total yang lebih tinggi dibandingkan kandungan proteinnya. Sebaliknya bioflokulan dari media 2 memiliki kandungan protein yang lebih tinggi daripada gula total.

Tabel 4 Analisis komponen bioflokulan murni 1%

Variasi media produksi	Kandungan gula total (mg/mL)	Kandungan protein (mg/mL)
1	0.0800	0.0566
2	0.2284	0.5983

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Kultur *Flavobacterium* sp pada media 1 (gukosa 1% dan sukrosa 1%) memiliki aktivitas flokulasi yang lebih tinggi dibandingkan kultur *Flavobacterium* sp pada media 2 (glukosa 0.2% dan pati 3%). Aktivitas flokulasi dari bioflokulan hasil isolasi lebih rendah dibandingkan aktivitas kulturnya (bioflokulan kasar). Isolasi bioflokulan dari kultur media 1 memberikan perolehan bioflokulan yang lebih kecil dibandingkan kultur 2. Bioflokulan yang dihasilkan oleh *Flavobacterium* sp tersebut mengandung karbohidrat (gula total) dan protein dengan komposisi masing-masing 0.0800 mg/mL dan 0.0566 mg/mL untuk bioflokulan dari kultur 1, sedangkan bioflokulan dari kultur 2 mengandung gula total sebesar 0.2284 mg/mL dan protein sebesar 0.5983 mg/mL.

Isolat LA-2 yang merupakan *Flavobacterium* sp berpotensi menghasilkan bioflokulan dengan aktivitas flokulasi cukup tinggi (>50%). Tetapi perlu diteliti lebih lanjut optimasi produksi dan isolasinya agar dapat diperoleh bioflokulan yang memiliki aktivitas flokulasi lebih tinggi juga *yield* yang lebih besar. Selain itu, komponen penyusun bioflokulan

tersebut dapat diteliti lebih lanjut menggunakan metode yang lebih spesifik untuk meningkatkan daya guna bioflokulan ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini tidak dapat dilaksanakan dengan baik tanpa bantuan dana dari Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi P. 2007. Isolasi dan optimasi flokulasi mikroba potensial penghasil bioflokulan dari lumpur aktif [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Jie G *et al.* 2006. Characterization of a bioflocculant from a newly isolated *Vagococcus* sp. W31. *J Zhejiang Univ SCIENCE B* 7:186-192.
- Koizumi JI *et al.* 1991. Synergetic flocculation of the bioflocculant FIX extracellularly produced by *Nocardia amarae*. *J Gen Microbiol* 37:447-454.
- Kurane R, Matsuyama H. 1994. Production of a bioflocculant by mixed culture. *Biosci Biotech Biochem* 58:1589-1594.
- Kurane R *et al.* 1986. Screening for characteristics of microbial flocculants. *Agric Biol Chem* 50:2301-2307.
- Kurane R, Nohata Y. 1991. Microbial flocculation of waste liquids and oil emulsion by a bioflocculant from *Alcaligenes latus*. *Agric Biol Chem* 55:1127-1129
- Kurane R *et al.* 1994a. Production of a bioflocculant by *Rhodococcus erythropolis* S-1 Grown on Alcohols. *Biosci Biotech Biochem* 58:428-429.
- Kurane R *et al.* 1994b. Purification and characterization of lipid bioflocculant produced by *Rhodococcus erythropolis*. *Biosci Biotech Biochem* 58:1977-1982.
- Kurane R *et al.* 1995. Chemical structure of lipid bioflocculant produced by *Rhodococcus erythropolis*. *Biosci Biotechnol Biochem* 59:1652-1656.
- Lu WY *et al.* 2005. A Novel Bioflocculant Produced by *enterobacter aerogenes* and its use in defecating the trona suspension. *J Biochem Engin* 27: 1-7.
- Nam JS *et al.* 1996. Bioflocculant produced by *Aspegillus* sp. JS-42. *Biosci Biotechnol Biochem* 60:325-327.
- Salehizadeh H, Shojaosadati SA. 2002. Isolation and characterization of a bioflocculant produced by *Bacillus firmus*. *Biotechnol Letters* 24: 35-40.
- Shih IL *et al.* 2001. Production of a biopolymer flocculant from *Bacillus licheniformis* and its flocculation properties. *Bioresour Technol* 78:267-272.
- Shimizu N, Odawara Y. 1985. Floc-forming bacteria isolated from activated sludge in high-BOD loading treatment. *J Ferment Technol* 1:67-71.
- Susanti HE. 2007. Isolasi dan optimasi flokulasi bakteri penghasil bioflokulan dari sumber perairan di daerah Bogor [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

- Takeda M *et al.* 1991. A protein bioflocculant produced by *Rhodococcus erythropolis*. *Agric Biol Chem* 55:2663-2664.
- Toeda K, Kurane R. 1991. Microbial flocculant from *Alcaligenes cupidus* KT201. *Agric Biol Chem* 55:2793-2799.
- Yokoi H *et al.* 1998. Biopolymer flocculant produced by an *Pseudomonas* sp. *Biotechnol Techniques* 7:511-514.
- Yun UJ, Park HD. 2003. Physical properties of an extracellular polysaccharide produced by *Bacillus* sp. CP912. *Appl Microbiol* 36:282-287.
- Zhang J *et al.* 2002a. Characterization of a bioflocculant produced by the marine myxobacterium *Nannocystis* sp. NU-2. *Appl Microbiol Biotechnol* 59:517-522.
- Zhang J *et al.* 2002b. Production of an exopolysaccharide bioflocculant by *Sorangium cellulosum*. *Appl Microbiol* 34:178-181.
- Wang Z *et al.* 1995. Bioflocculant-producing microorganisms. *Acta Microbiol Sin* 35.

CHEMISTRY

METODE ANALISIS ION BESI BERBASIS CYCLIC-FLOW INJECTION ANALYSIS (cy-FIA) SEBAGAI SUATU USAHA MENUJU ANALISIS KIMIA RAMAH LINGKUNGAN (GREEN ANALYTICAL CHEMISTRY)

Muhammad Bachri Amran

Kelompok Keilmuan Kimia Analitik, FMIPA, Institut Teknologi Bandung.
Jalan Ganesha 10, Bandung – 40132, Indonesia
Telp. 022 2502103 – Fax. 022 2504154

amran@chem.itb.ac.id

Abstract

Compared to the batch-wise analytical method, low reagent consumption as well as small sampel size is one of the advantages of Flow Injection Analysis (FIA) method. However all methods proposed do not mention anything about the final wastes, which could be highly toxic and polluting the environment. In this research, cyclic FIA method (cy-FIA) was developed and evaluated for reusing reagent and minimizing waste generated on the analysis of iron ions from water sampels. Evaluation of the analytical performance of this method showed very satisfactory results. The precision (%CV, n=7) of 1.9 for concentration of 0.4 mg/L⁻¹, detection limit of 0.03 mg/L⁻¹ and the analysis throughput up to 60 sampels per hour can be achieved. The results obtained showed that the developed analytical method is a satisfactory method to reduce reagent consumption and waste generated so it can be an important effort towards the concept of environmentally friendly chemical analysis or what is known as a green analytical chemistry.

Keyword: *cyclic-FIA, iron ion, green analytical chemistry.*

1. PENDAHULUAN

Sejak diperkenalkan oleh Ruzicka dan Hansen pada awal tahun delapan puluhan [1], metode *flow injection analysis* (FIA) telah menjadi salah satu metode pilihan yang luas digunakan dalam analisis kimia. Dibandingkan dengan metode analisis secara *batch* yang telah lama dikenal, konsumsi pereaksi yang rendah serta jumlah sampel yang kecil merupakan salah satu keunggulan dari metode FIA. Hingga tahun 2006 tercatat tidak kurang dari 15.000 artikel dan 20 monograf mengenai FIA telah diterbitkan yang menunjukkan perkembangan pesat dari metode ini [2]. Walaupun demikian hampir keseluruhan metode yang diusulkan tidak menyebutkan apa-apa tentang limbah akhir proses analisis yang dapat sangat beracun atau mencemari lingkungan.

Dalam FIA konvensional, larutan pembawa (*carrier*) dan pereaksi dialirkan secara terus menerus ke dalam sistem aliran yang kontinu sehingga sampel toksik yang disuntikkan akan terencerkan dengan baik oleh larutan pembawa dan pereaksi yang digunakan. Hal ini akan mengakibatkan volume limbah analisis akan sangat meningkat.

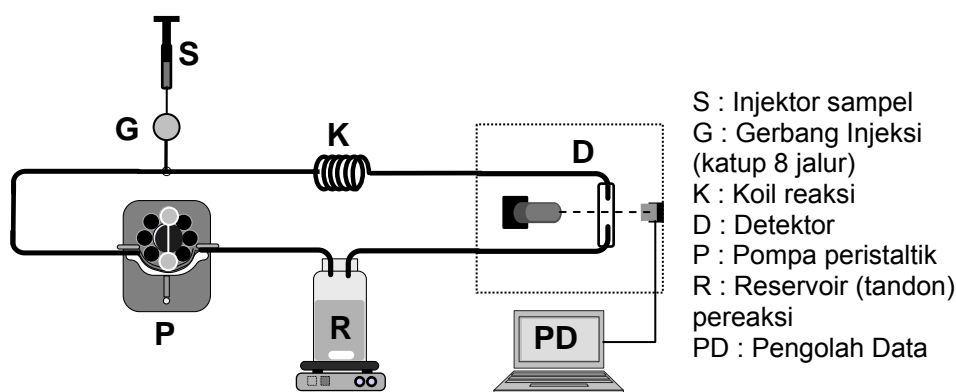
Seringkali bahkan diperlukan pengenceran limbah yang lebih besar sebelum limbah analisis layak dibuang ke lingkungan. Solusi seperti ini tentu saja menuntut kerja dan biaya yang lebih. Oleh karena itu sangat penting untuk mengontrol limbah hasil proses analisis kimia untuk mencegah laboratorium analisis menjadi sumber tambahan kontaminasi. Detoksifikasi limbah analisis atau minimalisasi limbah harus dipertimbangkan sebagai langkah tambahan dalam analisis kimia produk berbahaya yang melibatkan penggunaan pereaksi yang juga mungkin sangat beracun. Metode siklik-FIA (*cyclic-Flow Injection Analysis, cy-FIA*), dimana larutan pereaksi diresirkulasi dan digunakan kembali, merupakan jawaban yang cukup tepat untuk sebuah metode analisis kimia yang bersih atau yang dikenal sebagai *green analytical chemistry* [3-5]. Untuk menghindari cemaran dari limbah analisis yang tidak diinginkan, telah dikembangkan metode cy-FIA yang memungkinkan penggunaan kembali pereaksi yang digunakan dan untuk meminimalkan limbah yang dihasilkan. Untuk keperluan ini, reaksi reversible yang umum dikenal telah digunakan sebagai dasar pengembangan metode cy-FIA [6-9].

Sebagai salah usaha untuk memperoleh metode analisis kimia yang ramah lingkungan, analisis ion besi(II) secara spektrofotometri menggunakan ligan 1,10 fenantrolin telah diadopsi sebagai model dalam mengembangkan metode cy-FIA. Ligan 1,10 fenantrolin merupakan ligan pengompleks yang sudah lazim digunakan dalam analisis besi secara spektrofotometri. Ion besi (II) bereaksi dengan 1,10 fenantrolin membentuk senyawa kompleks yang mampu memberikan kesensitifan sangat baik pada pengukuran dengan spektrofotometri sinar tampak ($\epsilon = 1,11 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pada 510 nm). Namun demikian, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa fenantrolin dan turunannya dapat bersifat toksik pada beberapa tanaman tingkat tinggi seperti halnya sifat toksik dari senyawa-senyawa poli-aromatik hidrokarbon (PAHs) [10, 11]. Harus dipahami pula bahwa FIA konvensional yang luas digunakan, walaupun telah mampu meminimalkan jumlah pereaksi yang digunakan, belum sesuai dari sudut pandang lingkungan karena pereaksi yang dialirkan secara kontinu dan selanjutnya menjadi limbah analisis akan menjadi sumber potensial pencemaran lingkungan. Dalam penelitian ini, cy-FIA diadopsi untuk analisis ion besi(II) sehingga diperoleh suatu sistem tertutup (*closed-flow system*) yang memungkinkan penggunaan kembali pereaksi 1,10 fenantrolin. Beberapa kondisi dan parameter analisis yang dapat mempengaruhi kinerja analitik dari metode yang dikembangkan telah dipelajari dan didiskusikan dalam tulisan ini. Metode cy-FIA yang dikembangkan ini juga telah diaplikasikan pada analisis ion besi dari beberapa sampel air.

2. BAHAN, PERALATAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan kimia yang digunakan memiliki tingkat kemurnian untuk analisis dan digunakan tanpa perlakuan terlebih dahulu, kecuali disebutkan lain. Larutan standard Fe(II) (1000 ppm) dibuat dari garam ammonium ferro sulfat, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck). Larutan kerja Fe(II) pada konsentrasi $\mu\text{g L}^{-1}$ dibuat secara harian dengan mengencerkan larutan induk 1000 mg L^{-1} . 1,10 fenantrolin ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$), etilen diamin tetra asetat (EDTA) dan hidroksil amin hidroklorida ($\text{HONH}_2 \cdot \text{HCl}$) diperoleh dari E. Merck KG (Darmstadt Germany). Air yang digunakan sebagai pelarut diperoleh dari sistem pemurnian air E-Pure™ (Barnstead, USA). Diagram secara skematik dari cy-FIA yang digunakan diilustrasikan pada gambar 1.



Gambar 1 Diagram skematik dari siklus-FIA

Peralatan cy-FIA yang dikonstruksi terdiri dari pompa peristaltik (Ismatec®, Switzerland) yang dilengkapi selang Tygon® untuk mensirkulasi pereaksi. Gerbang injeksi berupa katup 8 jalur (Cheminert, Vici Valco®, Switzerland), tandon pereaksi, koil reaksi dan *flow cell* dari detektor dihubungkan dengan pipa PTFE berdiameter dalam 0,75 mm. Data analog dari detektor diumpan ke dalam analog-digital konverter untuk selanjutnya diolah dengan menggunakan perangkat lunak PowerChrom® (ADInstrument, Australia).

2.2. Metode

Larutan pereaksi berupa campuran 1,10 fenantrolin dengan EDTA yang diaduk secara kontinu di dalam tandon pereaksi disirkulasi dengan laju alir 1,5 mL/menit. Larutan standard besi(II) atau sampel diinjeksikan melalui gerbang injeksi ke dalam aliran pereaksi dan kompleks Fe(II)-fenantrolin yang terbentuk dideteksi secara spektrofotometri pada panjang gelombang 510 nm. Campuran reaksi selanjutnya dialirkan kembali ke dalam tandon pereaksi untuk digunakan secara berulang. Prosedur umum seperti ini

digunakan untuk mengoptimasi kondisi reaksi dan parameter pengukuran yang mempengaruhi kinerja analitik dari metode cy-FIA yang dikembangkan.

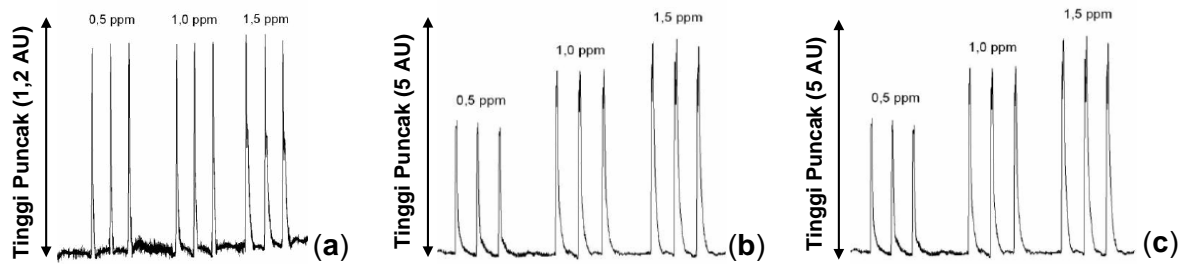
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan EDTA dalam jumlah berlebih menyebabkan reaksi pembentukan kompleks berwarna Fe(II)-fenantrolin tidak terjadi jika dilakukan dengan cara *batch* karena tetapan kestabilan Fe-EDTA ($\log K=14,32$) lebih besar dari Fe-fenantrolin. Tidak seperti halnya pada cara *batch*, dalam sistem FIA reaksi pembentukan kompleks Fe-fenantrolin dapat terjadi pada batas (*boundary*) zona sampel yang diinjeksikan ke dalam aliran pereaksi dan intensitas serapannya sebanding dengan konsentrasi ion besi. Fenomena ini sangat menarik dan penting karena reaksi berlangsung dalam kondisi dimana konsentrasi inhibitor dominan. Pada saat campuran reaksi kembali ke tandon pereaksi maka kompleks terbentuk akan terurai kembali melalui reaksi penggantian ligan ($\text{Fe-fenantrolin} + \text{EDTA} \rightleftharpoons \text{Fe-EDTA} + \text{fenantrolin}$) sehingga fenantrolin dapat digunakan secara berulang. Fe-EDTA yang terbentuk tidak akan mengganggu pengukuran karena tidak menyerap sinar pada panjang gelombang pengukuran yang digunakan.

3.1. Optimasi kondisi cy-FIA

Reaksi pembentukan kompleks Fe-fenantrolin seperti halnya reaksi pembentukan kompleks yang lazim dikenal sangat dipengaruhi oleh pH larutan. Pengaruh pH telah dipelajari pada rentang pH 3 hingga 6 secara spektrofotometri. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kompleks Fe-fenantrolin terbentuk secara optimal pada pH=5, yang ditandai dengan nilai serapan pada $\lambda=510$ nm yang paling besar. Oleh karena itu untuk percobaan selanjutnya digunakan campuran pereaksi fenantrolin-EDTA yang disangga pada pH=5 menggunakan larutan penyangga asetat.

Parameter lain yang sangat berpengaruh pada tahap reaksi pembentukan kompleks Fe-fenantrolin adalah perbandingan konsentrasi fenantrolin dengan EDTA. Konsentrasi EDTA dalam campuran pereaksi sangat penting karena berfungsi sebagai agen regenerasi pereaksi pembentuk kompleks Fe-fenantrolin. Pengaruh komposisi campuran pereaksi ini dipelajari dengan membuat konsentrasi EDTA tetap (1×10^{-5} M) sedangkan konsentrasi fenantrolin dibuat bervariasi sehingga diperoleh perbandingan fenantrolin:EDTA masing-masing sebesar 1:1, 2:1 dan 3:1. Profil sinyal yang diperoleh pada berbagai perbandingan yang dipelajari ditunjukkan pada gambar 2.

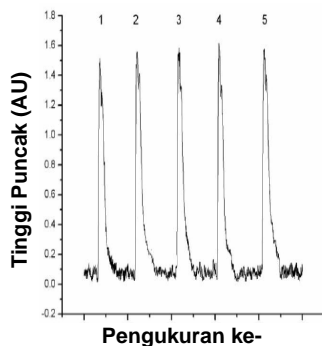


Gambar 2 Pengaruh komposisi pereaksi pada profil sinyal (1,10 Fenantrolin:EDTA (a). 1:1, (b). 2:1, (c). 3:1, [Fe]=10 ppm)

Pada gambar 2(a) terlihat dengan jelas bahwa jumlah fenantrolin yang tersedia tidak cukup untuk membentuk kompleks dengan ion besi(II). Tinggi puncak yang diperoleh hampir tidak mengalami perubahan dengan membesarnya konsentrasi ion besi(II). Hal ini juga mungkin disebabkan oleh tingginya konsentrasi EDTA sehingga kompleks Fe-fenantrolin yang terbentuk dengan segera mengalami reaksi penggantian ligan dengan EDTA. Gambar 2(b) dan 2(c) menunjukkan adanya kenaikan tinggi puncak seiring dengan kenaikan konsentrasi ion besi(II). Walaupun demikian, korelasi antara tinggi puncak dengan konsentrasi besi(II) jauh lebih baik pada perbandingan 2:1 ($R^2=0,995$). Pada konsentrasi fenantrolin yang terlalu tinggi (3:1) maka EDTA sebagai agen regenerasi tidak dapat lagi berfungsi dengan optimal pada tahap reaksi penggantian ligan. Keadaan ini akan mengakibatkan terakumulasinya kompleks Fe-fenantrolin dalam larutan yang ditunjukkan dengan meningkatnya derau latar belakang sinyal yang diperoleh.

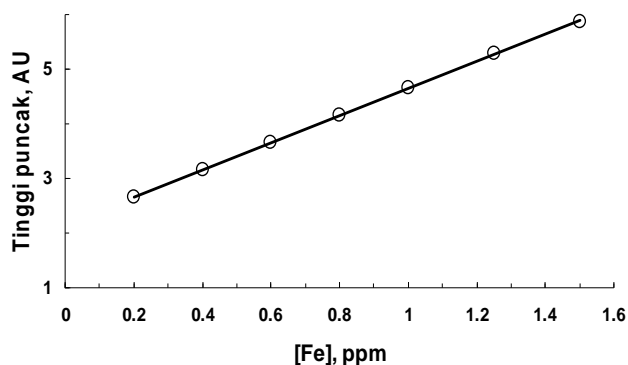
3.2. Evaluasi Kinerja Analitik

Kinerja analitik dari metoda cy-FIA yang dikembangkan dievaluasi dengan melihat beberapa besaran kinerja seperti presisi, kelinieran atau rentang dinamik, keajegan garis dasar dan limit deteksi. Dengan menggunakan parameter dan kondisi pengukuran yang telah dioptimasi sebelumnya, 100 μ L larutan standard besi(II) 0,4 ppm diinjeksikan secara berulang sehingga diperoleh profil sinyal seperti terlihat pada gambar 3.



Gambar 3 Profil keboleholangan sinyal pada kondisi optimum pengukuran. (1,10 Fenantrolin:EDTA 2:1, pH=5, [Fe(II)]=0,4 ppm)

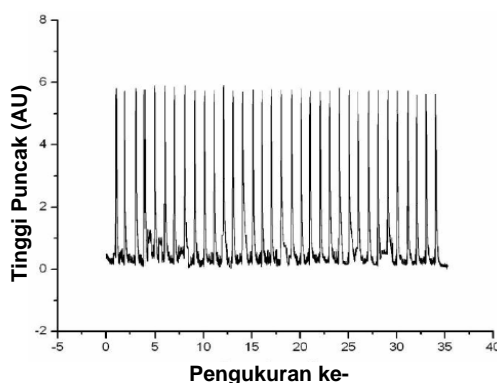
Dari hasil pengukuran diperoleh nilai presisi yang dinyatakan sebagai persen koefisien variansi sebesar 1,97 % ($n=5$) untuk larutan standard besi(II) 0,4 ppm. Pengujian kelinieran kurva kalibrasi dilakukan pada rentang konsentrasi 0,2 – 1,5 ppm. Aluran tinggi puncak terhadap konsentrasi menghasilkan hubungan linier $H = 2,486 [Fe] + 2,17$ dengan nilai korelasi (R^2) mendekati satu (Gambar 4). Limit deteksi ($S/N=3$) ditentukan dengan mengukur sinyal blanko secara berulang ($n=11$) dan dibandingkan dengan tinggi puncak larutan standard 0,4 ppm. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa metoda cy-FIA yang dikembangkan ini memiliki limit deteksi sebesar 0,03 ppm.



Gambar 4 Kurva kalibrasi metoda cy-FIA (volume sampel 10 μ L, fenantrolin:EDTA = 2:1, pH=5)

Evaluasi terhadap keajegan garis dasar dilakukan dengan menginjeksikan larutan standard 1 ppm secara berulang pada tiap selang waktu 1 menit hingga garis dasar menunjukkan kenaikan yang signifikan. Gambar 4 menunjukkan profil sinyal yang diperoleh setelah dilakukan 35 kali injeksi. Dari gambar 4 diperoleh bahwa kenaikan/penyimpangan garis dasar setelah injeksi berulang 35 kali adalah kira-kira 2 mV yang setara dengan perubahan nilai absorbans sebesar 0,002 (AU). Kecilnya perubahan garis dasar ini menunjukkan bahwa proses regenerasi pereaksi agar dapat digunakan

kembali telah berlangsung dengan baik. Hasil ini juga menunjukkan frekuensi analisis yang bisa dilakukan yaitu sebesar 60 kali analisis per jam.



Gambar 4 Profil sinyal injeksi berulang dengan selang waktu 1 menit (volume injeksi = 100 μL , $[\text{Fe(II)}] = 1 \text{ ppm}$)

Dengan menggunakan kondisi pengukuran yang optimal. Beberapa sampel air sungai telah ditentukan konsentrasi ion besinya. Evaluasi keakuratan dari metoda dilakukan dengan cara *spike* dimana sejumlah tertentu larutan standar besi(II) telah ditambahkan ke dalam sampel air sungai, ditambahkan $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ untuk mereduksi ion besi(III) dan selanjutnya dianalisis. Hasil pengukuran menunjukkan adanya kesesuaian antara jumlah yang ditambahkan dengan jumlah analit hasil pengukuran seperti terlihat pada Tabel 1. Nilai perolehan kembali yang dihitung untuk sampel yang ditambahkan larutan standar selalu lebih besar dari 95 %. Hasil ini mengkonfirmasi bahwa prosedur analisis yang disarankan mampu memberikan hasil yang tidak dipengaruhi oleh matrik sampel.

Tabel 1. Hasil penentuan konsentrasi ion besi dari air sungai

Sampel Air Sungai	[Fe], mg L^{-1}		Recovery (%)
	add	found	
R-01	0	0,52	-
	0,25	0,75	97,40
R-02	0	0,48	-
	0,25	0,71	97,26

4. SIMPULAN

Penentuan ion besi menggunakan 1,10 fenantrolin secara spektrofotometri berbasis teknik cy-FIA dengan keberadaan EDTA telah berhasil dilakukan. Pereaksi utama, fenantrolin, dapat diregenerasi dan digunakan kembali melalui reaksi penggantian ligan dengan EDTA, sehingga dapat dilakukan analisis berulang hingga 60 sampel per jam tanpa penambahan pereaksi. Metode analisis yang disarankan mampu memberikan

kemudahan, kesensitifan dan kehandalan yang baik. Kesederhanaan rangkaian peralatan dan minimalnya limbah proses analisis yang dihasilkan memberikan keunggulan tersendiri sebagai metoda analisis yang ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. J. Ruzicka, H. Hansen, 1981, Flow-injection Analysis, Wiley, New York, pp. 1–13.
- [2]. J. Ruzicka, 2006, Flow-injection Analysis: A Novel Approach to Flow Based microAnalytical Techniques, 3rd Ed., FIALab Instruments, Inc.
- [3]. H.K. Lawrence, L.U. Gron, and J.L. Young, 2007, Green Analytical Methodologies, *Chem. Rev.*, **107**(6), 2695–2708.
- [4]. P.B. Martelli, F.R.P. Rocha, R.C.P. Gorga and B.F. Reis, 2002, A Flow System for Spectrophotometric Multidetermination in Water Exploiting Reagent Injection, *J. Braz. Chem. Soc.*, **13**(5).
- [5]. C.M.C. Infante, J.C. Masini and F.R.P. Rocha, 2008, A green flow-based procedure for fluorimetric determination of acid-dissociable cyanide in natural waters exploiting multicommutation, *Anal. Bioanal. Chem.*, **391**(8), 2931-2936.
- [6]. M. Zenki, T. Masutani, and T. Yokoyama, 2002, Repetitive determination of calcium ion and regeneration of a chromogenic reagent using Chlorophosphonazo III and an ion exchanger in a circulatory flow injection system", *Anal. Sci.*, **18**, 1137-1140.
- [7]. M. Zenki, K. Minamisawa, and T. Yokoyama, 2003, Repetitive determination of copper(II) and regeneration of a chromogenic reagent using a cation-exchange column in a circulatory flow-injection system", *Bunseki Kagaku*, **52**, 1131-1136.
- [8]. M. Zenki, A. Tanishita, and T. Yokoyama, 2004, Repetitive determination of ascorbic acid using iron(III)-1,10-phenanthroline-peroxodisulfate system in a circulatory flow injection method", *Talanta*, **64**, 1273-1277
- [9]. K. Minamisawa, T. Yokoyama, and M. Zenki, 2004, Cyclic flow-injection analysis for Fe(II)-1,10-phenanthroline using polyurethane foam", *Bunseki Kagaku*, **53**, 1021-1024
- [10]. W.G. Landis, M.H. Yu, Introduction to Environmental Toxicology 2nd ed., 1999, Lewis Publishers, Boca Raton, 177–182.
- [11]. V. Paskova, K. HILSCHEROVA, M. FELDMANNOVA, and L. KBLAHA, 2006, Toxic effect and oxidatives stress in higher plant exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their N-heterocyclic derivatives, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 25, No. 12, pp. 3238–3245,

PERILAKU DISOLUSI MIKROKAPSUL KETOPROFEN-ALGINAT BERDASARKAN RAGAM KONSENTRASI SURFAKTAN

Purwantiningsih Sugita*, Tuti Wukirsari, Tetty Kemala, Bayu Dwi Aryanto

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, IPB
Kampus Dramaga, Bogor, 16680

*telp/fax: 0251-8624567, atiek_ps@yahoo.com

Abstrak

Ketoprofen merupakan obat antiradang yang menimbulkan pendarahan lambung pada dosis berlebih sehingga diperlukan penyalutan khusus yang dapat mengontrol laju pelepasannya. Pada penelitian ini ketoprofen disalut kitosan-alginat dengan penaut silang glutaraldehida. Surfaktan Tween 80 dengan ragam 1, 2, dan 3% (v/v) ditambahkan saat mencampurkan larutan kitosan-alginat sebagai penyalut dengan larutan ketoprofen agar ukuran kapsul lebih kecil. Mikrokapsul ketoprofen kemudian dibentuk dengan metode pengeringan semprot. Mikrokapsul yang dihasilkan memiliki kisaran ukuran sebesar 150 nm–6 μ m. Laju pelepasan maksimum di medium asam (pH 1.2) hanya 16% sedangkan di medium basa (pH 7.4) mencapai 99%. Pelepasan ketoprofen di medium asam didominasi oleh orde ke-1 sedangkan di medium basa orde ke-0 dan Hixson-Crowell.

Kata kunci: disolusi ketoprofen, mikrokapsul kitosan

1. PENDAHULUAN

Ketoprofen merupakan senyawaan aktif dalam sediaan yang memiliki aktivitas antiradang, analgesik, dan antipiretik. Namun, senyawa tersebut memiliki waktu paruh eliminasi yang terlalu cepat (1.5–2 jam) dan menimbulkan pendarahan lambung jika dosis yang digunakan lebih dari 300 mg. Akibatnya, sediaan dengan bahan aktif tersebut harus sering dikonsumsi. Untuk mencegah hal tersebut, sistem penghantaran obat terkendali dengan mikroenkapsulasi dipilih pada penelitian ini. Biopolimer penyalut yang telah digunakan ialah kitosan-gom guar termodifikasi alginat. Kinerja gabungan ketiga biopolimer tersebut (Setyani 2009) lebih baik dibandingkan dengan penyalutan kitosan-gom guar saja (Sugita *et al.* 2007). Mikrokapsul ketoprofen tersalut gel kitosan-gom guar mulai hancur dalam medium buatan lambung (medium asam) pada menit ke-30 sehingga laju pelepasannya tidak terkendali (Sugita *et al.* 2007). Sementara penambahan alginat pada komponen penyalut menunjukkan laju pelepasan hanya 3.55% sampai menit ke-120 dalam medium asam (Setyani 2009). Jadi, pendarahan lambung dicegah dan sistem pelepasannya yang terkendali dapat mempertahankan dosis terapi dalam waktu yang lebih lama.

Ukuran kapsul yang dihasilkan Setyani (2009) masih terlalu besar, yaitu 0.7–2.0 mm. Hal tersebut berakibat laju pelepasan maksimum ketoprofen di medium buatan usus (medium basa) sampai menit ke-360 masih rendah, yaitu hanya 8.47–40.91%. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, ukuran kapsul diperkecil menjadi dalam skala mikro sehingga luas permukaan lebih besar dan diharapkan laju pelepasannya di medium basa meningkat. Salah satu faktor yang dapat mengecilkan ukuran kapsul ialah dengan pemakaian surfaktan saat pencampuran larutan kitosan sebagai penyalut dengan larutan ketoprofen. Herdini (2009) menggunakan satu konsentrasi Tween 80, yaitu 2% pada mikroenkapsulasi kurkumin dengan penyalut kitosan-alginat dan menghasilkan mikro kapsul dengan ukuran 1.14–5.14 μm . Oleh karena itu, penelitian ini juga menggunakan Tween 80 untuk tujuan yang sama. Laju pelepasan ketoprofen dari mikro kapsul dipelajari melalui uji disolusi secara *in vitro* dalam medium lambung (asam) dan usus buatan (basa).

2. BAHAN DAN LINGKUP KERJA

2.1. Bahan dan Alat

Kitosan yang digunakan pada penelitian ini memiliki kadar air, kadar abu, derajat deasetilasi, dan bobot molekul berturut-turut sebesar 10.67%, 0.27%, 73.76%, dan (3.7×10^5) g/mol. Bahan lain yang digunakan ialah glutaraldehida, alginat, larutan bufer klorida (KCl-HCl) (1:2) pH 1.2, larutan bufer fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) (1:3) pH 7.4, Tween 80, dan ketoprofen yang diperoleh dari PT Kalbe Farma.

Alat-alat yang digunakan di antaranya alat-alat kaca, spektrofotometer inframerah transformasi Fourier (FTIR) Bruker jenis Tensor 37, alat disolusi dayung Hansen, spektrofotometer UV-1700 PharmaSpec, dan mikroskop elektron susunan (SEM) Jeol-JSM-6360LA.

2.2. Lingkup Kerja

2.2.1. Pembentukan mikro kapsul (modifikasi Herdini 2008)

Sebanyak 228.6 mL larutan kitosan 1.75% (b/v) dalam larutan asam asetat 1% (v/v) ditambahkan 38.1 mL larutan alginat 0.625% sambil diaduk. Setelah itu, sebanyak 7.62 mL glutaraldehida 4.5% (v/v) ditambahkan ke dalam larutan tersebut sambil diaduk hingga homogen. Formula tersebut merupakan kondisi optimum yang digunakan oleh Herdini (2008) untuk menyalut kurkumin dan pada penelitian ini digunakan untuk menyalut ketoprofen.

Sebanyak 250 mL larutan ketoprofen 0.8% (b/v) dalam etanol 96% dicampurkan ke dalam larutan kitosan-alginat sehingga nisbah bobot kitosan-ketoprofen 2:1. Setelah

itu, 5 mL Tween-80 dengan ragam konsentrasi 1, 2, dan 3% dalam pelarut air ditambahkan sambil diaduk pada suhu kamar dengan ragam waktu 1, 2, dan 3 jam sehingga akan diperoleh 9 formula mikrokapsul.

Mikrokapsul dibentuk dengan menggunakan pengering semprot (*spray dryer*). Diameter lubang alat tersebut 1.5 mm, suhu inlet 150 °C, suhu outlet 70 °C, laju alir 60 rpm, dan tekanan semprot pada skala 2 bar. Mikrokapsul kosong tanpa penambahan ketoprofen juga dibuat.

2.2.2. Efisiensi enkapsulasi

Sebanyak 50 mg kapsul dimasukkan ke dalam 100 mL bufer fosfat pH 7.2. Campuran dikocok selama 24 jam lalu disaring (Tayade & Kale 2004). Kemudian filtrat diencerkan sebanyak 50 kali dan dibaca absorbansnya dengan spektrofotometer UV pada λ 260 nm (λ_{maks} ketoprofen dalam larutan bufer tersebut). Absorbans yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi ketoprofen dengan bantuan kurva standar.

2.2.3. Uji Disolusi secara *In Vitro* (Farmakope Indonesia 1995)

Disolusi mikrokapsul dilakukan dengan alat disolusi tipe 2 (metode dayung Hansen). Sebanyak 500 mg mikrokapsul ditimbang dan dimasukkan ke dalam bilik (*chamber*) disolusi. Uji disolusi dilakukan dalam medium asam (pH 1.2) selama 3 jam dan medium basa (pH 7.4) selama 6 jam pada suhu (37 ± 0.5) °C dengan kecepatan pengadukan 150 rpm. Volume medium disolusi yang digunakan sebanyak 500 mL. Pengambilan alikuot dilakukan setiap 15 menit dengan volume setiap kali pengambilan 15 mL. Setiap kali pengambilan alikuot, volume medium yang diambil digantikan dengan larutan medium baru dengan volume dan suhu yang sama. Konsentrasi ketoprofen dalam larutan alikuot diukur dengan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang 258.6 nm (untuk disolusi pada pH 1.2) dan 260 nm (untuk disolusi pada pH 7.4).

2.2.4. Pencirian mikrokapsul

Pencirian morfologi mikrokapsul dilakukan pada mikrokapsul kosong dan yang terisi ketoprofen serta mikrokapsul setelah disolusi dalam medium asam dan basa dengan menggunakan SEM.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

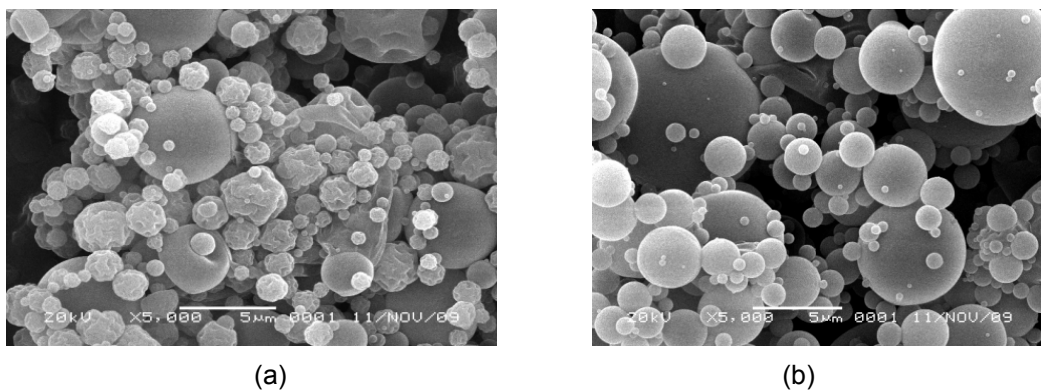
3.1. Morfologi mikrokapsul

Warna larutan kitosan yang kuning berpengaruh pada warna mikrokapsul yang dihasilkan, terutama mikrokapsul kosong. Sementara mikrokapsul yang berisi ketoprofen lebih pucat sebagai akibat kontribusi warna putih dari ketoprofen. Selain itu, bantuan

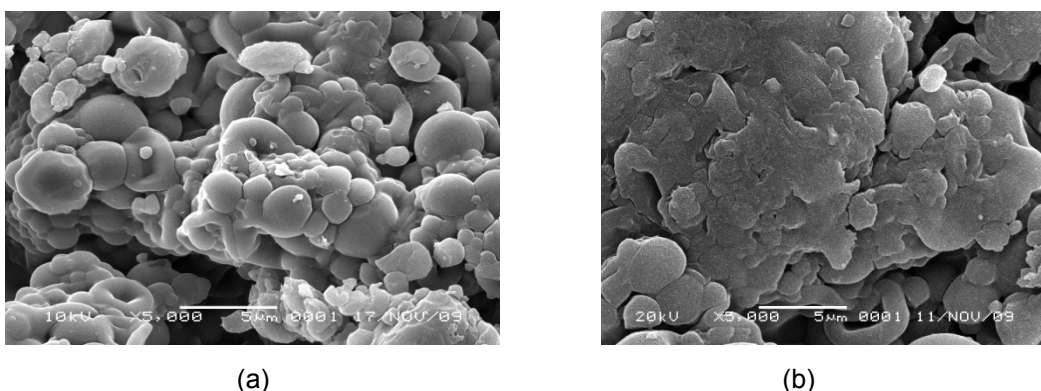
panas selama proses pengeringan beku bertanggung jawab pada timbulnya warna yang kecokelatan.

Mikrokapsul yang diperoleh berupa butiran atau granula halus, kering, dan rapuh. Mikrokapsul kosong berwarna kuning kecokelatan sedangkan yang berisi ketoprofen berwarna lebih pucat. Hasil analisis dengan SEM menunjukkan bahwa mikrokapsul kosong atau tanpa penambahan ketoprofen berukuran lebih kecil (20 nm–5 µm) daripada yang terisi ketoprofen (150 nm–6 µm). Hal lain yang membedakan mikrokapsul yang terisi ketoprofen dan yang tidak ialah sebagian besar mikrokapsul kosong terlihat kisut (Gambar 1). Namun, masih ada sebagian kecil mikrokapsul kosong terlihat bulat.

Pengamatan SEM juga dilakukan pada mikrokapsul setelah disolusi, baik dalam medium asam maupun basa. Gambar 2 menunjukkan bahwa sebagian besar mikrokapsul masih terlihat utuh setelah disolusi dalam medium asam (pH 1,2) daripada dalam medium basa (pH 7,4). Disolusi pada medium asam menyebabkan sedikit pembengkakan mikrokapsul sehingga ukurannya menjadi lebih besar, yaitu 0.87–6.33 µm. Mikrokapsul hancur secara keseluruhan setelah disolusi basa (Gambar 2b) dan tidak lagi terlihat mirip dengan morfologi mikrokapsul sebelum disolusi (Gambar 1).



Gambar 1 Citra SEM permukaan mikrokapsul tersalut gel kitosan-alginat dengan konsentrasi Tween 80 3% serta waktu kontak antara larutan kitosan-alginat dan larutan ketoprofen 3 jam tanpa (a) dan dengan penambahan ketoprofen (b) pada perbesaran 5000×



Gambar 2 Citra SEM permukaan mikrokapsul tersalut gel kitosan-alginat dengan konsentrasi Tween 80 3% setelah disolusi dalam medium lambung buatan selama 180 menit (a) dan dalam medium usus buatan selama 360 menit (b) dengan perbesaran 5000×

Bentuk kapsul yang sebagian besar masih utuh dalam medium asam dikarenakan komponen alginat sebagai penyalut akan menggegel dalam pH <3 (Parfitt 1999). Selain itu, penaut silang glutaraldehida juga memengaruhi sifat reologi matriks gel kitosan-alginat (Sugita *et al.* 2006). Akibatnya, penetrasi asam ke dalam kapsul dicegah sehingga proses pelarutan kitosan juga dihambat. Namun, kitosan yang berada di permukaan kapsul tentu saja dapat dengan mudah terlarut oleh medium asam sehingga sebagian kecil ketoprofen terlepas. Sementara dalam medium basa, alginat akan melarut sehingga medium dapat dengan mudah menyusup di rongga matriks kitosan (komponen terbesar penyalut) dan menyebabkan pembengkakan bahkan pecahnya kapsul hanya dalam waktu 15 menit. Hal ini didukung dengan data fluktuasi konsentrasi yang tinggi hanya setelah 15 menit disolusi dalam medium basa.

3.2. Perilaku Disolusi Mikrokapsul

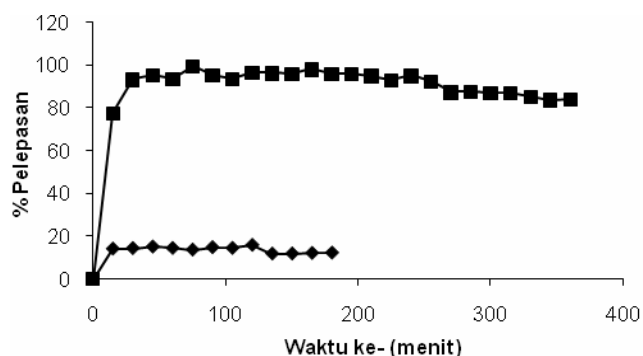
Proses disolusi pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro*, yaitu dalam larutan lambung buatan (medium asam dengan pH 1.2) dan usus buatan (medium basa, pH 7.4). Persen pelepasan di asam cukup rendah, yaitu kurang dari 20%. Mikrokapsul dengan semua formula menunjukkan persen pelepasan di medium asam yang jauh lebih rendah daripada dalam medium basa (Tabel 1). Sebagai contohnya, persen pelepasan di medium basa pada mikrokapsul yang menggunakan konsentrasi Tween 80 3% dengan waktu kontak 2 jam mempunyai persen pelepasan 9 kali lebih tinggi daripada dalam medium asamnya. Profil disolusi formula tersebut dapat dilihat di Gambar 3. Mikrokapsul dengan persen pelepasan minimum di asam ialah mikrokapsul dengan formula konsentrasi Tween 80 2% dan waktu kontak 2 jam, sedangkan yang tertinggi saat konsentrasi Tween 80 1% dan waktu kontak 2 jam.

Tabel 1 Persen pelepasan maksimum dan efisiensi enkapsulasi ketoprofen dalam mikrokapsul tersalut gel kitosan-alginat dengan berbagai konsentrasi surfaktan Tween 80 dan waktu kontak antara larutan kitosan-alginat dan larutan ketoprofen

Waktu kontak, [Tween 80)	Persen Pelepasan Maks. (%)		Efisiensi Enkapsulasi (%) ^a
	Asam	Basa	
1 jam, 1%	12.08 ± 2.11	78.23 ± 8.19	37.58 ± 4.08
1 jam, 2%	7.09 ± 2.35	80.04 ± 18.05	40.24 ± 4.02
1 jam, 3%	13.36 ± 2.66	93.68 ± 1.16	31.03 ± 9.30
2 jam, 1%	16.61 ± 4.59	98.62 ± 6.38	29.78 ± 5.72
2 jam, 2%	10.49 ± 0.66	96.45 ± 4.78	30.36 ± 5.69
2 jam, 3%	10.50 ± 2.69	99.58 ± 5.72	30.44 ± 9.27
3 jam, 1%	16.05 ± 2.83	78.77 ± 1.49	36.25 ± 7.10
3 jam, 2%	9.95 ± 3.11	91.62 ± 0.79	34.16 ± 11.22
3 jam, 3%	7.29 ± 1.60	72.87 ± 3.77	44.37 ± 1.87

^a ketoprofen awal yang digunakan ~ 2 g.

Efisiensi enkapsulasi yang dihasilkan rendah, yaitu kurang dari 50%. Kecuali untuk waktu kontak 1 jam, efisiensi enkapsulasi terbesar ditunjukkan saat konsentrasi Tween 80 yang digunakan sebesar 3%.



Gambar 3 Profil disolusi ketopropfen dalam medium asam (▲) dan basa (■) dari mikrokapsul dengan formula Tween 80 3% serta waktu kontak antara larutan kitosan-alginat dan larutan ketopropfen selama 2 jam.

Untuk alasan ekonomis, waktu kontak antara larutan kitosan-alginat dan larutan ketopropfen yang dipilih sebaiknya ialah 1 jam. Hal ini karena penambahan waktu kontak tidak banyak berpengaruh baik pada persen pelepasan maupun efisiensi enkapsulasinya (Tabel 1.). Rendahnya efisiensi enkapsulasi yang diperoleh diduga karena sebagian tertinggal di alat pengering semprot. Efisiensi dalam penelitian ini melihat jumlah ketopropfen yang terlepas dari matriks saat maserasi dengan etanol, bukan saat pembuatan mikrokapsul. Efisiensi enkapsulasi terbesar didominasi formula dengan pemakaian konsentrasi Tween 80 3% saat pencampuran larutan kitosan dan ketopropfen. Hal tersebut memperlihatkan bahwa ketopropfen terikat lebih baik dalam matriks penyalut ketika jumlah Tween 80 yang digunakan tinggi. Hal ini didukung dengan persen pelepasannya yang cenderung rendah dalam medium asam. Namun, pengikatan ketopropfen oleh Tween 80 rupanya tidak berlaku dalam kondisi basa karena persen pelepasannya bahkan lebih tinggi daripada formula lainnya.

Hasil penelitian ini menunjukkan hal yang sama dengan Setyani (2009), yaitu memiliki persen pelepasan dalam medium asam yang lebih rendah daripada dalam basa. Keduanya berbeda dengan Sugita *et al.* (2007) yang hanya menggunakan komponen penyalut kitosan-gom guar. Jadi, penelitian ini dan Setyani (2009) mempertegas pernyataan Sutriyo *et al.* (2005), yaitu tebalnya lapisan gel akan menyebabkan senyawa aktif semakin sulit terlepas. Terbentuknya gel alginat dalam $\text{pH} < 3$ juga mendukung hal yang sama.

Persen pelepasan di medium asam yang diperoleh lebih besar daripada Setyani (2009). Persen pelepasan terbesar dalam medium asam oleh Setyani (2009) hanya 1.49–

12.97%. Hal ini sesuai dengan dugaan sebelumnya, yaitu kecilnya ukuran kapsul akan meningkatkan persen pelepasannya karena luas permukaan yang kontak dengan medium juga meningkat. Namun, semua formula menunjukkan pelepasan yang masih terkendali dalam medium asam, yaitu kurang dari 300 mg. Dengan kata lain, pendarahan lambung dapat dicegah.

Ketoprofen dapat dilepaskan dengan baik dalam medium basa, yaitu sebagian besar >90%. Nilai ini lebih besar dari penelitian Setyani (2009) yang hanya memiliki persen pelepasan maksimum sebesar 11.51–53.97%. Alasannya diduga sama dengan yang terjadi dalam medium asam, yaitu pengaruh ukuran.

3.3. Kinetika Disolusi

Secara keseluruhan, nilai tetapan laju pelepasan (k) pada disolusi medium asam lebih rendah daripada dalam medium basa (Tabel 2). Selain itu, kelima persamaan kinetika juga memiliki persen determinasi yang sangat rendah dalam medium asam. Pelepasan ketoprofen dalam medium asam didominasi oleh kinetika orde ke-1. Sementara di medium basa didominasi oleh 2 kinetika, yaitu orde ke-0 dan Hixson-Crowell. Baik dalam medium asam maupun basa, sebagian formula menunjukkan berlakunya lebih dari 1 model kinetika untuk 1 formula, terutama untuk yang disolusi dalam medium asam.

Rendahnya nilai tetapan laju (k) dalam medium asam daripada dalam medium basa menunjukkan bahwa jumlah ketoprofen yang terlepas dalam medium asam lebih sedikit. Sementara rendahnya koefisien determinasi untuk kelima kinetika dalam medium asam menyiratkan bahwa kelima model tersebut tidak sesuai. Jadi, perlu dicari model lain yang dapat mewakili kinetika pelepasan dalam medium asam.

Dominasi kinetika pelepasan pada penelitian ini berbeda dengan Setyani (2009), Shoaib *et al.* (2006), Kim *et al.* (2007), dan Sarvanan *et al.* (2007) yang diwakili oleh model Korsmeyer-Peppas dan Higuchi. Selain Setyani (2009), 3 penelitian yang lainnya secara berurutan mengamati pelepasan ibuprofen dari tablet, senyawaan aktif dari pelet, dan separeksin dari tablet. Jadi, kinetika difusi lebih teramati ketika ukuran sediaan besar. Sementara dalam penelitian ini mengamati pelepasan ketoprofen dari kapsul yang berukuran mikro. Akibatnya, mekanisme pelepasan ketoprofen lebih disebabkan oleh proses erosi, yaitu pelarutan sebagian kecil kitosan (komponen terbesar penyalut) dalam asam. Hal ini ditunjukkan dengan teramatinya kinetika orde ke-0 dalam medium asam. Hal ini juga telah dijelaskan pada pengamatan morfologi kapsul setelah disolusi dalam medium asam. Sementara itu, dalam disolusi basa terjadi proses erosi dan difusi yang diperlihatkan oleh kinetika orde ke-0 dan Hixson-Crowell. Dalam medium basa

memungkinkan terjadinya difusi karena kitosan sebagai komponen terbesar penyalut tidak larut dalam medium basa tetapi akan membengkak. Pembengkakan itulah yang menyebabkan ketoprofen dapat berdifusi ke luar mikrokapsul.

Tabel 2 Model kinetika pelepasan ketoprofen dari mikrokapsul tersalut gel kitosan-alginat dalam medium asam (pH 1.2)

Waktu kontak, [Tween 80]	Orde ke-0 ¹⁾		Orde ke-1 ²⁾		Higuchi ³⁾		Hixson-Crowell ⁴⁾		Korsmeyer-Peppas ⁵⁾	
	k (menit) ⁻¹	R^2	k (menit) ⁻¹	R^2	k (menit) ^{-1/2}	R^2	k (menit) ^{-1/3}	R^2	k (menit) ⁻ⁿ	R^2
1 jam, 1%	0.0161	0.32*	2.00E-04	0.31	0.2834	0.30	3.00E-04	0.31	13.098	0.28
1 jam, 2%	0.0031	0.01	3.00E-05	0.01	0.1549	0.03	6.00E-06	0.01	13.381	0.05*
1 jam, 3%	0.0138	0.30*	2.00E-04	0.29	0.2237	0.24	3.00E-04	0.30*	11.830	0.18
2 jam, 1%	0.0412	0.61	6.00E-04	0.62*	0.6880	0.53	9.00E-04	0.52	15.136	0.42
2 jam, 2%	0.0101	0.74	1.00E-04	0.54	0.1831	0.75*	2.00E-04	0.54	10.155	0.64
2 jam, 3%	0.0021	0.07*	2.00E-05	0.07*	0.0185	0.02	4.00E-05	0.07*	10.032	3×10 ⁻⁴
3 jam, 1%	0.0173	0.43*	2.00E-04	0.42	0.2823	0.35	4.00E-04	0.43*	11.910	0.28
3 jam, 2%	0.0005	0.01*	5.00E-06	0.01*	0.0004	8×10 ⁻⁴	9.00E-06	0.01*	10.093	4×10 ⁻⁴
3 jam, 3%	0.0029	0.20*	3.00E-05	0.20*	0.0504	0.18	6.00E-05	0.20*	10.676	0.15

$$^1) [A]_t = [A]_0 - kt$$

$$^2) \ln [A]_t = \ln [A]_0 - kt$$

$$^3) Q = kt^{1/2}$$

$$^4) Q = kt^n$$

$$^5) Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = kt$$

*Koefisien determinasi terbesar untuk setiap formula

Tabel 3 Model kinetika pelepasan ketoprofen dari mikrokapsul tersalut gel kitosan-alginat dalam medium basa (pH 7.4)

Waktu kontak, [Tween 80]	Orde ke-0 ¹⁾		Orde ke-1 ²⁾		Higuchi ³⁾		Hixson-Crowell ⁴⁾		Korsmeyer-Peppas ⁵⁾	
	k (menit) ⁻¹	R^2	k (menit) ⁻¹	R^2	k (menit) ^{-1/2}	R^2	k (menit) ^{-1/3}	R^2	k (menit) ⁻ⁿ	R^2
1 jam, 1%	0.0245	0.51*	0.0009	0.48	0.6044	0.43	0.0011	0.49	11.138	0.34
1 jam, 2%	0.0192	0.76*	0.0006	0.76*	0.4817	0.66	0.0008	0.76*	10.993	0.53
1 jam, 3%	0.0484	0.92	0.0037	0.93*	12.542	0.84	0.0033	0.93*	12.190	0.74
2 jam, 1%	0.0576	0.87*	0.0126	0.81	15.420	0.86	0.0073	0.85	12.647	0.81
2 jam, 2%	0.0432	0.98	0.0030	0.99*	11.306	0.93	0.0028	0.99*	12.012	0.81
2 jam, 3%	0.1238	0.20	0.0041	0.53	0.9068	0.50	0.0032	0.56*	11.361	0.38
3 jam, 1%	0.0386	0.90	0.0014	0.91*	0.9481	0.83	0.0017	0.91*	12.084	0.72
3 jam, 2%	0.0418	0.90*	0.0027	0.85	11.055	0.86	0.0036	0.85	12.012	0.80
3 jam, 3%	0.0304	0.87*	0.0008	0.87*	0.7784	0.80	0.0012	0.87*	11.863	0.68

$$^1) [A]_t = [A]_0 - kt$$

$$^2) \ln [A]_t = \ln [A]_0 - kt$$

$$^3) Q = kt^{1/2}$$

$$^4) Q = kt^n$$

$$^5) Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = kt$$

*Koefisien determinasi terbesar untuk setiap formula

4. KESIMPULAN

Metode pengeringan semprot dan penambahan surfaktan Tween 80 pada larutan terbukti dapat menghasilkan mikrokapsul dalam ukuran mikron. Selain itu, mikrokapsul ketoprofen tersalut gel kitosan-alginat untuk semua formula menunjukkan ketoprofen lepas terkendali baik dalam medium asam sehingga mencegah terjadinya pendarahan lambung. Sementara di medium basa, hampir semua formula melepaskan ketoprofen lebih dari 90%. Pelepasan ketoprofen di medium asam didominasi oleh orde ke-1 sedangkan di medium basa orde ke-0 dan Hixson-Crowell.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian utama yang berjudul Perkembangan Kitosan sebagai Adsorben dan Bahan Penyalut. Ucapan terima kasih diucapkan kepada Direktorat Jenderal Perguruan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional melalui program Hibah Kompetensi 2009 atas nama Prof. Dr. Purwantiningsih Sugita yang mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Farmakope Indonesia. 1995. Ditjen POM. 4th ed. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Herdini. 2008. Mikroenkapsulasi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb) tersalut kitosan-alginat [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kim MS, Kim JS, Hwang SJ. 2007. The effect of sodium alginate on physical and dissolution properties of surelease®-matrix pellets prepared by a novel pelletizer. *Chem Pharm Bull* 55:1631-1634.
- Parfitt K, editor. 1999. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 2nd vol. 32th ed. London: Pharmaceutical Pr.
- Sarvanan M, Nataraj KS, Ganesh KS. 2007. Hydroxypropyl methylcellulose based cephalexin extended release tablets: Influence of tablet formulation, hardness and storage on *in vitro* release kinetics. *Chem Pharm Bull* 51:978-983.
- Setyani YA. 2009. Perilaku disolusi ketoprofen tersalut rangkap dalam gel kitosan-gom guar dengan alginat [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Shoib MH, Tazeen J, Merchant HA, Yousuf RI. 2006. Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. *J Pharm Sci* 19:119-124.
- Sugita P, Srijanto B, Amelia F, Arifin B. 2007. Perilaku disolusi ketoprofen tersalut kitosan-gom guar. Seminar bersama ITB-UKM Malaysia. Bandung: ITB Pr.
- Sugita P, Sjahriza A, Wahyono D. 2006. Sintesis dan optimalisasi gel kitosan-alginat. *J Sains dan Teknologi* 8:133-137.
- Sutriyo, Joshita D, Indah R. 2005. Perbandingan pelepasan propranolol hidroklorida dari matriks kitosan, etil selulosa, dan hidroksipropil metil selulosa. *Maj Ilmu Kefarmasian* 2:145-153.
- Tayade PT, Kale RD. 2004. Encapsulation of drug-insoluble drug by cross-linking technique: effect of process and formulation variables on encapsulation efficiency, particle, size, and *in vitro* dissolution rate. *AAPS Pharm Sci* 6 (1) artikel 12.

DISSOLUTION BEHAVIOR OF KETOPROFEN DOUBLE COATED BY CHITOSAN-GUM GUAR WITH ALGINAT-CaCl₂

Purwantiningsih Sugita¹, Yunia Anggi Setyani¹, Tuti Wukirsari¹, and
Bambang Srijanto²

¹Department of Chemistry, Bogor Agricultural University,
²Agency Assessment and Application of Technology, Jakarta

Abstract

High dose ketoprofen administration as anti-inflammatory drug can cause gastrointestinal bleeding. To minimize this drawback, we have successfully double coated guar gum-modified chitosan microcapsules containing ketoprofen with alginate. The results showed that this double coating had improved the microcapsule's stability in the gastric acid medium. The ketoprofen releasing kinetic models, both at gastric and intestinal pH, are dominated by the Korsmeyer-Peppas model suggesting that this action is following the diffusion mechanism. This kinetic model is the closest approximation to the real releasing condition.

Keywords: chitosan, ketoprofen, microcapsule, dissolution

1. INTRODUCTION

Ketoprofen is one of the non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) which is able to suppress pain by inhibiting the prostaglandin synthesis. Its solubility in water is low and high dose administration (> 300 mg) can cause gastrointestinal bleeding [1]. Thus a specific drug delivery system, which is able to minimize those drawbacks, is highly needed.

Controlled release system method is able to minimize the negative side effect to the digestive system and overcome the short elimination time [2]. One of this is the microencapsulation. This method is able to maintain the therapeutic dose and activity of a continually administered drug. Some coating materials have already been studied for this application, alginate, chitosan [3], pectin [4], gelatine [5], polyacrylate, hydroxypropylmethylcellulose, and ethylcellulose [6] are just a few examples. Besides that, chitosan-carboxymethyl cellulose (CMC) has already been developed [7]. The difference between chitosan and CMC solubility is the main problem of this system. This difference made the resulted gel not homogenous. Sugita *et al.* [8] used chitosan-guar gum to coat ketoprofen because this modified chitosan is able to form homogenous gel. However, guar gum was not strong enough to protect the microcapsules in the gastric environment and destroyed at the 90th minute [8]. Thus another kind of polymer which is

strong enough to protect the microcapsules from the gastric acid is needed. In this study, alginate was applied as the external coating material for the chitosan-guar gum microcapsule. This choice is made based on alginate's properties that is indestructible and able to form gel at gastric pH (< 3) [9], and also can undergo a spontaneous reaction with chitosan [10].

Chitosan application as drug coating material has been extensively studied, for example as ketoprofen [11] and propranolol hydrochloride [6] coating material. Beside its application as single material, chitosan has also been combined with other polymers in its application, for example chitosan-CMC for indometasin coating material and alginate-chitosan for insulin hormone [12]. Meanwhile study regarding combination between chitosan and guar gum has been conducted by Sugita *et al.* (2007) which resulting the uniform sized microcapsules (0.4-5 μm). However, double coating of chitosan-guar gum microcapsule with alginate has never been done before.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Material and Instrument

Chitosan used in this study was obtained from Bratachem with moisture content, ash content, deacetylation degree, and molecular weight specifications of 7.5%, 0.11%, 74.41%, and $(2.43894-6.31553)10^6$ g/mol respectively. The other materials used were glutaraldehyde, guar gum, chloride buffer solution (KCl-HCl)-water pH 1.2, phosphate buffer solution (KH_2PO_4 -NaOH)-water pH 7.4, Tween-80, CaCl_2 , alginate, and ketoprofen active compound which was obtained from PT Kalbe Farma.

Instruments used in this study were glass wares, hot plate, J.P. SELECTA oven, magnetic stirrer, Bruker Tensor 37 FTIR spectrophotometer, Ostwald-Cannon-Fenske viscometer, diffusion cell instrument with water bath, aerator, UV-1700 PharmaSpec spectrophotometer, SEM JEOL JSM-5310LV, sieve shaker, Hansen paddle dissolution assay, and Minitab Release 14 software.

2.2. Method

2.2.1. Microcapsule Preparation [10,13]

As much as 228.6 ml of 2.5% (w/v) chitosan solution in 1% (v/v) acetic acid solution mixed with 38.1 ml of 0.35% guar gum solution with stirring. After that, 7.62 ml of 3.75% glutaraldehyde was added to the mixture and stirred until homogenous.

As much as 250 ml 0.8% (w/v) ketoprofen solution in 96% ethanol was mixed with chitosan-guar gum so the weight ratio of chitosan-ketoprofen becomes 2:1. After that, 5 ml of 2% Tween-80 was added to the mixture and stirred at room temperature (Sugita *et*

al., 2006). The microcapsule was made by adding the chitosan-guar gum mixture to alginate solutions of different concentration (1, 2, and 3% (w/v)) dropwise via a syringe. Then the microcapsules was filtered and washed with CaCl_2 solutions with different concentration of 0.05, 0.10, and 0.15 M. The chitosan-guar gum and alginate coated ketoprofen microcapsules then dried by oven at 40 °C for 3 hours.

2.2.2. Encapsulation efficiency [14]

NaOH was used to extract ketoprofen from the microcapsule. As much as 50 mg microcapsules of each variant was digested, then extracted with 80 ml of 0.1 M NaOH for 5 minutes. The extract was filtered and diluted by NaOH to 100 ml volume. The extracted ketoprofen concentration was measured by UV spectrophotometer at 257 nm. The obtained absorbance were used to calculate the ketopfofen concentration via a standard curve.

2.2.3. *In vitro* dissolution test [15]

The dissolution test was conducted using the type 2 dissolution device (paddle method). The microcapsule was weighted (500 mg) and placed at the dissolution chamber. The test was conducted on gastric medium (pH 1.2) for 3 hours and intestinal medium (pH 7.4) for 6 hours at 37 ± 0.5 °C with paddling speed 150 rpm. Fifteen milliliters of aliquots were sampled every 15 minutes from the gastric and intestinal medium. After each time an aliquot was taken, the removed volume was replaced with the new medium solution with the same volume and temperature. The dissolution medium volume was 500 ml. Aliquot's ketoprofen concentration was measured at 258.6 nm (for dissolution at pH 1.2) and 260 nm (for dissolution at pH 7.4). The dissolution kinetic was studied by plotting the ketoprofen release percentage versus dissolution time and then determines the reaction order and the ketoprofen release model.

2.2.4. Microcapsule characterization

The microcapsule's morphology characterization was conducted to the empty, filled, and acid and base dissolute ketoprofen microcapsule using scanning electron microscope (SEM). While the particle size measurement was conducted using sieve shaker and photo-stereo microscope.

3. RESULTS

Alginate concentration variation effect the resulting gel strength. Microcapsule gel made using 1% (w/v) alginate is the most fragile. Besides that, this microcapsule gel also has the biggest size compared to the gel made using 2 and 3% (w/v) alginate. After

washed by CaCl_2 , the gel becomes harder and clustered during drying. The dried microcapsules containing ketoprofen are yellow while the empty ones are paler.

Microcapsules resulted from all formula could not through the 35 mesh sieve, in other words the size are $\geq 500 \mu\text{m}$ and they looks more bulky and filled than the blank (microcapsules without ketoprofen). These results are in agreement with the photo-stereo microscope observation of which results are listed in Table 1.

Table 1 Microcapsule's sizes

Variation	Microcapsule's Sizes (μm)
Alginate 1%, CaCl_2 0.05M	1075–2000
Alginate 1%, CaCl_2 0.10M	1025–1975
Alginate 1%, CaCl_2 0.15M	1125–2000
Alginate 2%, CaCl_2 0.05M	775–1200
Alginate 2%, CaCl_2 0.10M	700–1335
Alginate 2%, CaCl_2 0.15M	625–1475
Alginate 3%, CaCl_2 0.05M	725–1225
Alginate 3%, CaCl_2 0.10M	725–1400
Alginate 3%, CaCl_2 0.15M	750–1125

3.1. Microcapsule Moisture Content

The obtained microcapsules had different moisture contents ranging from 13.91 to 25.84% (Table 2). Table 2 shows that the increasing CaCl_2 concentration will increase the moisture content of the microcapsules made using 1 and 2% (w/v) alginate. Besides that, the increase in alginate concentration is also tending to increase moisture content.

Table 2 Chitosan-alginate ketoprofen microcapsule's moisture contents

Treatment		Moisture Content
Alginate (% [w/v])	CaCl_2 (M)	(%)
1	0.05	14.48
1	0.10	14.73
1	0.15	23.36
2	0.05	16.24
2	0.10	18.14
2	0.15	25.84
3	0.05	24.79
3	0.10	17.43
3	0.15	13.91

3.2. Ketoprofen Release

The maximum ketoprofen release percentage in gastric medium was very low, ranging from 3.18-12.97%. It was also not released completely in intestinal medium until the 360th minute. However, the maximum ketoprofen release percentages in intestinal medium were still higher compared to the gastric medium release, i.e. 18.34-54.97%.

Fehling tests to the 360th minute's aliquots taken from the intestinal medium dissolution test showed negative results.

The best microcapsules were obtained from the H formula with 3% (w/v) alginate and 0.15 M CaCl₂. Figure 1 shows that ketoprofen releases at gastric medium were controlled. While at the intestinal medium, ketoprofen concentration reached its maximum value at the 90th minutes and became relatively steady afterwards. Ketoprofen concentrations at the equilibrium condition were 110-120 mg/l.

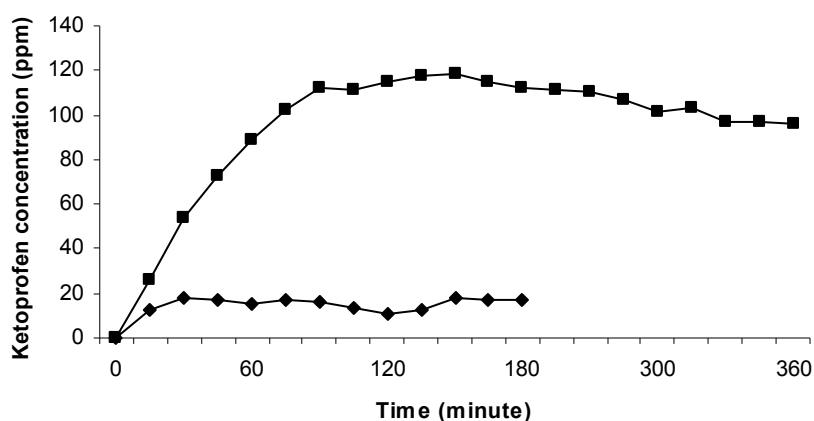


Figure 1 Acidic (◆) and basic (■) dissolution behavior of the best produced microcapsules (3% (w/v) alginate and 0.15 M CaCl₂).

According to Table 3, ketoprofen releases were dominated by the Korsmeyer-Peppas kinetic model both in artificial gastric and intestinal medium. However, the F, G, and H formula were following the Higuchi kinetic model in the gastric medium dissolution. These models were assigned by calculating their determination coefficient towards each formula. Comparison between dissolutions in artificial gastric and intestinal medium shows that the rate constant (k) in gastric medium is tends to be lower than in base medium. The same thing was also happening to the maximum rate of release calculated by the Korsmeyer-Peppas and Higuchi kinetic models (Figure 2). Figure 2 also implied that the kinetic models had provided the best approximation to the real value.

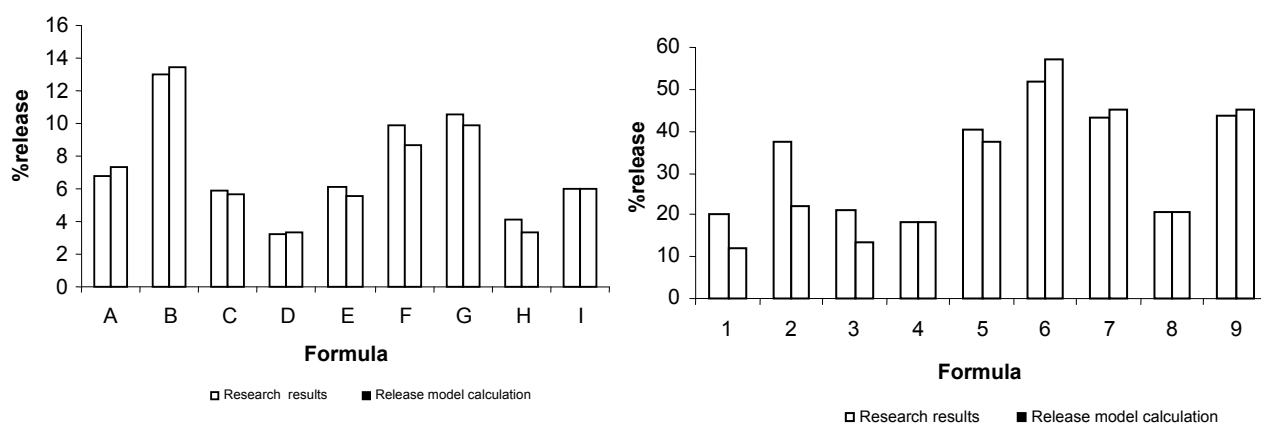


Figure 2 Maximum ketoprofen release percentages in acidic (a) and basic (b) medium based on model calculations and experimental results.

Table 3 Dissolution kinetic determination in artificial gastric and intestinal medium

Artificial gastric medium

Formula	Zero order		First order		Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
	R^2	$k \text{ (min)}^{-1}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1/2}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1/3}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-n}$	n
A	0.8138	0.0242	0.8139	0.0003	0.8399	0.4388	0.8139	0.0004	0.886^a	0.889	0.3921
B	0.8896	0.0441	0.896	0.0005	0.9615	0.8189	0.8939	0.0007	0.978^a	1.845	0.3832
C	0.3359	0.0098	0.2755	0.0010	0.4367	0.1995	0.2783	0.0015	0.5639^a	1.744	0.2262
D	0.8383	0.0096	0.8395	0.0001	0.9030	0.1774	0.8391	0.0002	0.9261^a	0.633	0.3173
E	0.8292	0.0218	0.8251	0.0005	0.8381	0.3917	0.8265	0.0007	0.8556^a	0.699	0.4001
F	0.8551	0.0430	0.8948	0.0004	0.902^a	0.6424	0.8944	0.0006	0.8702	1.044	0.4173
G	0.9125	0.0403	0.9154	0.0004	0.9458^a	0.7334	0.9145	0.0007	0.1710	6.674	0.0200
H	0.878	0.0145	0.8491	0.0002	0.8873^a	0.2608	0.8777	0.0002	0.8760	0.437	0.4111
I	7×10^{-7}	16.050	0.1649	0.0001	5×10^{-7}	0.0002	4×10^{-7}	1×10^{-5}	0.6603^a	1.473	0.2745

Artificial intestinal medium

Formula	Zero order		First order		Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
	R^2	$k \text{ (min)}^{-1}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1/2}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-1/3}$	R^2	$k \text{ (min)}^{-n}$	N
A	0.0781	0.0148	0.0527	0.0001	0.2938	0.5697	0.0676	0.0002	0.8184^a	1.1393	0.4726
B	0.0991	0.0295	0.0676	0.0003	0.3347	1.0785	0.0777	0.0005	0.8504^a	1.1534	0.5796
C	0.0693	0.0145	0.0527	0.0001	0.0693	0.8718	0.058	0.0002	0.8173^a	1.1429	0.4788
D	0.1918	0.0211	0.1784	0.0002	0.3042	0.0044	0.1829	0.0003	0.8742^a	1.1048	0.4744
E	0.0923	0.0309	0.0584	0.0003	0.3225	1.1485	0.0691	0.0005	0.8500^a	1.1553	0.5908
F	0.2798	0.0713	0.1632	0.0008	0.4358	1.4738	0.1796	0.0011	0.8980^a	1.1397	0.6644
G	0.1692	0.0461	0.1283	0.0005	0.4509	0.7057	0.1419	0.0008	0.8768^a	1.1475	0.6237
H	0.1791	0.0223	0.2202	0.0003	0.6424	1.6924	0.1587	0.0003	0.9198^a	1.1153	0.4971
I	0.3512	0.0628	0.3353	0.0008	0.0178	0.1345	0.0002	1×10^{-5}	0.9198^a	1.1120	0.6284

^a The highest determination coefficient

Captions: ^a A = alginate 1%, CaCl₂ 0.05 M
 B = alginate 1%, CaCl₂ 0.1 M
 C = alginate 1%, CaCl₂ 0.15 M
 D = alginate 2%, CaCl₂ 0.05 M
 E = alginate 2%, CaCl₂ 0.10 M

F = alginate 2%, CaCl₂ 0.15 M
 G = alginate 3%, CaCl₂ 0.05 M
 H = alginate 3%, CaCl₂ 0.1 M
 I = alginate 3%, CaCl₂ 0.15 M

Equation for zero order $Q = kt$; first order $\ln [A]_t = \ln [A]_o - kt$; Higuchi $Q = kt^{1/2}$; Hixson-Crowell $Q = kt^n$; Korsmeyer-Peppas $Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = kt$. (Q = persen release, k = rate constant, and t = time of release)

3.3. Microcapsule Morphology

SEM image of microcapsules obtained from the best formula, 3% (w/v) alginate and 0.10 M CaCl_2 , clearly shows that the surfaces were very tight with a few shallow cracks (Figure 3). Besides that, there were also fragments of crushed layer in the surface.

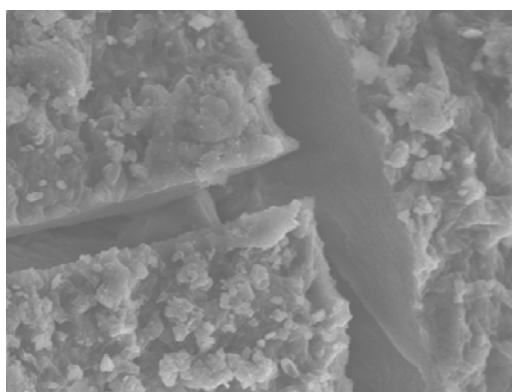


Figure 3 Ketoprofen microcapsule's surface SEM image (3% alginate and 0.15 M CaCl_2) at 1500 times magnification.

After gastric and intestinal dissolution, the microcapsule's surface looks remain unchanged but with bigger size. However, the surface swelling in gastric medium is bigger than in intestinal medium. During the dissolution test, the gastric medium color turned to yellowish. But none of these were happened in the intestinal medium.

Observation to the SEM images taken from the microcapsule surface that had been spent 180 minutes in the gastric dissolution test shows that the surface had not significantly changed compared to the initial image (Figure 4a and b). Beside that, the surface contains fragments after gastric dissolution. Figure 4c has a different morphology compared to the initial image.

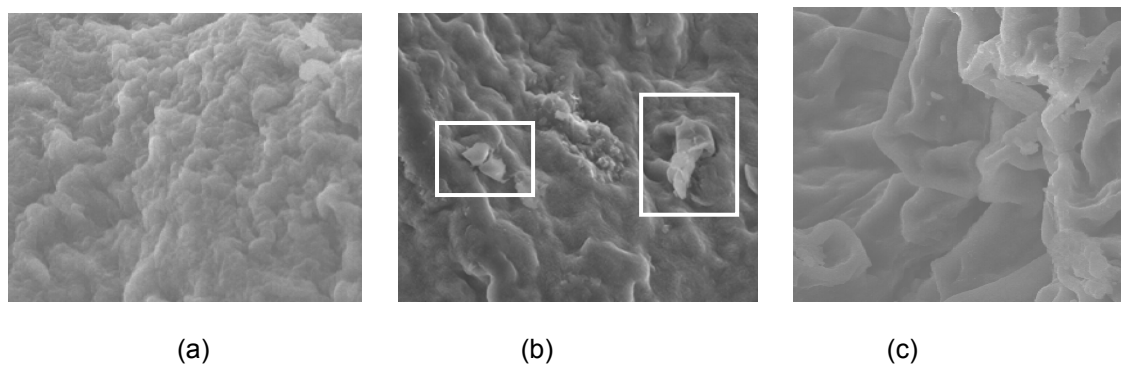


Figure 4 SEM images taken from ketoprofen microcapsule before dissolution (a), after acidic dissolution (b), and after basic dissolution (c) at 1000 times magnification (inset: crushed alginate layer fragments).

4. DISCUSSION

Ketoprofen microencapsulation with guar gum-modified chitosan and alginate double coating has been successfully conducted by means of a chemical method. The first layer coated the ketoprofen is the glutaraldehyde linked chitosan with guar gum as the interpenetrating agent. Due to its low solubility in chitosan solution, the ketoprofen was dissolved in ethanol prior to mixing with chitosan solution.

The second coating layer was introduced via soaking in alginate solution. Swelling occurred to microcapsule gel due to high free water content around the gel in 1% alginate solution. While in 2 and 3 % alginate solution, the free water contents around the gel were lower. The smaller gel size in the 1% alginate solution was also due to the stronger cross-linking between the negative charged alginate and the positive charged chitosan [10].

The washing step with CaCl_2 solution was intended to strengthen the outmost layer of alginate [16] by means of cross-linking formation at the alginate's guluronate residue [17] thus made the dried microcapsule tend to clustered. Besides that, during the drying process, intermolecular hydrogen bonds between alginates from different microcapsules were formed [16]. Alginate at the external surface of the microcapsules also made the surface more hygroscopic. Alginate is a hydrocolloid which contain large amount of hydroxyl groups.

4.1. Ketoprofen Release from the Microcapsule

Compared to Sugita *et al.* [8], double coating with alginate as the additional layer has been proven here to be able to minimize ketoprofen release in gastric acidic environment. This fact reinforce Silva *et al.* [16] who stated that double coating is able to enhance microcapsule's stability in gastric environment. Tan *et al.* [18] stated that the increasing alginate concentration caused the resulted microcapsule's surface to have too

few pores thus made ketoprofen difficult to get through it. This statement was proved by the fact that the k value we obtained from the dissolution at the intestinal medium is higher than the value obtained from the gastric dissolution. However, the strong cross-linking between guar gum-modified chitosan and glutaraldehyde also caused the ketoprofen won't be released completely before the 360th minute.

Because ketoprofen can initiate gastric bleeding and its absorption process is happening in the intestine, the microcapsules are considered good if only a little ketoprofen released in the gastric and more in the intestine. Besides that, another parameter which needs to be met by a good microcapsule is the low moisture content and high encapsulation efficiency. According to the scoring result, the best microcapsule was obtained from the H formula with 3% alginate and 0.15 M CaCl_2 .

4.2. Microcapsule Morphology

In gastric medium, the medium solution will penetrate the microcapsule's surfaces thus swelled and even dissolved the chitosan. This also observed by the color change of the medium solution to yellowish after the gastric dissolution. However, this could not be happened in the intestinal medium due to the characteristic of chitosan which is insoluble in alkali environment.

The resemblances between SEM images of the microcapsule's surface before and after gastric dissolution test occurred because the outermost microcapsule's layer, i.e. Ca^{2+} cross linked alginate, was not totally affected by the gastric environment. Alginate layer was swelled because it was pushed by the swelled inner chitosan-guar gum matrix. However, some alginate layer, which is too thin, was unable to hold this force and then crushed. The fragments of this destroyed alginate layer was scattered around the microcapsule's external surface.

The differences between the SEM images taken before and after the intestinal dissolution reinforced Ivanova *et al.* (2000) [19], who stated that intestinal buffer solution is able to destroy cross-linking bonds between alginate and Ca^{2+} , thus alginate will be dissolved. This means that the SEM image after intestinal dissolution is showing the surface of chitosan-guar gum matrix. Because alginate layer has been destroyed, ketoprofen will be released more easily from the matrix when it made contact with the intestinal medium. This release is also accommodated by large amount of channels which enlarged the microcapsule's surface area that in contact with the medium.

5. CONCLUSIONS

Alginate double coating application to chitosan-guar gum microcapsule has been proved able to enhance microcapsule's stability in gastric acidic medium. The best

produced microcapsule was made from 3% (w/v) alginate and 0.15 M CaCl₂. Ketoprofen releases both in acidic gastric pH and basic intestine pH were dominated by Korsmeyer-Peppas kinetic model. This assigned model is the best approximation to the real condition in this study.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Higher Education Directorate General, Indonesia. The author would also like to thank Professor Suminar S Achmadi as a head of Organic Chemistry Laboratory for her support.

REFERENCES

- [1] American Medical Association. Drug Evaluations. 8th Edition. (1991)
- [2] Sutriyo, J. Djajadisastra, A. Novitasari, Mikroenkapsulasi propanolol hidro-klorida dengan penyalut etil selulosa menggunakan metode penguapan pelarut, *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1 (2004) 93-99.
- [3] Q. Ul-Ain, S. Sharma, G.K. Khuller, S.K. Garg, Alginate-based oral drug delivery system for tuberculosis pharmacokinetics and therapeutics effects, *J. Antimicrob. Chemother.* 51 (2003) 931-938.
- [4] W. Ouyang *et al*, Artificial cell microcapsule for oral delivery of live bacterial cell for therapy: Design, preparation, and in-vitro characterization, *J. Pharm. Pharmaceut Sci.* 7 (2004) 315-324.
- [5] P.T. Tayade, R.D. Kale, Encapsulation of drug-insoluble drug by cross-linking technique: effect of process and formulation variables on encapsulation efficiency, particle, size, and in vitro dissolution rate, *AAPS Pharm. Sci.* 6 (2006) 12th article.
- [6] Sutriyo, J. Djajadisastra, R. Indah, Perbandingan pelepasan propanolol hidroklorida dari matriks kitosan, etil selulosa (EC) dan hidroksi propil metil selulosa (HPMC), *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2 (2005) 145-153.
- [7] W. Tiyaboonchai, G.C. Ritthidej, Development of indomethacin sustained release microcapsules using chitosan-carboxymethylcellulose complex coarcevation, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 25 (2003) 245-254.
- [8] P. Sugita, F. Amelia, B. Srijanto, B. Arifin, T. Wukirsari, Perilaku disolusi ketoprofen tersalut gel kitosan-gom guar. *JSChem in press* (2007)
- [9] K. Parfitt, editor. *Martindale: The Complete Drug Reference*, second volume, thirty-second ed., Pharmaceutical Pr, London, 1999.
- [10] A.C. Friedli, I.R. Schlager, Demonstrating encapsulation and release: a new take on alginate complexation and the nylon rope trick, *J. Chem. Educ.* 82 (2005) 1017-1020.
- [11] T. Yamada, H. Onishi, Y. Machida, In vitro and in vivo evaluation of sustained release chitosan-coated ketoprofen microparticles, *Yakugaku Zasshi* 121 (2001) 239-245.
- [12] S.A. Timmy, S.P. Victor, C.P. Sharma, V. Kumari, Betacyclodextrin complexes insulin loaded alginate microsphere oral delivery system, *Trend Biomater. Artif. Organs* 15 (2002) 48-53.

- [13] P. Sugita, A. Sjahriza, S.I. Lestari, Sintesis dan optimalisasi gel kitosan-gom guar, *J Nature* 9 (2006) 32-36.
- [14] H. Varma, Comparative studies on the dissolution profile of flubriprofen from coated and uncoated alginate microspheres, *Pharmacol.* 2 (2007) 187-202.
- [15] Departemen Kesehatan RI, Farmakope Indonesia, fourth ed., Depkes, Jakarta, 1995.
- [16] C.M. Silva, A.J. Riberio, M. Figueiredo, D. Ferreira, F. Veiga, Microencapsulation of hemoglobin in chitosan-coated alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation, *AAPS J.* 7 (2006) E903-E912.
- [17] M. George, T.E. Abraham, Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan-A review, *J. Controlled Release* 114 (2006) 1-14.
- [18] J.Y. Tan, Release behaviour of Ketoprofen from chitosan/alginate microcapsules, *J. Bioact. and Compatible Polym.* 18 (2003) 207.
- [19] E. Ivanova, V. Chipeva, I. Ivanova, X. Dousset, D. Poncelet, Encapsulation of lactic acid bacteria in calcium alginate beads for bacteriocin production, *J. Culture Collect.* 3 (2000) 53-58.

SINTESIS NANOPARTIKEL KITOSAN DENGAN METODE ULTRASONIKASI DAN SENTRIFUGASI SERTA KARAKTERISASINYA

Dwi Wahyono¹⁾, Purwantiningsih Sugita¹⁾, Laksmi Ambarsari²⁾

¹Departemen Kimia FMIPA IPB, Gedung Fapet W2 Lt 4-5 Jl Agatis Kampus IPB Darmaga

²Departemen Biokimia FMIPA IPB, Gedung Fapet W5 Lt 5 Jl Agatis Kampus IPB Darmaga

Abstract

Ketoprofen-loaded chitosan nanoparticles are produced by ionic gelation process of chitosan and tripolyphosphate (TPP) with ultrasonication and centrifugation methods. Ultrasonic waves with 20 kHz frequency were given to solution of chitosan, TPP, ketoprofen, and oleic acid mixtures at 30 minutes and then the solution was centrifuged with 20000 rpm speed at 2 hours. The average weight of ketoprofen-loaded chitosan nanoparticles from each formula is 1.00 to 1.50 g for every 200 ml. The SEM characterization with magnification of 2000x showed that ketoprofen-loaded chitosan particles have particle size between 556 nm–11.11 μm with amount of chitosan nanoparticles was 58.08%. There are difference between FTIR spectra of ketoprofen-loaded chitosan nanoparticles with IR spectra of chitosan, such as specific peaks at 1410 cm^{-1} and 1637 cm^{-1} are from ketoprofen groups. A new specific peak also appear at 1153 cm^{-1} that showed P=O group of TPP.

Keywords : chitosan, ultrasonication, centrifugation

1. PENDAHULUAN

Kemampuan kitosan yang diterapkan dalam berbagai bidang industri modern, seperti farmasi, biokimia, kosmetika, industri pangan, dan industri tekstil mendorong untuk terus dikembangkannya berbagai penelitian yang menggunakan kitosan, termasuk melakukan modifikasi kimia atau fisik dari kitosan. Modifikasi kimia menghasilkan perbaikan stabilitas kitosan melalui fungsionalisasi gugus fungsi yang ada, perbaikan ukuran pori kitosan dengan menggunakan senyawa porogen, dan dapat menaikkan kapasitas adsorpsi kitosan apabila kitosan dipadukan dengan polimer lain.

Modifikasi kimia kitosan salah satunya dapat dilakukan melalui pembentukan ikatan silang dalam struktur kitosan menghasilkan gel kitosan. Penambahan polivinil alkohol (PVA) pada pembentukan gel kitosan dapat memperbaiki sifat gel, yaitu menurunkan waktu gelasi dan meningkatkan kekuatan mekanik gel (Wang *et al.* 2004). Modifikasi fisik kitosan yang telah dilakukan adalah dalam bentuk mikrokapsul dan telah diterapkan untuk pengantaran obat ketoprofen ke dalam tubuh. Modifikasi fisik pada kitosan mencakup perubahan ukuran partikel atau butir kitosan menjadi lebih kecil untuk pemanfaatan yang lebih luas. Bentuk mikrokapsul memiliki kelemahan, salah satunya adalah kemampuan

penetrasi ke dalam jaringan tubuh terbatas. Oleh karena itu, perkembangan modifikasi fisik mengarah ke bentuk nanopartikel.

Pembuatan nanopartikel dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain komposisi material dan metode yang digunakan. Untuk nanopartikel kitosan, komposisi material yang digunakan adalah kitosan, TPP, dan surfaktan. Penggunaan kitosan dalam bentuk nanopartikel dipilih karena kemampuannya untuk meningkatkan penetrasi molekul-molekul besar. Selain itu, dengan kemudahan masuk ke dalam tubuh, nanopartikel dapat berpindah mengikuti sirkulasi darah ke bagian tubuh. Komposisi material yang sesuai akan menghasilkan nanopartikel kitosan dengan ukuran kecil dan morfologi seragam. Menurut Xu (2003), pembentukan nanopartikel hanya terjadi pada konsentrasi tertentu kitosan dan TPP. Xu berhasil membuat nanopartikel kitosan berukuran 20–200 nm dengan menggunakan konsentrasi kitosan 1.5 mg/ml dan konsentrasi TPP 0.7 mg/ml. Selain itu, Wu *et al.* (2005) juga berhasil membuat nanopartikel kitosan berukuran 20–80 nm dengan menggunakan konsentrasi kitosan 1.44 mg/ml dan konsentrasi TPP 0.6 mg/ml. Oleh karenanya, pemilihan komposisi material yang sesuai merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan pembuatan nanopartikel.

Metode pembuatan nanopartikel merupakan faktor lain yang menentukan selain komposisi material. Wu *et al.* (2005) dan Xu (2003) berhasil membuat nanopartikel kitosan menggunakan metode pengadukan magnetik pada suhu kamar. Akan tetapi, penentuan ukuran partikel yang terbentuk dilakukan dengan metode berbeda, yaitu dengan *dynamic light scattering* (DLS) pada penelitian Wu *et al.* (2005) dan dengan *transmission electron microscope* (TEM) pada penelitian Xu (2003). Selain itu, Kim *et al.* (2006) berhasil membuat nanopartikel kitosan berukuran 50–200 nm menggunakan metode ultrasonikasi, dilanjutkan dengan metode pengering beku (*freeze dry*), dan analisis TEM. Sampai saat ini penelitian nanopartikel kitosan terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai.

Tujuan penelitian ini adalah membuat nanopartikel kitosan dengan metode ultrasonikasi dan sentrifugasi melalui variasi konsentrasi kitosan, TPP, dan surfaktan, serta menentukan karakterisasi nanopartikel tersebut.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia IPB, Laboratorium Biofisika IPB, Pusat Antar Universitas (PAU) IPB, dan Laboratorium Geologi Kuarternier PPGL Bandung. Bahan-bahan yang digunakan adalah kitosan niaga yang dibeli dari Bratachem (DD 70,15% dan BM 3×10^5 g/mol), asam asetat 1%, asam oleat pa,

etanol, ketoprofen yang diperoleh dari PT Kalbe Farma, natrium tripolifosfat (STPP), dan larutan bufer fosfat pH 7.2.

Alat-alat yang digunakan antara lain neraca analitik, FTIR jenis Perkin Elmer seri SpectrumOne, spektrofotometer ultraviolet/sinar tampak (UV/Vis) UV-1700 PharmaSpec, High Speed Centrifuge Sorvall RC 5B Plus, SEM JEOL JSM-6360LA, pengaduk magnet, Ultrasonik prosesor Cole Parmer 130 Watt 20 kHz, pHmeter 510 Bench Series, pengering semprot Buchi 190, pelapis ion Sputter JFC-1100.

2.1. Pembuatan Nanopartikel Kitosan (Modifikasi Xu 2003)

Nanopartikel kitosan dibuat dengan metode ultrasonikasi dan sentrifugasi. Nanopartikel kitosan terisi ketoprofen dibuat dengan mencampurkan larutan kitosan konsentrasi [2.50–3.50% (b/v)]; TPP 0.84–1.50 mg/ml; ketoprofen 0.20 mg/ml; dan asam oleat 0.10–1.50 mg/ml. Kombinasi yang digunakan sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1 Kombinasi formula konsentrasi kitosan, TPP, dan asam oleat

KITOSAN % (b/v)	TPP (mg/ml)	OLEAT (mg/ml)	FORMULA
2.50	0.84	0.10	A
		0.80	B
		1.50	C
	1.17	0.10	D
		0.80	E
		1.50	F
	1.50	0.10	G
		0.80	H
		1.50	I
3.00	0.84	0.10	J
		0.80	K
		1.50	L
	1.17	0.10	M
		0.80	N
		1.50	O
	1.50	0.10	P
		0.80	Q
		1.50	R
3.50	0.84	0.10	S
		0.80	T
		1.50	U
	1.17	0.10	V
		0.80	W
		1.50	X
	1.50	0.10	Y
		0.80	Z
		1.50	AA

Sebanyak 100 ml larutan kitosan ditambahkan 40 ml larutan TPP, dan 40 ml larutan ketoprofen. Setelah itu, sambil diaduk pada suhu kamar ditambahkan 20 ml asam oleat. Campuran kemudian diberi gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz setiap 20 ml selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 20000 rpm selama 2 jam. Supernatan yang diperoleh berupa suspensi nanopartikel. Perubahan bentuk suspensi menjadi serbuk dilakukan dengan menggunakan pengering semprot. Morfologi nanopartikel kitosan terisi ketoprofen dianalisis dengan menggunakan SEM dan FTIR.

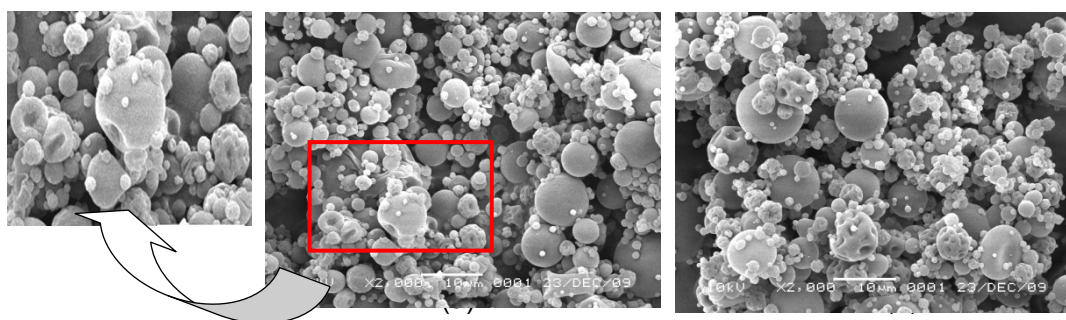
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan nanopartikel kitosan tanpa ketoprofen (kosong) dilakukan dengan mencampurkan larutan kitosan 3% (b/v), TPP 0.84 mg/ml, serta asam oleat 0.10 mg/ml pada suhu kamar dengan pengadukan magnetik. Nanopartikel kitosan dihasilkan dengan metode ultrasonikasi dan sentrifugasi. Metode ultrasonikasi ini bertujuan memecah molekul-molekul yang berukuran besar menjadi bagian-bagian yang lebih kecil.

Campuran larutan kitosan, TPP, dan asam oleat diberi gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz. Hal ini menyebabkan molekul-molekul di dalam campuran akan terpecah menjadi partikel-partikel yang berukuran lebih kecil. Selanjutnya campuran disentrifugasi untuk mengendapkan partikel-partikel yang masih berukuran besar yang tidak terpecah selama proses ultrasonikasi. Supernatan yang diperoleh berupa suspensi nanopartikel kitosan kosong. Banyaknya nanopartikel kitosan kosong hasil dari pengeringan semprot adalah sebesar 2.5976 g untuk setiap 500 ml. Selanjutnya nanopartikel kitosan kosong tersebut di analisis dengan SEM untuk mengidentifikasi bentuk serta morfologi nanopartikel kitosan. Nanopartikel kitosan kosong hasil dari analisis SEM pada perbesaran 2000x dapat dilihat pada Gambar 1a. Nanopartikel kitosan kosong yang dihasilkan memiliki ukuran partikel yang tidak seragam. Dari hasil ini maka dapat dikatakan bahwa metode ultrasonikasi dan sentrifugasi dapat digunakan untuk pembuatan nanopartikel kitosan, walaupun nanopartikel yang dihasilkan belum memiliki ukuran partikel yang seragam. Berdasarkan hasil yang diperoleh di atas, maka pembuatan nanopartikel kitosan terisi ketoprofen dilakukan dengan metode yang sama, hanya saja terdapat penambahan ketoprofen ke dalam masing-masing formula. Kombinasi yang digunakan sesuai dengan Tabel 1. Dari setiap formula nanopartikel kitosan diperoleh bobot nanopartikel kitosan terisi ketoprofen rata-rata sebesar 1.00–1.50 g untuk setiap 200 ml.

Nanopartikel kitosan terisi ketoprofen yang terbentuk dapat dibedakan secara visual setelah dianalisis menggunakan SEM. Berdasarkan pencirian dengan SEM pada perbesaran 2000x memperlihatkan bahwa nanopartikel kitosan terisi ketoprofen yang

dihasilkan memiliki ukuran partikel yang tidak seragam (Gambar 1b). Apabila dibandingkan dengan nanopartikel kitosan kosong (Gambar 1a) maka terdapat beberapa perbedaan. Ukuran nanopartikel kitosan terisi ketoprofen lebih besar dibandingkan dengan nanopartikel tanpa ketoprofen. Rata-rata setiap formula memberikan ukuran partikel dalam kisaran 556 nm–11.11 μm dengan jumlah partikel berukuran nano 58,08%. Hal ini menunjukkan telah terisinya ruang kosong di dalam matriks nanopartikel oleh ketoprofen. Nanopartikel kitosan kosong memiliki bentuk yang keriput dan kempes (Gambar 1a), sedangkan nanopartikel kitosan terisi ketoprofen memiliki bentuk bulat utuh (Gambar 1b). Ukuran partikel yang tidak seragam dan pengisian ketoprofen ke dalam matriks nanopartikel juga tidak seragam diduga karena ketoprofen tidak hanya masuk ke dalam matriks nanopartikel kitosan, tetapi menempel di permukaan nanopartikel.



Gambar 1 Hasil SEM nanopartikel kitosan (a) tanpa ketoprofen dan (b) terisi ketoprofen

Analisis FTIR dimaksudkan untuk melihat perubahan gugus fungsi dari kitosan dan nanopartikel kitosan terisi ketoprofen. Pada Gambar 2, dapat dilihat adanya perubahan intensitas transmitans di beberapa daerah spektrum. Perubahan transmitans ini menunjukkan adanya interaksi antara kitosan, TPP, oleat, dan ketoprofen yang digunakan. Spektrum FTIR kitosan memiliki puncak-puncak spesifik pada bilangan gelombang 3400 cm^{-1} ($-\text{OH}$), 1027 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$), dan 1651 cm^{-1} ($\text{N}-\text{H}$ tekuk pada amina primer), sedangkan untuk senyawa ketoprofen memiliki puncak-puncak spesifik pada bilangan gelombang 2978 cm^{-1} ($-\text{OH}$ karboksilat), 1700 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), 1600 cm^{-1} (konjugasi $\text{C}=\text{O}$ dengan 2 cincin aromatik), 1200 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$), 2000 cm^{-1} (pita karakteristik benzena), 1600 cm^{-1} dan 1480 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$ aromatik).

Spektrum FTIR nanopartikel kitosan terisi ketoprofen memiliki perbedaan dengan spektrum kitosan, antara lain munculnya puncak serapan baru pada bilangan gelombang 1410 cm^{-1} dan 1637 cm^{-1} yang berasal dari ketoprofen. Bilangan gelombang 1410 cm^{-1} menunjukkan pita serapan garam karboksilat yang menunjukkan adanya interaksi elektrostatik antara gugus karboksilat dari ketoprofen dengan gugus amino kitosan, sedangkan bilangan gelombang 1637 cm^{-1} menunjukkan gugus $\text{C}=\text{C}$ ketoprofen yang

berasal dari 2 buah cincin aromatik. Pita serapan baru juga muncul di bilangan gelombang 1153 cm^{-1} yang menunjukkan pita serapan gugus $\text{P}=\text{O}$ dari senyawa TPP. Perbedaan gugus fungsi spektrum FTIR kitosan, ketoprofen, dan nanopartikel kitosan dirangkum dalam Tabel 2.

Tabel 2 Perbandingan spektrum FTIR kitosan, ketoprofen, dan nanopartikel kitosan terisi ketoprofen

Kitosan	Ketoprofen	Kitosan terisi ketoprofen	Referensi Wu <i>et al.</i> (2005)
3400 cm^{-1} ($-\text{OH}$)	2978 cm^{-1} ($-\text{OH}$ karboksilat)	1153 cm^{-1} ($\text{P}=\text{O}$)	3424 cm^{-1} ($-\text{OH}$)
1027 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$)	1700 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$)	1410 cm^{-1} (garam karboksilat)	1092 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$)
1651 cm^{-1} ($\text{N}-\text{H}$ tekuk pada amina primer)	1600 cm^{-1} (konjugasi $\text{C}=\text{O}$ dengan 2 cincin aromatik)	1637 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$)	1610 cm^{-1} ($\text{N}-\text{H}$ tekuk pada amina primer)
	1200 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$)		1453 cm^{-1} (garam karboksilat)
	2000 cm^{-1} (pita karakteristik benzena)		
	1600 cm^{-1} dan 1480 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$ aromatik)		

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Metode ultrasonikasi dan sentrifugasi telah berhasil digunakan untuk membuat nanopartikel kitosan terisi ketoprofen. Dari setiap formula nanopartikel kitosan diperoleh bobot nanopartikel kitosan terisi ketoprofen rata-rata sebesar $1.00\text{--}1.50\text{ g}$ untuk setiap 200 ml . Pencirian dengan SEM pada perbesaran $2000\times$ memperlihatkan bahwa nanopartikel kitosan terisi ketoprofen yang dihasilkan memiliki ukuran partikel tidak seragam. Spektrum FTIR nanopartikel kitosan terisi ketoprofen memiliki perbedaan dengan spektrum kitosan, antara lain munculnya puncak serapan baru pada bilangan gelombang 1410 cm^{-1} dan 1637 cm^{-1} yang berasal dari ketoprofen. Pita serapan baru juga muncul di bilangan gelombang 1153 cm^{-1} yang menunjukkan pita serapan gugus $\text{P}=\text{O}$ dari senyawa TPP.

DAFTAR PUSTAKA

- Wang T, Turhan M, Gunasekaram S. 2004. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel. Society of Chemical Industry. *Polym Int* 53: 911-918.
- Wu Yan *et al.* 2005. Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International Journal of Pharmaceutics* 295: 235-245.
- Xu Yongmei and Du Yumin. 2003. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 250: 215-226.

STABILITAS MIKROKAPSUL KETOPROFEN TERSALUT KITOSAN-ALGINAT**(Stability of Ketoprofen Microcapsule Coated By Chitosan-Alginat)****Siti Latifah¹, Purwantiningsih Sugita¹ dan Bambang Srijanto²**¹Department of Chemistry, Bogor Agricultural University,
²Agency Assessment and Application of Technology, Jakarta**Abstract**

Drug preparations for stability test has been done in previous research, with composition of Chitosan 1.75% (w/v), alginate 0.625% (w/v), glutaraldehyde 4.5% (v/v), and ketoprofen 0.8% (w/v), added by Tween 80 of three levels (1, 2, 3 %). All mixtures were shaken under three different times (1, 2, 3 hours). As a new drug preparation, the stability of ketoprofen microcapsule has to be studied. The purpose is to measure the resistance of the coat during storage and use. The stability was tested using accelerated method in *climatic chamber* under 40 ± 2 °C and relative humidity of 75 ± 5 % in 3 months. The parameter was measured every week included moisture content by using moisture analyzer and ketoprofen content using ultraviolet spectrophotometer at wavelength 254.7 nm. All nine formulas showed that they have high (>10%) and fluctuating moisture content, while ketoprofen content decreased with different reaction kinetics model for each formula. Formula 1 and 2 followed second orders, formula 3, 4, 5, 6, 7, 9 have followed kinetics Avrami-Erofeev model, and formula 8 followed Proud-Tompkins kinetics model. Formula 8 was best formula than the others. It have ketoprofen content percentage still coated after 3 months, degradation rate constant, and shelf life were 91.47%, 0.0875 week^{-1} , and 14.01 week, respectively. The degradation of ketoprofen presumably followed autocatalytic reaction mechanism controlled by formation and growth of reaction core.

Keywords: ketoprofen microcapsule, stability, climatic chamber

1. PENDAHULUAN

Ketoprofen merupakan senyawa obat yang bekerja sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan antianalgesik (Sumirtapura *et al.* 2002). Ketoprofen sangat sukar larut dalam air dan memiliki laju pelepasan obat yang cepat dalam tubuh. Waktu eliminasi ketoprofen terlalu cepat, yaitu 1.5–2 jam, sehingga obat tersebut perlu sering dikonsumsi. Penggunaan ketoprofen dalam dosis tinggi (>300 mg) di dalam tubuh dapat menyebabkan pendarahan lambung (AMA 1991). Salah satu cara yang lebih tepat untuk mengurangi pengaruh tersebut ialah dengan sistem pengantaran obat yang terkendali.

Kitosan merupakan salah satu biopolimer yang telah digunakan dalam mikroenkapsulasi ketoprofen (Yamada *et al.* 2001). Namun, gel kitosan yang dihasilkan memiliki sifat mekanik yang rapuh sehingga perlu dilakukan modifikasi untuk memperbaiki sifat mekanik gelnya.

Perbaikan struktur gel kitosan telah banyak dilakukan, di antaranya dengan penambahan poli(vinil alkohol) (PVA) sebagai bahan saling tembus (IPN, *interpenetrating polymer network*) dan glutaraldehida sebagai penaut silang (Wang *et al.* 2004). Selain itu, modifikasi kitosan sebagai penyalut ketoprofen telah dilakukan, di antaranya dengan karboksimetil selulosa (Sugita *et al.* 2007a) dan gom guar (Sugita *et al.* 2006a). Kinerja membran gel kitosan gom-guar telah diuji difusi oleh Nata *et al.* (2007) dan diuji disolusi oleh Sugita *et al.* (2007b). Hasil penelitian uji difusi menunjukkan bahwa membran kitosan-gom guar memiliki kinerja pelepasan yang baik. Namun, hasil uji disolusi menunjukkan bahwa membran kitosan-gom guar tidak tahan pada medium asam. Akibatnya, mikrokapsul mudah hancur sehingga diperlukan modifikasi lain yang lebih efektif. Modifikasi kitosan lain yang telah dilakukan adalah kitosan-alginat.

Sejauh ini, penelitian mengenai kitosan-alginat telah banyak dilakukan, di antaranya pembuatan membran kitosan-alginat oleh Sugita *et al.* (2006b), uji difusi untuk menilai kinerja membran kitosan-alginat oleh Asnel (2008), dan uji disolusi untuk mengamati perilaku disolusi ketoprofen tersalut gel kitosan-alginat secara *in vitro* oleh Arianto (2010). Asnel (2008) melaporkan bahwa membran kitosan-alginat memiliki kinerja pelepasan yang baik, bahkan lebih baik daripada kinerja membran kitosan-gom guar karena membran mampu melepaskan ketoprofen mendekati konsentrasi terapi, yaitu 50 dan 75 mg/L dengan waktu yang dibutuhkan berkisar antara 3.33 dan 12.5 jam. Selain itu, Arianto (2010) melaporkan bahwa perilaku disolusi ketoprofen tersalut kitosan-alginat menunjukkan obat lepas terkendali baik dalam medium asam maupun basa. Hasil kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa modifikasi mikrokapsul kitosan-alginat menunjukkan sistem pengantaran lebih baik daripada modifikasi kitosan-gom guar.

Sediaan mikrokapsul ketoprofen dengan penyalut kitosan-alginat merupakan sediaan obat yang baru sehingga perlu dilakukan uji stabilitas untuk mengukur ketahanan penyalut selama penyimpanan dan penggunaan. Pengujian dapat dilakukan menggunakan uji jangka panjang dan uji dipercepat. Pada penelitian ini dilakukan uji dipercepat selama 3 bulan pada kondisi suhu (40 ± 2) °C dan kelembapan relatif $(75 \pm 5)\%$. Parameter stabilitas yang diukur meliputi pengukuran kadar air dan kadar ketoprofen yang masih tersalut setelah 3 bulan penyimpanan, dan hasilnya digunakan untuk menentukan usia guna sediaan obat. Parameter kinetika reaksi penguraian ketoprofen yang meliputi orde reaksi dan tetapan laju reaksi juga ditentukan dengan menggunakan metode grafis.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikrokapsul yang telah dibuat oleh peneliti sebelumnya dengan komposisi 228.6 ml larutan kitosan 1.75% (b/v), 38.1 ml larutan alginat 0.625%, 7.62 ml glutaraldehida 4.5% (v/v), dan 250 ml larutan ketoprofen 0.8% (b/v) dengan ragam Tween 80 (1, 2, 3 %)-waktu kontak (1, 2, 3 jam). Mikrokapsul tersebut dibuat dengan 9 formula, yaitu formula 1 (1-1), formula 2 (1-2), formula 3 (1-3), formula 4 (2-1), formula 5 (2-2), formula 6 (2-3), formula 7 (3-1), formula 8 (3-2), formula 9 (3-3) (hasil penelitian Arianto 2010), air suling, etanol 96%, kertas saring, dan alumunium foil.

Alat-alat yang digunakan adalah *climatic chamber*, spektrofotometer UV-1700 PharmaSpec, penganalisis kelembapan Precisa HA60, dan mikroskop elektron susunan (SEM) JEOL JSM-6360LA. Uji stabilitas dilakukan di Laboratorium Farmasi dan Medika Pusat Penelitian dan Teknologi (Puspipstek) Serpong, dan analisis SEM dilakukan di Laboratorium Pusat Pengembangan Geologi dan Kelautan Bandung.

2.2. Uji Stabilitas

Setiap formula mikrokapsul dikemas ke dalam kapsul, 1 kapsul berisi sebanyak 200 mg. Masing-masing formula mikrokapsul yang sudah dikemas dimasukkan ke dalam 9 botol berwarna cokelat ukuran 100 mL dan diamati selama 12 minggu. Setiap botol tersebut diisi kapsul dari masing-masing formula. Kemudian botol disimpan dalam *climatic chamber* pada suhu (40 ± 2) °C dan RH (75 ± 5) % selama 3 bulan.

Uji stabilitas mikrokapsul dilakukan secara kimia dan fisika. Pengujian secara kimia dilakukan dengan cara mengukur kadar ketoprofen. Sebanyak 1 kapsul diambil dari *climatic chamber* untuk tiap varian dan diekstraksi isinya sebanyak 100 mg dengan 45 mL etanol 96% selama 3 jam dengan penggantian pelarut setiap 1 jam (@15 mL). Konsentrasi ketoprofen yang terekstraksi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 254.7 nm. Sementara itu, uji stabilitas secara fisika dilakukan dengan cara mengukur kadar air, yaitu sebanyak 100 mg mikrokapsul ketoprofen dimasukkan ke dalam cawan alumunium, kemudian cawan beserta isinya dimasukkan ke dalam alat penganalisis kelembapan. Mikrokapsul dari tiap varian diukur kadar airnya setiap minggu. Berdasarkan kedua uji ini akan didapatkan data kadar air dan konsentrasi ketoprofen dalam mikrokapsul per minggu selama periode 3 bulan, yang selanjutnya dipakai untuk menentukan stabilitas (usia guna) produk.

2.3. Pencirian Mikrokapsul

Morfologi mikrokapsul dianalisis dengan menggunakan SEM. Analisis dilakukan pada mikrokapsul sebelum uji stabilitas untuk melihat morfologi permukaan mikrokapsul.

2.4. Analisis Data

Parameter kinetika reaksi penguraian ketoprofen dikaji berdasarkan koefisien determinasi (R^2) dari persamaan reaksi. Pendekatan dilakukan dengan menggunakan orde reaksi ke-0, 1, 2, dan 3, persamaan Prout-Tompkins, serta persamaan Avrami-Erofeev sehingga usia guna mikrokapsul dapat ditentukan dengan batasan sediaan yang diuji minimal mengandung 90% kadar senyawa aktif mula-mula.

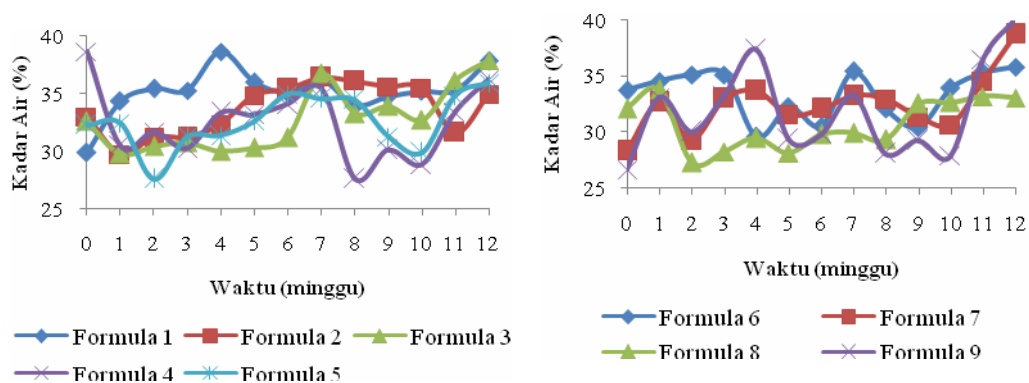
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Stabilitas Fisik Mikrokapsul Ketoprofen dengan Penyalut Kitosan-Alginat

Uji stabilitas yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengujian secara fisik dan kimia. Stabilitas fisik sediaan mikrokapsul ketoprofen dilakukan dengan mengukur kadar air menggunakan *moisture analyzer* yang dapat secara langsung menunjukkan nilai kadar airnya. Uji kadar air untuk 9 formula dilakukan selama 3 bulan dengan interval pengamatan setiap minggu. Kurva hubungan antara waktu pengamatan dengan kadar air untuk masing-masing formula mikrokapsul ketoprofen ditunjukkan oleh Gambar 1.

Secara umum rerata kadar air untuk sediaan mikrokapsul memiliki nilai yang tinggi dan fluktuatif. Fluktuatifnya kadar air mikrokapsul sediaan tersebut diduga karena ukuran partikel yang dihasilkan beragam sehingga penyerapan air oleh masing-masing partikel tidak sama. Namun, dari Gambar 1 terlihat bahwa kesembilan formula menunjukkan nilai kadar air yang relatif konstan setelah penyimpanan selama 2 minggu.

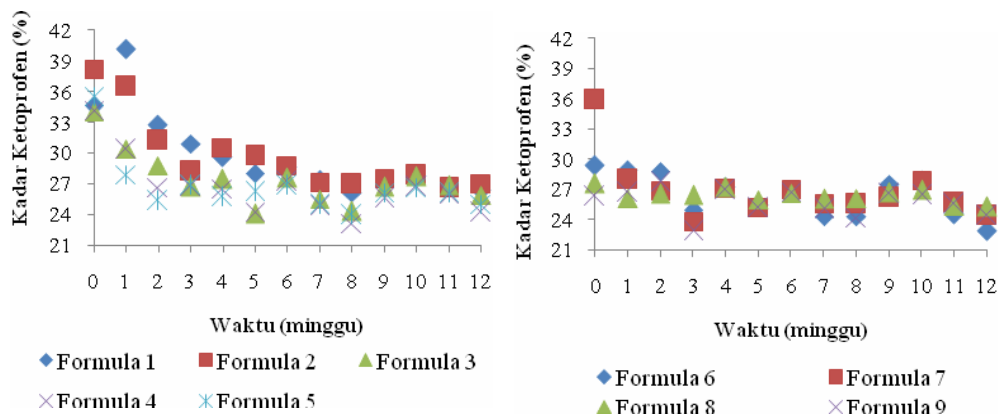
Berdasarkan hasil penelitian, rataan kadar air untuk sediaan mikrokapsul ialah 27.34–40.10%. Hasil penelitian ini lebih besar dari penelitian Isdarulyanti (2008) dan Sugita *et al.* (2009). Isdarulyanti (2008) memperoleh nilai kadar air untuk mikrokapsul indometasin farnesil tersalut gel kitosan-gom guar sebesar 16.47–21.13%. Sementara Sugita *et al.* (2009) memperoleh nilai kadar air untuk mikrokapsul ketoprofen tersalut kitosan-gom guar sebesar 14.76–24.94%. Tingginya kadar air ini diduga karena sediaan obat disimpan pada kondisi suhu (40 ± 2) °C dan kelembapan relatif (75 ± 5)%. Selain itu, kadar air yang tinggi kemungkinan juga disebabkan oleh sifat kitosan-alginat yang higroskopis. Menurut Chaplin (2005), secara umum alginat menunjukkan sifat adsorpsi air yang tinggi.



Gambar 1 Kadar air mikrocapsul formula 1–9 dengan beragam [Tween 80] (%) – waktu kontak (jam)

3.2. Stabilitas Kimia Mikrocapsul Ketoprofen dengan Penyalut Kitosan-Alginat

Stabilitas kimia sediaan mikrocapsul ketoprofen dilakukan dengan mengukur kadar senyawa aktif yang masih tersisa pada 9 formula secara spektrofotometri. Secara umum kadar senyawa aktif di dalam sediaan tersebut mengalami penurunan. Gambar 2 menunjukkan pola penurunan kadar ketoprofen pada sediaan obat yang diuji stabilitasnya selama 3 bulan. Suatu sediaan obat yang stabil hanya mengalami penurunan kadar zat aktif tidak lebih dari 10% (Agoes 2001).



Gambar 2 Kadar ketoprofen mikrocapsul formula 1–9 dengan beragam [Tween 80] (%)– waktu kontak (jam).

Penurunan kadar ketoprofen yang tersalut diduga terjadi karena membran kitosan-alginat membengkak saat disimpan di dalam *climatic chamber*. Menurut Asnel (2008), suhu yang tinggi (40 ± 2) °C dan didukung dengan kadar air yang tinggi (Huang *et al.* 2006) dapat mempermudah pembengkakan membran, begitu pula dengan hasil Herdini (2008) mendapatkan bahwa membran kitosan-alginat yang telah digunakan dalam uji difusi kurkumin pada suhu 37 °C mengalami pembengkakan lebih cepat, akibatnya terbentuk rongga dan pori permukaan yang lebih lebar sehingga menyebabkan zat aktif di dalamnya

mudah terlepas. Semakin lama mikrokapsul ini dikondisikan pada suhu tinggi diduga semakin banyak ketoprofen yang terlepas.

Hasil pengukuran kadar ketoprofen yang masih tersalut digunakan untuk penentuan model kinetika reaksi penguraian obat ini. Kecocokan model kinetika yang diukur untuk masing-masing formula ditetapkan berdasarkan penetapan kurva regresi antara konsentrasi dan waktu berdasarkan nilai R^2 yang paling tinggi.

Berdasarkan nilai R^2 terbesar yang diperoleh diketahui mikrokapsul formula 1 dan 2 cenderung mengikuti orde reaksi ke-2, yang umumnya merupakan model kinetika reaksi degradasi pada kondisi cairan. Sementara formula 8 cenderung mengikuti model kinetika reaksi Prout-Tompkins sedangkan formula 3, 4, 5, 6, 7, dan 9 cenderung mengikuti model kinetika reaksi Avrami-Erofeev. Pendekatan model kinetika reaksi Prout-Tompkins dan Avrami-Erofeev merupakan model kinetika reaksi degradasi pada kondisi padatan. Secara umum hasil perhitungan untuk kesembilan formula cocok menggunakan pendekatan model kinetika reaksi pada kondisi padatan (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa degradasi ketoprofen yang tersalut kitosan-alginat diduga diakibatkan oleh reaksi autokatalitik yang dikontrol oleh pembentukan dan pertumbuhan inti reaksi dengan berbagai modifikasinya. Kecilnya nilai R^2 yang diperoleh untuk keempat model kinetika reaksi pada formula 1, 2, 4, dan 5 diduga karena mikrokapsul yang dihasilkan dari pengeringan semprot tidak seragam.

Hasil uji stabilitas selanjutnya digunakan untuk mengetahui persentase kadar ketoprofen yang masih tersalut setelah 3 bulan ($\%[A]_t$) yang dapat dihitung berdasarkan persamaan (5). Menurut Agoes (2001), sediaan obat dikatakan masih stabil jika kadar bahan aktifnya sekurang-kurangnya mengandung 90% dari kadar awal. Berdasarkan hasil perhitungan $\%[A]_t$ yang ditunjukkan pada Tabel 2, kisaran nilai yang diperoleh 72.80–91.47%. Formula 5, 8, dan 9 menunjukkan nilai yang cukup besar, yaitu memiliki nilai lebih besar daripada batas minimum untuk uji stabilitas. Formula yang paling stabil adalah formula 8 (91.47%) sedangkan formula 1 paling tidak stabil (72.80%). Ketidakstabilan kimia pada sediaan obat dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya potensi khasiat disamping dapat menimbulkan efek bahkan ketidakamanan produk.

Tabel 1 Model kinetika reaksi pada kondisi padatan

Persamaan umum model kinetika reaksi pada kondisi padatan adalah:

$$dx = \frac{kx^l (1-x)^m}{dt} t^n$$

Model	Persamaan kinetika reaksi	Keterangan
Prout-Tompkins	$dx = \frac{kx}{dt} (1-x)$	Nilai l , m dan n berturut-turut 1, 1 dan 0
Avrami	$-\ln(1-x) = kt^n$	Dengan $l = 0$, $m = 1$ dan nilai n bervariasi
Avrami-Erofeev	$-\ln(1-x) = kt^2$	Dengan $l = 0$, $m = 1$ dan nilai $n = 2$
Avrami-Erofeev	$-\ln(1-x) = kt^3$	Dengan $l = 0$, $m = 1$ dan nilai $n = 3$
Avrami-Erofeev	$-\ln(1-x) = kt^4$	Dengan $l = 0$, $m = 1$ dan nilai $n = 4$

Sumber: Levenspiel 1999

Tabel 2 Penguraian kadar ketoprofen selama uji dipercepat 3 bulan

For mula	Model kinetika reaksi	Persamaan laju penguraian ketoprofen	R^2	Tetapan kinetika, k (minggu ⁻¹)	$[A]_0$ (%b/b) ^a	% $[A]_R$ ^b	% $[A]_t$ ^c
1	Orde ke-2	$y = 0.0009x + 0.0289$	0.7473	9×10^{-4}	34.59	27.20	72.80
2	Orde ke-2	$y = 0.0008x + 0.0293$	0.7270	8×10^{-4}	38.17	24.68	75.32
3	Avrami-Erofeev, $n = 2$	$y = 0.0006x - 0.0612$	0.9182	6×10^{-4}	34.07	13.72	86.28
4	Avrami-Erofeev, $n = 3$	$y = 0.00007x + 0.0764$	0.8058	7×10^{-5}	34.16	17.91	82.09
5	Avrami-Erofeev, $n = 4$	$y = 0.000002x + 0.0489$	0.7543	2×10^{-6}	35.57	8.64	91.36
6	Avrami-Erofeev, $n = 2$	$y = 0.0014x + 0.0278$	0.9597	14×10^{-4}	29.36	20.50	79.50
7	Avrami-Erofeev, $n = 2$	$y = 0.0005x + 0.0234$	0.9582	5×10^{-4}	35.91	12.22	87.78
8	Prout-Tompkins	$y = 0.0875x - 3.4231$	0.9929	8.75×10^{-2}	27.60	8.53	91.47
9	Avrami-Erofeev, $n = 4$	$y = 0.000005x + 0.0200$	0.9014	5×10^{-6}	26.27	9.85	90.15

^a kadar awal ketoprofen, ^b % pelepasan ketoprofen setelah 12 minggu, ^c % kadar ketoprofen yang masih tersalut pada $t = 12$ minggu

3.3. Usia Guna Berdasarkan Model Kinetika Reaksinya

Penentuan usia guna pada masing-masing formula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bertahan suatu sediaan obat dalam batas waktu yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan. Batasan 90% kadar ketoprofen yang masih

tersalut merupakan syarat stabilitas obat yang dijadikan dasar penentuan usia guna dari sediaan obat.

Hasil perhitungan usia guna yang ditampilkan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa usia guna sediaan ketoprofen bervariasi antara 3.57 dan 14.01 minggu. Urutan formula mikrokapsul dari usia guna terpanjang adalah formula 8 (14.01 minggu), kemudian formula 5, 9, 7, 3, 4 dan 6, 2, usia guna yang terpendek adalah formula 1 (3.57 minggu). Hasil penelitian ini memiliki nilai usia guna yang berbeda dengan hasil penelitian Isdarulyanti (2008) dan Sugita *et al.* (2009). Isdarulyanti (2008) memperoleh nilai usia guna untuk mikrokapsul indometasin farnesil tersalut gel kitosan-gom guar antara 0.81 hingga 4.28 minggu. Sementara Sugita *et al.* (2009) memperoleh nilai usia guna untuk mikrokapsul ketoprofen tersalut kitosan-gom guar sebesar 1.51–39.12 bulan.

Menurut Sugita *et al.* (2006b), penambahan alginat akan memperbaiki struktur ikatan silang di dalam gel dan dapat menurunkan nilai pembengkakan gel. Hal ini disebabkan alginat akan masuk ke dalam pori-pori gel, makin banyak alginat yang masuk maka air akan sulit untuk masuk sehingga mengurangi proses pembengkakan dan mengakibatkan ketoprofen didalamnya terlepas lebih lambat.

Berdasarkan parameter uji stabilitas, formula yang menunjukkan stabilitas paling baik dengan persentase ketoprofen yang masih tersalut paling besar dan usia guna paling panjang, yaitu mikrokapsul formula 8 (kitosan 1.75% [b/v], alginat 0.625% [b/v] glutaraldehida 4.5% [v/v], ketoprofen 0.8% [b/v], Tween 80 3%, dengan waktu kontak pengadukan selama 2 jam). Sementara stabilitas yang kurang baik dengan persentase ketoprofen yang tersalut paling sedikit dan usia guna paling pendek ditunjukkan oleh formula 1 (kitosan 1.75% [b/v], alginat 0.625% [b/v], glutaraldehida 4.5% [v/v], ketoprofen 0.8% [b/v], Tween 80 1%, dengan waktu kontak pengadukan selama 1 jam).

Nilai usia guna yang paling besar bukan satu-satunya segi yang ditinjau untuk menentukan kelayakan suatu sediaan obat. Penentuan formula terbaik dilakukan melalui pembobotan dengan memperhatikan faktor usia guna dan kadar air sediaan ketoprofen tersalut kitosan-alginat, sehingga dari hasil pembobotan ini maka dapat ditentukan formula sediaan obat terbaik.

Pembobotan untuk setiap formula ditampilkan pada Tabel 3. Sediaan obat yang memiliki usia guna paling besar akan memiliki nilai bobot paling rendah. Sebaliknya, formula yang memiliki kadar air paling tinggi akan memiliki nilai bobot paling tinggi. Total nilai bobot yang paling rendah dari kedua kriteria tersebut dipilih sebagai formula sediaan terbaik. Formula dengan total nilai bobot yang sama, maka faktor usia guna adalah faktor yang dominan. Berdasarkan hasil pembobotan, diperoleh formula terbaik dari mikrokapsul

ketoprofen dengan penyalut kitosan-alginat ialah formula 8, selanjutnya formula 9, 5, 7, 3, 4, 6, 2 dan terendah adalah formula 1.

Tabel 3 Ukuran partikel dan urutan formula terbaik mikrokapsul ketoprofen ditentukan berdasarkan nilai bobot usia guna dan kadar air

Formula	Ukuran partikel (nm- μ m)	Usia guna (minggu)	Nilai bobot berdasarkan usia guna	Kadar air (%)	Nilai bobot berdasarkan kadar air	Total nilai bobot	Urutan formula terbaik
1	476–14.3	3.57	9	35.22	9	18	9
2	185–16.4	4.07	8	33.67	8	16	8
3	179–7.6	8.58	5	32.73	6	11	5
4	182–12.3	7.45	7	32.55	5	12	6
5	95–10.95	12.96	2	32.55	4	6	3
6	182–11.8	7.45	6	33.39	7	13	7
7	95.2–19	10.95	4	32.49	3	7	4
8	90.9–10	14.01	1	30.76	1	2	1
9	200–10.5	11.43	3	31.91	2	5	2

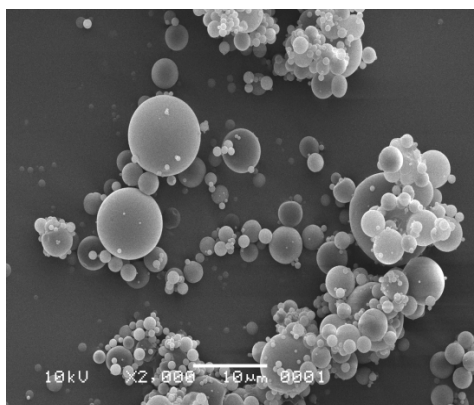
3.4. Morfologi Mikrokapsul

Pencirian morfologi mikrokapsul sebelum uji stabilitas dilakukan terhadap mikrokapsul untuk semua formula. Hasil SEM menunjukkan bahwa permukaan mikrokapsul ketoprofen tersalut kitosan-alginat memiliki bentuk yang bulat, halus, dan tidak kisut dengan ukuran yang beragam, yaitu berkisar 476 nm–19 μ m. Ukuran mikrokapsul yang beragam dapat disebabkan oleh jumlah ketoprofen yang tersalut berbeda-beda. Hal tersebut diduga karena mikrokapsul yang dihasilkan berinti banyak, sehingga antara mikrokapsul yang satu dan yang lain dalam komposisi bahan penyalut yang sama memiliki jumlah inti yang berbeda.

Ukuran mikrokapsul yang diperoleh pada penelitian ini lebih besar daripada mikrokapsul tanpa penambahan ketoprofen. Arianto (2010) melaporkan bahwa mikrokapsul gel kitosan-alginat tanpa penambahan ketoprofen memiliki ukuran 20 nm–5 μ m dan memperlihatkan bentuk yang bulat, kisut, dan berlubang. Sementara hasil penelitian Wahyono (2010) untuk mikrokapsul tanpa adanya modifikasi penyalutan, diperoleh kisaran diameter kitosan tanpa dan dengan penambahan ketoprofen menunjukkan kisaran berturut-turut sebesar 385 nm–8.46 μ m dan 556 nm–11.11 μ m. Hasil ini sejalan dengan penelitian Sugita *et al.* (2007b), bahwa mikrokapsul dengan penambahan ketoprofen berukuran lebih besar dibandingkan dengan yang tanpa penambahan ketoprofen.

Berdasarkan pencirian morfologi mikrokapsul, formula 8 yang merupakan formula dengan stabilitas terbaik memiliki ukuran mikrokapsul sebesar 90.9 nm–10 μ m (Gambar 3). Ukuran yang diperoleh lebih kecil jika dibandingkan dengan formula yang memiliki stabilitas terendah, yaitu formula 1 memiliki ukuran sebesar 476 nm–14.3 μ m. Hasil penelitian ini menunjukkan ukuran yang berbeda dengan yang diperoleh Isdarulyanti (2008) untuk mikrokapsul indometasin farnesil tersalut kitosan-alginat, yaitu memiliki diameter 1.43–12.20 μ m sedangkan hasil penelitian Sugita *et al.* (2009) untuk mikrokapsul ketoprofen tersalut kitosan-gom guar memiliki ukuran sebesar 1.0-11 μ m.

Hasil penelitian ini diduga, dengan ukuran mikrokapsul lebih kecil pada formula 8 yang merupakan formula dengan stabilitas paling baik akan memiliki permukaan lebih luas sehingga memungkinkan penguraian bahan aktif yang terdistribusi pada permukaan akan lebih sedikit. Selain itu, hal ini juga dapat dipengaruhi oleh penambahan alginat yang dapat mempengaruhi sifat reologi matriks gel. Menurut Sugita *et al.* (2006b), adanya penambahan alginat selain dapat memperbaiki struktur ikatan silang kitosan dalam gel sehingga ikatan silang menjadi lebih kaku dan lebih kuat, juga dapat menurunkan titik pecah gel, meningkatkan ketegaran, serta mengurangi pembengkakan.



Gambar 3 Foto SEM permukaan mikrokapsul formula 8 dengan perbesaran 2000x

4. KESIMPULAN

Mikrokapsul ketoprofen dengan penyalut gel kitosan-alginat hasil uji stabilitas pada kondisi suhu (40 \pm 2) $^{\circ}$ C dan RH (75 \pm 5)% menunjukkan stabilitas yang baik. Hasil dari 9 formula mikrokapsul diperoleh bahwa formula 8 (kitosan 1.75% [b/v], alginat 0.625% [b/v] glutaraldehida 4.5% [v/v], ketoprofen 0.8% [b/v], Tween 80 3%, dengan waktu kontak 2 jam) menunjukkan formula yang paling stabil dengan kadar air, kadar ketoprofen tersalut, dan usia guna berturut-turut sebesar 30.76%, 91.47%, dan 14.01 minggu. Sementara formula yang paling tidak stabil adalah formula 3 (kitosan 1.75% [b/v], alginat 0.625% [b/v], glutaraldehida 4.5% [v/v], ketoprofen 0.8% [b/v], Tween 80 1%, dengan waktu

kontak 1 jam) memiliki kadar air, kadar ketoprofen tersalut, dan usia guna berturut-turut sebesar 35.22%, 72.80% dan 3.57 minggu. Hasil SEM mikrokapsul untuk kesembilan formula menunjukkan kisaran diameter 476 nm–19 μ m.

DAFTAR PUSTAKA

- [AMA] American Medical Association. 1991. *Drug Evaluations*. Ed ke-8. Philadelphia: Reed Business Information.
- Agoes G. 2001. *Studi Stabilitas Sediaan Farmasi*. Bandung: Teknologi Farmasi Program Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.
- Arianto B. 2010. Perilaku disolusi mikrokapsul ketoprofen tersalut kitosan-alginat berdasarkan ragam konsentrasi Tween 80 [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Asnel RS. 2009. Perilaku difusi ketoprofen melalui membran kitosan-alginat [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Chaplin M. 2005. Alginate. Applied Science, London South Bank University. <http://chem.skku.ac.kr/~wkpark/tutor/mirror/www.martin.chaplin.btinter.net.co.uk/hygu.html> [19 Jan 2010].
- Herdini. 2008. Mikroenkapsulasi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthoriza* Roxb) tersalut gel kitosan-alginat [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Huang J, Wang X, Yu X. 2006. Solute permeation through the polyurethane-NIPAAm hydrogel membranes with various cross-linking densities. *J Desalination* 192:125-131.
- Isdarulyanti D. 2008. Stabilitas obat anti peradangan indometasin farnesil tersalut gel kitosan-gom guar [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Levenspiel O. 1999. *Chemical Reaction Engineering*, Ed ke-3. New York: J Wiley.
- Nata F, Sugita P, Sjachriza A, Arifin B. 2007b. Diffusion behavior of ketoprofen through chitosan-guar gum membranes. *Proceeding of the International Conference and Workshop on Basic and Applied Sciences*; Surabaya, 6-7 Agu 2007. Bogor: Universitas Airlangga; 2007. hlm 189-193.
- Sugita P, Sjahriza A, Lestari SI. 2006a. Sintesis dan optimalisasi gel kitosan-gom guar. *J Natur* 9:32-36.
- Sugita P, Sjahriza A, Wahyono D. 2006b. Sintesis dan optimalisasi gel kitosan-alginat. *J Sains Teknol* 8:133-137.
- Sugita P, Sjahriza A, Rachmanita. 2007a. Sintesis dan optimalisasi gel kitosan-karboksimetilselulosa. *J Alchemy* 6: 57-58.
- Sugita P, Srijanto B, Amelia F, Arifin B. 2007b. Perilaku disolusi ketoprofen tersalut kitosan-gom guar. Prosiding Seminar bersama ITB-UKM Malaysia; Bandung, 2004. Bandung: ITB Pr; 2007.
- Sugita P, Srijanto B, Arifin B, Setyowati EV. 2009. Stabilitas ketoprofen tersalut kitosan-alginat. *Indones J Chem* 9:391-397.

- Sumirtapura YC, Saungnage B, Rachmat M. 2002. Farmakokinetik dan ketersediaan hayati relatif sediaan kapsul, tablet salut enterik dan supositoria ketoprofen. *J Mat Sains* 7:15-19.
- Wahyono D. 2010. Ciri nanopartikel kitosan dengan pengaruhnya pada ukuran partikel dan efisiensi penyalutan ketoprofen [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Wang T, Turhan M, Gunasekaram S. 2004. Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polym Int* 53:911-918.
- Yamada T, Onishi H, Machida Y. 2001. *In vitro* and *in vivo* evaluation of sustained release chitosan-coated ketoprofen microparticles. *Yakugaku Zasshi* 121:239-245.

ADSORPTION OF Au (III) ONTO CHITOSAN GLUTARALDEHYDE CROSS-LINKED IN CYANIDE SOLUTION

Salih Muharam¹, Purwantiningsih Sugita², Armi Wulanawati²

¹Universitas Muhammadiyah Sukabumi

²Departemen Kimia FMIPA IPB, Gedung Fapet W2 Lt 4-5 Jl Agatis Kampus IPB Darmaga

Abstract

Chitosan flake-cross-linked by glutaraldehyde as an adsorbent has been done to investigate the adsorption of Au (III) from cyanide solution. Batch adsorption system was carried out by three of various parameters, such as pH, contact time and adsorbent dosage. The experimental design used Box Menken response surface. The result showed that Chitosan flake cross-linked by glutaraldehyde 4% has Au adsorption capacity more than 96% at condition pH, contact time and dosage were 2, 120 minutes and 0.8750 g, respectively. It resulted chemical properties such as isotherm model, kinetic order and thermodynamic were Freundlich isotherm, pseudo-second-order, spontaneous and exothermic, respectively. The desorption process showed that Chitosan flake cross-linked by glutaraldehyde was not selective to adsorb of Au (III) cyanide ions.

Keywords: Cross-linked Chitosan, Au (III) cyanide ions, isotherm, kinetic, thermodynamic

1. PENDAHULUAN

Sumber bijih logam Emas (Au) di alam jumlahnya sedikit, sedangkan kebutuhan akan logam Au untuk industri meningkat, sehingga diperlukan suatu metoda ekstraksi logam Au dengan perolehan yang tinggi. Salah satu metoda yang umum digunakan untuk memperoleh logam Au adalah ekstraksi pelarut menggunakan larutan sianida yang dikenal dengan proses sianidasi (Wilson dan Monhemius 2006). Pada proses sianidasi terdapat dua tahap penting yaitu proses pelarutan dan proses adsorpsi (pemisahan logam Au). Pada proses pelarutan, pelarut yang umum digunakan untuk mengekstraksi logam Au dari bijih emas adalah NaCN dengan cara membentuk kompleks disianoaurat ($[Au(CN)_2]^-$) yang stabil pada kondisi asam dan basa (Deschenes 2005).

Pada proses adsorpsi umumnya digunakan karbon aktif, namun pada prosesnya karbon aktif mengalami kerusakan dikarenakan gesekan antar partikel karbon pada saat pengadukan menghasilkan karbon halus (*carbon fine*) yang lolos pada proses penyaringan dan terbawa sebagai *tailing*, yang berarti pula kehilangan emas yang terikat pada karbon. Selain itu, karbon aktif harganya mahal (Bhattacharya dan Venkobachar 1984 dan Wang *et al.* 2003 dalam Wu *et al.* 2010) dan selektivitas rendah, sukar dielusi dan membutuhkan reaktivasi (Garcia 1997). Penelitian ini bertujuan mengoptimasi proses

adsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ oleh kitosan bertaut silang glutaraldehida (kitosan-GA) dan mempelajari mekanisme, kinetika, termodinamika adsorpsi dan karakteristik struktur dan kristalinitasnya untuk dijadikan model adsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$, sehingga diharapkan menjadi adsorben alternatif yang dapat mengatasi kelemahan dari karbon aktif.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah termometer, neraca analitik, spektrofotometer serapan atom (AAS Varians), XRD (Shimadzu: model XRD-7000 Maxima), SEM (Jeol: model JSM-6510LA), *hot plate-steerer*, alat pengaduk (*shaker*), dan pH meter. Bahan-bahan yang digunakan adalah kitosan serpih (derajat deasetilasi 73% dan BM 3200 kD), $\text{H}[\text{Au}(\text{Cl})_4]$ 1000 mg/L, HCl, NaOH, NaCN, Glutaraldehida (GA), CH_3COOH glacial, HNO_3 , dan H_2SO_4 96%.

2.2. Pembuatan Kitosan Bertaut Silang Glutaraldehida

Metoda yang digunakan untuk memodifikasi serpih kitosan dengan variasi glutaraldehida 0%, 2.5% dan 4% berdasarkan metoda Peirano *et al.* 2003.

2.3. Pemilihan Kitosan

Serpih kitosan sejumlah 1g tanpa GA dan serpih kitosan-GA (2.5% dan 4%) dengan ukuran 14 dan 35 mesh masing-masing ditambahkan pada 50 mL larutan $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ 10 ppm, diaduk pada pH 2, waktu kontak 6 jam dan suhu kamar. Selanjutnya disaring dan kadar Au dalam filtrat dianalisis oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm. Percobaan yang sama dilakukan pada karbon aktif. Selanjutnya setiap serpih kitosan tanpa GA dan kitosan-GA diuji kelarutannya dalam asam dengan prosedur sesuai dengan metode Chen *et al.* 2007 sebagai berikut : masing-masing dimasukkan ke dalam HCl 6N, HNO_3 5%, H_2SO_4 5%, CH_3COOH 2%, HNO_3 pekat, dan H_2SO_4 pekat dengan rasio kitosan/asam-basa 10% (b/v) selama 24 jam dengan pengadukan pada suhu ruang. Serpih kitosan-GA yang terpilih akan digunakan untuk optimasi proses adsorpsi selanjutnya.

2.4. Optimasi Adsorpsi

Optimasi proses adsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ oleh kitosan-GA menggunakan metoda *batch* dengan parameter optimasi adalah waktu kontak, pH, dan dosis adsorben dan metode rancangan percobaannya menggunakan *response surface box behnken*. Kitosan-GA terpilih dimasukkan ke dalam 50 mL larutan $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ 10 mg/L, kemudian diaduk pada

kondisi percobaan sesuai rancangan percobaan *box behnken*. Setelah itu disaring dan kadar Au dalam filtrat dianalisis oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm

2.5. Isotermal dan Kinetika Adsorpsi

Kitosan-GA dimasukkan ke dalam 50 mL larutan $\text{Au}[(\text{CN})_4]^-$ dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 mg/L, kemudian diaduk pada kondisi optimal dan suhu kamar. Setelah itu disaring dan kadar Au dalam filtrat dianalisis oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm. Percobaan pengaruh konsentrasi awal larutan $\text{Au}[(\text{CN})_4]^-$ terhadap kinetika adsorpsi dilakukan sebagai berikut: kitosan-GA masing-masing dimasukkan ke dalam 50 mL larutan $\text{Au}[(\text{CN})_4]^-$ dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 mg/L kemudian diaduk pada kondisi optimal pada suhu kamar (30 °C). Pada selang waktu 150 menit setiap 30 menit 10 mL aliquot diambil, selanjutnya dianalisis kadar Au dalam setiap aliquot oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm. Percobaan pengaruh suhu terhadap kinetika adsorpsi dilakukan sebagai berikut: kitosan-GA masing-masing dimasukkan ke dalam 50 mL larutan $\text{Au}[(\text{CN})_4]^-$ dengan konsentrasi 10 mg/L kemudian diaduk pada kondisi optimal pada suhu 30, 40, 50 dan 60 °C. Pada selang waktu 150 menit setiap 30 menit 10 mL aliquot di ambil, selanjutnya dianalisis kadar Au dalam setiap aliquot oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm.

2.6. Penelitian Desorpsi

Sejumlah konsentrasi Au dalam larutan sianida diadsorpsi oleh kitosan pada 220 rpm, suhu kamar selama 2 jam. Kitosan-GA yang mengandung Au di saring dan dikeringkan. Kadar Au dalam filtrat dianalisis oleh spectrometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm. Hasil analisis kadar Au dalam filtrat digunakan untuk menentukan jumlah Au yang ada dalam kitosan (kitosan-GA-Au). Uji elusi dilakukan dengan pengadukan sejumlah kitosan-GA-Au pada larutan 50 mL NaCN 1% pada suhu kamar dan dalam setiap 30 menit diambil 10 mL aliquot pada selang waktu 2 jam. Selanjutnya dianalisis kadar Au dalam setiap aliquot oleh spektrofotometer serapan atom pada $\lambda = 242.8$ nm.

2.7. Karakterisasi Material

Kitosan sebelum perlakuan, kitosan-GA dan kitosan-GA setelah diperlakukan dengan larutan $\text{Au}[(\text{CN})_4]^-$ (kitosan-Ga-Au) dikarakterisasi sifat kristalinitasnya dan morfologinya menggunakan difraktometer sinar X dan SEM (*scanning electron microscope*).

2.8. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data menggunakan analisis *respon surface* dan regresi linier menggunakan software Minitab 7.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pemilihan Material

Hasil uji kemampuan adsorpsi $[Au(CN)_4]^-$ dengan konsentrasi 10 mg/L oleh kitosan-GA dibandingkan dengan karbon aktif pada pH 2 diperlihatkan pada Tabel 1. Kapasitas dan persen adsorpsi Au dari serpih kitosan dan karbon aktif menunjukkan bahwa kapasitas dan persen adsorpsi kedua material terhadap $[Au(CN)_4]^-$ tidak ada perbedaan signifikan. Proses desorpsi atau elusi ion logam umumnya menggunakan pelarut asam atau basa. adsorben yang menguntungkan harus dapat digunakan kembali dan tahan terhadap kondisi ekstrim, sehingga penting dilakukan uji kelarutan dalam berbagai konsentrasi asam-asam mineral sebelum digunakan lebih lanjut dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1 Kapasitas dan persen adsorpsi serpih kitosan-GA dan karbon aktif terhadap $[Au(CN)_4]^-$

Material	GA (%)	Ukuran (mess)	Kapasitas adsorpsi (mg/g)	% adsorpsi
Kitosan	0	14	0.306	61.811
	2.5	14	0.489	97.874
		35	0.490	98.059
	4	14	0.480	96.962
35		0.482	97.786	
Karbon aktif		14	0.496	99.226
		35	0.494	99.203

Tabel 2 menunjukkan bahwa serpih kitosan-GA 2.5% dan 4% tidak larut dalam pelarut CH_3COOH encer, H_2SO_4 encer, HNO_3 encer dan HCl 6N. Serpih kitosan-GA 4% memperlihatkan ketahanannya dalam berbagai asam dan tidak pecah dibandingkan serpih kitosan-GA 2.5%. Maka berdasarkan hasil penelitian ketahanan terhadap kondisi ekstrim (tahan pada pH sangat rendah).maka pada penelitian selanjutnya bentuk kitosan yang digunakan adalah serpih kitosan-GA 4%.

Tabel 2 Kelarutan serpih kitosan-GA pada berbagai pelarut asam

Kitosan	Kelarutan dalam						
	GA(%)	HCl6N	HNO_3 pekat	H_2SO_4 Pekat	CH_3COOH 2%	HNO_3 5%	H_2SO_4 5%
Serpih	2.5	-*	+/-	-*	-	-	-
	4.0	-	+/-	+/-	-	-	-

Keterangan: (+) larut; (-) tidak larut; (+/-) larut sebagian; * Pecah

3.2. Optimasi Adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh Serpih Kitosan-GA 4%

Hasil optimasi tahap 1 proses adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% berada pada rentang pH 1-6, waktu >100 menit dan bobot kitosan 0.75-1 g. Dari daerah optimal tersebut diperoleh daerah optimal yang lebih efisien pada waktu = 120 menit pH = 2 dan dosis = 0.875 g. Daerah optimal ini ternyata cukup efisien jika dibandingkan dengan hasil penelitian Aworn *et al* 2005 dan Soleimani *et al* 2008 yang ditunjukkan pada Tabel 3. Penelitian isotermal dan kinetika adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh kitosan-GA 4% selanjutnya dilakukan pada kondisi ini.

Tabel 3 Perbandingan parameter optimal adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% abu terbang dan karbon aktif

Adsorben	Kode	Adsorbat	Waktu kontak (menit)	pH	Dosis(g)	% ads
Kitosan-GA 4%	KG	[Au(CN)₄]⁻	90-120	2	0.875	97.612
Abu terbang	AT	[Au(CN) ₂] ⁻	120	10-11	2.25-7.5	86.000
Karbon aktif	KAA/KAK	[Au(CN) ₂] ⁻	180	10.5	1.000	98.000

3.3. Isotermal Adsorpsi [Au(CN)₄]⁻

Data percobaan adsorpsi isotermal [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% dianalisis oleh dua model isotermal adsorpsi yaitu model Langmuir dan Freundlich. Tabel 4 menunjukkan model isotermal Freundlich lebih baik dibandingkan model Langmuir, terlihat dari koefisien korelasinya lebih besar, sehingga proses didominasi oleh adsorpsi multilayer (heterogen). Isotermal Freundlich disebut juga adsorpsi fisika yang terjadi bila gaya intramolekul lebih besar dari gaya tarik antar molekul. Sehingga dapat diduga proses adsorpsi ion Au berupa interaksi ion-ion (pertukaran ion) atau penjerapan (*entrapment*) atau kombinasi keduanya. Parameter lain yang menentukan proses adsorpsi akan menguntungkan adalah R_L. R_L merupakan parameter kesetimbangan atau dimensi adsorpsi, dimana jika R_L>1 proses adsorpsi tidak menguntungkan; R_L = 1 proses adsorpsi linier; 0<R_L<1 proses adsorpsi menguntungkan dan R_L = 0 proses adsorpsi ireversibel. Tabel 4 menunjukkan nilai R_L serpih kitosan-GA 4%, abu terbang dan karbon aktif berada pada rentang 0<R_L<1 yang mengindikasikan proses adsorpsi terhadap Au-sianida adalah menguntungkan, akan tetapi jika dibandingkan, serpih kitosan-GA 4% lebih menguntungkan, dimana nilai R_L lebih besar dan berada pada nilai tengah pada rentang 0<R_L<1, hal ini mengindikasikan proses adsorpsi-desorpsi berjalan seimbang. Sebaliknya pada karbon aktif nilai R_L cenderung mendekati 0 dan nilai b besar, hal ini mengindikasikan proses adsorpsinya mudah terjadi, tetapi adsorbat cenderung sukar didesorpsi.

Tabel 4 Perbandingan parameter isotermal adsorpsi Langmuir dan Freundlich Au-sianida oleh serpih kitosan-GA 4%

Adsorben	Adsorbat	Suhu (°C)	Langmuir				Freundlich			Referensi
			q _e	b (1/mg)	R ²	R _L	K _f	1/n	R ²	
KG	[Au(CN)₄]⁻	30	6.172	0.1142	0.964	0.466	1.0477	0.422	0.968	
AT	[Au(CN) ₂] ⁻	30	7.79	0.102	0.990	0.203	0.962	0.555	0.995	Aworn <i>et al</i> 2005
KAA	[Au(CN) ₂] ⁻	25	6.028	0.180	0.879	0.217	1.254	0.451	0.981	Soleimani <i>et al</i> 2008
KAK	[Au(CN) ₂] ⁻	30	60.95	0.307	0.990	0.078	14.455	0.412	0.983	Aworn <i>et al</i> 2005

3.4. Kinetika Adsorpsi [Au(CN)₄]⁻

3.4.1. Pengaruh Konsentrasi

Kinetika adsorpsi menjelaskan kecepatan pengambilan zat terlarut oleh adsorben selama kontak waktu reaksi penyerapan. Parameter ini penting untuk menentukan efisiensi proses penyerapan. Kinetika adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh kitosan-GA 4% pada konsentrasi awal 10-50 mg/g dan pH 2 menunjukkan sekitar 90% kesetimbangan kapasitas adsorpsi tercapai setelah 30 menit (cepat) dan kesetimbangan lengkap (kejenuhan adsorpsi) tercapai setelah 60-120 menit (lambat). Untuk mengevaluasi mekanisme kinetika yang mengendalikan proses adsorpsi, model kinetika orde satu semu dan orde dua semu diujikan untuk menginterpretasikan data percobaan. Parameter kinetika yang diperoleh dari penelitian ini disajikan pada Tabel 5. Koefisien korelasi orde dua semu lebih besar daripada orde satu semu. Juga besarnya nilai q_e hitung (teoritis) model orde dua semu lebih dekat dengan nilai q_e percobaan. Sehingga pada penelitian ini mekanisme adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% dikendalikan oleh model kinetika orde dua semu.

3.4.2. Pengaruh Temperatur

Kapasitas adsorpsi menurun dengan meningkatnya temperatur, hal ini mengindikasikan bahwa proses adsorpsi berlangsung eksotermis di lingkungan. Analisis kinetika orde dua semu digunakan untuk menginterpretasikan data kinetika adsorpsi yang dipengaruhi oleh suhu dan hasilnya disajikan pada Tabel 6.

Tabel 5 Perbandingan konstanta kecepatan orde satu dan orde dua serta nilai qe hasil perhitungan dan percobaan

[Au] _o	qe (mg/g) percobaan	kinetika orde satu semu			kinetika orde dua semu		
		k ₁ (menit ⁻¹)	qe (mg/g) (hitung)	R ²	k ₂ (g/mgmenit)	qe (hitung)(mg/g)	R ²
10	0.5559	0.0142	0.1045	0.9	0.2938	0.5701	0.998
20	1.0877	0.0314	0.3581	0.737	0.1005	1.1581	0.996
30	1.5969	0.0208	0.2876	0.483	0.1354	1.6300	0.997
40	2.0945	0.0130	0.2745	0.472	0.0978	2.1427	0.998
50	2.5212	0.0123	0.3289	0.501	0.0912	2.5536	0.998

Keterangan:[Au]_o =konsentrasi ion Au awal; qe = kapasitas adsorpsi Au dalam kesetimbangan; k₁=konstanta reaksi orde 1; k₂=konstanta reaksi orde 2

Tabel 6 Parameter kinetika adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% pada konsentrasi awal 10 mg/L dan variasi suhu

°C	qe percobaan (mg/g)	k ₂ (g/mgmenit)	qe hitung (mg/g)	R ²
30	0.5559	0.3091	0.5701	0.998
40	0.5491	-0.2296	0.4625	0.997
50	0.5431	-0.1584	0.4444	0.993
60	0.5397	-0.1788	0.4581	0.989

Kenaikan temperatur menyebabkan menurunnya kapasitas adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ dalam serpih kitosan-GA atau meningkatnya jumlah [Au(CN)₄]⁻ dalam larutan (proses desorpsi terjadi), pada penelitian ini besar nilai E_a ditentukan oleh model kinetika orde dua semu berdasarkan persamaan Arrhenius dan diperoleh nilai sebesar -17.095 KJ/mol (tanda (-) menunjukkan proses desorpsi) pada kesetimbangan nilai E_a adsorpsi sama dengan desorpsi. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% adalah adsorpsi fisik. Proses adsorpsi fisik tersebut diperkuat dengan parameter termodinamika yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7 menunjukkan bahwa proses adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh serpih kitosan-GA 4% memberikan nilai ΔG^o negatif, yang mengindikasikan bahwa adsorpsi terjadi secara spontan di lingkungan. Pada suhu meningkat, kespontanan adsorpsi menurun (proses desorpsi terjadi), ditunjukkan dengan ΔG^o yang meningkat, yang mengindikasikan energi yang menggerakkan proses adsorpsi (*driving force*) rendah (adsorpsi fisika). Nilai negatif dari ΔG^o, ΔH dan ΔS pada proses adsorpsi Au-sianida oleh serpih kitosan-GA 4% spontan pada suhu rendah dan tidak spontan pada suhu tinggi, eksotermis di lingkungan dan menurunkan ketidakteraturan pada antar muka adsorben dan adsorbat selama proses adsorpsi. Sedangkan pada karbon aktif proses adsorpsi Au-sianida terjadi secara spontan, eksotermis di lingkungan, adsorpsi fisik, tetapi kespontanan adsorpsi terjadi pada semua nilai suhu.

Tabel 7 Perbandingan parameter termodinamika adsorpsi [Au(CN)₄]⁻ oleh kitosan-GA, abu terbang dan karbon aktif

Adsorben	Suhu	Parameter termodinamika			Ref
	T(°C)	ΔG°(Kj/mol)	ΔH° Kj/mol)	ΔS(J/molK	
Kitosan-GA 4%	30	-9.0071			
	40	-8.3439			
	50	-7.9340	-22.6344	-45.3	
	60	-7.6507			
Abu terbang	20	-11.50		10.32	
	30	-11.643	-8.48	10.43	Aworn <i>et al</i> 2005
	40	-11.77		10.53	
	60	-11.91		10.53	
Karbon aktif biji alpukat	25	0.048		-0.288	
	40	0.090	-85.714	-0.274	Soleimani <i>et al</i> 2008
	60	0.134		-0.257	
Karbon aktif tempurung kelapa	20	-14.02		24.11	
	30	-14.42	-6.96	24.64	Aworn <i>et al</i> 2005
	40	-14.46		23.98	
	60	-15.05		24.30	

3.5. Desorpsi [Au(CN)₄]⁻

Proses adsorpsi yang berguna atau menguntungkan adalah jika adsorbat mudah dilepaskan kembali dan adsorben dapat digunakan ulang. Tabel 8 menunjukkan perbandingan metode perolehan Au, penggunaan teknologi dan pelarut. Perolehan Au dari serpih kitosan-GA 4% menunjukkan keunggulan dibandingkan dengan karbon aktif yaitu perolehannya tinggi, waktu elusi cepat dan efisiensi penggunaan pelarut dan energi.

Tabel 8 Perbandingan metode desorpsi Au dari serpih kitosan-GA 4% dengan karbon aktif

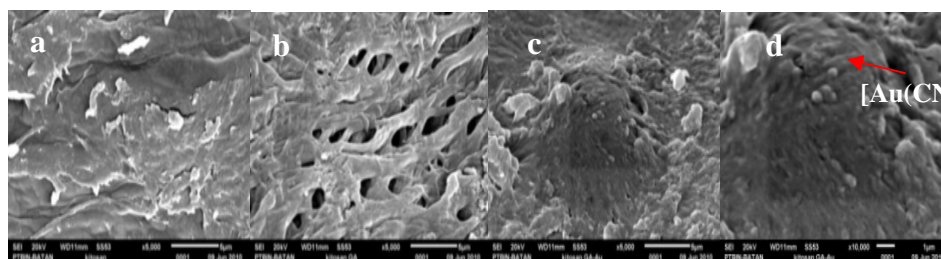
Adsorben	Larutan Pengelusi	Suhu(°C)	Waktu desorpsi	% desorpsi	Metode
Kitosan-GA	NaCN 1%	30	90 menit	100	
Karbon aktif	NaCN 0.2% NaOH 1% P= 1 atm	95-100	72 jam	35-70	Zadra
	NaCN 0.2% NaOH 1% P>1 atm	140	10-12 jam	75	Modifikasi Zadra
	NaCN 5% NaOH 1%	100-120	8-12 jam	<80	AARL
	NaOH 1M Pelarut organik	30	2.5 jam	51-90%	Soleimani <i>et al</i> 2008

Keterangan: AARL (*The Anglo American Research Laboratory*)

3.6. Karakterisasi

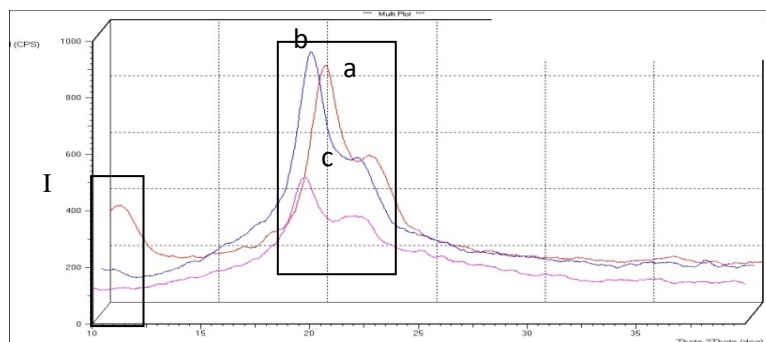
Perubahan morfologi yang signifikan terjadi setelah kitosan direaksikan dengan glutaraldehida dan diinteraksikan dengan [Au(CN)₄]⁻. Hasil SEM menunjukkan serpih

kitosan-GA 4% memiliki permukaan halus dengan kerutan atau lipatan mikrostruktur pada permukaannya, sedangkan serpih kitosan-GA memperlihatkan struktur permukaan yang sangat berbeda, permukaannya menjadi berpori-pori tidak seragam (heterogen) yang terbentuk akibat tautan silang kitosan dengan glutaraldehida. Mikrostruktur kitosan-GA berubah dengan dratis setelah diinteraksikan dengan $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ pada pH 2 (Gambar 1). Pengamatan SEM memberikan fakta bahwa ion kompleks Au telah teradsorpsi ke dalam kitosan-GA, ion kompleks Au nampak tidak saja menutupi pori-pori, tetapi juga terdistribusi acak di permukaan adsorben yang heterogen.



Gambar 1 SEM pembesaran: serpih kitosan tanpa perlakuan 5000x (a); serpih kitosan-GA 4% 5000x (b); serpih kitosan-GA 4%-Au 5000x (c) dan serpih kitosan-GA 4% -Au pembesaran 10000x (d)

XRD digunakan untuk menganalisis kristalinitas kitosan sebelum dan sesudah perlakuan dan membantu mengidentifikasi kerusakan struktur kitosan setelah diperlakukan pada suasana asam (pH 2). Puncak XRD pada sudut 2θ : 10.76° menunjukkan kitosan selalu mengikat air (5%). Penggabungan molekul air dalam kisi kristal akan membentuk kristal terhidrat membentuk struktur polimorf. Sedangkan pada puncak $20.1-21.95^\circ$ mengindikasikan kisi kristal yang relatif teratur (Gambar 2) (Wan *et al* 2006 dalam Souza *et al* 2010). Interaksi serpih kitosan-GA 4% dengan larutan $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ pada pH 2 menghasilkan penurunan kristalinitas mencapai 46.15%, hal ini terlihat dari intensitas puncak difraktogram lebih rendah. Perubahan kristalinitas serpih kitosan-GA 4% dikarenakan ikatan imina yang terbentuk antara gugus amina rantai kitosan dengan gugus karbonil glutaraldehida tidak terlalu kuat dan teradsorpsinya $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ ke dalam struktur serpih kitosan-GA 4% menyebabkan penurunan energi ikatan rantai-rantai kitosan sehingga dapat diputuskan oleh kehadiran asam.



Gambar 2 Difraktogram XRD kitosan tanpa perlakuan (-) (a); kitosan-GA (-) (b) dan kitosan-GA-Au (-) (c)

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Serpih kitosan-GA 4% mempunyai persen adsorpsi terhadap $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ mencapai > 96% dan sebanding dengan persen adsorpsi karbon aktif. Kondisi optimum adsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ tercapai pada pH 2, bobot kitosan 0.0875 g dan waktu kontak 90-120 menit, cukup efisien jika dibandingkan dengan karbon aktif. Proses adsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$ oleh serpih kitosan-GA 4% mengikuti model isotermal Freundlich dan cenderung mengikuti kinetika reaksi orde dua semu dan adsorpsi terjadi secara fisik (interaksi ionik), spontan di lingkungan dan eksotermis. Perolehan Au (desorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_4]^-$) lebih tinggi dibandingkan dengan karbon aktif mencapai 100% Au, tanpa membutuhkan suhu tinggi, jumlah pelarut yang banyak dan waktu yang relatif singkat yaitu 90 menit.

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pemakaian ulang (percobaan siklus adsorpsi-desorpsi) kitosan-GA dalam mengadsorpsi $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ untuk melihat umur pakainya. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penggunaan kitosan-GA dengan derajat deasetilasi lebih tinggi untuk melihat efisiensi bobot adsorben sehingga kapasitas adsorpsi maksimumnya meningkat atau sebanding dengan karbon aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakker E, Voncken J, Rem P. 2004. Reducing Gold Loss in Carbon-In-Leach Process. Delft University of Technology. Nederland.
- Deschenes G. 2005. Advance in The Cyanide of Gold. *Development in Mineral Processing* 15: 479-497.
- Fujiwara K *et al.* 2007. Adsorption of platinum (IV), palladium (II) and gold (III) from aqueous solution onto L- Lysin modified crosslinked chitosan resin. *Journal of hazardous material* 146: 39-50.

- Garcia A *et al.* 1997. Metal cyanide control in hydrometallurgical processing of gold ore by multivariate calibration procedures. *Analitica chemical acta* 353: 123-131.
- Aworn A *et al.* 2005. Recovery of Gold From Gold Slag by Wood Shaving Fly Ash. *Journal of Colloidal and Interface Science* 287: 394-400.
- Lima L.R. P. 2007. Dynamic Simulation of The Carbon-In-Pulp and Carbon-In Leach Processes. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 24:623-635.
- Peirano F, Flores A, Jaime, Ruiodrigues A, Borja A, Neptalie, Ly Martha, Maldonado Holger. 2003. Adsorption of gold (III) ions by kitosan biopolymer. *Rev. Soc. Quinn.* 69:211-221.
- Soleimani Mansoreh, Taherah Kaghazchi. 2007. The Investigation of The Potential of Activated Hard Shell of Apricot Stones as Gold Adsorbents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 14: 28-37.

SINTESIS DAN KARAKTERISASI GLUKOSAMINA HIDROKLORIDA BERBASIS KITOSAN

(Synthesis and Characterization of Glucosamine Hydrochloride Base on Chitosan)

Wulandari Kencana Wardani¹, Purwantiningsih Sugita¹ dan Bambang Srijanto²

¹ Department of Chemistry, Bogor Agricultural University,

² Agency Assessment and Application of Technology, Jakarta

Email: atiek_ps@yahoo.com

Abstract

Glucosamine hydrochloride salt is one of the amino sugars that has therapeutic properties such as anticancer, antimicrobial, and as raw material for arthritis drug. Objective of this study is to synthesize glucosamine hydrochloride in optimum condition and to characterize the product. Glucosamine hydrochloride was synthesized by reacting chitosan with 4 N HCl at 90 °C for 2 hours. The product was tested for its melting point, thin layer chromatogram (TLC), functional group analysis by Fourier transformed infrared (FTIR), crystal analysis by X-ray diffraction (XRD), and the crystal surface analysis by scanning electron microscopy (SEM). The yield was 88% in the form of white crystal with high levels of 112.8% and purity of 86.7%. The melting point was 188-190 °C. FTIR results show absorption bands of glucosamine hydrochloride. XRD results showed that crystals has low crystallinity and SEM images showed that the surface morphology was rather rough and porous. Based on these results the synthesized glucosamine hydrochloride was not pure and less crystallinity.

Keywords: chitosan, glucosamine hydrochloride

1. PENDAHULUAN

Kitosan adalah polisakarida alami yang tidak toksik dan mudah terbiodegradasi. Kitosan diperoleh dengan deasetilasi molekul kitin dalam suasana basa. Hidrolisis kitosan pada ikatan glikosida dengan bantuan asam dapat menghasilkan oligosakarida yang tersusun atas β -1,4-*N*-asetil-D-glukosamina (GlcNAc) dan glukosamina (GlcN) (Chang *et al.* 2000) dalam jumlah yang beragam (Cabrera & Cutsem 2005). Oligosakarida yang diperoleh diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antitumor, peningkat daya tahan tubuh, antimikrob, dan banyak digunakan sebagai obat osteoarthritis (Kumar *et al.* 2005) yang biasa dikombinasikan dengan kondroitin (Tjay & Rahardja 2007). Struktur kitosan dan glukosamina hidroklorida ditampilkan pada Gambar 1.

Salah satu penelitian yang berkaitan dengan sintesis glukosamina dilakukan oleh Wijaya (2010). Wijaya (2010) melakukan optimalisasi kondisi sintesis glukosamina hidroklorida berbasis kitosan dengan ragam konsentrasi HCl serta waktu dan suhu

sintesis. Hasil optimalisasi menunjukkan bahwa HCl 4 N pada suhu 90 °C dalam selang waktu 117–158 menit. Kadar glukosamina hidroklorida yang diperoleh Wijaya (2010) sebesar 75,10–99,37%. Selain menggunakan bahan baku kitosan, glukosamina hidroklorida juga dapat disintesis dengan bahan baku kitin (Berry *et al.* 2002). Kadar yang diperoleh sebesar ≤50%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hidrolisis dengan bahan baku kitosan lebih efektif dibandingkan dengan kitin. Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus asetamida pada kitin lebih melimpah dibandingkan dengan kitosan. Selain itu, keberadaan gugus amino (-NH₂) dan hidroksil (-OH) pada kitosan meningkatkan reaktivitasnya (Masduki 2005).

Hasil sintesis glukosamina hidroklorida yang diperoleh ditentukan kadar dan kemurniannya. Penentuan kadar yang dilakukan Wijaya (2010) adalah dengan titrasi potensiometri. Gandhi & Laidler (2002) juga menentukan kadar glukosamina hidroklorida dengan metode yang sama. Kelemahan metode ini adalah selain mengukur glukosamina hidroklorida, pengotor dan hasil samping reaksi yang bersifat asam juga terukur sehingga terjadi galat positif. Oleh karena itu, diperlukan metode yang lebih selektif dalam penentuan kadar glukosamina hidroklorida agar hasil yang diperoleh lebih tepat. Metode yang dapat digunakan, di antaranya ialah spektrofotometri UV-Vis (ultraviolet-tampak) (Gaonkar *et al.* 2006), HPTLC (kromatografi lapis tipis kinerja tinggi) (Sullivan & Sherma 2005), dan HPLC (kromatografi cair kinerja tinggi) (Zhu *et al.* 2005; Roncal *et al.* 2007). Penentuan kemurnian tidak dilakukan oleh Wijaya (2010). Penentuan kemurnian pada penelitian ini dilakukan dengan HPLC.

Selain penentuan kadar dan kemurnian glukosamina hidroklorida hasil sintesis, karakterisasi perlu dilakukan untuk memastikan bahwa padatan yang diperoleh adalah glukosamina hidroklorida. Wijaya (2010) telah melakukan karakterisasi terhadap glukosamina hidroklorida hasil sintesis dengan penentuan titik leleh, indeks bias, dan analisis gugus fungsi dengan spektrofotometer FTIR (inframerah transformasi Fourier). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa glukosamina hidroklorida memiliki titik leleh 184–191 °C, indeks bias sebesar 1,3324, dan hasil FTIR menunjukkan pita-pita yang berhubungan dengan gugus-gugus fungsi dalam senyawa glukosamina hidroklorida. Karakterisasi lebih lanjut dapat dilakukan dengan NMR (resonansi magnetik inti) (Brugnerotto *et al.* 2001; Kumirska *et al.* 2009), TLC (kromatografi lapis tipis) (Asamoah 2008), HPLC (Akmal 2005; Zhou *et al.* 2005), MALDI-TOF-MS (spektrometer massa-waktu terbang-ionisasi desorpsi laser berbantuan matriks) (Cabrera & Cutsem 2005), dan SEM (mikroskop elektron susunan) (Kumar *et al.* 2005).

Penelitian ini bertujuan melakukan sintesis glukosamina hidroklorida pada kondisi optimum Wijaya (2010) dan mengkarakterisasi hasil yang diperoleh lebih lanjut. Sintesis

pada kondisi optimum Wijaya (2010) diharapkan dapat menghasilkan glukosamina hidroklorida dengan kemurnian yang tinggi. Penentuan kadar dilakukan dengan titrasi potensiometri, kemurnian dengan HPLC, dan karakterisasi dilakukan dengan uji fisika (titik leleh), TLC, FTIR, XRD (difraksi sinar-X), dan SEM.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia FMIPA IPB dan Laboratorium Teknologi Farmasi dan Medika Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kitosan niaga dari Bratachem dengan kadar air, kadar abu, derajat deasetilasi dan bobot molekul berturut-turut 10,67%; 0,27%; 73,76%; dan $\pm 3,7 \times 10^5$ g/mol, GlcN-HCl standar yang diperoleh dari Shanghai AI-Amin Biotech, HCl 4 N, NaOH 0,1 N, asam oksalat 0,1 N, asam asetat 0,5 N, etanol 96%, dan air distilasi. Alat-alat yang digunakan, di antaranya oven, labu bulat dua leher, kondensor, *hot plate* model 4803-02, labu Erlenmeyer, buret, pemanas listrik untuk titik leleh MelTemp, FTIR Perkin Elmer spectrumOne, pelat silika gel Merck 60 GF₂₅₄, HPLC Perkin Elmer Series 200, sentrifuga Beckman J2-21, XRD Philips PW1710, dan SEM JEOL-JSM-6063 LA.

2.2. Sintesis Glukosamina Hidroklorida (modifikasi Wijaya 2010)

Sebanyak 2 g kitosan dilarutkan dalam 30 ml asam asetat 0,5 N dalam labu bulat dua leher dengan pengadukan. Sebanyak 100 ml HCl 4 N ditambahkan setelah kitosan larut sempurna. Larutan kitosan dipanaskan perlahan-lahan sampai suhu 90 °C. Pemanasan pada suhu (90±5) °C dilakukan selama 2 jam dengan pengadukan konstan. Arang aktif (>150 mesh) ditambahkan ke larutan setelah 1 jam hidrolisis. Setelah 2 jam, larutan disaring. Filtrat yang diperoleh didinginkan pada suhu kamar. Filtrat yang telah dingin disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dicuci dengan etanol 96% kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan di oven pada suhu 40 °C. Glukosamina hidroklorida sintetis dihitung rendemennya, ditentukan kadarnya dengan titrasi potensiometri, ditentukan kemurniannya dengan HPLC, dan dikarakterisasi dengan uji fisika (titik leleh), FTIR, TLC, XRD, dan SEM. Sistem HPLC untuk penetapan kemurnian glukosamina hidroklorida menggunakan kolom SUPELCOSIL LC-18 dengan fase gerak asetonitril-dapar fosfat pH 7,2 (3:2). Laju alir 1 ml/menit dengan volume penyuntikan 50 µl, suhu kolom 40°C, dan deteksi pada panjang gelombang 210 nm.

Konsentrasi glukosamina hidroklorida standar dan hasil sintesis yang digunakan sebesar 500 mg/ml.

2.3. Titrasi Potensiometri (modifikasi Gandhi & Laidler 2002)

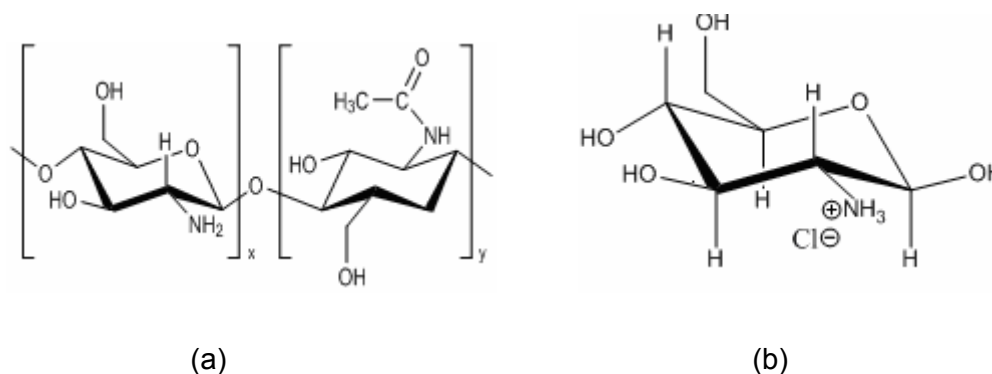
Sebanyak 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 g glukosamina hidroklorida standar dilarutkan dalam 100 ml air distilasi. Larutan glukosamina hidroklorida standar dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai pH $9\pm 0,2$. Kurva standar dibuat dengan menghubungkan bobot glukosamina hidroklorida (g) sebagai sumbu X dengan mmol NaOH yang digunakan sebagai sumbu Y.

Sebanyak 0,05 g glukosamina hidro-klorida sintesis dilarutkan dalam 100 ml air distilasi. Larutan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai pH $9\pm 0,2$. Nilai mmol NaOH yang diperoleh digunakan untuk mengetahui bobot glukosamina hidroklorida sebenarnya sehingga kadar glukosamina hidroklorida sintesis dapat diketahui.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Sintesis Glukosamina Hidroklorida

Sintesis glukosamina hidroklorida dilakukan dengan menghidrolisis kitosan dengan HCl 4 N pada suhu $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam dengan pengadukan konstan. Kitosan dilarutkan terlebih dahulu dengan asam asetat 0,5 N sebelum dihidrolisis dengan HCl 4 N karena kitosan tidak larut dalam HCl 4 N. Pelarutan dengan asam asetat juga bertujuan agar kontak antara kitosan dan HCl lebih besar daripada bila kitosan dihidrolisis dalam bentuk padatan. Penambahan arang aktif setelah 1 jam proses hidrolisis berfungsi untuk menghilangkan warna larutan. Apabila warna larutan tidak dihilangkan, glukosamina hidroklorida yang diperoleh berwarna cokelat kehitaman. Penyaringan dilakukan tepat setelah proses sintesis berlangsung (2 jam). Hal ini dilakukan untuk memisahkan arang aktif dari hidrolisat sebelum kristal glukosamina hidroklorida terbentuk. Proses penyaringan ini akan memengaruhi nilai rendemen yang diperoleh. Jika penyaringan dilakukan setelah kristal glukosamina hidroklorida terbentuk maka nilai rendemen akan lebih rendah dari yang seharusnya. Hal ini disebabkan oleh kristal glukosamina hidroklorida yang ikut tersaring.



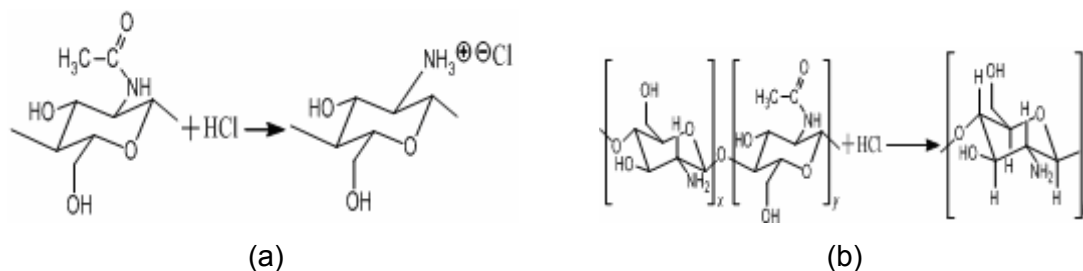
Gambar 1 Struktur kitosan ($x \geq 50\%$) (a) dan glukosamina hidroklorida (b).

Padatan glukosamina hidroklorida akan terbentuk setelah filtrat didinginkan. Proses kristalisasi dilakukan dengan penurunan suhu secara bertahap. Hal ini dilakukan agar diperoleh kristal yang sempurna, tunggal, dan murni. Padatan glukosamina hidroklorida kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan kristal glukosamina hidroklorida dari filtrat. Padatan glukosamina hidroklorida dicuci dengan etanol untuk menghilangkan sisa pereaksi dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C. Gambar 2 menunjukkan padatan glukosamina hidroklorida berwarna putih. Rendemen glukosamina hidroklorida yang dihasilkan sebesar 87,93%. Rendemen yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan yang diperoleh Gandhi & Laidler (2002), yakni sebesar 67,5–70,43%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup baik untuk menghidrolisis kitosan menjadi glukosamina hidroklorida.



Gambar 2 Hasil sintesis glukosamina hidroklorida.

Proses hidrolisis kitosan untuk memperoleh glukosamina hidroklorida terjadi pada dua bagian, yaitu gugus asetamida dan ikatan glikosida (Gambar 3). Hidrolisis berlangsung pada gugus asetamida terlebih dahulu kemudian dilanjutkan pada ikatan glikosida. Hal ini disebabkan ikatan glikosida (gugus fungsi eter) yang lebih lambat dibandingkan gugus asetamida. Reaksi hidrolisis ditunjukkan sebagai berikut.



Gambar 3 Reaksi hidrolisis gugus asetamida (a) dan ikatan glikosida (b)

3.2. Titrasi Potensiometri

Titration potentiometry is performed to determine the concentration of glucosamine hydrochloride in the synthesis product. The concentration is determined using an external standard. The linear regression equation obtained is $3,341x + 0,010$ with a value of r^2 of 0,996. The concentration of glucosamine hydrochloride in the synthesis product is 112,75%. The concentration is higher than that obtained by Wijaya (2010) of 75,10–99,37% and Gandhi & Laidler (2002) of 95,31–104%.

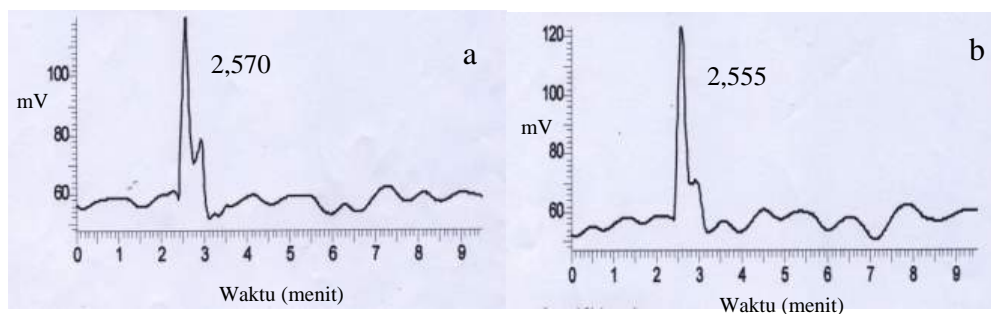
This is caused by the difference in crystallization techniques. Wijaya (2010) and Gandhi & Laidler (2002) performed crystallization with the addition of ethanol, while in this research it was done with a gradual decrease in temperature. The presence of HCl or acetic acid that remains in the synthesis product is also a cause of its high concentration of glucosamine hydrochloride. Therefore, the washing process must be repeated several times to eliminate the remaining acid.

3.3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Purity determination using HPLC is performed using the partition chromatography technique, where the stationary phase is non-polar and the mobile phase is polar. In normal phase chromatography, non-polar components elute first, while more polar components are retained longer in the column. The flow rate of the mobile phase is isocratic, meaning the volume ratio of the mobile phase remains constant during the separation process. The results show that the standard glucosamine hydrochloride (Figure 4a) has a retention time of 2,570 minutes, while the synthesized glucosamine hydrochloride (Figure 4b) has a retention time of 2,555 minutes. This similarity in retention time indicates that the same compound is present in both the synthesized product and the standard.

Purity can be calculated by comparing the area of the synthesized product with the area of the standard (Table 1). The purity obtained is 86,70%. This indicates that the synthesized glucosamine hydrochloride still contains HCl and acetic acid. This is in accordance with the concentration determination of glucosamine hydrochloride.

dengan titrasi potensiometri. Selain dengan pencucian hasil sintesis dengan etanol, kemurnian dapat ditingkatkan dengan teknik rekristalisasi. Prinsip rekristalisasi adalah melarutkan zat terlarut dalam pelarut yang cocok pada suhu tinggi (pada atau dekat titik didih pelarutnya) untuk mendapatkan larutan tepat jenuh atau hampir jenuh. Ketika larutan perlahan didinginkan, kristal akan terbentuk karena kelarutan padatan biasanya menurun bila suhu diturunkan. Pengotor diharapkan tidak ikut mengkristal karena konsentrasinya dalam larutan sangat rendah.



Gambar 4 Kromatogram cair kinerja tinggi hasil sintesis (a) dan standar (b). Kolom: SUPELCOSIL LC-18 (25 cm × 4,6 mm × 5 µm), fase gerak asetonitril-dapar fosfat pH 7.2 (3:2), laju alir 1 ml/menit, volume penyuntikan 50µl, dan deteksi dengan detektor UV pada panjang gelombang 210 nm.

Tabel 1 Waktu retensi glukosamina hidroklorida standar dan hasil sintesis

Glukosamina hidroklorida	Standar	Hasil sintesis
Waktu retensi (menit)	2,570	2,555
Luas area	964029,46	835813,96

3.4. Sifat Fisik (Titik Leleh)

Hasil pengujian titik leleh dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan data pada Tabel 2, hasil sintesis yang diperoleh lebih baik dibandingkan dengan hasil sintesis Wijaya (2010). Titik leleh yang diperoleh oleh Wijaya (2010) ialah 184–191 °C, sedangkan titik leleh hasil sintesis 188–190 °C. Rentang titik leleh yang diperoleh Wijaya (2010) cukup besar. Hal ini menunjukkan bahwa glukosamina hidroklorida yang dihasilkan Wijaya (2010) masih mengandung banyak campuran oligomer. Rentang titik leleh glukosamina hidroklorida hasil sintesis yang diperoleh cukup kecil. Hal ini menunjukkan bahwa terkandung sedikit campuran oligomer. Titik leleh glukosamina hidroklorida hasil sintesis juga hampir mirip dengan standar (185–189 °C). Hal ini menunjukkan bahwa prosedur sintesis yang digunakan dapat menghasilkan glukosamina hidroklorida dengan baik.

Tabel 2 Perbandingan karakterisasi glukosamina hidroklorida sintesis dan standar

Sifat Fisik	Sintesis	Standar	Wijaya (2010)
Titik leleh (dekomposisi)	188-190°C	185-189°C	184-191°C

3.5. Karakterisasi Glukosamina Hidroklorida

3.5.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kualitatif dengan KLT dilakukan dengan membandingkan faktor retardasi (R_f) glukosamina hidroklorida sintesis dengan standar. Kromatogram lapis tipis glukosamina hidroklorida menunjukkan nilai R_f senyawa 1 standar sebesar 0,9024 dan hasil sintesis sebesar 0,8902. Nilai R_f yang diperoleh tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pada glukosamina hidroklorida hasil sintesis terdapat senyawa yang sama dengan standar. Nilai R_f senyawa 2 standar menunjukkan adanya glukosamina hidroklorida dalam bentuk oligomer yang memiliki R_f 0,3415, sedangkan glukosamina hidroklorida sintetik tidak menunjukkan adanya senyawa 2. Berdasarkan nilai R_f dan kepolaran larutan pengembang, senyawa 1 memiliki kepolaran lebih besar dari senyawa 2 karena lebih mudah terelusi dibandingkan senyawa 2.

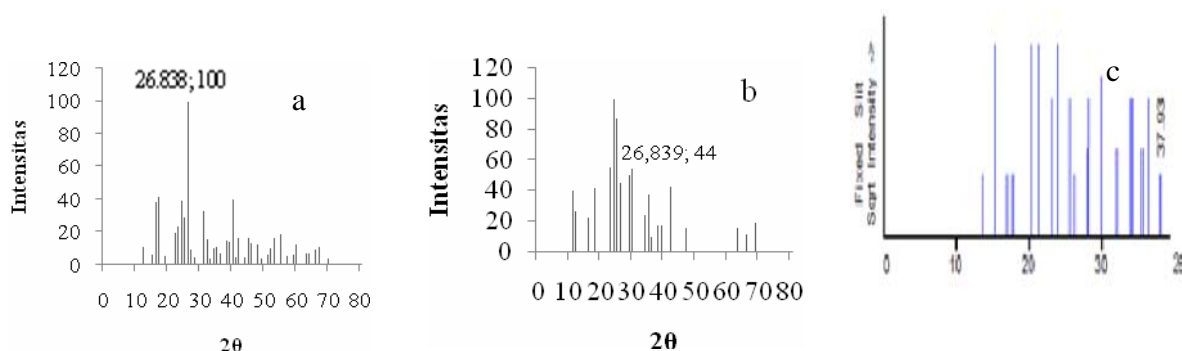
3.5.2. Inframerah Transformasi Fourier

Spektrum FTIR glukosamina hidroklorida sintetik memperlihatkan pita serapan pada 3400 cm^{-1} . Pita ini merupakan pita serapan ulur O-H yang lebih dominan dibandingkan dengan ulur N-H. Keberadaan ikatan N-H ditandai dengan pita pada 1625 dan 1518 cm^{-1} yang merupakan pita khas dari tekuk N-H. Monomer glukosamina hidroklorida akan menunjukkan pita pada 3350 cm^{-1} sedangkan bila berbentuk polimer, pita akan semakin mendekati 3450 cm^{-1} . Selain pita pada 3350 cm^{-1} , monomer glukosamina hidroklorida juga ditunjukkan dengan adanya pita pada 1420 cm^{-1} (Brugnerotto 2001). Spektrum FTIR glukosamina hidroklorida sintetik menunjukkan adanya pita pada 1416 cm^{-1} sedangkan standar pada 1421 cm^{-1} . Hal ini menunjukkan bahwa pada glukosamina hidroklorida hasil sintesis terkandung monomer glukosamina hidroklorida. Pita serapan asimetris tekuk N-H ditunjukkan pada 1625 cm^{-1} sedangkan pita serapan simetris tekuk N-H ditunjukkan pada 1518 cm^{-1} . Pita serapan ulur C-N ditunjukkan pada 1384 cm^{-1} (Silverstein *et al.* 2005). Pita serapan ulur CH_2 ditunjukkan pada 2893 cm^{-1} dan 2944 cm^{-1} sedangkan 643 cm^{-1} menunjukkan tekuk CH_2 . Pita pada 1091 cm^{-1} menunjukkan pita serapan ikatan glikosida. Pita serapan ikatan glikosida yang ditunjukkan pada glukosamina hidroklorida standar dan hasil sintesis hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan ikatan glikosida pada standar dan hasil sintesis sama.

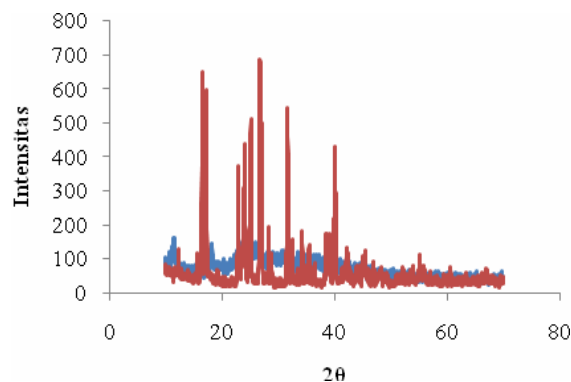
Hal ini sesuai dengan hasil analisis dengan KLT yang menunjukkan adanya oligomer dalam kristal glukosamina hidroklorida standar maupun hasil sintesis. Keberadaan ikatan glikosida ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis tidak dapat memutuskan ikatan glikosida secara menyeluruh. Hal ini disebabkan oleh sifat ikatan glikosida (gugus fungsi eter) yang lembam.

3.5.3. X-Ray Diffraction

Bentuk kristal glukosamina hidroklorida diamati dengan menggunakan pola XRD. Difraktogram sinar-X dapat diamati pada Gambar 5a (standar), 5b (hasil sintesis), dan 5c (kitosan). Difraktogram sinar-X glukosamina hidroklorida hasil sintesis menunjukkan banyak perubahan nilai 2θ bila dibandingkan dengan kitosan walaupun masih terdapat beberapa 2θ yang menunjukkan keberadaan kitosan. Keberadaan kitosan pada glukosamina hidroklorida hasil sintesis juga merupakan salah satu pengotor yang menyebabkan kemurnian yang diperoleh hanya 86,70%. Nilai 2θ yang khas untuk glukosamina hidroklorida ditunjukkan pada 26,839 dengan intensitas 100% untuk standar dan 44% untuk hasil sintesis. Perbedaan intensitas pada hasil sintesis dan standar disebabkan oleh perbedaan tingkat kristalinitas. Nilai intensitas hasil sintesis yang rendah menunjukkan bahwa kristalinitas glukosamina hidroklorida hasil sintesis sangat rendah. Hal ini didukung oleh pola difraktogram pada Gambar 6. Pola difraksi glukosamina hidroklorida sintetik berbentuk landai, sedangkan standar menunjukkan puncak-puncak yang tajam. Ketidakteraturan kristal hasil sintesis dapat disebabkan oleh proses pembentukan kristal yang kurang baik (Domard & Cartier 1992). Hal ini juga didukung oleh foto SEM (Gambar 7).



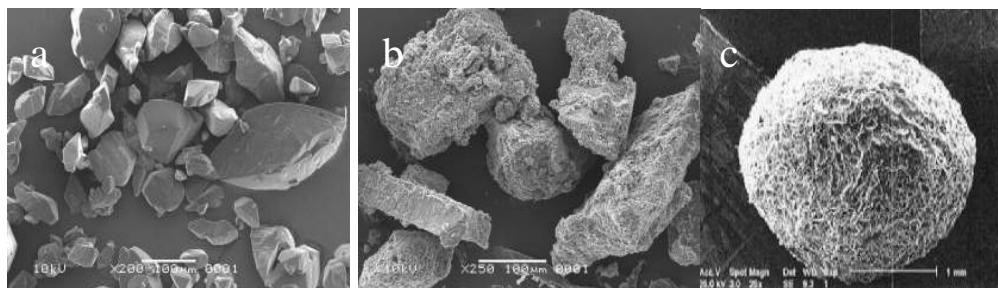
Gambar 5 Difraktogram sinar-X standar (a), hasil sintesis (b), kitosan (c).



Gambar 6 Pola difraksi sinar-X standar (—) dan hasil sintesis (—).

3.5.4. Mikroskop Elektron Susuran

Foto SEM standar (Gambar 7a) menunjukkan permukaan yang halus, sedangkan glukosamina hidroklorida hasil sintesis (Gambar 7b) menunjukkan permukaan yang kasar dan sedikit berpori. Morfologi permukaan glukosamina hidroklorida hasil sintesis masih menunjukkan kesamaan dengan permukaan kitosan (Gambar 7c), yaitu kasar dan berpori, tetapi pori pada permukaan glukosamina hidroklorida hasil sintesis telah berkurang. Perbedaan hasil yang diperoleh antara standar dan hasil sintesis dapat disebabkan oleh berbedanya mutu bahan baku, mutu pereaksi, dan kondisi reaksi.



Gambar 7 Foto SEM glukosamina hidroklorida standar (a), hasil sintesis (b), dan kitosan (c).

4. KESIMPULAN

Sintesis glukosamina hidroklorida dilakukan dengan menghidrolisis kitosan dengan HCl 4 N pada suhu 90 °C selama 120 menit. Hasil yang diperoleh berupa padatan putih dengan titik leleh 188–190 °C. Rendemen yang diperoleh sebesar 87,93% dengan kadar glukosamina hidroklorida 112,75% dan kemurnian sebesar 86,70% sehingga perlu dilakukan tahap pemurnian. Keberadaan glukosamina hidroklorida pada hasil sintesis didukung oleh hasil karakterisasi yang dilakukan dengan uji titik leleh, FTIR, TLC, SEM, dan XRD.

DAFTAR PUSTAKA

- Akmal. 2005. Pengembangan metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk penentuan kadar glukosamina bahan baku dan dalam sediaan [tesis]. Bandung: Fakultas Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
- Asamoah R. 2008. Determination of glucosamine in drug formulation [tesis]. Ghana: Fakultas farmasi dan obat-obatan, Universitas Ilmu dan Teknologi Kwame Nkrumah.
- Berry A, Burlingame RP, Millis JR, penemu; Patent Application Publication. 31 Okt 2002. Process for production of *N*-glucosamine. US patent 0160459 A1.
- Brugnerotto J *et al.* 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer* 42:3569-3580.
- Cabrera JC, Cutsem PV. 2005. Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. *Biochem Eng J* 25:165-172.
- Chang KLB, Lee J, Fu WR. 2000. HPLC analysis of *N*-acetyl-oligosaccharides during the acid hydrolysis of chitin. *J Food Drug Anal* 8:75-83.
- Domard A, Cartier N. 1992. Glucosamine oligomer: Solid state-crystallization and sustained dissolution. *Int J Biol Macromol* 14:100-106.
- Gandhi N, Laidler JK, penemu; United States Patent Document. 26 Nov 2002. Preparation of glucosamine hydrochloride. US patent 6486307.
- Gaonkar P *et al.* 2006. Spectrophotometric method for determination of glucosamine in tablets. *Indian J Pharm Sci* 68:83-84.
- Kumar ABV *et al.* 2005. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochem J* 391:167-175.
- Kumirska J *et al.* 2008. Determination of the pattern of acetylation of low-molecular-weight chitosan used in biomedical applications. *J Pharm Biomed Anal* 50:587-590.
- Masduki. 2005. Optimasi depolimerisasi kitosan [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Roncal T *et al.* 2007. High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. *Carbohydr Res* 342:2750-2756.
- Silverstein RM, Webster FX, dan Kiemle DJ. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Ed ke-7. United States: Wiley.
- Sullivan C, Sherma J. 2005. Development and validation of an HPTLC-densitometry method for assay of glucosamine of different forms in dietary supplement tablets and capsules. *Acta Chromatogr* 15:119-130.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed. ke-6. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wijaya DE. 2010. Optimalisasi sintesis glukosamina hidroklorida [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Zhu X *et al.* 2005. Determination of glucosamine in impure chitin samples by high-performance liquid chromatography. *Carbohydr Res* 340:1732-1738.

KAJIAN PENGGUNAAN ASAM OLEAT DAN TEKNIK HIDROTERMAL PADA SINTESIS NANOKRISTAL MAGNETIT

Setyoningsih¹, Akhiruddin M², Deden S¹

¹Departemen Kimia dan ²Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
akhiruddin@ipb.ac.id

Abstract

The study was to synthesize and characterize magnetite nanocrystal. Magnetite powder was synthesized using hydrothermal technique from FeSO₄ as precursor and sodium hydroxide as the base sources. Characterization of the obtained powder was carried out using X-ray diffraction and scanning electron microscope. XRD analysis showed that the magnetite nanocrystal has been formed. The crystallite size of magnetite by X-ray diffraction was obtained from 18.23 to 36.93 nm. The scanning electron microscope observation showed that magnetite particles underwent agglomeration.

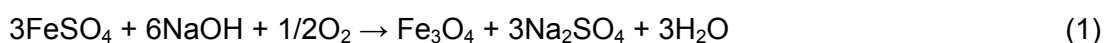
Kata kunci: nanokristal, magnetit, asam oleat, hidrotermal

1. PENDAHULUAN

Kristal magnetit merupakan material ferimagnetik yang digunakan dalam banyak aplikasi seperti perekam magnet, sistem pengangkutan obat-obatan (*drug delivery system*), katalis, ferrofluida, dan bioteknologi. Selain itu, menurut Kendelewicz *et al.* (1999), magnetit dapat digunakan sebagai penjerap Cr(VI) yang mereduksi Cr(VI) menjadi Cr(III). Atas dasar aplikasi tersebut maka sangatlah penting untuk mempertimbangkan ukuran kristal tersebut. Magnetit berorde nanometer dengan ukuran < 100 nm mulai banyak dikembangkan karena memiliki keunggulan sifat, seperti luas permukaannya yang makin besar.

Metode yang sudah dikembangkan dalam sintesis magnetit berukuran nanometer di antaranya reaksi oksidasi-reduksi besi hidroksida, penyinaran mikrogelombang besi hidroksida, teknik mikro emulsi, metode sol gel, kopresipitasi, dan teknik pemanasan hidrotermal. Menurut Byrappa & Adschiri (2007), pemanasan hidrotermal banyak digunakan karena mampu menghasilkan partikel murni dan homogen yang sangat tinggi. Liang *et al.* (2006) mensintesis magnetit dari prekursor FeSO₄ dengan menambahkan sejumlah NaOH. Pada penambahan 1 g NaOH terbentuk magnetit.

Penelitian ini mensintesis magnetit secara hidrotermal dengan FeSO₄ sebagai prekursor, NaOH sebagai sumber basa, dan asam oleat sebagai surfaktan. Reaksi pembentukan magnetit sebagai berikut:



Serbuk kristal yang terbentuk dicirikan dengan alat difraksi sinar-X (XRD) untuk penentuan ukuran kristal dan fasa kristal yang terbentuk, dan mikroskop elektron payaran (SEM) untuk pengamatan morfologi partikel. Adanya penambahan asam oleat dan penggunaan teknik hidrotermal diharapkan ukuran kristal magnetit didapatkan lebih kecil.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah reaktor bertekanan, XRD Shimadzu Philips, SEM Bruker, dan spektrofotometer UV-Vis 1700 PharmaSpec. Bahan yang digunakan adalah garam $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaOH, asam oleat, dan etanol.



Gambar 1. Reaktor bertekanan

2.2. Sintesis Nanokristal Fe_3O_4 (Magnetit)

Sintesis magnetit dibuat dengan 4 variasi. Sebanyak 0,556 g garam $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam air sampai volumenya 50 ml (larutan A) dan disiapkan larutan B dengan komposisi seperti pada Tabel 1. Selanjutnya, masing-masing larutan B dimasukkan ke dalam larutan A, kemudian direaksikan pada suhu sintesis masing-masing dengan pengadukan 500 rpm selama 10 jam. Produk yang dihasilkan didinginkan pada suhu kamar. Hasil yang berupa endapan langsung disaring, sedangkan hasil yang berupa koloid ditambahkan 50 mL etanol sampai didapatkan endapan halus, kemudian dipisahkan endapannya dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Endapan yang diperoleh dicuci dan dikeringkan.

Tabel 1 Komposisi larutan B dan suhu sintesis

Komposisi Larutan B	Suhu Sintesis ($^{\circ}\text{C}$)	Kode Sampel
NaOH 1 g + etanol 10 ml + air sampai 50 ml	29	A
NaOH 1 g + asam oleat 2,5 ml + etanol 10 ml + air sampai 50 ml	29	B
NaOH 1 g + etanol 10 ml + air sampai 50 ml	180	C
NaOH 1 g + asam oleat 2,5 ml + etanol 10 ml + air sampai 50 ml	180	D

2.3. Pencirian XRD

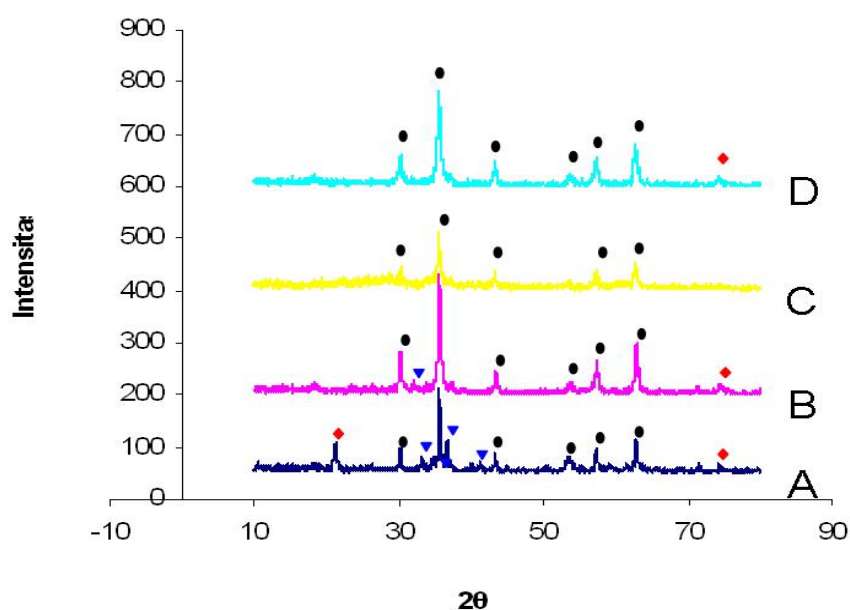
Pencirian XRD dilakukan untuk mengetahui fasa yang terdapat dalam sampel dan untuk menentukan ukuran kristal. Sekitar 200 mg sampel dicetak langsung pada aluminium berdiameter 2 cm. Sampel dikarakterisasi menggunakan alat XRD dengan lampu radiasi Cu.

2.4. Pencirian SEM

Pencirian dengan SEM dilakukan untuk mengetahui morfologi sampel. Sampel diletakkan pada plat aluminium yang memiliki dua sisi kemudian dilapisi dengan lapisan emas setebal 48 nm. Sampel yang telah dilapisi diamati menggunakan SEM dengan tegangan 22 kV dan perbesaran tertentu

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambahan asam oleat dilakukan pada sintesis sampel magnetit. Dengan penambahan asam oleat, dihasilkan produk berupa koloid pada sampel B dan D, karena terbentuk surfaktan natrium oleat. Molekul surfaktan akan menempel pada permukaan partikel dan melindungi permukaan tersebut dari pertambahan atom prekursor yang belum bereaksi. Produk yang berupa koloid dipisahkan endapannya dengan penambahan etanol. Setelah produk ditambahkan etanol dan didiamkan, endapan akan terpisah. Hal ini dikarenakan interaksi antara surfaktan garam oleat dan partikel magnetit diganggu oleh etanol sehingga magnetit ataupun goetit mengendap. Pada sampel A dan C, magnetit yang terbentuk langsung mengendap, karena tidak ada penambahan asam oleat sehingga tidak terbentuk koloid.



Gambar 2 Pola difraksi sampel (A) Magnetit NaOH suhu 29 °C, (B) Magnetit NaOH oleat suhu 29 °C, (C) Magnetit NaOH suhu 180 °C, dan (D) Magnetit NaOH oleat suhu 180 °C. (♦)Fe₃O₄, (▼) Fe₂O₃·H₂O, (●) FeSO₄.

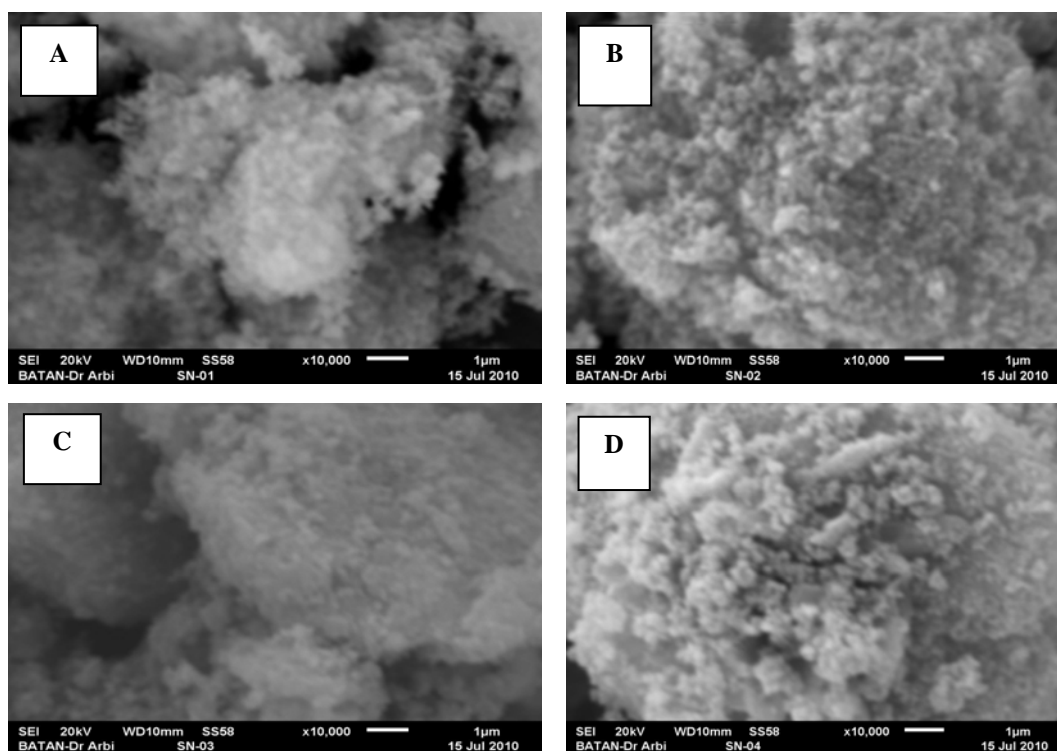
Berdasarkan pola difraksi pada Gambar 2, magnetit murni muncul pada sampel C karena NaOH yang ditambahkan hanya bereaksi dengan prekursor FeSO_4 . Pola difraksi sampel B dan D memperlihatkan adanya puncak magnetit (30,24; 35,56; 43,16; 53,48; 57,18; dan 62,88°), namun terbentuk pula goetit (74,24°). Munculnya puncak goetit pada sampel B dan D dikarenakan basa yang digunakan tidak hanya bereaksi dengan prekursor FeSO_4 , tetapi juga dengan asam oleat untuk membentuk surfaktan.

Tabel 2 Ukuran kristal magnetit

Sampel	Ukuran (nm)
A	67,34
B	43,42
C	59,00
D	36,93

Ukuran kristal magnetit dihitung dari persamaan Debye-Scherrer berdasarkan data FWHM (*full width at half maximum*) (Cullity & Stock 2001). Berdasarkan pola difraksi sampel C dan D, adanya penambahan asam oleat pada sampel D akan menghasilkan ukuran kristal lebih kecil dibandingkan dengan sampel C. Hasil perhitungan ukuran kristal magnetit diperlihatkan pada Tabel 2. Ukuran kristal magnetit yang diperoleh lebih kecil dari 100 nm maka dapat dikatakan sampel magnetit yang diperoleh adalah nanokristal. Namun, sampel tersebut belum tentu nanopartikel karena kristal yang terbentuk belum diketahui termasuk monokristal atau polikristal. Surfaktan yang dihasilkan dari asam oleat dan basa berperan melindungi permukaan partikel dari prekursor lain sehingga mencegah terjadinya pertumbuhan kristal (Yin *et al.* 2004). Menurut Cullity & Stock (2001), partikel dapat tersusun dari banyak kristal maupun kristal tunggal.

Fungsi lain penambahan asam oleat adalah sebagai pencegah terjadinya aglomerasi antarpartikel. Morfologi sampel dapat dilihat dari hasil SEM. Hasil SEM pada Gambar 3 memperlihatkan perbedaan morfologi partikel. Foto SEM sampel dilihat dengan perbesaran 10000 kali. Pada foto sampel B dan D, partikel magnetit yang terbentuk terlihat sedikit lebih terpisah dibandingkan dengan sampel A dan C. Hal ini disebabkan oleh adanya surfaktan garam oleat yang melapisi partikel sampel B dan D. Surfaktan yang melapisi partikel di samping mencegah terjadinya pertumbuhan kristal, juga menghindari penggumpalan partikel membentuk aglomerasi yang lebih besar (Abdullah *et al.* 2008). Namun, penambahan asam oleat pada sintesis terlampau sedikit, sehingga partikel sampel B dan D masih agak teraglomerasi. Selain itu, menurut Zhao & Asuha (2010), aglomerasi dapat juga terjadi karena adanya interaksi magnetik antarpartikel magnetit.



Gambar 3 Morfologi SEM sampel (A) Magnetit NaOH suhu 29 °C, (B) Magnetit NaOH oleat suhu 29 °C, (C) Magnetit NaOH suhu 180 °C, (D) Magnetit NaOH oleat suhu 180 °C.

Sintesis magnetit dilakukan tanpa teknik hidrotermal (29 °C) dan dengan teknik hidrotermal pada suhu 180 dan 300 °C. Pada sintesis magnetit tanpa teknik hidrotermal dengan penambahan 1 g NaOH (sampel A) dapat dihasilkan kristal magnetit, tapi tidak optimal karena masih adanya sisa prekursor FeSO_4 . Pola difraksi kristal magnetit ditunjukkan pada sudut 2θ sebesar 30,24; 35,56; 43,16; 53,48; 57,18; dan 62,88°, serta prekursor FeSO_4 sebesar 36,66; 41,08; 59,18; dan 62,26°. Selain itu, pada pola difraksi sampel A terbentuk pula kristal goetit (21,2; 33,26; 71,5; dan 74,32°). Pada sampel A munculnya goetit dan prekursor FeSO_4 karena reaksi kimia tidak berlangsung sempurna pada suhu rendah (Gambar 2). Sintesis magnetit menggunakan teknik hidrotermal (suhu 180 °C) dengan penambahan 1 g NaOH menghasilkan kristal magnetit murni (sampel C). Hasil XRD ditunjukkan terbentuknya puncak-puncak magnetit saja pada sampel C (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Byrappa & Adschiri (2007) bahwa penggunaan teknik hidrotermal mampu menghasilkan produk yang lebih murni. Selain itu, reaksi pada suhu tinggi akan menghasilkan reaksi yang sempurna.

Selanjutnya, jika membandingkan sampel A dan C, penggunaan teknik pemanasan hidrotermal akan menghasilkan ukuran kristal magnetit lebih kecil (Tabel 2). Hal ini disebabkan perlakuan hidrotermal pada suhu tinggi dalam sistem tertutup akan menghasilkan tekanan di atas 1 atm. Tekanan tinggi ini akan mencegah pertumbuhan kristal (Rizal & Ismunandar 2007).

4. KESIMPULAN

Penambahan asam oleat pada sintesis nanokristal magnetit mampu menurunkan ukuran kristal magnetit. Penambahan asam oleat dalam suasana basa akan menghasilkan suatu surfaktan natrium oleat yang akan melapisi partikel-partikel magnetit. Penggunaan teknik hidrotermal pada sintesis magnetit akan menghasilkan tekanan di atas 1 atm sehingga mampu menghasilkan ukuran kristal yang lebih kecil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah M, Virgus Y, Nirmin, Khairurrijal. 2008. Sintesis nanomaterial. *J Nanosains Nanoteknologi* 1:33-57.
- Abdullah M. 2009. *Pengantar Nanosains*. Bandung: ITB Pr.
- Byrappa K, Adschiri T. 2007. Hydrothermal technology for nanotechnology. *Prog in Cryst Growth and Characterization Mat* 53:117-166.
- Cotton FA, Wilkinson G, Murillo CA, Bochman M. 1999. *Advanced Inorganic Chemistry*. Texas: J Wiley.
- Cullity BD, Stock SR. 2001. *Elements of X-Ray Diffraction*. New Jersey: Prentice Hall.
- Duan L, Jia S, Wang Y, Chen J, Zhao L. 2009. Synthesis of Fe₃O₄ polyhedra by hydrothermal method: using L-arginine as precipitator. *J Mat Sci* 44:4407-4412.
- Kendelewicz *et al.* 1999. X-ray absorption and photoemission study of the adsorption of aqueous Cr(VI) on single crystal hematite and magnetite surfaces. *Surface Sci* 424:219-231.
- Liang *et al.* 2006. Synthesis of nearly monodisperse iron oxide and oxyhydroxide nanocrystals. *Adv Functional Mat* 16:1805-1813.
- Rizal M, Ismunandar. 2007. Sintesis dengan metode hidrotermal dan karakterisasi senyawa berstruktur Aurivillius Bi₄Ti₃O₁₂. *J Mat Sains* 12:44-48.
- Wiberg N. 1995. *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*. New York: Walter de Gruyter.
- Yin M, Willis A, Redl F, Turro NJ, Brien SP. 2004. Influence of capping groups on the synthesis of γ -Fe₂O₃ nanocrystals. *J Mat Res*. 19:1208-1215.
- Zhao S, Asuha S. 2010. One-pot synthesis of magnetite nanopowder and their magnetic properties. *Powder Technol* 197:295-297.

SINTESIS NANOKOMPOSIT BEBERAPA MATERIAL Clay/TiO₂ DARI BAHAN DASAR KAOLIN INDONESIA

Sugiarti, S.; Abidin, Z.; Shofwatunnisaa ; Widyastana, P.; Hedian, N.

Departemen Kimia, FMIPA Institut Pertanian Bogor

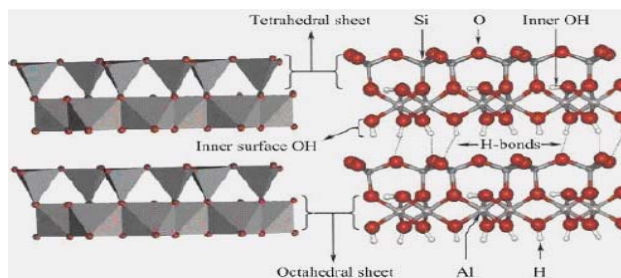
Abstrak

Indonesia merupakan negara yang kaya akan bahan tambang mineral yang salah satunya adalah kaolin. Kandungan terbesar yang ada dalam kaolin adalah kaolinit. Kaolinit secara teoritis memiliki komposisi 46.54% SiO₂, 39.50% Al₂O₃, dan 13.98% H₂O (Thammavong S 2003). Kalsinasi kaolin dengan pemanasan akan membentuk metakaolin yang memiliki struktur amorf karena banyak kehilangan gugus OH. Metakolin yang dihasilkan bila direaksikan dengan basa akan membentuk zeolit tipe A atau P. Kaolin, metakaolin dan zeolit dapat dikompositkan dengan TiO₂ sehingga memiliki kemampuan menyerap sekaligus mendegradasi senyawa yang terjerap. Pembuatan nanokomposit dari ketiganya memiliki teknik sintesis yang berbeda satu sama lain. Kaolin dan metakaolin dicampurkan dengan TiO₂ secara fisik yaitu dengan penambahan bahan pengikat agar TiO₂ tidak lepas ketika ditambahkan larutan yang akan dijerap. Bahan pengikat untuk kaolin dan metakaolin juga berbeda karena struktur dari keduanya yang juga berbeda. Sintesis zeolit dengan TiO₂ dilakukan secara kimia yaitu ditambahkan pada awal pembentukan zeolit sehingga TiO₂ akan terikat dalam zeolit tersebut.

Kata Kunci: Kaolin, Metakaolin, Zeolit, TiO₂, Nanokomposit

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber non-mineral. Salah satu bahan tambang non mineral adalah kaolin. Kaolinit secara teoritis memiliki komposisi 46.54% SiO₂, 39.50% Al₂O₃, dan 13.98% H₂O (Thammavong S 2003). Kaolinit yang terkandung dalam kaolin merupakan mineral liat tipe 1:1 dan memiliki kapasitas tukar kation. Tiap satuan terdiri atas masing-masing satu lapisan oksida-silika dan hidroksioksida-aluminat. Satuan-satuan ini berikatan kuat sesamanya dengan ikatan hidrogen dan ikatan van der Waals. Akibatnya kation atau anion dan molekul air tidak dapat masuk ke ruang antar misel sehingga efektifitasnya terbatas hanya di permukaan saja. Sifat penukar kation atau anion hanya berasal dari bagian ujung mineral yang mengalami pemutusan/pematahan (Muhdarina dan Linggawati 2003).



Gambar 1 Struktur kaolinit (Thammavong S 2003)

Mineral kaolin dalam bentuk terhidroksilasi disebut metakaolin. Dehidroksilasi kaolin menjadi metakaolin merupakan proses endotermik yang membutuhkan sejumlah energi yang besar untuk menghilangkan gugus hidroksil yang terikat secara kimia. Pemanasan suhu tinggi pada kaolin membuat struktur dari kaolin itu sendiri rusak dan membentuk metakaolin yang bersifat amorf setelah dilihat menggunakan X-ray (Mitra dan Bhattacharjee 1969). Metakaolin dapat disintesis membentuk zeolit dengan penambahan basa. Larutan basa yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan natrium hidroksida. Berbagai zeolit telah disintesis dengan bahan dasar kaolin di antaranya zeolit X, zeolit A, zeolit P, zeolit Na-P1, faujasit, zeolit Na-A, Analcime, mullite, dan hidroxysodalit Heller-Kallai & Lapidés (2006); Thammavong (2003); Meftah (2009).

Kaolin, metakaolin dan zeolit dapat digabungkan dengan TiO₂ membentuk nanokomposit. Nanokomposit adalah suatu bahan yang dibuat dari penggabungan antara dua komponen berbeda yang salah satu atau keduanya berskala nanometer (10⁻⁹ meter) atau setara dengan ukuran atom dan molekul. Nanokomposit dibuat untuk meningkatkan sifat individu bahan, baik dari segi kekuatan, struktur, atau stabilitas sehingga diperoleh bahan baru dengan kualitas yang lebih baik (Netcomposite 2006). Namun, sampai saat ini penelitian nanokomposit terhadap clay mineral yang terdapat pada tanah-tanah vulkanik di Indonesia seperti kaolin hampir tidak dilakukan.

Beberapa jenis fotokatalis yang dapat dipakai untuk proses fotokatalisis dari kelompok oksida misalnya: TiO₂, Fe₂O₃, ZnO, WO₃, atau SnO₂, sedangkan dari kelompok sulfida adalah CdS, ZnS, CuS, FeS, dan lain-lain (Slamet *et al.* 2003). Diantara sekian banyak jenis semikonduktor, hingga saat ini serbuk TiO₂ (terutama dalam bentuk kristal anatase) memiliki aktivitas fotokatalitik yang tinggi, stabil dan tidak beracun. Secara komersial serbuk TiO₂ juga mudah didapat dan diproduksi dalam jumlah besar (Slamet *et al.* 2003).

Pada artikel ini bertujuan membuat nanokomposit kaolin, metakaolin, dan zeolit dari bahan dasar kaolin indonesia serta melakukan karakterisasi untuk ketiganya menggunakan XRD.

2. BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, tanur, spektrofotometer uv-vis, dan XRD, sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian adalah kaolin yang berasal dari Bangka Belitung, kaolin Jepang (JCSS), NaOH, serbuk TiO₂ anatase, binder, air destilata.

Penelitian ini terdiri atas empat tahap, yaitu pencarian kaolin dari Bangka Belitung, analisis kaolin dengan XRD, pembuatan metakaolin, pembuatan zeolit dan pembuatan nanokomposit kaolin-TiO₂, metakaolin-TiO₂, serta TiO₂-Zeolit.

2.1. Pembuatan Metakaolin

Metakaolin dihasilkan dari proses pemanasan (kalsinasi) kaolin. Beberapa variasi suhu dilakukan untuk mendapatkan suhu pembentukan metakaolin yang optimum. Suhu yang digunakan adalah 100 sampai 700 °C dengan waktu pemanasan 3 jam dan 6 jam.

2.2. Pembuatan Zeolit (Heller-Kallai & Lapidis, 2006)

Metakaolin yang dihasilkan dari proses kalsinasi (0,05 g) kemudian dicampur dengan larutan NaOH dengan variasi volume 1, 2,5, 5, dan 10 mL, dan konsentrasi NaOH 0,5 dan 2,5 M. Campuran diaeging pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah itu, campuran di oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Sampel dicuci dengan akuades hingga mencapai pH 7. Selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama semalam. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan X-Ray Diffractometer (XRD).

2.3. Preparasi Nanokomposit Kaolin/TiO₂

Dibuat campuran kaolin:binder:TiO₂ dengan beberapa komposisi dengan kaolin sebagai komposisi terbesar dan TiO₂ sebagai komposisi terkecil. Campuran tersebut kemudian dibuat pasta dengan cara menambahkan akuades. Pasta tersebut kemudian diaduk hingga homogen. Setelah campuran homogen kemudian dikeringkan pada temperatur 100°C dan dibiarkan pada suhu kamar selama satu hari. Nanokomposit yang terbentuk kemudian digerus menjadi bentuk serbuk yang tidak terlalu halus.

2.4. Preparasi Nanokomposit Metakaolin/TiO₂

Dibuat campuran metakaolin:binder:TiO₂ dengan beberapa komposisi dengan metakaolin sebagai komposisi terbesar dan TiO₂ sebagai komposisi terkecil. Campuran tersebut kemudian dibuat pasta dengan cara menambahkan akuades. Pasta tersebut kemudian diaduk hingga homogen. Setelah campuran homogen kemudian dikeringkan pada temperatur 100°C dan dibiarkan pada suhu kamar selama satu hari. Nanokomposit yang terbentuk kemudian digerus menjadi bentuk serbuk yang tidak terlalu halus.

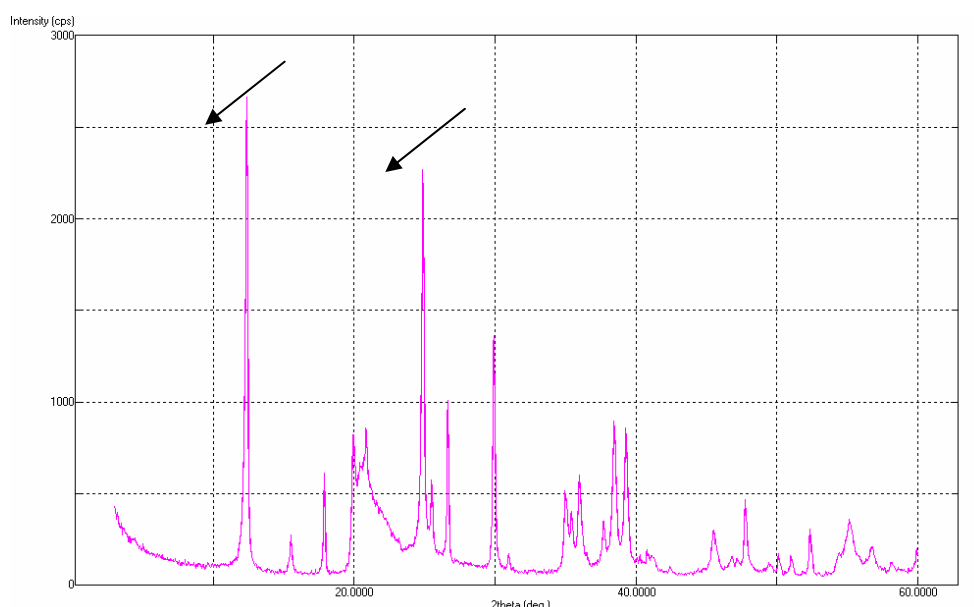
2.5. Preparasi Nanokomposit TiO₂/Zeolit

Untuk membuat nanokomposit TiO₂/Zeolit maka sebanyak 90% metakaolin I, 10% TiO₂ ditambahkan NaOH dengan variasi konsentrasi 0,5 N dan 2,5 N. Campuran diaeking pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah itu, campuran di oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Sampel dicuci dengan akuades sebanyak tiga sampai empat kali pencucian hingga mencapai pH netral. Selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama semalam. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan X-Ray Diffractometer (XRD).

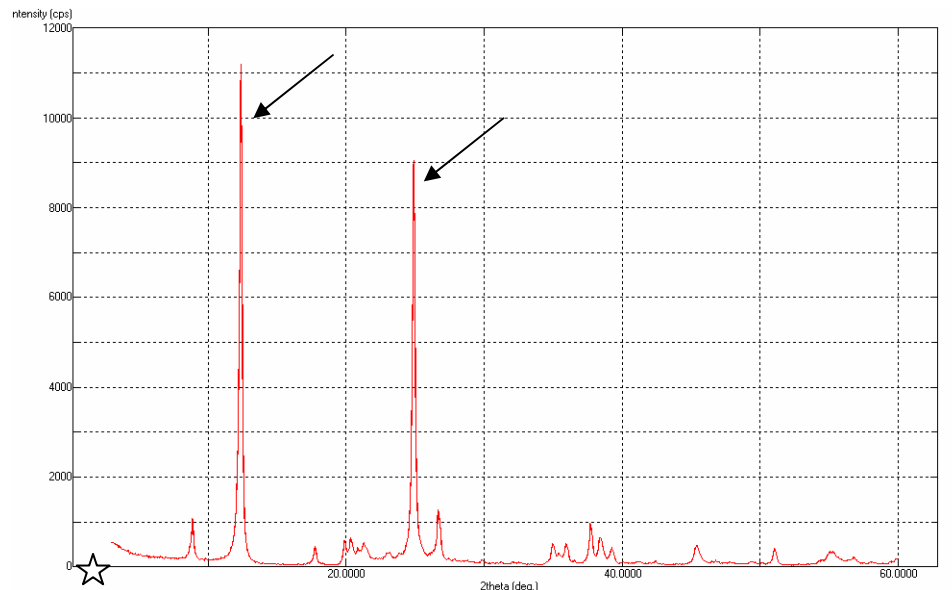
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemanfaatan kaolin Indonesia saat ini kurang luas, kaolin Indonesia hanya digunakan sebagai bahan dasar pembuatan keramik. Namun sebenarnya kaolin memiliki kemampuan adsorpsi yang cukup baik sehingga dapat juga digunakan sebagai alternatif adsorben untuk mengatasi pemakaian zeolit dan arang aktif yang besar.

Kaolin yang digunakan dalam penelitian berasal dari daerah Bangka Belitung. Kaolin ini terlebih dahulu dianalisis XRD dan spektrumnya dibandingkan dengan spektrum dari material pembanding yaitu kaolin Jepang yang berasal dari *Japan Clay Science Society* (JCSS). Hal ini dilakukan dengan tujuan melihat tingkat kemurnian dari kaolin Indonesia. Hasil spektrum XRD kaolin Bangka Belitung dan kaolin Jepang dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



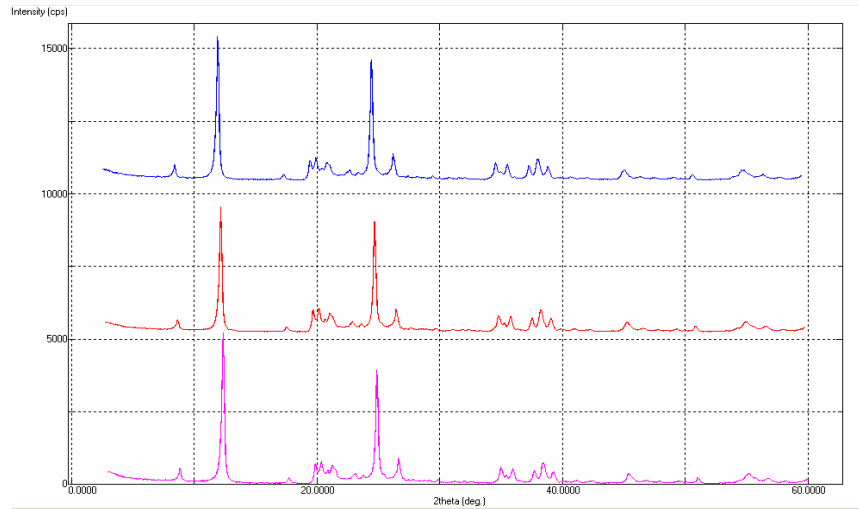
Gambar 2 Spektrum analisis XRD kaolin Jepang



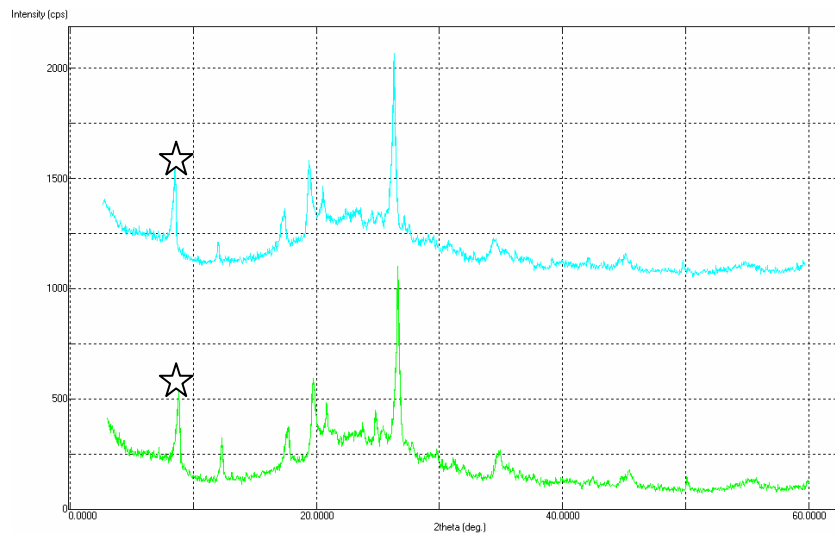
Gambar 3 Spektrum analisis XRD kaolin Bangka Belitung

Hasil spektrum analisis XRD menunjukkan bahwa kaolin Bangka Belitung memiliki spektrum dengan puncak-puncak khas yang ditunjukkan oleh tanda panah seperti pada kaolin Jepang. Hal ini menunjukkan bahwa kaolin dari daerah Bangka Belitung merupakan kaolin yang banyak mengandung kaolinit dan berbentuk kristalin. Hasil spektrum kaolin Jepang menunjukkan bahwa kristalinitas kaolin Jepang lebih tinggi daripada kaolin Bangka. Hal ini terlihat dari banyaknya puncak yang terbentuk pada spektrum XRD kaolin Jepang. Hasil spektrum XRD kaolin Bangka menunjukkan adanya puncak lain yang terbentuk pada sebelah kiri puncak khas (ditunjukkan dengan tanda ☆). Puncak ini merupakan puncak dari kristal lain yang terkandung dalam kaolin Bangka tersebut. Kristal lain yang biasa terdapat dalam kaolin adalah besi, mika, kuarsa, anatase.

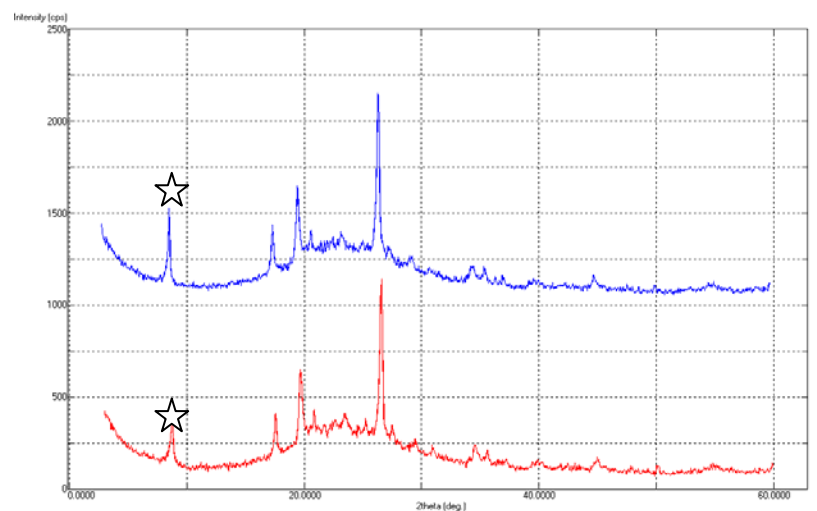
Struktur dari kaolin dapat diubah melalui proses kalsinasi yaitu pemanasan dengan suhu tinggi dan perlakuan hidrotermal basa. Pemanasan kaolin dengan suhu tinggi dapat mengubah strukturnya yang kristalin menjadi amorf yang disebut metakaolin. Hal ini dapat dilihat dari spektrum XRD keduanya. Tujuan kalsinasi untuk memutuskan ikatan AlO₂ dengan SiO₂ menjadi senyawa amorphous dari Al dan Si dan mengurangi kandungan air sehingga diperoleh metakaolin. Hasil spektrum XRD dari metakaolin dengan variasi suhu dan waktu pada proses kalsinasi dapat dilihat pada Gambar 4, 5 dan 6.



Gambar 4 Spektrum analisis XRD BB1003, BB2503, BB2506 (dari bawah ke atas)



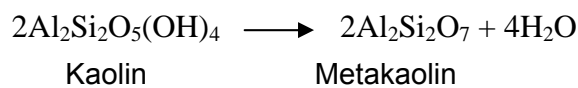
Gambar 5 spektrum analisis XRD BB5503, BB5506 (dari bawah ke atas)



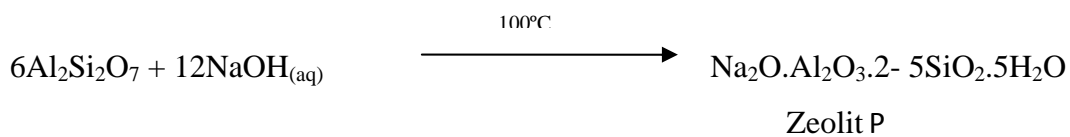
Gambar 6 Spektrum analisis XRD BB7003, BB7006 (dari bawah ke atas)

Hasil kalsinasi metakaolin dengan suhu 100°C dan 250°C menunjukkan bahwa kaolin belum mengalami perubahan menjadi metakaolin secara sempurna karena masih jelas terlihat puncak-puncak khas dari kaolin. Pada pemanasan 550 dan 700 kristalinitas kaolin terlihat menurun karena puncak-puncak dari kaolin turun, namun terlihat bahwa setelah pemanasan puncak dari kristal lain tetap terlihat (ditunjukkan dengan ☆).

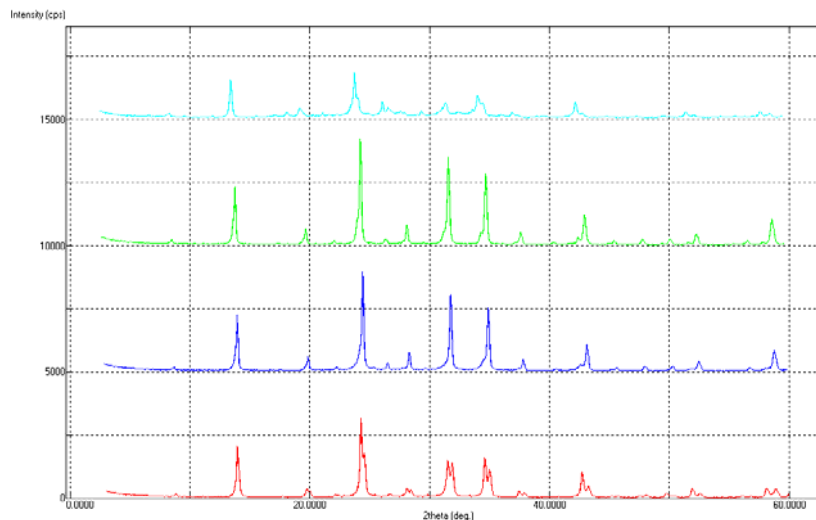
Metakaolin hasil kalsinasi selanjutnya diproses secara hidrotermal basa untuk dibentuk menjadi zeolit. Apabila kaolin langsung direaksikan dengan NaOH yang terbentuk bukanlah zeolit melainkan feldspathoid terhidrasi atau hidroksisodalit (Heller-Kallai & Lapidus 2007). Proses dehidroksilasi kaolin menjadi metakaolin mengikuti reaksi di bawah ini :



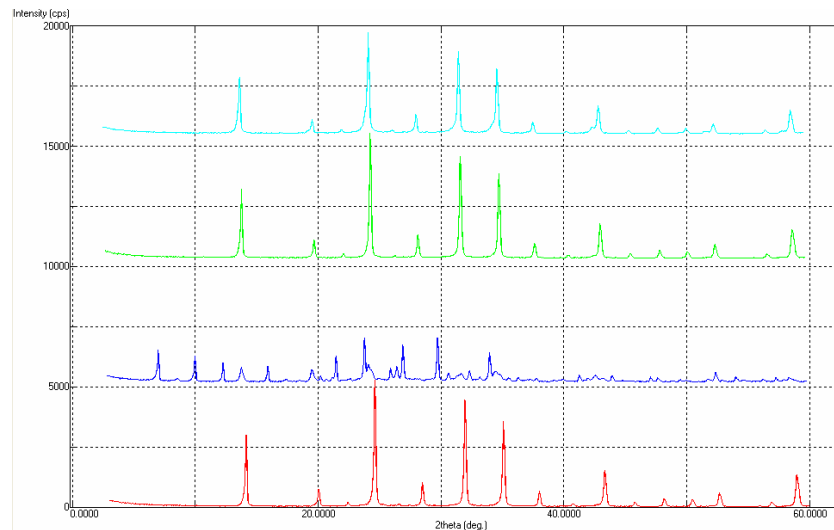
Metakaolin selanjutnya direaksikan dengan NaOH dengan konsentrasi 2,5 N. Selanjutnya diaeing pada suhu 40°C selama 24 jam kemudian dikeringkan pada suhu 100°C. Lamanya waktu aeing yang digunakan sangat berpengaruh terhadap zeolit yang dihasilkan. Pada proses ini reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Zeolit yang diperoleh kemudian dicuci hingga pH netral. Pencucian dimaksudkan menghilangkan pengotor yang mungkin terkandung didalamnya. Pengotor tertentu dapat tetap tidak larut dalam air selama proses kristalisasi dan menyebabkan spesi yang tidak diinginkan membentuk inti kristal.



Gambar 7 Spektrum analisis XRD sintesis zeolit pada suhu 500 °C, NaOH 2,5 M



Gambar 10 Spektrum analisis XRD sintesis zeolit pada suhu 700 °C, NaOH 2,5 M

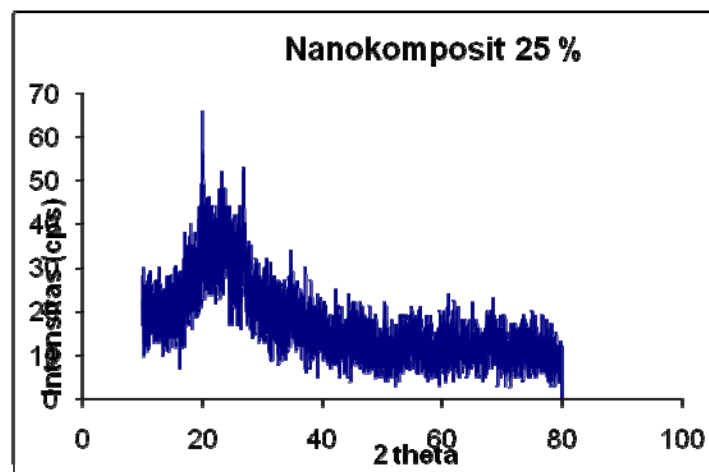
Berdasarkan hasil spektrum XRD yang didapat, menunjukkan bahwa secara keseluruhan zeolit yang diperoleh merupakan zeolit NaP1. Pembentukan zeolit dipengaruhi oleh konsentrasi dari NaOH dan lamanya waktu *ageing*.

4. PEMBUATAN NANOKOMPOSIT

Nanokomposit disintesis dari kaolin, metakaolin, dan zeolit dengan penambahan TiO₂ anatase. Pembentukan nanokomposit ini dilakukan untuk mengatasi kekurangan dari sifat kaolin, metakaolin, dan zeolit yaitu kapasitas adsorpsi yang rendah dan penyerapan dengan ketiga adsorben ini akan menimbulkan penumpukan lumpur yang sulit untuk diatasi. Penambahan TiO₂ dapat menghasilkan suatu adsorben yang memiliki kemampuan menyerap sekaligus mendegradasi bahan yang terjerap.

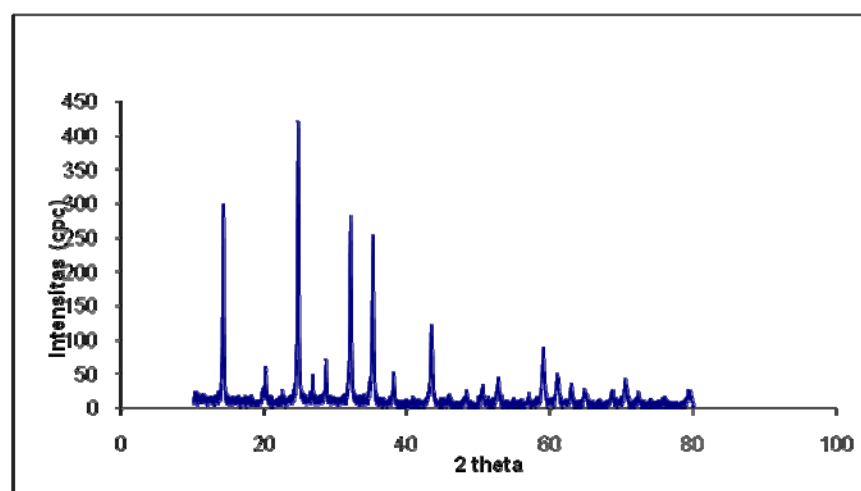
Pembuatan nanokomposit kaolin dan metakaolin dilakukan dengan cara pencampuran secara fisik artinya mencampurkan padatan dengan padatan. Pencampuran fisik biasa tidak akan membuat TiO₂ menempel pada permukaan kaolin atau metakaolin, oleh karena itu dibutuhkan bahan pengikat untuk merekatkan keduanya. Serbuk kaolin, TiO₂, dan bahan pengikat TB1 dicampurkan dengan perbandingan 7:2:1 dan ketiganya dibuat pasta dengan penambahan air. Pada pembuatan nanokomposit metakaolin/TiO₂ bahan pengikat yang digunakan adalah TB2 dengan komposisi 30% dari total bahan yang dicampurkan. Air yang ditambahkan kemudian akan dilepaskan kembali melalui pemanasan. Bahan pengikat berfungsi untuk merekatkan TiO₂ pada kaolin agar tidak terlepas pada saat ditambahkan larutan adsorbat (yang dijerap). Penambahan air bertujuan sebagai media pencampuran bahan yang berbentuk serbuk-serbuk. Kemudian pasta yang terbentuk dalam dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C. Hal ini

bertujuan agar air yang terdapat pada pasta tersebut hilang kembali. Lepasnya serbuk TiO₂ dapat terlihat dengan memasukkan nanokomposit ke dalam air, bila air menjadi keruh maka serbuk TiO₂ tersebut tidak menempel pada kaolin. Gambar 15 merupakan spektrum analisis XRD metakaolin/TiO₂ dengan binder TB2. Terlihat dari gambar bahwa puncak Ti muncul pada $2\theta=26,872$ A. Hal ini membuktikan bahwa TiO₂ telah menempel pada metakaolin dan membentuk nanokomposit.



Gambar 15 Spektrum analisis XRD nanokomposit metakaolin/TiO₂

Nanokomposit zeolit/TiO₂ diperoleh dengan pertukaran kation Na⁺ pada antar rongga zeolit dengan Ti. Reaksi pertukaran ion Na⁺ dengan Ti di dalam mineral zeolit dapat terjadi karena kation Na⁺ yang berada pada rongga zeolit tidak terikat kuat sehingga udah digeser atau ditukar oleh Ti. Adanya TiO₂ pada zeolit ditunjukkan pada $2\theta=20,59$ A. Hasil XRD dari nanokomposit ini ditunjukkan pada Gambar 15.



Gambar 16 Spektrum analisis XRD nanokomposit zeolit INOV/TiO₂

5. KESIMPULAN

Suhu sangat berpengaruh besar dalam sintesis mineral clay. Pada pembuatan metakaolin, diperlukan suhu minimal 550 °C untuk mengubah kaolin menjadi metakaolin. Pada sintesis zeolit, semua suhu menghasilkan zeolit NaP1 dengan waktu ageing 24 jam. Pembuatan nanokomposit mineral clay dengan TiO₂ memerlukan teknik yang berbeda-beda. Sintesis nanokomposit kaolin/TiO₂ harus dilakukan secara percampuran fisik dibantu oleh bahan pengikat TB1. Sementara sintesis nanokomposit zeolit/TiO₂ dapat dilakukan dengan proses hidrotermal basa.

DAFTAR PUSTAKA

- Heller-Kallai L & Lapidés I. 2006. Reactions of Kaolinite and Metakaolinite with NaOH — Comparison of Different sample (Part 1). *J Applied Clay Science* 35: 99–107.
- M. Meftah, W. Oueslati, A. Ben Haj Amara. 2009. Synthesis process of zeolite P using a poorly crystallized kaolinite. *Physics Procedia* 2: 1081–1086.
- Mitra GB, Bhattacharjee. 1969. X-Ray Diffraction Studies on the Transformation of Kaolinite into Metakaolin: I. Variability of Interlayer Spacings. *The American Mineralogist* 54.
- Muhdarina, Linggawati A. 2003. Pilarisasi Kaolinit Alam untuk Meningkatkan Kapasitas Tukar Kation. *Jurnal Natur Indonesia* 6(1):20-23.
- Netcomposite. 2006. [terhubung berkala].
<http://www.netcomposite.com/image/montmorillonite.html> [13Desember 2009].
- Slamet, Syakur R, Danumulyo W. 2003. Pengolahan limbah logam berat *chromium* (vi) dengan fotokatalis TiO₂. *Makara Teknologi* 7: 1.
- Thammavong S. 2003. Studies of Synthesis, Kinetic and Particle Size of Zeolite X from Narathiwat Kaolin [Tesis]. Suranaree: Degree of Master of Science in Chemistry, Suranaree University of Technology.

ZEOLIT/TiO₂ NANOKOMPOSIT SEBAGAI FOTOKATALIS PADA PENGURAIAN BIRU METILENA

Sugiarti, S.; Abidin, Z.; Henmi, T

Departemen Kimia, FMIPA Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Generally, the kaolinite form of clay from Indonesia is used in the construction building material as filler, so does in the cosmetics and pharmaceutical industries, and ceramics. Here we reported the use of Indonesia natural kaolinite as starting material in the synthesizing of nanomaterial compounds. The kaolinite was calcined at 700°C for 6 hours to obtain the amorf form of metakaolinite. Zeolitization of metakaolinite was done by the addition of 2.5 M NaOH solution at 100°C for 24 hours. The XRD studies showed that the synthesized zeolite was almost completely contain the type A zeolite. However, we also detected the presence of other type of zeolite as small peaks correspond to Na-P1 type of zeolite appeared in the XRD pattern of the synthesized zeolite. Addition of various concentration of TiO₂ to the metakaolinite was done to synthesis the nanocomposite of TiO₂/zeolite A. The peak of TiO₂ was detected in the XRD pattern of nanocomposite. Methylene blue was used as model to test the photocatalyst property of the synthesized nanocomposite. The conducted photocatalysis reaction of methylene blue with nanocomposite TiO₂/zeolite showed the degradation of 70% of the dye after one hour of contact with the nanocomposite under UV light source. For comparison purposes, Japanese pure kaolinite was treated in the same manner as the Indonesia natural kaolinite. Side by side reaction showed that the nanocomposite from Japanese kaolinite has better photocatalyst properties as it decomposed the methylene blue more than 80% at one hour reaction.

Keywords: Indonesian kaolinite, metakaolinite, zeolite NaA, nanocomposite TiO₂/zeolite, photocatalyst, methylene blue

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan bahan tambang baik berupa bahan tambang mineral maupun non mineral. Salah satu bahan tambang non mineral adalah kaolin. Di Indonesia sebaran deposit kaolin cukup luas, diantaranya terdapat di daerah Bangka Belitung, Cicalengka, dan Wonosari. Kaolin merupakan campuran dari beberapa mineral berbeda yang komponen utamanya adalah kaolinit. Kaolin juga seringkali mengandung kuarsa, mika, feldspar, illit, dan monmorilonit. Kaolin banyak digunakan di industri cat, plastik, keramik, industri obat-obatan dan pembuatan kertas sebagai pengisi. Saat ini kaolin juga banyak dimanfaatkan sebagai adsorben untuk mengadsorpsi zat warna hasil dari limbah industri (Ptaceka, P. et al. 2010).

Dampak negatif perkembangan industri salah satunya adalah pencemaran air akibat limbah zat warna. Zat warna banyak digunakan pada industri pakaian, kertas, plastik, kulit, makanan dan kosmetik. Zat warna dapat menyebabkan masalah di lingkungan, antara lain estetika, menghambat masuknya sinar matahari, dan mempengaruhi ekosistem akuatik. Selain itu banyak zat warna yang bersifat racun bagi beberapa mikroorganisme yang menyebabkan destruksi langsung atau menghambat kemampuan katalitiknya. Zat warna biasanya memiliki struktur molekul kompleks aromatik yang membuatnya lebih stabil sehingga sulit untuk didegradasi secara biologis. Oleh karena itu diperlukan penanganan yang serius untuk mengatasi masalah pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh zat warna. Salah satu contoh zat warna yang dapat ditemukan sebagai limbah industri adalah biru metilena.

Beberapa jenis metode yang digunakan untuk pengolahan limbah secara konvensional diantaranya klorinasi, pengendapan, dan adsorpsi oleh karbon aktif atau adsorben lainnya. Metode pengolahan ini akan menghasilkan lumpur yang kemudian dibakar atau diproses secara mikrobiologi. Proses pembakaran lumpur akan memicu terbentuknya senyawa kloroksida yang berbahaya, sedangkan proses mikrobiologi hanya dapat menguraikan senyawa biodegradabel sedangkan senyawa nonbiodegradabel tetap berada dalam lumpur dan akan kembali ke lingkungan. Oleh karena itu diperlukan teknik pengolahan limbah khususnya zat warna yang efisien dan mampu menanggulangi masalah tanpa menimbulkan masalah baru.

Teknik pengolahan limbah zat warna yang ekonomis saat ini adalah dengan menggunakan teknik adsorpsi. Adsorben yang paling umum digunakan adalah zeolit, montmorilonit, dan karbon teraktivasi. Ketiga adsorben ini sangat populer digunakan sehingga sumberdaya ketiganya di alam semakin berkurang. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif adsorben lain yang keberadaannya di alam cukup melimpah, yaitu kaolin. Kaolin sendiri memiliki kapasitas adsorpsi yang cukup rendah, maka diperlukan satu cara agar pemanfaatannya sebagai adsorben dapat direalisasikan. Salah satu cara adalah dengan menjadikan kaolin sebagai bahan baku pembuatan zeolit. Selain itu, pembuatan nanokomposit berbahan dasar zeolit yang ditambah dengan TiO₂ diharapkan dapat memperbaiki sistem adsorpsi zeolit.

Pembentukan nanokomposit zeolit nanokomposit akan menghasilkan sistem adsorpsi sekaligus fotodegradasi dengan memanfaatkan sifat TiO₂ sebagai fotokatalis. Metode adsorpsi-fotodegradasi didasarkan pada proses adsorpsi senyawa organik oleh permukaan padatan yang sekaligus mampu mendegradasi senyawa organik. Degradasi sempurna menghasilkan CO₂ dan H₂O yang aman bagi lingkungan sehingga mengurangi faktor regenerasi. Titanium oksida mampu mendegradasi senyawa organik namun kurang

efektif dalam mengolah limbah yang konsentrasinya tinggi karena daya adsorpsinya yang rendah. Penelitian ini bertujuan mempelajari kemampuan kaolin sebagai adsorben dengan mensintesisnya menjadi nanokomposit zeolit/TiO₂ untuk proses adsorpsi-fotodegradasi.

2. BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan terdiri atas spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1700 sentrifusa Kokusan H-107, *Shaker*, neraca analitik, peralatan gelas, kuvet, bulb, pipet Mohr, pipet volumetrik, oven, dan lampu UV. Sementara karakterisasi dilakukan dengan Rigaku X/Max-2400 dengan radiasi Cu K α (λ = 0.154 nm) pada 40 kV dan 30 mA.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah Kaolin asal Bangka Belitung dan dari Japan Clay Society, NaOH (Merck), *Methylene blue*, Titanium dioksida (TiO₂) Degussa P25, dan akuades.

2.1. Preparasi Metakaolin

Preparasi metakaolin meliputi proses pemanasan kaolin bubuk dari Indonesia dan Jepang selama 6 jam pada suhu 700 °C. Hasil kalsinasi dianalisis menggunakan X-Ray Diffractometer (XRD) (Gutierrez, M. et al. 2008)

2.2. Sintesis Zeolit

Sintesis zeolit mengikuti metode yang dikembangkan oleh Heller-Kallai & Lapidés, 2006. Sampel metakaolin ditimbang sebanyak 0,05 g, dicampur dengan 2,5 ml larutan NaOH dengan variasi konsentrasi 2,5 N dan 0,5 N. Campuran diaeking pada suhu 40°C selama 6 jam. Setelah itu, campuran di oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Sampel dicuci dengan akuades hingga mencapai pH 7. Setelah dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama semalam, hasilnya dianalisis menggunakan X-Ray Diffractometer (XRD).

2.3. Fotokatalisis

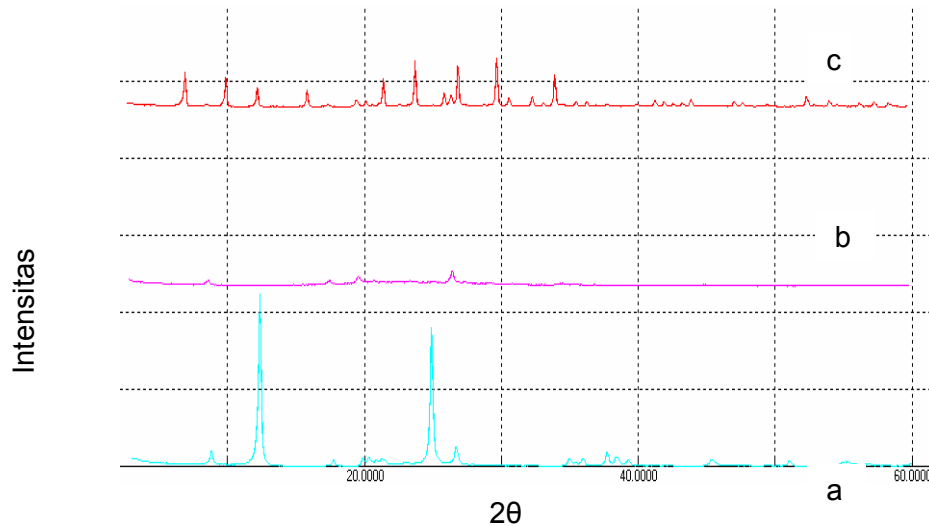
Reaksi fotokatalis dilakukan dengan penambahan biru metilena dengan konsentrasi 25 ppm pada 0,1 g contoh nanokomposit. Selanjutnya campuran tersebut diletakkan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm selama 1 jam. Hasil fotokatalisis dianalisis menggunakan spektroskopi UV-Vis.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

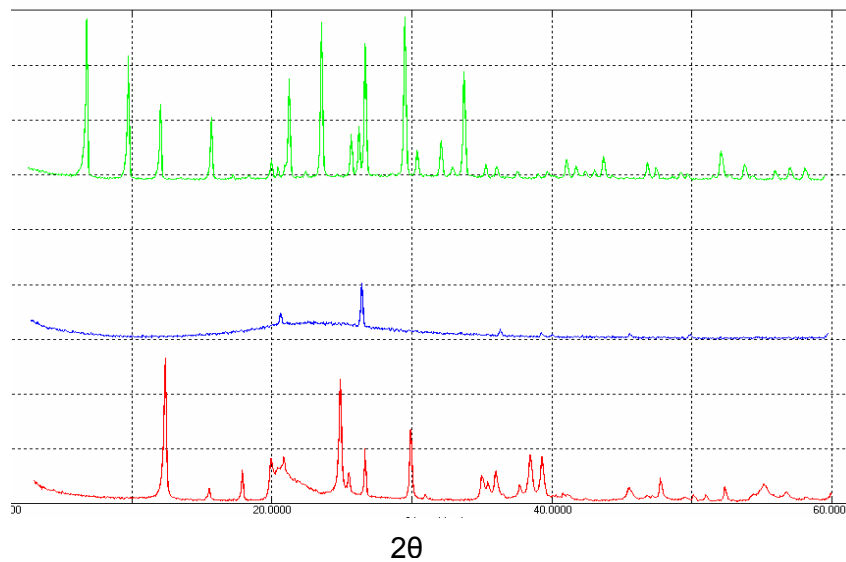
Kaolin memiliki struktur dasar yang mirip dengan zeolit NaA maupun NaP1 oleh sebab itu sangat sesuai digunakan sebagai bahan dasar sintesis zeolit NaA maupun NaP1. Pada penelitian ini digunakan kaolin alam Indonesia asal Bangka Belitung sebagai bahan baku pembuatan nanokomposit zeolit/TiO₂. Sebagai perbandingan, kaolin Jepang digunakan sebagai standar karena tingkat kemurniannya yang tinggi. Data XRD menunjukkan bahwa kaolin alam Indonesia memiliki tingkat kristalinitas yang lebih rendah dibandingkan kaolin standar dari Jepang, hal ini dapat disebabkan oleh adanya senyawa pengotor pada kaolin alam. Umumnya pengotor yang terikut pada sumber kaolin alam adalah mineral besi, magnesium, dan kalsium.

Pemanasan kaolin atau lebih dikenal sebagai kalsinasi pada suhu 700 °C akan menghasilkan metakaolin. Dari XRD terlihat bahwa metakaolin ditunjukkan oleh difraktogram yang cukup datar menandakan terbentuknya struktur amorf sebagai hasil rusaknya struktur kristal kaolin saat dikalsinasi. Bila kandungan mineral besi pada kaolin alam cukup rendah, metakaolin yang dihasilkan akan tetap berwarna putih namun bila kandungan mineral besinya tinggi akan dihasilkan metakaolin berwarna merah muda. Keberadaan pengotor tersebut diperkirakan berpengaruh pada sifat-sifat zeolit yang dihasilkan, termasuk aktivitas katalisisnya (Miao et al. 2009).

Metakaolin yang dihasilkan selanjutnya digunakan sebagai bahan baku pembuatan zeolit. Penambahan NaOH dengan konsentrasi 2,5 M dengan waktu *ageing* selama 6 jam menghasilkan zeolit NaA. Hasil yang sama ditunjukkan oleh kaolin Jepang saat digunakan sebagai bahan baku sintesis zeolit. Namun difraktogram zeolit hasil sintesis dari kaolin alam Indonesia menunjukkan adanya puncak zeolit NaP1 dengan intensitas yang jauh lebih kecil dibandingkan puncak-puncak zeolit NaA. Penambahan waktu *ageing* menjadi 24 jam, akan menghasilkan zeolit NaP1. Zeolit NaA juga dapat diperoleh saat sintesis dilakukan tanpa didahului oleh proses *ageing*. Dengan demikian waktu sintesis zeolit NaA dapat dipersingkat dengan menghilangkan waktu *ageing*.

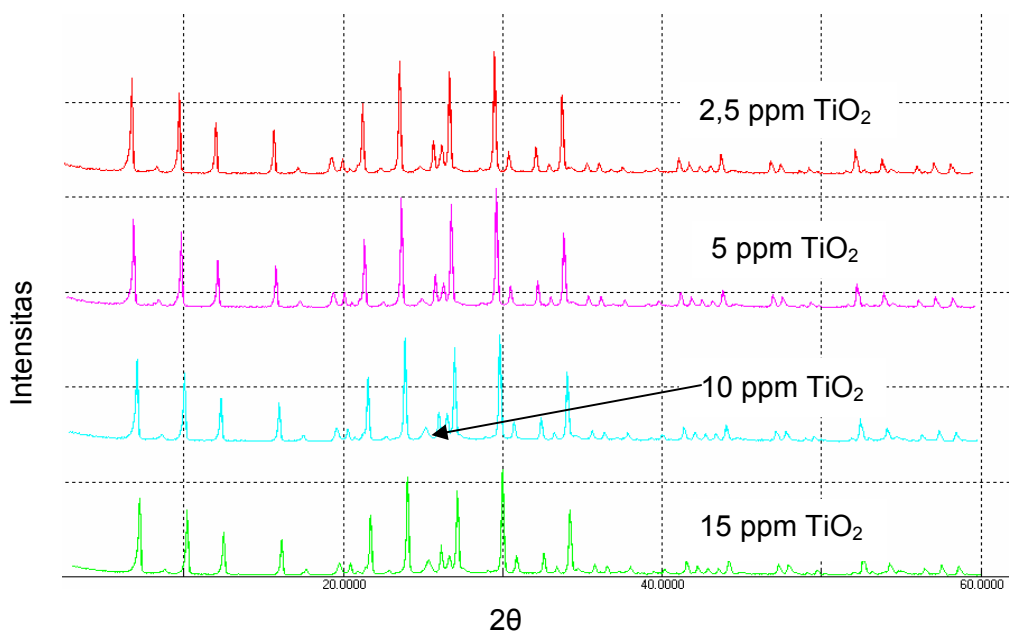


Gambar 1. Pola XRD untuk kaolin alam Indonesia (a), metakaolin (b) dan zeolit NaA (c)



Gambar 2. Pola XRD untuk kaolin standar Jepang (a), metakaolin (b), dan zeolit NaA (c)

Nanokomposit zeolit/TiO₂ disintesis dengan cara yang sama seperti halnya mensintesis zeolit, hanya saja sejumlah tertentu TiO₂ ditambahkan pada reaksi untuk menghasilkan nanokomposit dengan komposisi yang titanium yang diinginkan. Hasil sintesis nanokomposit menunjukkan bahwa untuk zeolit NaA dari kaolin Indonesia memberikan komposisi terbaik pada penambahan TiO₂ sebanyak 10 %b/b. Pada Gambar 3 dapat dilihat perkembangan penambahan TiO₂ pada sintesis nanokomposit.



Gambar 3. Pola XRD Zeolit dengan Variasi Penambahan Konsentrasi TiO₂

Penambahan 15 %b/b TiO₂ tidak menambah intensitas puncak TiO₂. Nanokomposit zeolit dari standar kaolin Jepang menunjukkan kemampuan retensi terhadap TiO₂ yang lebih besar, dimana penambahan TiO₂ yang optimum tercapai pada 20 %b/b. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh struktur kristal kaolin standar Jepang lebih seragam sehingga menghasilkan zeolit dengan tingkat kristalinitas yang tinggi dan dapat membentuk nanokomposit yang lebih baik dengan TiO₂ anatase.

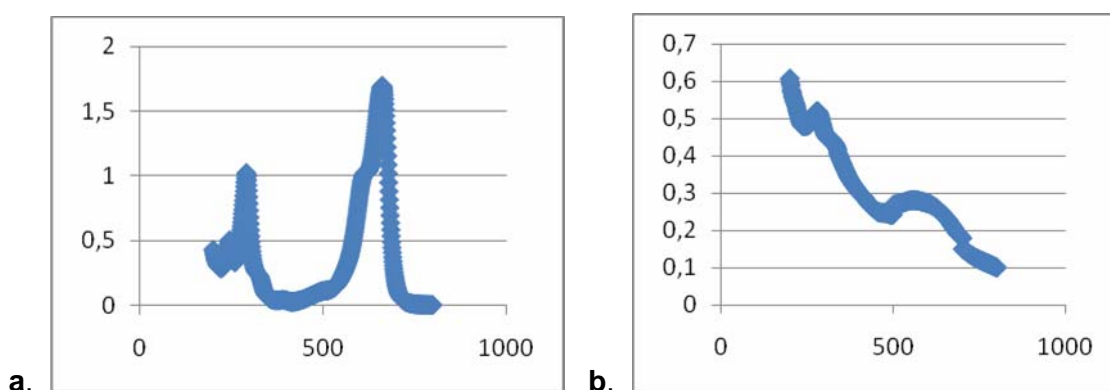
Selanjutnya nanokomposit zeolit/TiO₂ (10 % b/b) digunakan pada reaksi fotodegradasi biru metilena. Reaksi fotokatalisis dilakukan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Hasil percobaan menunjukkan bahwa nanokomposit zeolit/TiO₂ dapat mendegradasi zat warna biru metilena sebesar 70 % pada 1 jam pertama reaksi. Namun nanokomposit dari kaolin standar Jepang menunjukkan hasil yang lebih baik yaitu sebesar 80 % zat warna terdegradasi pada satu jam pertama reaksi. Hasil fotodegradasi dapat dilihat pada Gambar 4.

Kandungan TiO₂ yang ditambahkan pada nanokomposit zeolit dengan TiO₂ mempengaruhi aktivitas fotokatalisnya. Hal ini dapat disebabkan oleh pembentukan agregat yang dapat menghalangi akses biru metilena terhadap TiO₂ sehingga lokasi tempat berlangsungnya aktivitas fotokatalis menjadi tidak efisien. Pada zeolit hasil sintesis dari kaolin Indonesia, pembentukan agregat bisa jadi tidak hanya dengan zeolit saja, namun juga dengan pengotor yang terikut pada kaolin alam. Atau keberadaan pengotor menghalangi terbentuknya agregat zeolit dengan TiO₂, sehingga hanya sedikit TiO₂ yang tertahan pada permukaan atau pori-pori zeolit. Namun demikian, tampaknya pembentukan agregat dengan pengotor tersebut mengurangi kemampuan nanokomposit zeolit dari Indonesia dengan TiO₂ untuk memfotodegradasi biru metilena.



Gambar 4. Hasil fotodegradasi biru metilena dengan nanokomposit zeolit/TiO₂. (I) nanokomposit zeolit Indonesia/2,5 % TiO₂; (J) nanokomposit zeolit Jepang/2,5 % TiO₂; (K) nanokomposit zeolit Indonesia/5 % TiO₂; (L) nanokomposit zeolit Jepang/5 % TiO₂; (M) nanokomposit zeolit Indonesia/10 % TiO₂ ; (N) nanokomposit zeolit Jepang/10 % TiO₂ ; (O) nanokomposit zeolit Indonesia/15 % TiO₂; (P) nanokomposit zeolit Jepang/15 % TiO₂

Spektrum UV-Vis pada hasil fotodegradasi menunjukkan bahwa setelah satu jam reaksi, biru metilena telah berubah menjadi senyawa lain ditunjukkan dengan bergesernya panjang gelombang maksimum. Pada biru metilena tanpa perlakuan apapun, panjang gelombang maksimum berada pada kisaran 640-660 nm, namun pada hasil fotodegradasi didapati panjang gelombang maksimum terdapat pada 580 nm seperti terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil fotodegradasi biru metilena oleh nanokomposit zeolit/TiO₂. a. biru metilena tanpa nanokomposit; b. biru metilena dengan nanokomposit

Pada Gambar 4 juga dapat dilihat bahwa warna nanokomposit zeolit Jepang/TiO₂ lebih putih dibandingkan warna nanokomposit zeolit Indonesia/TiO₂ setelah kontak dengan biru metilena selama 1 jam di bawah sinar UV. Namun yang menarik dari hasil ini

adalah bahwa fase cair dari reaksi fotodegradasi menggunakan nanokomposit zeolit Jepang/TiO₂ ternyata masih sedikit berwarna biru, sementara warna biru pada fase cair nanokomposit zeolit Indonesia/TiO₂ hampir hilang. Hal ini dapat dijelaskan dengan kemampuan adsorpsi zeolit dari kaolin alam Indonesia lebih besar dibandingkan dengan zeolit hasil sintesis dari kaolin standar Jepang. Kapasitas adsorpsi untuk kaolin, zeolit maupun nanokomposit, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengukuran KTK dan kapasitas adsorpsi bahan baku maupun nanokomposit

	KTK (cmol +/Kg)	Kapasitas Adsorpsi (mg/g)
Kaolin Indonesia	7	19,0
Kaolin Jepang	3	9,0
Metakaolin Indonesia	8	10,0
Metakaolin Jepang	1	8,0
Zeolite NaA (INA)	330	20,0
Zeolite NaA (Jepang)	360	10,0
Zeolite NaA /10 % TiO ₂ (INA)	360	19,0
Zeolite NaA /1 0% TiO ₂ (Jepang)	370	8,0

Tabel 1 menunjukkan bahwa pembentukan nanokomposit ternyata menurunkan kapasitas adsorpsi, namun meningkatkan nilai KTK. Satu kemungkinan adalah bahwa pembentukan nanokomposit membuat kation-kation yang siap dipertukarkan menjadi lebih terekspos sehingga nilai KTK meningkat.

4. KESIMPULAN

Nanokomposit zeolit/TiO₂ berhasil disintesis dari kaolin alam Indonesia yang berasal dari Bangka Belitung. Kamampuannya dalam menyerap sekaligus mendegradasi biru metilena cukup baik dengan 70 % biru metilena terdegradasi dalam waktu satu jam. Hasil degradasi ditunjukkan oleh bergesernya panjang gelombang biru metilena dari 640 nm ke 580 nm, menunjukkan terbentuknya senyawa lain. Pembentukan nanokomposit ternyata meningkatkan kapasitas tukar kation, namun menurunkan kapasitas adsorpsinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Gutierrez, M. et al. 2008. Influence of the Calcination Temperature of Kaolin on the Mechanical Properties of Mortars and Concretes Containing Metakaolin. *Clay Minerals* 43: 177–183
- Heller-Kallai L & Lapidés I. 2006. Reactions of Kaolinite and Metakaolinite with NaOH — Comparison of Different sample (Part 1). *J Applied Clay Science* 35: 99–107.
- Miao, Q. et al. 2009. Synthesis of NaA zeolite from kaolin source. *Front. Chem. Eng. China* 3(1): 8–11.
- Ptačeka, P. et al. 2010. Isothermal kinetic analysis of the thermal decomposition of kaolinite: The thermogravimetric study. *Thermochimica Acta* 501 : 24–29.

MODIFIKASI ZEOLIT MELALUI INTERAKSI DENGAN $\text{Fe}(\text{OH})_3$ UNTUK MENINGKATKAN KAPASITAS TUKAR ANION

Syafii, F; Sugiarti, S; Charlena

Departemen Kimia, FMIPA Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Aktivasi zeolit pada umumnya dilakukan dengan kalsinasi, penambahan asam atau penambahan basa. Asam yang digunakan adalah H_2SO_4 , HF, dan HCl, sedangkan basa yang digunakan adalah NaOH. Salah satu cara untuk melihat kualitas dari zeolit adalah dari kemampuan pertukaran ion yang dinyatakan sebagai nilai KTK (Kapasitas Tukar Kation). Nilai KTK zeolit ini bergantung pada derajat substitusi jumlah atom Al^{3+} terhadap Si^{4+} yang menghasilkan muatan negatif pada kerangka zeolit. Penggantian atom Si oleh atom Al mengakibatkan struktur zeolit bermuatan negatif sehingga berfungsi sebagai penukar kation dan sedikit sebagai penukar anion. Untuk meningkatkan fungsi zeolit agar dapat menukar anion maka zeolit dapat dimodifikasi. Salah satu cara modifikasi zeolit untuk meningkatkan sifat tukar anion adalah dengan penambahan senyawa kation hidroksida. Senyawa kation hidroksida yang digunakan adalah $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Ion Fe^{3+} memiliki bilangan koordinasi 6 dapat mengikat senyawa anion (ligan) yang membentuk kompleks. Berdasarkan hasil penelitian, modifikasi zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ dapat dilakukan terhadap zeolit alam dan zeolit alam teraktivasi sehingga kapasitas tukar anion zeolit semakin meningkat. Kapasitas tukar kation zeolit sebelum modifikasi lebih tinggi dibandingkan zeolit modifikasi berturut-turut sebesar 81.15 dan 41.91 meq/100 g. Kapasitas tukar anion zeolit modifikasi lebih tinggi dibandingkan zeolit sebelum modifikasi berturut-turut sebesar 5.064 dan 17.449 meq/100 g. Proses aktivasi dapat meningkatkan nilai KTK dan KTA zeolit. Nilai KTK sebelum dan sesudah aktivasi berturut-turut sebesar 81.15 dan 99.44 meq/100 g, dan nilai KTA optimum zeolit modifikasi sebelum dan sesudah aktivasi berturut-turut sebesar 17.449 dan 19.695 meq/100 g.

Kata kunci : Zeolit alam, Kapasitas Tukar anion, $\text{Fe}(\text{OH})_3$

1. PENDAHULUAN

Kegiatan industri menghasilkan limbah berupa bahan pencemar yang mengganggu lingkungan. Bahan pencemar yang dihasilkan dari kegiatan industri dapat berwujud cairan yang sebagian besar mengandung polutan organik. Salah satu polutan organik berbahaya yang banyak dijumpai pada berbagai jenis limbah industry adalah fenol. Senyawa fenol dikatakan aman bagi lingkungan jika konsentrasi maksimal berkisar antara 0,5-1 mg/L (KEP. No. 51/MENLH/10/1995) dan ambang batas fenol dalam baku air minum adalah 0,002 mg/L. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengembangkan teknologi pengolahan limbah yang efektif dan efisien agar dapat menanggulangi masalah pencemaran. Salah satu cara untuk menurunkan kandungan fenol dalam air limbah adalah perlakuan sorpsi ataupun penukar ion. Metode sorpsi melibatkan interaksi antara

analit dengan permukaan zat padat (adsorben) (Diantariani *et al.* 2008). Adsorben yang sekarang ini banyak digunakan dalam penanganan limbah adalah zeolit alam.

Zeolit merupakan senyawa alam yang banyak terdapat di wilayah Indonesia. Zeolit ini memiliki berbagai macam kegunaan. Salah satunya adalah untuk penjerap senyawa organik (Bouffard dan Duff, 2000). Zeolit mempunyai struktur tiga dimensi unik yang berperan penting terhadap penyaringan molekul. Zeolit terdiri atas gugusan alumina dan gugusan silika-oksida yang masing-masing berbentuk tetrahedral dan saling dihubungkan oleh atom oksigen sehingga membentuk kerangka tiga dimensi. Zeolit digunakan sebagai pengemban karena struktur kristalnya berpori dan memiliki luas permukaan yang besar, tersusun oleh kerangka silika–alumina, mengandung ion Na, K, Mg, Ca yang dapat dipertukarkan dan molekul air, memiliki stabilitas termal yang tinggi, harganya murah serta keberadaannya cukup melimpah.

Zeolit ada dua macam, yaitu zeolit alam dan sintetik. Zeolit alam pada umumnya memiliki kristalinitas yang tidak terlalu tinggi, ukuran porinya sangat tidak seragam, aktivitas katalitiknya rendah, dan mengandung banyak pengotor. Kandungan zeolit alam di Indonesia pada umumnya terdiri atas jenis mordenit dan klinoptilolit yang kadarnya bervariasi. Salah satu cara untuk meningkatkan daya guna zeolit alam adalah dengan aktivasi dan modifikasi (Setyawan dan Handoko 2003).

Proses aktivasi zeolit alam dapat dilakukan dengan 2 cara, yang pertama yaitu secara fisika melalui kalsinasi dengan tujuan untuk menguapkan air yang terperangkap di dalam pori-pori kristal zeolit, sehingga luas permukaannya bertambah (Khairinal, 2000). Proses kalsinasi zeolit dikontrol, karena pemanasan yang berlebihan kemungkinan akan menyebabkan zeolit tersebut rusak. Proses pemanasan (kalsinasi) dilakukan pada suhu 300°C - 375°C selama 3-4 jam (Suwardi 2000). Cara yang kedua adalah aktivasi zeolit secara kimia dengan tujuan untuk membersihkan permukaan pori, membuang senyawa pengotor dan mengatur kembali letak atom yang dapat dipertukarkan. Aktivasi secara kimia dapat dilakukan dengan penambahan asam dan penambahan basa. Asam yang digunakan adalah H_2SO_4 , HF, dan HCl, sedangkan basa yang digunakan adalah NaOH (Suyartono dan Husaini 1991). Perendaman zeolit alam dengan larutan HCl 4 M dapat menghilangkan oksida-oksida pengotor tetapi tidak merusak struktur kristal mordenit sehingga kristalinitas zeolit secara keseluruhan meningkat (Setyawan dan Handoko 2003). Proses aktivasi zeolit menyebabkan zeolit mengalami dealuminasi dan dekationisasi, yaitu keluarnya Al dan kation-kation dalam kerangka zeolit sehingga menyebabkan bertambahnya luas permukaan zeolit karena berkurangnya pengotor yang menutupi pori-pori zeolit. Luas permukaan yang bertambah diharapkan meningkatkan kemampuan zeolit dalam proses penjerapan (Weitkamp, 1999).

Salah satu cara untuk melihat kualitas dari zeolit adalah dari kemampuan pertukaran ion, kemampuan ini dinyatakan sebagai nilai KTK (Kapasitas Tukar Kation). KTK adalah jumlah milligram ekuivalen (meq) ion logam yang dapat dipertukarkan maksimum oleh 100 g bahan penukar ion (zeolit) dalam kondisi kesetimbangan. Nilai KTK zeolit ini bergantung pada derajat substitusi jumlah atom Al^{3+} terhadap Si^{4+} yang menghasilkan muatan negatif pada kerangka zeolit. Semakin besar derajat substitusi menunjukkan semakin banyak kation alkali atau alkali tanah yang diperlukan untuk menetralkan muatan negatif pada kerangka sehingga nilai KTK makin besar (Ming dan Mumpton 1989). Semakin tinggi nilai KTK maka semakin bagus kualitas dari zeolit. Oleh karena itu, besarnya nilai KTK pada zeolit dapat digunakan untuk menduga kandungan mineral zeolit (Suwardi 1998).

Penggantian atom Si oleh atom Al, mengakibatkan struktur zeolit bermuatan negatif, karena adanya muatan negatif ini maka zeolit memiliki kemampuan yang kecil atau bahkan tidak memiliki daya jerap terhadap anion, sehingga memiliki kapasitas tukar anion yang rendah. Salah satu cara modifikasi zeolit untuk meningkatkan sifat tukar anion adalah melalui interaksi dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Ion Fe^{3+} memiliki bilangan koordinasi 6 dapat mengikat senyawa anion (ligan) yang membentuk kompleks. Senyawa kompleks dengan bilangan koordinasi 6 merupakan kompleks yang paling stabil, sebab pada pembentukan kompleks itu dilepas sejumlah besar energi ikatan membentuk ikatan dengan ligan (Cotton dan Wilkinson 1989).

Zeolit memiliki rongga-rongga yang berisi air dan kation-kation logam yang dapat dipertukarkan. Penambahan senyawa $\text{Fe}(\text{OH})_3$ terhadap zeolit menjadikan ion Fe^{3+} dapat memasuki rongga-rongga zeolit yang masih kosong dan menggantikan kation-kation dalam rongga yang didapat dipertukarkan. Ion Fe^{3+} yang memasuki rongga zeolit dapat membentuk kompleks dengan senyawa anion. Oleh karena ukuran rongga zeolit yang tidak terlalu besar, maka anion-anion yang dapat dipertukarkan hanya dalam ukuran kecil seperti ion klor, nitrat, pospat dan lain-lain. Agar dapat mengikat anion yang ukurannya lebih besar seperti senyawa fenol, maka atom Fe juga dapat menggantikan susunan atom Al pada kerangka utama zeolit yang menjadikan ukuran pori besar sehingga Fe dapat mengikat anion-anion yang ukurannya lebih besar. Jadi, dengan adanya interaksi zeolit dengan senyawa $\text{Fe}(\text{OH})_3$ menjadikan kapasitas tukar anion pada zeolit semakin meningkat.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan adalah Zeolit, FeCl_3 2M, NaOH 5M, NaOH 0.1M, HCl 0.05 N; 0.2M, 4 M, H_3BO_3 1 %, NaCl 10 %, NaOH 40%, AgNO_3 0.1 M, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ pH 7, etanol 96 %, indikator *phenofthalein* kertas saring Whatman 42, dan akuades.

2.1. Preparasi Zeolit

Zeolit dicuci dengan akuades, digiling dengan mortar, lalu diayak sehingga diperoleh zeolit dengan ukuran butir lolos ayakan 100 mesh. Kemudian dilakukan pemanasan dalam oven bersuhu 300°C selama 3 jam.

2.2. Aktivasi Zeolit

Aktivasi zeolit dilakukan secara kimia, yaitu dengan cara pengasaman. Sampel zeolit siap pakai ditimbang sebanyak 100 gram, dan ditambah larutan HCl 4.0 M sebanyak 250 mL. Campuran diaduk dengan pengaduk magnet selama 60 menit dan kemudian disaring dan dibilas dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 300°C selama 3 jam. Pencucian dihentikan apabila sudah tidak terdapat endapan pada filtrat ketika ditambah dengan AgNO_3 .

2.3. Pembuatan Zeolit Modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$

Senyawa $\text{Fe}(\text{OH})_3$ yang digunakan untuk memodifikasi zeolit dibuat dengan mereaksikan senyawa $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan NaOH. Sebanyak 85 mL FeCl_3 2M direaksikan dengan 100 mL NaOH 5M. endapan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ yang diperoleh disaring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam.

Ditimbang 1 g zeolit dan dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5mL larutan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M Kemudian larutan di kocok selama 1 jam dan di diamkan selam 1 hari. Hasilnya lalu disaring dan dikering udarakan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Dibuat perlakuan yang sama dengan perbandingan 1 g zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M, 1.5 g zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M, 1.5 g zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M, 2 g zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M, dan 2 g zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M. perlakuan dilakukan terhadap zeolit sebelum dan sesudah aktivasi.

2.4. Penentuan Kapasitas Tukar Anion

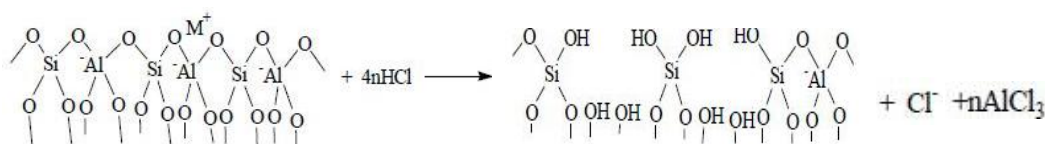
Ditimbang 5 g contoh zeolit, tambahkan 500 mL Larutan asam klorida 0.2 M diaduk dan *shaker* selama 12 jam. Hasilnya disaring/disentrifusa dan diambil filtratnya. Tempatkan 10 mL filtrat pada erlenmeyer, dan dititrasi dengan NaOH 0.1 M menggunakan indikator phenolfthelein dan dibuat pula blanko. Selain penentuan

Kapasitas tukar anion, penentuan kapasitas tukar kation juga dilakukan dengan cara mengacu pada Peraturan Menteri Pertanian No.02/Pert/HK.060/2/2006.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Proses Aktivasi Zeolit

Proses aktivasi zeolit alam dilakukan menggunakan HCl 4M selama 1 jam yang merupakan konsentrasi dan waktu optimum untuk proses aktivasi. Pada proses ini rasio Si/Al mencapai optimum sehingga zeolit alam mengalami peningkatan luas permukaan dan tidak mengalami kerusakan struktural yang besar. Pelarut yang digunakan dalam proses adalah air. Hal ini bertujuan untuk mengoptimalkan Si (dalam bentuk $Si(OH)_4$) yang akan dimasukkan untuk digantikan atom-atom Al pada kerangka struktur zeolit (Weitkamp, J and Puppe, L 1999)



Gambar 1 Aktivasi Zeolit

Pada proses aktivasi, ion H^+ yang dihasilkan dari reaksi penguraian HCl dalam medium air akan mengurai ikatan atom Al yang berada pada struktur zeolit. Ion H^+ ini akan diserang oleh atom oksigen yang terikat pada Si dan Al. Berdasarkan harga energi disosiasi ikatan Al-O (116 kkal/mol) jauh lebih rendah dibandingkan energi disosiasi ikatan Si-O (190 kkal/mol), maka ikatan Al-O jauh lebih mudah terurai dibandingkan Si-O. Sehingga ion H^+ akan cenderung menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan Al-O dan akan terbentuk gugus silanol. Sedangkan ion Cl^- hasil penguraian ion HCl juga akan mempengaruhi kekuatan ikatan Al-O dan Si-O. Ion Cl^- memiliki elektronegativitas yang tinggi (3,16) dan berukuran kecil ($r = 0,97A^0$), sehingga menyebabkan ion ini mudah berikatan dengan kation bervalensi besar seperti Si^{4+} dan Al^{3+} . Tetapi ion Cl^- akan cenderung berikatan dengan atom Al dikarenakan harga elektronegativitas atom Al lebih kecil (1,61) dibanding elektronegativitas atom Si (1,90) (Weitkamp, J and Puppe, L 1999).

3.2. Modifikasi Zeolit Alam Dengan $Fe(OH)_3$

Zeolit alam dimodifikasi dengan $Fe(OH)_3$ untuk meningkatkan kapasitas tukar anion zeolit. Prinsipnya adalah melalui pembentukan kompleks dari ion Fe^{3+} yang mengisi rongga-rongga kosong zeolit dengan senyawa anion (ligan). Ion Fe^{3+} yang mengisi

rongga-rongga kosong zeolit membentuk kompleks dengan ligan mengakibatkan probabilitas tukar anion zeolit menjadi meningkat.

Ion Fe^{3+} yang memasuki rongga-rongga kosong zeolit harus dikondisikan atau diperhitungkan jumlahnya supaya struktur zeolit tersebut tidak rusak dan ion Fe^{3+} bisa masuk dalam rongga-rongga zeolit. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan antara jumlah zeolit dengan larutan $Fe(OH)_3$ untuk memperoleh kondisi modifikasi yang baik dan optimum.

Tabel 1 Hasil Modifikasi Zeolit

Sampel	warna larutan	endapan	pH
1 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	kuning tipis	ada sedikit	5
1 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	kuning tipis	ada sedikit	4
1.5 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	kuning tipis	ada sedikit	5
1.5 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	kuning tipis	ada sedikit	5
2 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	kuning tipis	ada sedikit	5
2 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	kuning tipis	ada sedikit	5
1 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	tidak berwarna	tidak ada	4
1 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	tidak berwarna	tidak ada	4
1.5 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	kuning tipis	tidak ada	4
1.5 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	tidak berwarna	tidak ada	4
2 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	kuning tipis	tidak ada	3
2 g zeolit aktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	tidak berwarna	tidak ada	3

Zeolit yang termodifikasi dengan $Fe(OH)_3$ dilakukan berbagai kondisi sampel. Keberhasilan modifikasi ini ditentukan oleh masuk atau tidaknya ion besi dari larutan $Fe(OH)_3$ ke dalam rongga zeolit. Masuknya ion Fe^{3+} ke dalam rongga zeolit dilihat dari warna larutan $Fe(OH)_3$ dan endapan yang terbentuk. Jika warna larutan menjadi tidak berwarna dan tidak timbul endapan maka ion Fe^{3+} kemungkinan masuk dalam rongga zeolit. Selain itu, struktur zeolit yang dimodifikasi dengan $Fe(OH)_3$ harus dijaga supaya tidak rusak. Zeolit mudah rusak jika memiliki pH yang rendah. Ion Fe^{3+} yang masuk ke dalam rongga zeolit mengakibatkan sifat zeolit akan semakin asam sehingga jumlahnya harus diperhitungkan supaya tidak mengakibatkan kerusakan pada zeolit. Pada penelitian ini modifikasi zeolit yang paling baik adalah pada sampel 1 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M, 1 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M, dan 1.5 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M. Pada sampel ini warna larutan larutan $Fe(OH)_3$ tidak berwarna, tidak terbentuk endapan, dan memiliki pH yang tidak terlalu rendah yaitu pada pH 4.

3.3. Penentuan Kapasitas Tukar Kation

Nilai kapasitas tukar kation (KTK) biasanya digunakan sebagai parameter kualitas zeolit sebagai penukar ion. Kapasitas tukar kation (KTK) merupakan ukuran jumlah kation yang dapat dipertukarkan. Kation-kation yang dapat dipertukarkan dari zeolit adalah kation yang tidak terikat secara kuat di dalam kerangka tetrahedral zeolit sehingga dengan mudah akan dipertukarkan melalui penggantian oleh H^+ pada pencucian asam.

Pertukaran kation pada zeolit dilihat dari kemampuan tingkat substitusi Al terhadap Si yang menghasilkan muatan negatif. Semakin banyak Si yang digantikan oleh Al maka muatan negatif zeolit yang dihasilkan semakin banyak, sehingga semakin banyak pula jumlah kation NH_4^+ yang diperlukan untuk menetralkannya. Oleh karena itu, nilai kapasitas tukar kation akan meningkat. Hal ini dapat dilihat nilai KTK zeolit teraktivasi lebih besar nilainya dibandingkan dengan zeolit awal sebelum diaktivasi (Tabel 2). Hasil ini mendukung simpulan Haryati (2007) bahwa aktivasi oleh asam dapat meningkatkan KTK. Modifikasi zeolit dengan $Fe(OH)_3$ akan mempengaruhi nilai KTK zeolit. Ion besi yang masuk dalam rongga zeolit akan mengurangi struktur negatif zeolit sehingga nilai KTK zeolit menurun.

Tabel 2 Data kapasitas tukar kation

Sampel	KTK (meq/100g)
Zeolit awal	81.15
Zeolit teraktivasi	99.44
1 g zeolit modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	47.24
1 g zeolit awal modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	41.91
1.5 g zeolit awal modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	55.63
1.5 g zeolit awal modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	51.44
2 g zeolit awal modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	60.34
g zeolit awal modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	56.17
1 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	50.29
1 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	70.10
1.5 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	75.06
1.5 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005M	70.10
2 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.025M	61.15
2 g zeolit teraktivasi modifikasi $Fe(OH)_3$ 0.005	55.63

Hasil pengujian nilai KTK zeolit tertinggi yaitu pada zeolit aktivasi sebelum modifikasi sebesar 99.44 meq/100g. Modifikasi zeolit dengan $Fe(OH)_3$ secara umum dapat menurunkan nilai KTK (Tabel 2).

3.4. Penentuan Kapasitas Tukar Anion

Kapasitas tukar anion (KTA) merupakan jumlah milligram ekuivalen (meq) anion yang dapat dipertukarkan maksimum oleh 100 g zeolit. Nilai kapasitas tukar anion (KTA) pada zeolit di tentukan oleh banyaknya jumlah anion yang dapat dipertukarkan. Nilai pertukaran anion pada zeolit dilihat dari tingkat kemampuan ion Fe^{3+} yang masuk dalam

rongga zeolit pada proses modifikasi zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Ion Fe^{3+} yang masuk dalam rongga zeolit akan terikat kuat dan membentuk kompleks koordinasi dengan mengikat ligan (anion). Kompleks koordiansi ion Fe^{3+} yang mengikat ligan (anion) ini yang dapat meningkatkan nilai tukar zeolit terhadap anion. Semakin banyak ion Fe^{3+} yang masuk dalam rongga zeolit (pada kondisi optimum) maka semakin banyak kemungkinan anion yang dapat terkompleks oleh Fe sehingga kapasitas tukar anion zeolit semakin meningkat.

Proses aktivasi juga dapat meningkatkan nilai KTA zeolit, karena proses aktivasi dapat menghilangkan oksida-oksida pengotor yang menutupi rongga zeolit sehingga luas permukaan rongga zeolit menjadi meningkat. Luas permukaan zeolit semakin meningkat maka semakin banyak pula kemungkinan ion Fe^{3+} yang masuk dalam rongga zeolit sehingga nilai KTA zeolit menjadi meningkat. Hal ini terlihat bahwa nilai KTA zeolit awal sebelum aktivasi nilainya lebih rendah sebesar 5.064 meq/100g dibandingkan zeolit yang sudah diaktivasi 7.193 meq/100g (Tabel 3)

Tabel 3 Data kapasitas tukar anion

Sampel	KTA (meq/100g)
Zeolit awal	5.064
Zeolit teraktivasi	7.193
1 g zeolit awal modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	14.055
1 g zeolit awal modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	13.656
1.5 g zeolit modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	17.449
1.5 g zeolit modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M	16.889
2 g zeolit modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	11.598
2 g zeolit modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.020M	11.598
1 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	18.131
1 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M	17.119
1.5 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	19.695
1.5 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M	19.338
2 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M	13.835
2 g zeolit teraktivasi modifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.005M	12.695

Modifikasi terhadap zeolit alam yang digunakan pada penelitian ini, secara umum dapat meningkatkan nilai KTA zeolit. Nilai KTA tertinggi yaitu pada zeolit aktivasi termodifisasi dengan perbandingan 1.5 gram zeolit termodifikasi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.025M, yaitu sebesar 19.695 meq/100 g (Tabel 3).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diambil kesimpulan bahwa modifikasi zeolit dengan $\text{Fe}(\text{OH})_3$ dapat dilakukan terhadap zeolit alam dan zeolit alam teraktivasi sehingga kapasitas tukar anion zeolit semakin meningkat. Kapasitas tukar kation zeolit sebelum modifikasi lebih tinggi lebih tinggi dibandingkan zeolit modifikasi berturut-turut sebesar

81.15 dan 41.91 meq/100 g. Kapasitas tukar anion zeolit modifikasi lebih tinggi dibandingkan zeolit sebelum modifikasi berturut turut sebesar 5.064 dan 17.449 meq/100 g. Proses aktivasi dapat meningkatkan nilai KTK dan KTA zeolit. Nilai KTK sebelum dan sesudah aktivasi berturut-turut sebesar 81.15 dan 99.44 meq/100 g, dan nilai KTA zeolit modifikasi sebelum dan sesudah aktivasi berturut-turut sebesar 17.449 dan 19.695 meq/100 g.

Peningkatan nilai KTA zeolit setelah dimodifikasi membuka peluang bagi penerapan zeolit termodifikasi $Fe(OH)_3$ sebagai penjerap bahan pencemar berbahaya yang memiliki muatan formal negatif. Salah satu contoh senyawa berbahaya yang dapat dijerap dengan zeolit termodifikasi ini adalah fenol. Meski demikian modifikasi ini dapat dikembangkan sedemikian rupa baik dengan mengubah komposisi zeolit maupun dengan mengubah sumber mineral bahan pemodifikasi.

DAFTAR PUSTAKA.

- Bouffard, SC dan Duff, SJB. 2000. *Uptake of Dehydroabiatic Acid Using Organically-Zeolit*. New York: Elsevier Science Publishers B.V..
- Diantariani NP et al .2008. Proses biosorpsi dan desorpsi ion Cr (VI) pada biosorben rumput laut *Euclima spinosum*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. JURNAL KIMIA 2(1), JANUARI 2008 : 45-52.
- Hay RL. 1966. *Zeolites and zeolitic reactions in sedimentary rocks*. California: Department Geology and Geophysics, University of California, Berkeley.
- Khairinal, Trisunaryanti, W. 2000. Dealuminasi Zeolit Alam Wonosari dengan Perlakuan Asam dan Proses Hidrotermal. Prosiding Seminar Nasional Kimia VIII. Yogyakarta.
- Setyawan D, Handoko P. 2003. Aktivitas katalis cr/zeolit dalam reaksi konversi katalitik fenol dan metil isobutil keton. *Jurnal ILMU DASAR* Vol. 4 No. 2, 2003: 70-76.
- Suyartono dan Husaini. 1991. Tinjauan terhadap kegiatan penelitian karakterisasi dan pemanfaatan zeolit Indonesia yang dilakukan PPTM Bandung Periode 1890-1991. Bandung: Buletin PPTM. JPPSH.
- Suwardi. 1998. *Penetapan Kualitas Mineral Zeolit dan Prospeknya di Bidang Pertanian*. Bogor: Departemen Manajemen Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian, IPB.
- Weitkamp, J. dan Puppe. L. 1999. *Catalysis and Zeolites: Fundamental and Applications*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Germany.

PHYSICS

PENGEMBANGAN METODE PENYETABIL SUMBER CAHAYA LASER He-Ne DENGAN MENGGUNAKAN PLAT $\lambda/4$

Wiwis Sasmitaninghidayah¹, Ari Santoso², dan Agus Rubiyanto¹

¹Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

²Jurusan Teknik Elektro, Fakultas Teknologi Industri
Institiut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

Email: wiwis09@mhs.physics.its.ac.id

Abstrak

Eksperimen penyetabil sumber cahaya laser He-Ne dilakukan dengan menggunakan laser He-Ne 10 mW, polarisator, 2 pelat $\lambda/4$, analisator, fotodetektor, interferometer Michelson dengan vibrator akustik yang dibangkitkan dengan function generator dan osciloskop. Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan menggunakan sudut polarisator 0° , pelat $\lambda/4$ pertama 30° , pelat $\lambda/4$ kedua -30° , analisator 90° , interferometer Michelson dengan vibrasi akustik 1-60 MHz, diperoleh berkas laser yang stabil dengan jumlah berkas yang terefleksi terkecil.

1. PENDAHULUAN

Laser memiliki keunggulan dibandingkan cahaya yang dipancarkan dari sumber cahaya lain. Antara lain laser bersifat monokromatis, kesejajaran tinggi, kecerahan tinggi dan koheren. Laser banyak digunakan dalam bidang spektroskopi, industri, kesehatan, hiburan, komunikasi, pertahanan, dan sebagai sumber cahaya dalam pengujian ilmiah pada skala laboratorium. Laser He-Ne digunakan sebagai sumber cahaya tampak dalam skala laboratorium maupun pada pengujian kelurusan sistem dan digunakan dengan panjang gelombang tertentu. Penggunaan sumber cahaya laser He-Ne yang bebas refleksi diharapkan dapat memperoleh output yang memiliki tingkat kesalahan minimal.

Beberapa penelitian yang terkait dengan penstabilan berkas laser He-Ne antara lain: iodine penyetabil laser He-Ne pada MRI dengan menambahkan sell iodine pada laser MRI3 (Hu, 1995), metode pengukuran optis dengan menggunakan Bragg sel (Vairac, 1996), respon suhu polarisator sebagai penyetabil laser He-Ne dengan memberikan variasi suhu (Makinen, 1998), dan desain dan fabrikasi laser vibrometer dengan menggunakan isolator optis (Rubiyanto, 2009).

2. PENYETABIL BERKAS LASER He-Ne

Penyetabilan berkas laser He-Ne dilakukan dengan menggunakan polarisator dan analisator serta pelat $\lambda/4$.

Polarisasi didefinisikan sebagai orientasi medan listrik gelombang elektromagnetik $\mathbf{E}(\mathbf{r},t)$. Gelombang bidang yang monokromatik (berkas laser) yang memiliki frekuensi ν , merambat searah sumbu z dengan kecepatan c, medan listriknya dideskripsikan dengan persamaan:

$$E(z,t) = \text{Re} \left\{ A \exp \left[j2\pi\nu \left(t - \frac{z}{c} \right) \right] \right\} \tag{1}$$

dengan $A = A_x \hat{x} + A_y \hat{y}$ (2)

adalah vektor dengan komponen kompleks A_x dan A_y

Berkas laser merupakan gelombang bidang yang monokromatik dengan frekuensi ν dan merambah searah sumbu z, dengan $A_x = a_x \exp(j\phi_x)$ dan $A_y = a_y \exp(j\phi_y)$ adalah komponen x dan y dari medan listrik, dapat direpresentasikan dalam matriks

$$J = \begin{bmatrix} A_x \\ A_y \end{bmatrix} \tag{3}$$

Pelat $\lambda/4$ ($\Gamma = \pi/2$) berfungsi untuk mengubah cahaya yang terpolarisasi linier menjadi cahaya yang terpolarisasi melingkar ke kiri, dan sebaliknya mengubah cahaya yang terpolarisasi melingkar ke kiri menjadi cahaya yang terpolarisasi linier. Pelat ini memiliki representasi matriks

$$T = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & \exp(-j\Gamma) \end{bmatrix} \tag{4}$$

3. METODE PENELITIAN

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini disusun seperti gambar berikut:



Gambar 3.1 Rangkaian Percobaan

Untuk mempermudah analisis optik, diasumsikan bahwa berkas laser monokromatik dan dianggap sebagai gelombang bidang. Polarisasi dideskripsikan dalam Matriks jones oleh vektor kolom

$$E = \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} \tag{5}$$

dimana E_x dan E_y merupakan dua bilangan kompleks yang merepresentasikan koordinat medan yang kompleks. Transformasi matriks dari plat $\lambda/4$ dapat dituliskan sebagai berikut

$$T_{\lambda/4} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & e^{-i\pi/2} \end{pmatrix} \tag{7}$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Vektor cahaya yang terpolarisasi linier pada sumbu x dan y diberikan oleh persamaan $E_x = A_x \sin(\omega t + \phi) i$, dan

$$E_y = A_y \sin(\omega t + \phi) j \tag{8}$$

Dalam eksperimen digunakan intensitas cahaya sebagai besaran yang diobservasi, karena intensitas sebanding dengan kuadrat amplitude medan listrik dari gelombang cahaya. Jika notasi kompleks dikuadratkan maka dapat dihitung dengan mengalikan kompleks konjugetnya. Maka, diperoleh intensitas sebesar

$$I = e^{-i\omega t} e^{i\omega t} |A_x e^{-i\phi} \quad A_y e^{-i\phi}| \begin{vmatrix} A_x e^{i\phi} \\ A_y e^{i\phi} \end{vmatrix} \\ = A_x^2 + A_y^2.$$

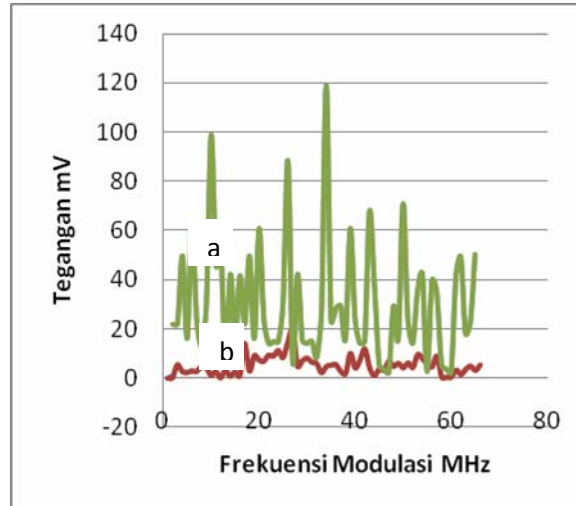
Berkas cahaya melewati polarisator, pelat $\lambda/4$, analisator memiliki intensitas sebesar:

$$I = |polarisator| |QWP| |QWP| |analisator| I_0 \\ = \begin{vmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \cos(\frac{\delta}{2}) & -\sin(\frac{\delta}{2}) \\ \sin(\frac{\delta}{2}) & \cos(\frac{\delta}{2}) \end{vmatrix} \times \begin{vmatrix} \cos(\frac{\delta}{2}) & -\sin(\frac{\delta}{2}) \\ \sin(\frac{\delta}{2}) & \cos(\frac{\delta}{2}) \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{vmatrix} I_0$$

Dalam eksperimen diketahui bahwa kombinasi sudut yang terbentuk oleh polaritor 0° , QWP 30° , QWP -30° , dan analisator analisator 90° , dengan persebaran tegangan sebagai keluaran dari foto detector atas berkas masukan ditunjukkan sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil tegangan keluaran dengan menggunakan $P_{laser} = 10mW$

25	25	9.15
----	----	------



Gambar 1. a. Intensitas Laser He-Ne tanpa penyetabil, b. Dengan penyetabil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan menggunakan pelat $\lambda/4$ dan susunan seperti yang telah disebutkan dapat diperoleh berkas laser dengan refleksi minimum. Sehingga apabila berkas digunakan untuk penelitian lebih dalam dalam berbagai bidang, efek refleksi dapat dihilangkan dengan penggunaan sistem ini.

5. KESIMPULAN

Sistem dengan penyusunan polarisator, pelat $\lambda/4$, pelat $\lambda/4$, analisator dengan sudut yang dibentuk masing-masing plat berturut-turut 0° , 30° , -30° , dan 90° menghasilkan sistem yang dapat meminimalkan efek refleksi berkas laser He-Ne.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Bapak Gatut Yudoyono, Bapak Mulyono, Ibu pipit, dan teman-teman yang membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Hu, J., Ahola, T., dan Ikonen, E. (1995), "Development of iodine stabilized He-Ne lasers at MRI", *Measurement*, Vol. 16, hal. 187-193.
- Mäkinen, J., dan Ståhlberg, B. (1998), "Long-term frequency stability and temperature response of a polarization-stabilized He-Ne laser", *Measurement*, Vol. 24, hal. 179-185.
- Pedrotti, Frank L., and Pedotti, Leno S. (1993), *Introduction to Optics*, Prentice Hall, New Jersey.
- Rahayuningtjas, Endang S., Rohedi, Ali Y., dan Yudoyono, G. (2003), *Optika*, Lecture handout: Optika Modern, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

- Rubiyanto, A. (2009), *Desain dan Fabrikasi Laser Vibrometer Berbasis Interferometer sebagai Sensor Getaran*, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Saleh, Bahaa E.A., dan Teich, Malvin Carl. (1991), *Fundamental of Photonics*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Vairac, P., dan Cretin, B. (1996), "New Structures for Heterodyne Interferometric Probes using Double-Pass", *Optics Communications*, 132, 19-23.
- Tischler, M. (1992), *Optoelectronics: Fiber Optics and Laser*, 2nd edition, McGraw-Hill, Singapore.
- Wilson, J., dan Hawkes, J.F.B. (1987), *Lasers : Principles and Applications*, Prentice Hall, new castle.
- Yudoyono, G., Rohedi, Ali Y., Rahayuningtjas, Endang S., dan Setijono, A. (2001), *Optoelektronika*, Lecture handout: Optika Modern, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

POLA SPEKEL AKUSTO-OPTIK UNTUK PENDETEKSIAN GETARAN (*VIBRASI*) AKUSTIK PADA OBJEK YANG BERGETAR

Harmadi¹, Gatut Yudoyono², Mitrayana³, Agus Rubiyanto², dan Suhariningsih⁴

¹Departemen Fisika FMIPA UNAND, ²Departemen Fisika FMIPA ITS Surabaya, ³Departemen Fisika FMIPA UGM Yogyakarta, ⁴Departemen Fisika FST UNAIR Surabaya.

harmadimsi@yahoo.co.id, mitrayana@ugm.ac.id, arubi@physics.its.ac.id.

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk mendeteksi getaran (*vibrasi*) akustik pada suatu objek yang bergetar dari pola spekel akusto-optik. Penelitian ini dilakukan dengan menggetarkan suatu objek material. Ketika modulasi tegangan diberikan pada transduser, transduser mengkonversi sinyal listrik ke dalam objek material, sehingga terjadi perambatan gelombang bunyi pada material, dan seberkas cahaya koheren dari sebuah laser *He-Ne* ($\lambda=632.8nm$) diberikan pada material maka terjadi interaksi akusto-optik di dalam material yang menghasilkan pola radiasi dalam bentuk spekel. Pemberian frekuensi getar dimulai dari 1 Hz sampai dengan 10 Hz dengan tegangan 20 Vpp dari *Function Generator*. CCD camera 30 fps dapat mendeteksi pola spekel akusto-optik dari objek material yang digetarkan. Perubahan intensitas terhadap waktu dianalisa dengan menggunakan *Software Matlab 7.0*, sehingga dapat menggambarkan frekuensi getaran akustik dari objek material yang bergetar pada titik posisi pengamatan yang sama yaitu arah horizontal diatur pada 101 piksel, dan arah vertikal diatur pada 216 strip berupa video klip avi dengan ukuran gambar 320 x 240 piksel.

Kata kunci : Pola spekel, interaksi gelombang akustik dan optik, getaran akustik.

1. PENDAHULUAN

Léon Brillouin pada tahun 1922 ahli fisika perancis, adalah orang pertama berteori bahwa cahaya dapat dibawa oleh gelombang bunyi di suatu medium untuk menerangkan efek akusto-optik yang dianalogikan seperti suatu kisi difraksi. Ia mengadakan percobaan dengan menggunakan tabung akustik yang dilewati oleh cahaya, sehingga terjadi penghamburan gelombang cahaya oleh gelombang bunyi. Suatu gelombang akustik menghasilkan suatu tekanan periodik dari suatu material yang berpropagasi, mempengaruhi suatu perubahan sesuai dengan indeks bias dari medium. Setelah penemuan laser pada periode tahun 1960-an sampai sekarang mengalami kemajuan yang pesat dalam riset, teknologi serta aplikasi dalam bidang akusto-optik, yaitu dengan menggunakan berkas cahaya yang koheren.

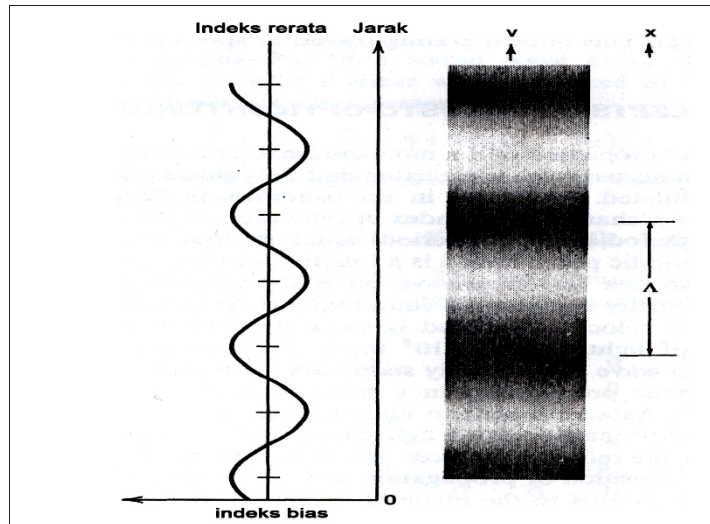
Suatu peralatan akusto-optik tersusun atas tiga komponen utama yaitu transduser piezoelektrik, medium akusto-optik, dan sumber laser. Transduser mengkonversi sinyal

listrik ke dalam material akusto-optik, sehingga terjadi perambatan gelombang bunyi pada material, dan jika seberkas cahaya koheren dari suatu sumber laser diberikan pada material maka akan terjadi interaksi akusto-optik di dalam material, yaitu interaksi gelombang akustik dengan gelombang optik menghasilkan berkas radiasi optis dalam bentuk peristiwa modulasi, difraksi, dan defleksi [Dennis T.G. & T.C. Poon, 2002]. Di dalam penelitian-penelitian yang dilakukan pola radiasi yang teramati adalah dalam bentuk *speckle imaging* (pencitraan bintik) dari hamburan (*scattering*) berkas laser yang melewati medium akusto-optik [M. Kempe, et al., 1997].

Minat penelitian yang bersifat eksperimen ini makin terus meningkat dan berkembang, seiring meningkatnya perkembangan yang luar biasa di bidang desain dan fabrikasi peralatan-peralatan industri dan peralatan medis (*medical devices*) yang andal, yang dapat mendeteksi dini (awal) material, biomaterial, biomolekuler, sel, jaringan (*tissue*), atau organisme. Adapun beberapa penelitian yang telah dilakukan dan kegunaan dari penelitian tersebut, di antaranya adalah untuk mengetahui karakteristik dan pencitraan dari hamburan kembali (*backscattering*) *in-situ local tissue* [Sandrine L.F., et al., 2001], pencitraan 3D di dalam media biologi [Juliette SELB, et al., 2001], menguji dan mendeteksi kerusakan di dalam struktur heterogen [A. Ghoshal, et al., 2003], menentukan pola radiasi akustik pada material *fused quartz* [Harmadi, et al., 2004], mendeteksi *phantom tissues* (kelainan jaringan) [Claude F.B., et al., 2003], dan pencitraan (*imaging*) biophotonik dengan metode AOT dan PAT [Lihong V.W., 2004].

2. TINJAUAN PUSTAKA

Interaksi antara gelombang bunyi dan gelombang cahaya disebut dengan interaksi akusto-optik. Efek akusto-optik adalah merupakan *strain* (regangan) mekanik yang dihasilkan di dalam material oleh perambatan gelombang akustik, menyebabkan perubahan indeks bias di dalam material melalui efek photoelastik. Suatu peralatan akusto-optik tersusun dari suatu medium akustik, seperti blok kristal atau kaca kecil dan suatu transduser piezoelektrik. Transduser mengkonversi sinyal listrik ke dalam perambatan gelombang bunyi dalam medium akusto-optik. Tekanan dalam gelombang bunyi menyebabkan suatu gangguan dalam indeks bias dari material (seperti diperlihatkan pada Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Variasi spasial indeks bias perambatan gelombang bunyi [Yarif A., (1984)]

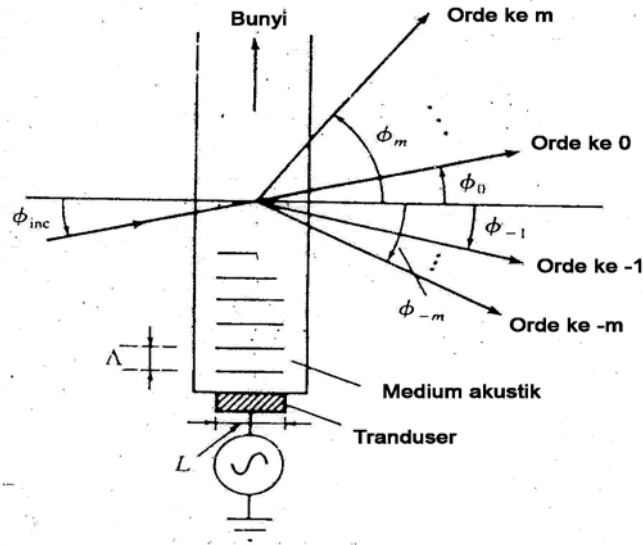
Pada Gambar 2.1 diperlihatkan variasi sinusoidal atau variasi spasial indeks bias dari perambatan gelombang bunyi yang mempunyai suatu perioda kisi Λ sama dengan panjang gelombang bunyi di material, dan bergerak sepanjang arah gelombang bunyi dengan kecepatan

$$v = \frac{\Omega}{|K|} = \frac{\Omega}{2\pi} \Lambda \quad (2.1)$$

Persamaan (2.1) adalah kecepatan bunyi dalam material. Peralatan akusto-optik (seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2), bertindak sebagai kisi tipis dengan separasi garis, ini sama dengan panjang gelombang dari bunyi Λ dalam medium akustik. Hal ini dapat ditunjukkan dengan menguji hamburan berkas cahaya di dalam suatu sel bunyi, sehingga terjadi phase pemisahan kisi cahaya datang kedalam beberapa orde difraksi, seperti ditunjukkan di dalam persamaan kisi berikut

$$\sin \phi_m = \sin \phi_{inc} + \frac{m\lambda_0}{\Lambda}, \quad m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots \quad (2.2)$$

dimana ϕ_m adalah sudut dari orde ke m berkas hamburan cahaya, ϕ_{inc} sudut datang, dan λ_0 panjang gelombang cahaya, semua ini di dalam medium akustik. Sehingga sudut antara orde-orde yang berdekatan (dari Gambar 2.2) sama dengan λ_0/Λ di dalam sel.

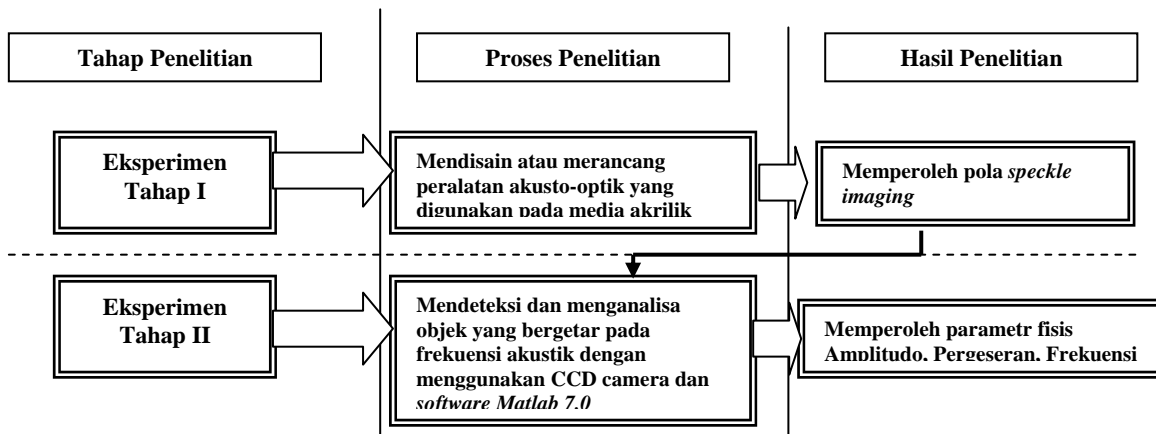


Gambar 2.2 Peralatan dasar akusto-optik [Banerjee (1991)]

3. BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorik, yaitu pengamatan pola *speckle* imaging akusto-optik untuk pendeteksian getaran (*vibrasi*) akustik pada media material akrilik yang digunakan untuk bahan pembuatan desain dan fabrikasi dari peralatan-peralatan industri dan medis, serta penelitian ini dilakukan di laboratorium.

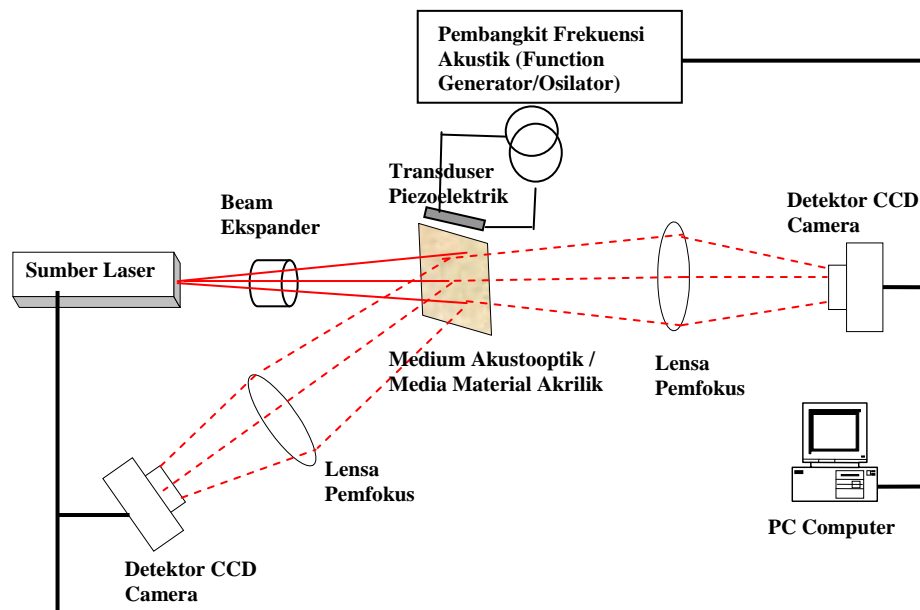
Untuk mewujudkan harapan dari penelitian ini maka dilakukan tahapan penelitian seperti pada Gambar 3.1 berikut ini :



Gambar 3.1 Skema Kerangka Operasional Penelitian

Pengukuran intensitas pola spekel akusto-optik peralatan disusun (seperti Gambar 3.2), dengan melihat pola bintang (*spot*) berkas laser pada layar berupa pola spekel dapat digunakan dengan menggunakan camera digital (CCD Camera), yang kemudian dianalisa

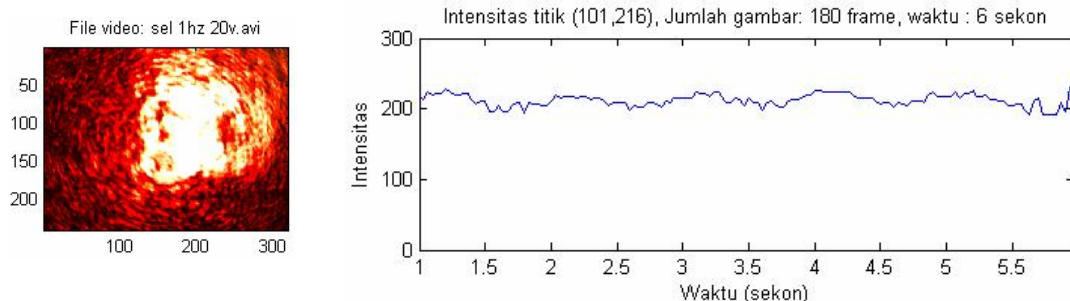
intensitas pola radiasi akustiknya dengan menggunakan *software computer*, sehingga bisa dilihat berapa besar perubahan intensitas.

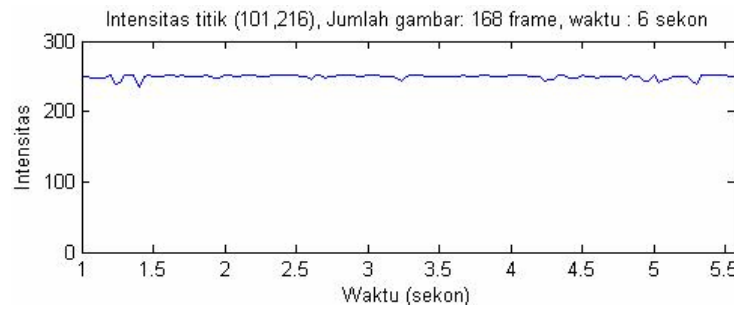
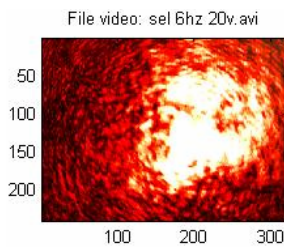
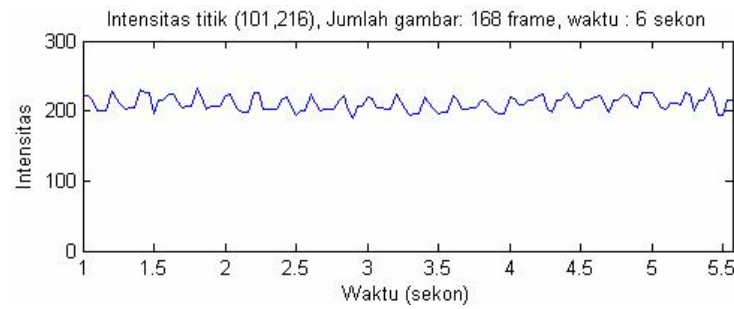
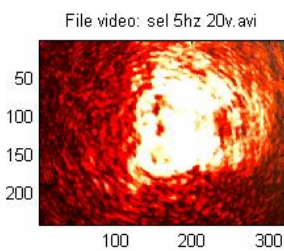
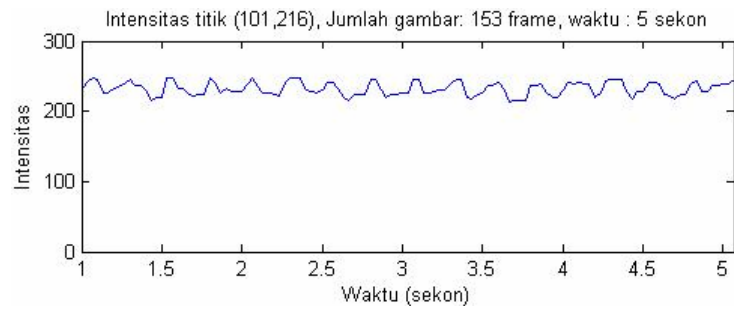
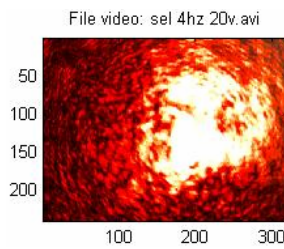
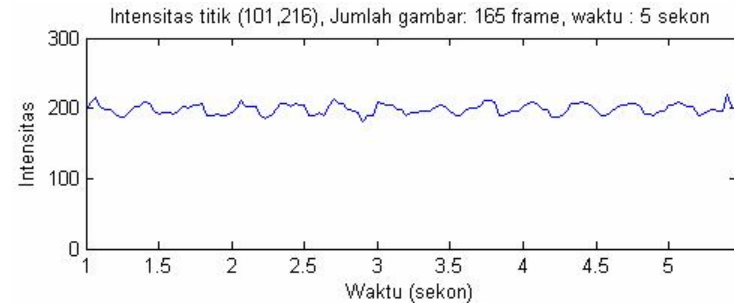
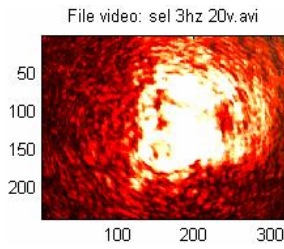
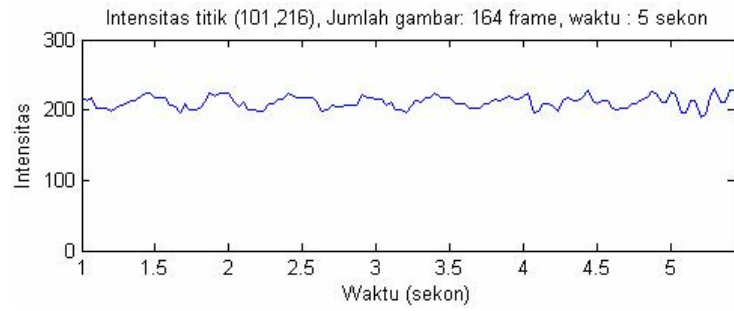
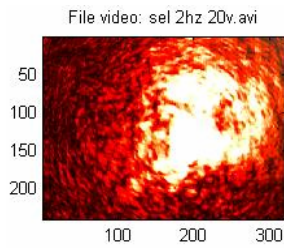


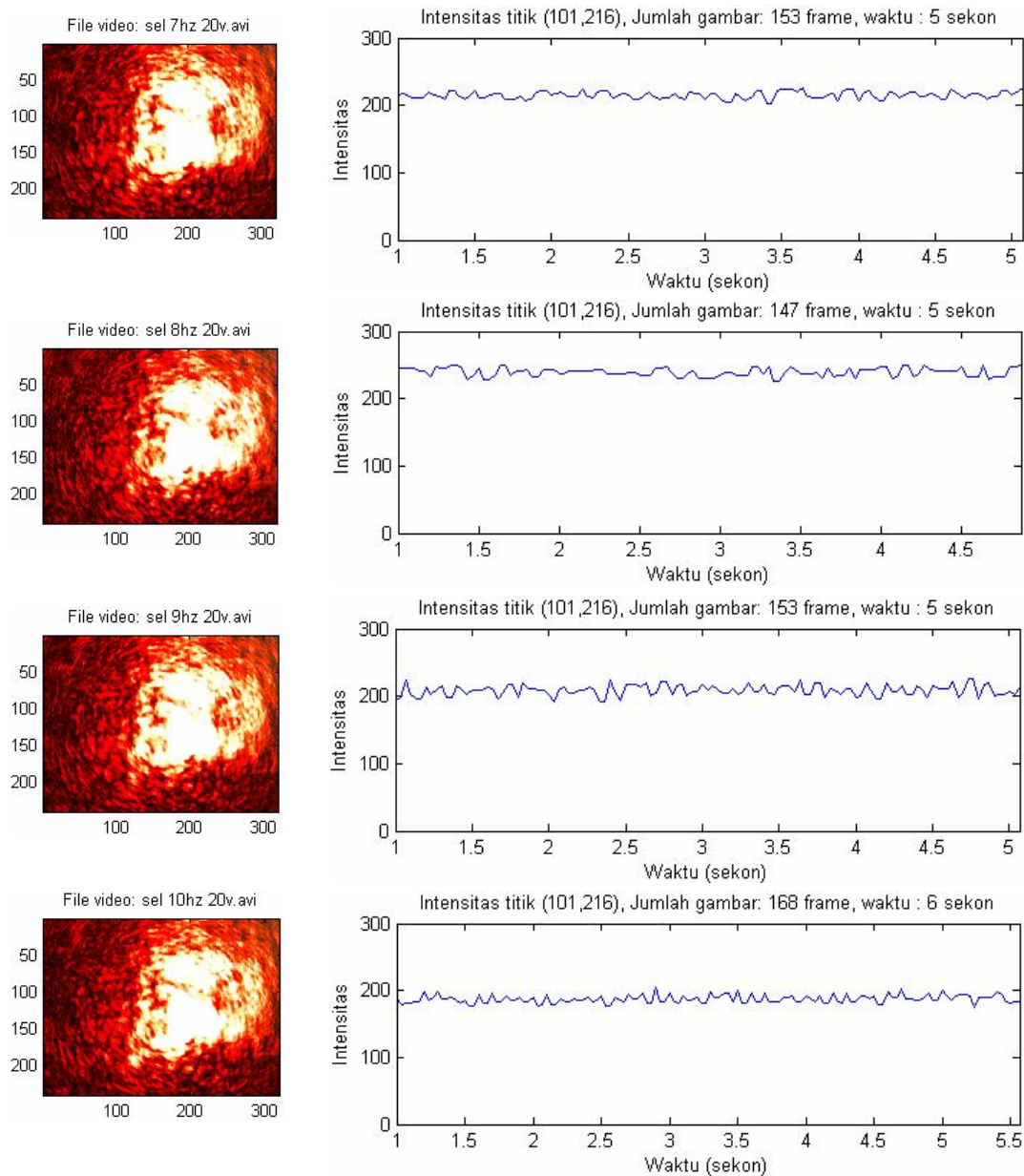
Gambar 3.2 Susunan peralatan penelitian.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh data pengamatan terhadap material akusto-optik yaitu menggunakan bahan akrilik dengan pemberian frekuensi 1 Hz, 2 Hz, 3 Hz, 4 Hz, 5 Hz, 6 Hz, 7 Hz, 8 Hz, 9 Hz, dan 10 Hz yang dibangkitkan oleh *Function Generator* pada tegangan 20 Vpp, sehingga diperoleh intensitas pola spekel untuk menentukan getaran dari suatu objek material yang bergetar tersebut. Secara berturut-turut data hasil pengamatan dideteksi dengan menggunakan CCD camera 30 frame perdetik, dan dianalisa dengan menggunakan *software Matlab 7.0* ditampilkan sebagai berikut :







Gambar 4.1 Hasil pengamatan intensitas pola spekel

Terlihat dengan posisi pengamatan yang sama yaitu pada arah horizontal diatur pada 101 piksel, dan arah vertikal diatur pada 216 strip dari suatu gambar berupa video klip avi dengan ukuran gambar 320 x 240 piksel. Setelah dianalisa didapatkan adanya perubahan secara dinamik intensitas pola spekel terhadap waktu, yaitu terlihat perubahan getaran atau frekuensi yang ditimbulkan oleh objek material yang bergetar, sesuai dengan frekuensi yang dipelihatkan pada masing-masing gambar dari hasil pengamatan, walaupun dipengaruhi oleh gangguan-gangguan (*noise*) dari lingkungan.

5. KESIMPULAN DAN PROSPEK

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan di dalam penelitian, maka diperoleh beberapa kesimpulan yaitu :

- Pola spekel akusto-optik dapat terbentuk dengan cara menembakkan berkas laser *Helium Neon* ($\lambda=632.8nm$) pada objek material akrilik yang digetarkan pada frekuensi akustik.
- Pola spekel akusto-optik dapat dideteksi dengan menggunakan CCD camera 30fps dan dengan menggunakan *software Matlab 7.0* dapat dianalisa frekuensi getaran akustik dengan cara melihat perubahan intensitas terhadap waktu.
- Dapat menggambarkan frekuensi akustik dari objek material yang bergetar pada titik posisi pengamatan yang sama, yaitu pada titik arah horizontal 101 dan arah vertikal 216 dari gambar video klip avi 320 x240 piksel.

5.2. Prospek

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka:

- Perlu disempurnakan peralatan pendeteksi CCD camera dengan spesifikasi yang lebih tinggi, untuk penangkapan pola spekel akusto-optik dengan frekuensi getar yang lebih tinggi.
- Perlu penyempurnaan bagaimana cara supaya mudah untuk penentuan titik posisi pengamatan dalam menentukan arah horizontal dan arah vertikal dari ukuran piksel gambar video klip avi.
- Dapat di terapkan pada industri dan teknologi di bidang pertanian maupun medis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada penyelenggara BPPS Pascasarjana UNAIR 2007/2010, Hibah Penelitian Program Doktor 2009 DP2M DIKTI, dan Hibah Penelitian Guru Besar ITS, yang telah memfasilitasi dan membiayai penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk pengembangan dunia ilmu pengetahuan dan teknologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Banerjee, P. P., Poon, Ting-Chung, (1991), "Principles of Applied Optics", Richard D. Irwin, Inc., Boston.
- Das, P.K., DeCusatis, C.M., (1991), "Acousto-Optic Signal Processing: Fundamentals & Applications", Artech House, Inc., Boston.
- Dennis, T.G., T.C. Poon, (2002), "Measurement of acoustic radiation pattern in an acousto optics modulator", SEC on.

- Dixon, R.W, (1967), "Photoelastic Properties of Selected Materials and Their Relevance for Applications to Acoustic Light Modulator and Scanners", *J.of App. Phys.* (Dec.) 38:5149.
- Ghoshal, A., et al., (2003), "Eksperimental Investigation of Damage Detection in Composite Material Structures using a Laser Vibrometer and Piezoelectric Actuators", *J. of Intelligent Material System and Structures*, 14 ; 521.
- Harmadi, Imam Taufiq, Wildian, Agus Rubiyanto, & Gatut Yudoyono, (2007), "Acoustooptic Effect of an Modulator and Deflector Acoustooptic Utilized to Determine Acoustic Radiation Pattern and to Measure Vibration on High Frequency Using Heterodyne Laser Vibrometer Method", *Laporan Penelitian PEKERTI*, DP2M DIKTI.
- Harmadi, & Rubiyanto, A, (2004), "Pengukuran Pola Radiasi Akustik dari Suatu Modulator Akustik-Optik dengan Menggunakan Laser He-Ne", *Prosiding Sem. Nas. Pasacasaryana IV*, Vol. 1-267.
- Juliette SELB, et al., (2001), "3D Acousto-optic modulated-speckle imaging in biological tissues", *Applied Physics Biophysics C. R. Acad. Sci. Paris*, t.2, serie IV, p.1213-1225.
- Kempe, M., et al., (1997), "Acousto-optic tomography multiply scattered light", *J. Opt. Soc. Am.*, Vol. 14, No. 5.
- Lihong V.W., (2004), "Ultrasound-mediated Biophotonic Imaging: A review of Acousto-optical tomography and photo-acoustic tomography", *IOS Press*, 123-138.
- Misto, & Rubiyanto, A., (2003), "Pengukuran Frekuensi Getaran dengan Teknik yang Berbasis pada Interferometer Michelson", pp.A5.1-A5.4.
- Morris, T., (1992), *Optoelectronics: Fiber Optics and Laser A Text- Lab Manual*, Second Edition, Glencoe, Singapore.
- Sandrine L.F., et al., (2001), "In Situ local Tissue Characterization and Imaging by Backscattering Acousto-optic Imaging", *Elsevier Science*, Optics communications 196 : 127-131.
- Vairac, P., & Cretin, B., (1996), "New Structures for heterodyne Interferometric Probes Using Double-pass", *Optics Communications*, 132, 19-32.
- Whitaker, J. C., (1996), "The Electronics Handbook", Technical Press, inc., Beaverton, Oregon.
- Yariv, A., Yeh, P., (1984), "Optical Waves in Crystals. Propagation and Control of Laser Radiation", John Wiley & Sons,inc., New York.

**ALAT PERAGA FISIKA MENGGUNAKAN *INTERFACING* SENSOR CAHAYA
DENGAN STOPWATCH PADA PERCOBAAN GERAK JATUH BEBAS
DALAM PEMBELAJARAN FISIKA**

Stepanus Sahala S.

Pend. Fisika FKIP Universitas Tanjungpura

Abstrak

Tujuan penelitian ini dilakukan untuk melihat dan mempelajari sejauh mana alat peraga fisika menggunakan *interfacing* sensor cahaya dengan stopwatch dapat diaplikasikan pada percobaan gerak jatuh bebas di laboratorium. Metode pengolahan data dari penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode kuadrat terkecil dan metode visualisasi data dalam bentuk grafik atau kurva dari variabel yang dikehendaki sehingga diperoleh hubungan antara variabel dan penghitungan konstante atau koefisien dari rumus percepatan gravitasi. Dari hasil analisis data diperoleh grafik jarak terhadap waktu yang menunjukkan satu garis lurus dan grafik kecepatan terhadap waktu yang menunjukkan garis melengkung, sehingga diperoleh suatu hubungan antar variabel dan gradien atau tingkat kemiringan grafik sebesar 4.84. Hasil perhitungan gradien diperoleh percepatan gravitasi (g) yaitu sebesar 9.7 m/s^2 . Percepatan gravitasi (g) yang dihasilkan hampir mendekati nilai percepatan gravitasi sebenarnya yaitu $9,8 \text{ m/s}^2$ dan mempunyai perbedaan hanya selisih $0,1 \text{ m/s}^2$ saja dari hasil penelitian. Ini membuktikan bahwa alat ini dapat bekerja dengan baik dan stopwatch dapat bekerja secara otomatis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meminimalisasi keakuratan dan ketepatan perhitungan waktu benda saat jatuh bebas dan dapat dijadikan salah satu metode baru dalam melakukan percobaan gerak jatuh bebas.

Kata kunci: *interfacing* sensor cahaya, percepatan gravitasi, gerak jatuh bebas.

1. PENDAHULUAN

Pada hakikatnya pembelajaran fisika terdiri dari tiga aspek yaitu produk, proses dan sikap, sehingga hasil belajar siswa diharapkan bukan hanya berupa konsep atau prinsip saja yang merupakan hasil dalam ranah kognitif, tetapi juga keterampilan proses yang merupakan ranah psikomotor dan sikap yang merupakan ranah afektif. Hasil belajar afektif dan psikomotor tidak dapat dicapai jika pembelajaran hanya secara teoritis saja (Carin & Sund, 1989).

Dalam kurikulum untuk mata pelajaran fisika termuat bahwa kompetensi umum diantaranya adalah kemampuan melakukan kerja ilmiah melalui eksperimen atau pengalaman meliputi kemampuan melakukan pengukuran, pengujian hipotesis, merancang eksperimen, mengumpulkan dan mengolah data, menginterpretasi serta mengkomunikasikan hasil eksperimen tersebut disamping kemampuan melakukan

penalaran ilmiah. Melalui kerja ilmiah yang dilakukannya, siswa diharapkan dapat memiliki sikap ilmiah dan mampu bekerja sama dengan orang lain (Depdiknas, 2001).

Untuk melakukan kerja ilmiah, alat peraga yang digunakan tidaklah harus alat peraga yang mahal harganya. Alat peraga untuk membantu siswa memahami konsep fisika dan melakukan kerja ilmiah untuk memperoleh keterampilan proses dapat dilakukan dengan menggunakan alat peraga yang sederhana (Rustaman, 2003).

Keterbatasan dana pada laboratorium-laboratorium fisika merupakan salah satu bagi penentuan alat-alat praktikum yang akan digunakan. Penghematan yang cukup besar dapat dilakukan dengan menggunakan stopwatch digital sebagai pengganti peralatan *Timing Unit* yang jauh lebih mahal. Stopwatch dipilih untuk percobaan ini karena sangat berguna untuk demonstrasi di laboratorium dan juga cara menggunakannya yang mudah dan sederhana.

Inovasi seperti ini sangat dibutuhkan untuk laboratorium. Kecuali untuk meningkatkan presisi (ketepatan) dan akurasi (ketelitian) pada eksperimen, juga memperkenalkan instrumen elektronika. Jika inovasi seperti ini dilanjutkan untuk percobaan-percobaan yang lainnya, maka peningkatan yang sangat berarti dapat diperoleh oleh laboratorium-laboratorium baik itu dari segi belajar mengajar maupun dari segi perawatan dan pengadaan peralatan (Mujadi, 1995).

Pada percobaan gerak jatuh bebas yang sebelumnya menggunakan stopwatch untuk menghitung waktu benda jatuh bebas, hasil yang diperoleh kurang begitu akurat dan tepat, sehingga dengan *interfacing* sensor cahaya pada stopwatch secara otomatis perhitungan waktu benda jatuh dapat langsung terbaca oleh praktikan dan hasil yang diperoleh lebih akurat dan tepat dibandingkan dengan percobaan sebelumnya.

Rangkaian *interfacing* ini menggunakan LED inframerah sebagai pemancar dan fototransistor sebagai penerimanya. Selain itu rangkaian ini juga menggunakan IC 4066 (saklar dua sisi/bilateral, berempat). Penggunaan LED inframerah dikarenakan LED jenis ini lebih sensitif dari pada LED sinar tampak dan LED inframerah lebih stabil terhadap gangguan-gangguan sekelilingnya.

Sedangkan keuntungan menggunakan IC 4066 adalah karena IC ini mempunyai resistansi yang sangat tinggi pada keadaan off dan resistansi yang sangat rendah pada keadaan on. Hal ini melindungi stopwatch dari pen-triggeran rangkaian yang mungkin akan terjadi karena penggunaan tegangan yang tidak sesuai. Rangkaian ini juga cocok untuk beberapa macam stopwatch yang diproduksi oleh pabrik yang berbeda. Jadi hanya diperlukan sedikit modifikasi pada stopwatch jika kita ingin menggunakan rangkaian ini.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk melihat dan mempelajari sejauh mana alat ini dapat diaplikasikan pada percobaan gerak jatuh bebas di

laboratorium Fisika. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meminimalisasi keakuratan dan ketepatan perhitungan waktu benda saat jatuh bebas dan lebih memudahkan percobaan gerak jatuh bebas serta dapat dijadikan salah satu metode baru dalam melakukan percobaan gerak jatuh bebas.

2. Metode Penelitian

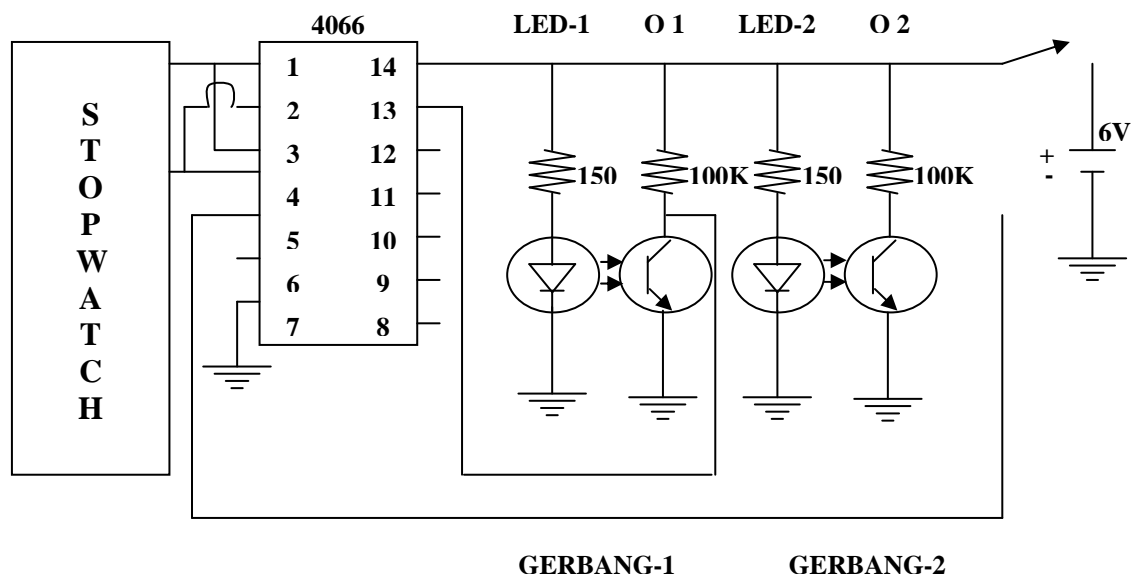
2.1. Desain Alat

Alat yang digunakan untuk percobaan gerak jatuh bebas ini menggunakan rangkaian elektronika, maka desain alat menjadi amat penting untuk diperhatikan. Alat ini dibuat cukup kecil dan praktis sehingga dapat dimasukkan kedalam kotak kecil yang mudah dipindah-pindahkan. Sedangkan stopwatch diletakkan di atas kotak tersebut, sehingga yang terlihat dari luar adalah sebuah kotak kecil dan stopwatch.

Selain itu yang terpenting adalah mendesain bentuk sensor infrared agar mudah digunakan untuk melakukan percobaan. Hal yang perlu diperhatikan dalam mendesain bentuk sensor adalah alat ini akan diletakkan pada statip panjang agar jarak antara sensor I dan sensor II dapat diubah-ubah, selanjutnya peletakkan dan jarak antara diode pemancar infrared dan phototransistor penerima infrared juga harus diatur sedemikian rupa agar sensor dapat bekerja secara optimal dan sensor dapat dilewati oleh benda yang akan menjadi objek untuk jatuh bebas.

2.2. Cara Kerja Alat

Rangkaian elektronik alat yang dibuat adalah seperti pada Gambar 1 di bawah ini. Rangkaian ini sangat menguntungkan karena komponennya dapat diperoleh dengan mudah dan harganya tidak terlalu mahal.



Gambar 1. Rangkaian Dasar Alat

Rangkaian tersebut terdiri dari dua *gate* (gerbang), yaitu *gate 1* dan *gate 2*. *Gate 1* merupakan *gate start* dan *gate 2* merupakan *gate stop*. Kedua *gate* tersebut masing-masing terdiri dari LED infrared dan phototransistor.

Pada rangkaian gambar 1, ketika rangkaian dihubungkan dengan sumber tegangan maka LED di kedua gerbang akan menyala. LED yang menyala ini akan memancarkan cahaya infrared yang kemudian diterima oleh *phototransistor*, hal ini akan menyebabkan tegangan di *phototransistor* mendekati nol dan pada saat ada benda lewat di *gate 1*, maka tegangan di *phototransistor* besarnya akan mendekati besar sumber tegangan. Jadi pada saat benda melewati *gate 1*, ada pulsa yang dikirim dari menghitung. Hal yang sama terjadi pada *gate 2*, tetapi pada *gate 2* pulsa yang dikirim oleh *phototransistor* akan menghentikan stopwatch yang sedang menghitung.

Berdasarkan cara kerja inilah maka dapat mengukur waktu tempuh benda yang dijatuhkan dan melewati kedua sensor tersebut. Karena dapat mengukur waktu dan jarak yang dilewati benda tersebut sehingga dapat mengukur besarnya gravitasi, maka berdasarkan rumus :

$$X - X_0 = V_0 t + \frac{1}{2} g t^2$$

Atau

$$v = \frac{x}{t} = \frac{s}{t}$$

Berdasarkan grafik yang diperoleh, dapat dihitung gradien (m) dengan rumus berikut:

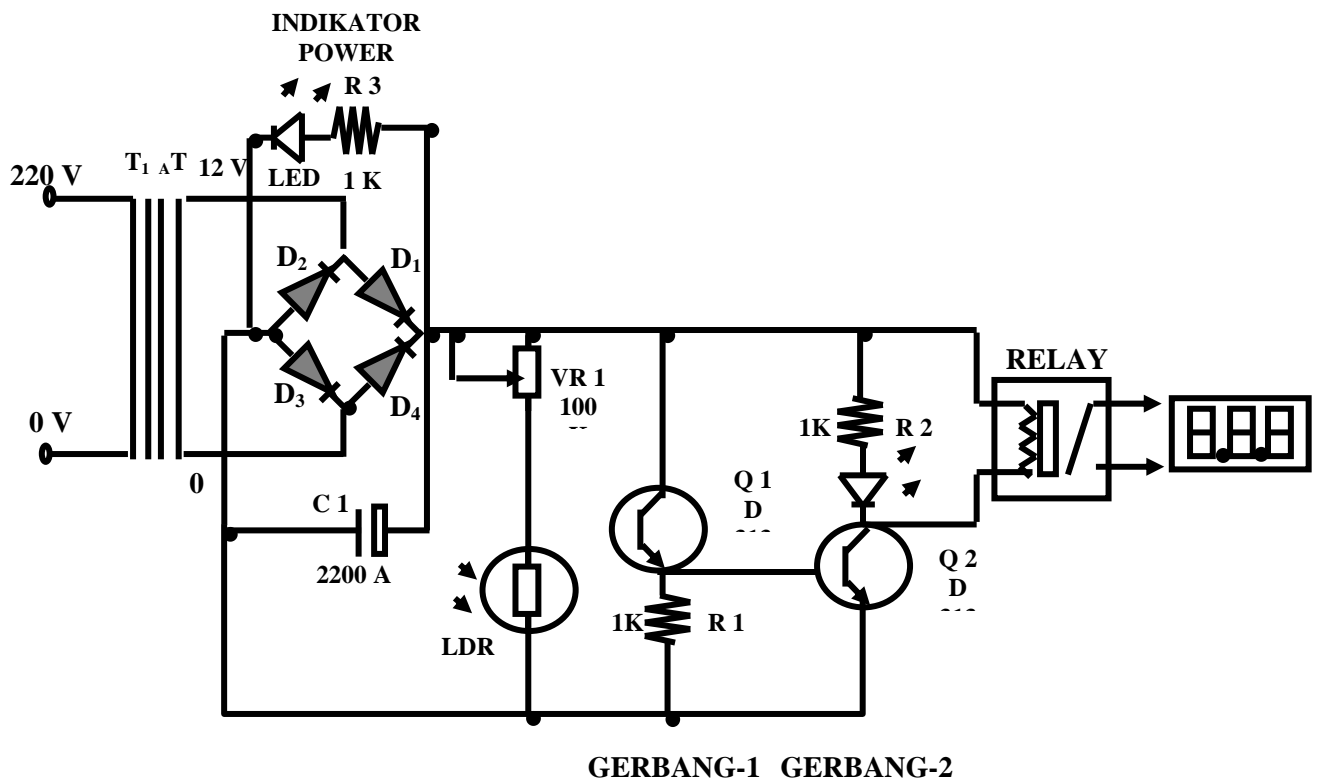
$$m = \frac{\Delta v}{\Delta t} = \frac{v_t - v_0}{t - t_0}$$

Dari grafik yang diperoleh dapat juga dihitung percepatan atau gravitasinya

$$m = \frac{1}{2} g$$

$$g = 2m$$

Setelah melakukan berbagai uji coba ketika menggunakan IC 4066, tingkat sensitifitasnya sangat tinggi terhadap rangsangan. Bahkan angin saja dapat membuat alat tersebut bisa bekerja apalagi ada pengaruh dari intensitas cahaya. Maka dengan mencoba menganalisis dan memodifikasi rangkaian tersebut dengan mengganti IC 4066 dengan dioda 4 kaki (D313) dikombinasi dengan relay dan LDR. Dengan demikian tingkat sensitifitasnya bisa diatur, seperti ditunjukkan seperti Gambar 2.

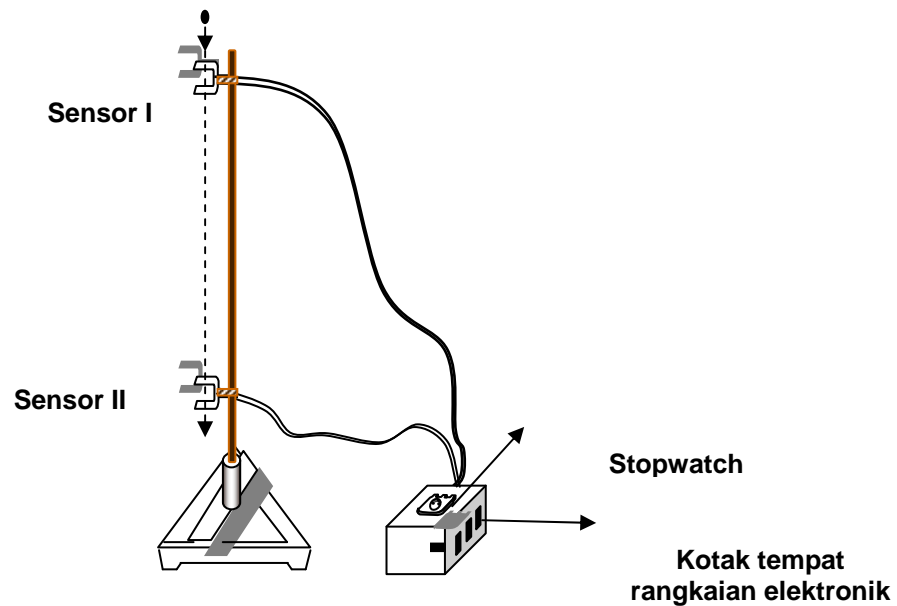


Gambar 2. Skema Rangkaian Dasar Alat

2.3. Metode Pengambilan dan Pengolahan Data

Pengambilan data dilakukan dengan cara melepaskan bola dari atas sensor pertama dan mencatat waktu yang tertera pada stopwatch, setelah benda tersebut melewati sensor kedua. Data yang diambil sebanyak 10 kali untuk tiap-tiap jarak antara dua sensor (h), sedangkan variasi jarak diubah sebanyak 80 kali, yaitu dengan cara menggeser jarak sensor I terhadap sensor II setiap 1 cm (dari 6 cm sampai 86 cm).

Yang dilakukan pada saat pengambilan data yaitu data diambil sebanyak 10 kali untuk tiap jarak antara dua sensor (h), dimulai dari jarak 20 cm kemudian digeser sensor I terhadap sensor II setiap 10 cm (dari 20 cm sampai 100 cm).



Gambar 3. Gambar Alat Penelitian

Metode pengolahan data dari percobaan yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode kuadrat terkecil. Metode ini mengolah data dengan cara memvisualisasikan data dalam bentuk grafik atau kurva dari variabel yang di kehendaki.

Tujuan dibuatnya grafik pada metode ini adalah :

1. Melihat hubungan antara variabel
2. Menghitung konstanta atau koefisien dari rumus.

Untuk keperluan nomor 1, yaitu melihat hubungan antar variabel, dilakukan dengan cara membuat /memplot semua titik data pada grafik dan mencari pola dari titik-titik data yang ada (dibuat garis lurus atau garis lengkung). Sedangkan untuk keperluan nomor 2, yaitu untuk menghitung konstanta atau koefisien rumus maka diusahakan agar kurva berbentuk fungsi linier.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan dengan cara melepaskan bola dari atas sensor pertama dan mencatat waktu yang tertera pada stopwatch, setelah benda tersebut melewati sensor kedua. Pengambilan data dilakukan sebanyak 10 kali untuk tiap jarak antara dua sensor (h), dimulai dari jarak 20 cm kemudian digeser sensor I terhadap sensor II setiap 10 cm (dari 20 cm sampai 100 cm). Adapun data-data yang dihasilkan adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Data Penelitian

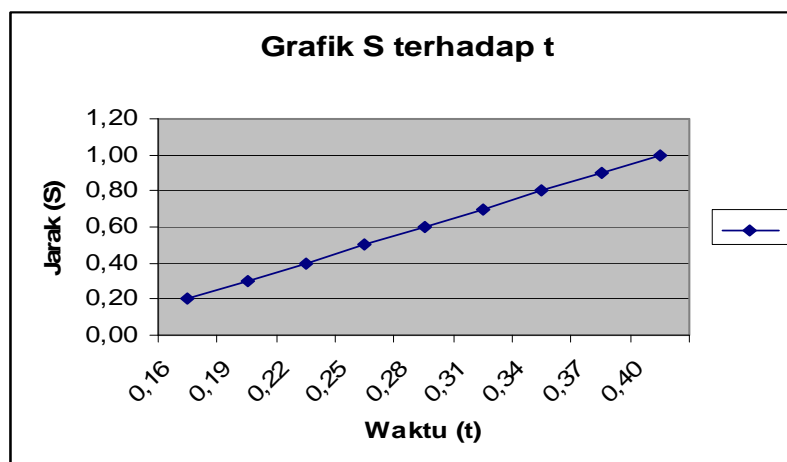
No	Jarak (h) meter	Waktu (t) sekon									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,2	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
2	0,3	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
3	0,4	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
4	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
5	0,6	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
6	0,7	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
7	0,8	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
8	0,9	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
9	1	0,4	0,41	0,41	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41

3.2. Perhitungan Data

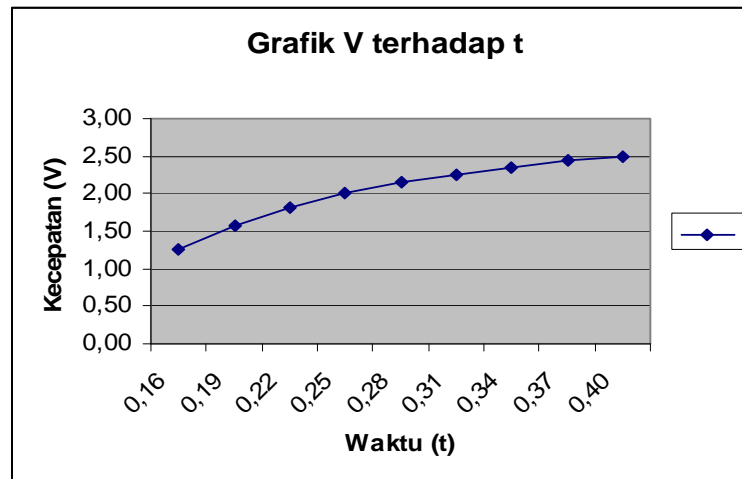
Tabel 2. Kecepatan Rata-rata (\bar{V})

No	Jarak (h) meter	Waktu (\bar{t}) sekon	Kecepatan Rata-rata (\bar{V}) meter/sekon
1	0,2	0,16	1,25
2	0,3	0,19	1,58
3	0,4	0,22	1,82
4	0,5	0,25	2
5	0,6	0,28	2,14
6	0,7	0,31	2,33
7	0,8	0,34	2,4
8	0,9	0,37	2,43
9	1	0,408	2,45

3.3. Grafik Hasil Data



Gambar 4. Grafik hubungan jarak (s) terhadap waktu (t)



Gambar 5. Grafik hubungan kecepatan (V) terhadap waktu (t)

3.4. Perhitungan Gradien pada Grafik

$$m = \frac{\Delta v}{\Delta t} = \frac{v_t - v_0}{t - t_0}$$

$$m = \frac{2,45 - 1,25}{0,408 - 0,16} = \frac{1,2}{0,248} = 4,84$$

$$m = \frac{1}{2} g$$

$$g = 2m$$

$$g = 2 \times 4,84 = 9,68 = 9,7 \text{ m/s}^2$$

3.5. Pembahasan

Interfacing sensor cahaya pada stopwatch aplikasi pada percobaan gerak jatuh bebas berfungsi sebagai alat untuk menghitung waktu benda jatuh bebas secara otomatis khususnya pada laboratorium fisika.

Berdasarkan fungsi alat dan rangkaian yang dibuat ternyata setelah berulang kali melakukan uji coba, rangkaian yang menggunakan IC 4066 memiliki sensitifitas yang sangat peka sehingga berpengaruh terhadap rangsangan angin dan intensitas cahaya. Pada saat angin bertiup alatnya bekerja secara otomatis sedangkan pada cahaya yang terang alat tidak dapat bekerja. Karena itulah IC 4066 diganti dengan dioda empat kaki (D313) dan dikombinasikan dengan relay dan LDR. Setelah diujicobakan kembali ternyata alat dapat bekerja dengan baik. Bahkan diluar dugaan alat ini yang semula hanya dapat bekerja pada jarak antar sensor sebesar 13 cm tetapi dapat bekerja kurang lebih 2 meter dengan hanya mengubah sensornya sesuai jarak yang diinginkan. Semula sensor dibuat

berbentuk U, kemudian dimodifikasi sehingga sensornya dibuat saling berhadapan. Alat ini tidak hanya digunakan pada praktikum gerak jatuh bebas saja tetapi dapat pula pada praktikum gerak vertikal ke atas maupun gerak lurus.

Dari hasil analisis data yang dijelaskan di atas, diperoleh grafik jarak terhadap waktu menunjukkan satu garis lurus dan juga grafik kecepatan terhadap waktu menunjukkan garis melengkung jadi diperoleh suatu hubungan antar variabel. Dari grafik dapat juga ditentukan gradien atau tingkat kemiringan grafik sebesar 4.84 dan dari gradien tersebut dapat menentukan gravitasi yang ada yaitu sebesar :

$$m = \frac{1}{2} g$$

$$g = 2m$$

$$g = 2 \times 4,84 = 9,68 = 9,7 m / s^2$$

Percepatan gravitasi (g) yang dihasilkan hampir mendekati nilai percepatan gravitasi sebenarnya yaitu $9,8 m / s^2$ mempunyai perbedaan hanya selisih 0,1 saja dari hasil penelitian. Ini membuktikan bahwa alat ini dapat bekerja dengan baik dan stopwatch dapat bekerja secara otomatis. Boleh dikatakan bahwa alat yang dibuat dan dirancang ini dapat digunakan untuk kegiatan percobaan gerak jatuh bebas di laboratorium fisika.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian dan data yang diperoleh, bahwa alat percobaan gerak jatuh bebas ini dapat bekerja berdasarkan rangsangan cahaya. Stopwatch dapat bekerja secara otomatis ketika bola di jatuhkan melewati sensor I waktu mulai dicatat dan berhenti pada saat bola melewati sensor II. Dari grafik dapat ditentukan gradien sebesar 4,84 dan gravitasi sebesar $9,7 m / s^2$ yang nilainya mendekati angka percepatan gravitasi yang sebenarnya dalam tabel konstante percepatan gravitasi yaitu $9,8 m / s^2$.

Untuk ke depannya diharapkan alat ini bisa bermanfaat untuk menunjang sarana dan prasarana untuk percobaan gerak jatuh bebas, gerak vertikal ke atas dan gerak lurus serta aplikasinya pada masyarakat diharapkan alat ini dapat digunakan sebagai model alat sensor maling yang dipasang di jendela dan pintu rumah atau tujuan kepentingan yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin M., 1988. Buku Pedoman Laboratorium dan Petunjuk Praktikum Pendidikan IPA Umum (General Science). Jakarta ; Depdikbud, Dirjen Dikti Proyek LPTK.
- Armitage E., 1982. Practical Physics in SI. London ; Jhon Murray, Publishers Ltd 50 Albemarle Street.

- Blosser, Patricia E., 1981. A Critical Review of the Role of the Laboratory in Science Teaching. Columbus, Ohio ; ERIC Clearinghouse for Science, Mathematics, and Environmental Education.
- Carin Arthur, 1993. Teaching Science Through Inquiri, New York : The Macmillan Company.
- Cooper, William D, 1978. Electronic Instrumentation and Measurement Techniques, 2 ed. London Prentice Hall Inc. N . J .
- Collete, A.T. & Chiappetta E. L., 1994. Science Instruction in Middle and Secondary Schools, New York ; Macmillan Publishing Company.
- Depdiknas , 2002. Model Pembelajaran Sekolah Dasar. Jakarta: Depdiknas.
- Druxer, Herbert, Cernot Born dan Fritz Siemens, 1986. Kompendium Didaktik Fisika, Bandung ; Remaja Karya.
- Dimiyati, Surahman, 2008. Inkuari dalam Pendidikan Sains dan Implementasinya. (online), Sdimiyati@mail.ut.ac.id (24 Oktober 2008).
- Driver,R. & Oldham,V., 1986. A Constructivist Approach to Curriculum Development in Science, Studies in Science Education, 13, 105-106.
- Faulkenberry, Luces M, 1982. An Introduction to Operational Amplifiers, with linier IC Application, 2 ed. Canada ; John Willey & Son Inc. Canada.
- Funk, James H., et al, 1979. Learning Science Process Skill, Iowa ; Kendall/HUN Publishing Company.
- Giancoli, Douglas C, 1998. Fisika. Jakarta; Erlangga.
- Harlen, W., 1992. The Teaching of Science, London ; David Fulton Publisher.
- Indrawati, 1979. Ketrerampilan Proses Sains/IPA, Bandung; Depdikbud.
- Lawson, Anton, 1988. Science Teaching and The Development of Thinking, Belmont California ; Wadsworth Publishing Company.
- Malvino, Albert Paul, 1979. Electronic Principles, 2 ed. California ; McGraw-Hill.
- Nur,M, 2002. Keterampilan-keterampilan Proses Sains, Surabaya ; Unesa University Press
- Resnick, Robert & Halliday, David, 1978. Physics, 3 ed. Canada ; John Willey & Son Inc.
- Rezba, Richard J., 1995. Learning and Assessing Science Proses Skills, Third Edition Iowa ; Kendall/Hunt Publishing Company.
- Setiawan, 2006. Model Pembelajaran Matematika dengan Pendekatan Investigasi, Yogyakarta, Dekdiknas Pusat Pengembangan dan Penataran Guru Matematika
- Sumisjo, Kartono, 1998. Elektronika Praktis, cetakan ke 8. Jakarta; Erlangga.
- Sarojo, Ganijati Aby, 1978. Mekanika, Teori dan Soal. Jurusan Fisika FIPIA, Jakarta; Universitas Indonesia.
- Subiyanto, 1988. Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam. Jakarta ; Depdikbud, Dirjen Dikti Proyek LPTK.
- Sumual H., 1988. Penuntun Praktek Laboratorium Listrik, Jakarta ; Depdikbud, Dirjen Dikti Proyek LPTK.
- Soejoto dan Euis Sustini, 1993. Petunjuk Praktikum Fisika Dasar. Jakarta ; Depdikbud, Dirjen Dikti Proyek Pembinaan TKPT.
- Warsito, S, 1982. Sirkuit Arus Searah Seri Pelajaran Elektronik 1, cetakan ke 7. Jakarta; KaryaUtama.

PENGARUH KONSENTRASI DOPING HCI PADA POLIANILIN TERHADAP KARAKTERISTIK SENSOR GAS AMONIA (NH₃)

Akhiruddin Maddu, Deni Christopel Pane, Setyanto Tri Wahyudi

Bagian Biofisika, Departemen Fisika FMIPA Institut Pertanian Bogor

Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

akhiruddin@ipb.ac.id

Abstrak

Dalam tulisan ini dilaporkan pembuatan dan karakteristik sensor gas amonia berbasis bahan polianilin dengan variasi konsentrasi doping HCl. Prinsip kerja sensor didasarkan pada perubahan sifat listrik (resistansi) polianilin ketika dikenai gas amonia. Berdasarkan data hasil uji sensor, semakin besar konsentrasi gas amonia yang diberikan semakin kecil nilai resistansi polianilin, sebaliknya konduktansi sensor semakin meningkat. Variasi doping HCl pada lapisan polianilin berpengaruh terhadap karakteristik sensor. Konsentrasi doping yang lebih tinggi menghasilkan sensitivitas sensor yang lebih tinggi, namun dengan kisaran konsentrasi amonia yang lebih rendah. Linearitas sensor menurun seiring kenaikan konsentrasi doping HCl pada bahan sensor (polianilin). Sensor juga memperlihatkan reversibilitas dan reproduksibilitas yang baik.

Kata Kunci : Polianilin, doping HCl, gas amonia (NH₃), resistansi

1. PENDAHULUAN

Amonia (NH₃) saat ini dijadikan sebagai bahan baku pupuk, abu soda, asam nitrat, nilon, plastik, pencelup, karet dan bahan peledak. Amonia memiliki sumbangan penting bagi keberadaan nutrisi di bumi, amonia sendiri adalah senyawa kaustik dan dapat merusak kesehatan. Administrasi Keselamatan dan Kesehatan Pekerjaan Amerika Serikat memberikan batas 15 menit bagi kontak dengan amonia dalam gas berkonsentrasi 35 ppm, atau 8 jam untuk 25 ppm. Kontak dengan gas amonia berkonsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan paru-paru dan bahkan kematian [1].

Oleh karena itu, dibutuhkan sebuah piranti yang dapat mendeteksi gas amonia agar terhindar dari bahaya gas tersebut dengan memanfaatkan teknologi sensor. Berbagai sensor amonia telah dikembangkan, salah satunya adalah menggunakan material polimer konduktif seperti polianilin. Polianilin (PANI) merupakan salah satu bahan polimer yang sering diteliti karena mudah disintesis dan mudah dalam proses *doping* [2].

Polianilin memiliki sifat yang sangat unik yaitu dapat mengalami perubahan sifat optik dan listrik yang dapat balik (*reversible*) melalui reaksi redoks dan *doping/dedoping*

atau protonasi/deprotonasi [3]. Polianilin merupakan bahan polimer konduktif di bawah kondisi tertentu, seperti pada saat dikenai cahaya UV, panas atau penambahan *dopant* yang sesuai pada polimer [4]. Piranti berbasis polimer konduktif menunjukkan potensi untuk aplikasi seperti sebagai sensor untuk mendeteksi uap bermacam-macam gas [5], sebagai baterai sekunder [6] dan LED [7].

Prinsip sistem gas amonia berbasis polianilin didasarkan pada perubahan resistansi polilin ketika diekspose dengan gas seperti amonia sehingga merupakan sensor resistif. Dari keempat bentuk isolatif polianilin yaitu *leucomeraldine base* (LB), *emeraldine base* (EB), *nigranilin base* (NB) dan *pernigranilin base* (PB), yang dapat dibuat menjadi konduktif hanya bentuk EB saja. Bentuk EB dapat dibuat konduktif dengan proses *doping* asam protonik seperti HCl. Bentuk EB yang konduktif ini yang akan digunakan sebagai material sensor gas amonia. Ketika permukaan pasta polianilin dikenai gas amonia maka akan terjadi perubahan resistansi yaitu semakin tinggi konsentrasi gas amonia semakin rendah resistansinya [2].

Dalam penelitian ini dikaji pengaruh konsentrasi doping HCl pada polianilin terhadap karakteristik sensor amonia. Dalam hal ini dilakukan polimerisasi kimia monomer anilin dengan penambahan doping HCl dengan variasi konsentrasi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, monomer anilin, HCl, Ammonium peroksidisulfat, FeCl_3 , dan PCB (printed card board). Sedangkan peralatan yang digunakan adalah sensor tegangan, sensor tekanan, tabung reaksi, multimeter, baterai 9 volt, *syringe* dan *gas chamber*.

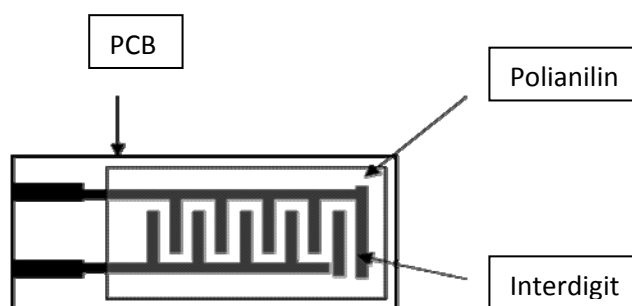
2.2. Sintesis Polianilin

Polianilin disintesis dari monomer anilin melalui polimerisasi kimia. Mula-mula dibuat dua larutan secara terpisah, yaitu larutan 1 ml monomer anilin di dalam 200 ml akuades dan larutan 1 g Ammonium peroksidisulfat di dalam HCl 4 M. Kedua larutan dicampur sambil diaduk dan dibiarkan bereaksi selama 24 jam. Endapan disaring dengan kertas saring, kemudian dicuci dengan aquabides beberapa kali. Dengan cara yang sama, polianilin dibuat lagi dengan menggunakan konsentrasi HCl yang berbeda, 5 M dan 6 M.

2.3. Pembuatan Sensor

Mula-mula dibuat interdigit pada substrat PCB. Interdigit digambar pada PCB dengan menggunakan spidol permanen membentuk pola seperti dua sisir sebagai elektroda-elektroda yang saling berhadapan namun tidak saling kontak (Gambar 1).

Setelah itu, FeCl_3 dilarutkan dalam air panas. Selanjutnya, PCB yang telah digambar dengan pola interdigit direndam dengan larutan FeCl_3 sehingga lapisan tembaga terlepas dan hanya bagian yang akan menjadi rangkaian yang tetap mengandung lapisan tembaga pada permukaannya membentuk pola interdigit. Pasta polianilin tersebut dideposisikan diatas pola interdigit pada substrat PCB, ujung dua elektroda tidak ditutupi dengan lapisan polianilin. Skema sensor diperlihatkan pada Gambar 1.

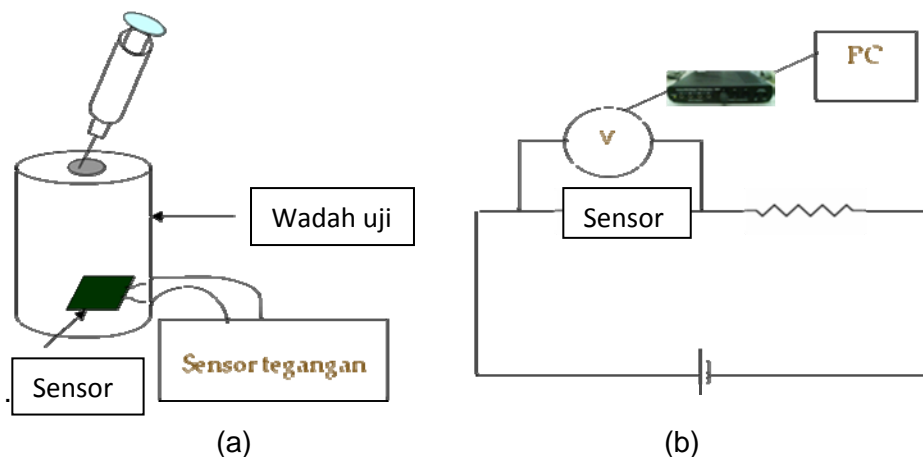


Gambar 1. Sensor amonia

2.4. Rangkaian dan Pengujian Sensor

Setelah sensor berhasil dibuat selanjutnya dilakukan uji respon sensor dengan merangkai sensor amonia secara seri dengan sebuah sumber tegangan (baterai 9V) dan sebuah hambatan tetap, dengan demikian tegangan terbagi antara sensor dan hambatan tetap. Sebuah sensor tegangan (Voltage sensor) dihubungkan dengan dua elektroda sensor amonia yang telah dibuat, sensor tegangan dihubungkan ke Interface (PASCO *Science Workshop*) untuk mengambil dan mengirim data tegangan keluaran (output voltage) sensor ke komputer (PC) yang telah dilengkapi dengan software (*DataStudio*, PASCO) (Gambar 2b). Ketika nilai hambatan sensor dari bahan polianilin berubah saat diekspose dengan gas amonia, tegangan jatuh yang terbaca juga berubah.

Sensor amonia dimasukkan ke dalam wadah uji yang tertutup rapat, namun memiliki tutup dari bahan karet untuk menginjeksi gas amonia dengan sebuah syringe (Gambar 2a). Pengujian sensor dilakukan dengan menginjeksi uap amonia ke dalam wadah uji yang diambil dari uap larutan NH_4OH di dalam botol menggunakan syringe. Data tegangan diambil dengan komputer (PC), diawali sebelum sensor diekspose dengan gas amonia. Tanpa menghentikan komputer, gas amonia diinjeksi ke dalam wadah uji sambil mengambil data tegangan hingga mencapai nilai tegangan stasioner. Gas amonia ditambahkan lagi ke dalam wadah sambil mengukur tegangan, demikian selanjutnya hingga beberapa nilai tekanan atau konsentrasi gas di dalam wadah uji.



Gambar 2. Pengujian sensor amonia (a) Wadah uji, (b) Rangkaian pengujian sensor

Dari pengujian ini diperoleh respon dinamik sensor (tegangan vs waktu) berbentuk tangga yang terdiri dari beberapa tegangan stasioner. Berdasarkan kurva respon dinamik tersebut dapat diketahui karakteristik sensor diantaranya sensitivitas, linearitas, reversibilitas dan waktu respon (*response time*).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

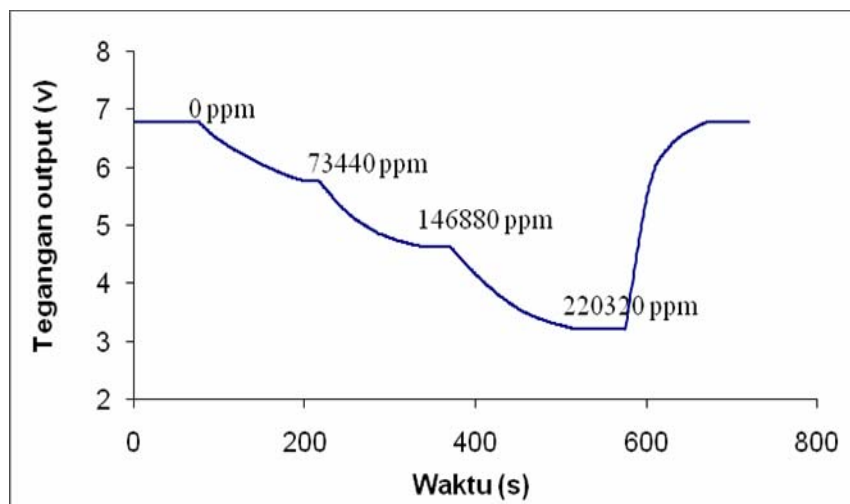
Telah dibuat tiga buah sensor gas amonia dari bahan polianilin yang didoping HCl dengan konsentrasi berbeda (4 M, 5 M dan 6 M). Gambar 3, 4 dan 5 menunjukkan respon dinamik sensor terhadap konsentrasi gas amonia, masing-masing memperlihatkan kurva berbentuk tangga yang menurun seiring meningkatnya konsentrasi gas amonia yang diberikan.

Gambar 3 adalah kurva respon dinamik sensor dengan lapisan polianilin berdoping HCl 4M. Sebelum diekspose gas amonia, tegangan sensor terbaca sekitar 6,8 V, ketika diekspose dengan gas amonia dengan konsentrasi $7,3 \times 10^4$ ppm, tegangan turun hingga mencapai tegangan stasioner sekitar 5,8 V. Penambahan konsentrasi gas amonia berikutnya hingga $14,6 \times 10^4$ ppm, tegangan stasioner turun lagi menjadi sekitar 4,6 V. Penambahan konsentrasi gas amonia hingga konsentrasi 22×10^4 ppm menghasilkan tegangan stasioner 3,2 V. Secara keseluruhan kurva respon yang dihasilkan berupa tangga menurun. Penurunan nilai tegangan sensor ketika diekspose dengan gas amonia diakibatkan oleh menurunnya nilai hambatan (resistansi). Saat wadah uji dibuka, gas amonia akan keluar dari wadah hingga gas amonia di dalam wadah habis, tegangan secara drastis meningkat lagi ke nilai tegangan semula (6,8 V) akibat kembalinya (meningkat lagi) nilai hambatan ke nilai semula. Artinya sensor memiliki reversibilitas yang baik.

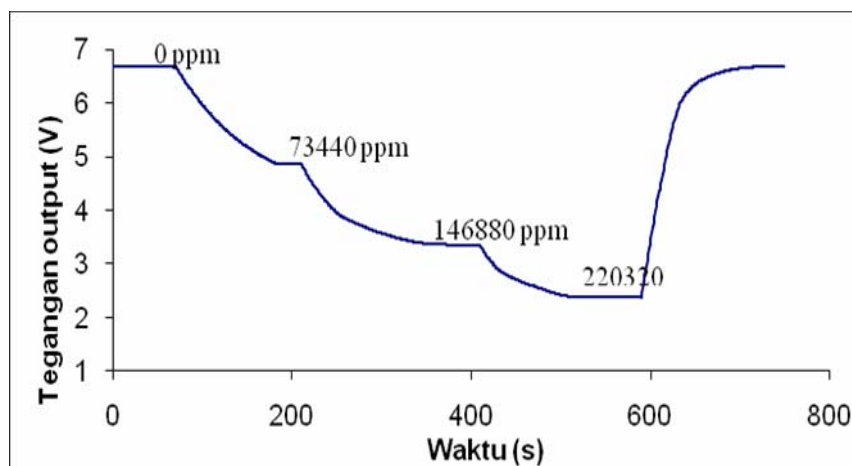
Gambar 4 adalah kurva respon dinamik sensor dengan lapisan polianilin berdoping HCl 5M. Perlakuan dan pengukurannya sama dengan sensor sebelumnya. Kurva yang

dihasilkanpun mirip dengan kurva dinamik sensor sebelumnya namun berbeda dalam nilai-nilai tegangan stasioner yang dihasilkan. Sebelum diekspose gas amonia tegangan sensor terbaca sekitar 6,7 V, ketika diekspose dengan gas amonia berturut-turut dengan konsentrasi $7,3 \times 10^4$, $14,6 \times 10^4$, dan 22×10^4 ppm, tegangan stasioner sensor menurun hingga mencapai 2,5 V untuk konsentrasi amonia 22×10^4 ppm.

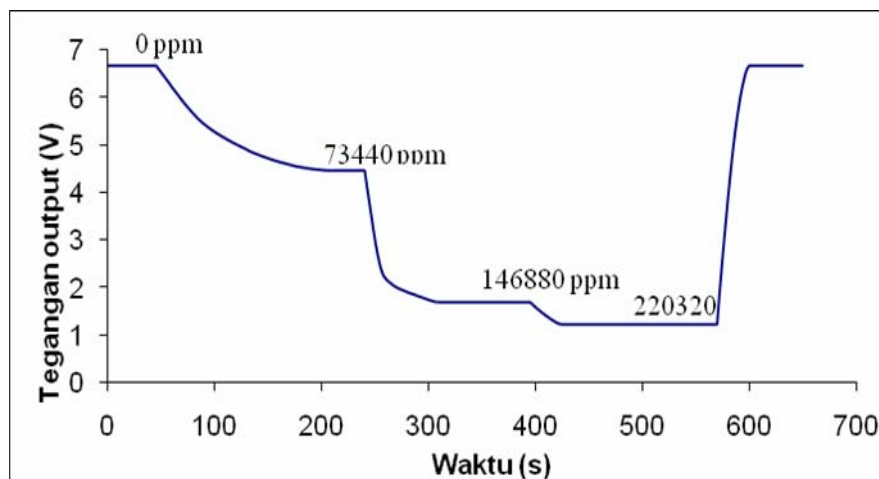
Gambar 5 adalah kurva respon dinamik sensor dengan lapisan polianilin berdoping HCl 6M. Perlakuan dan pengukurannya sama dengan dua sensor sebelumnya. Kurva dinamik yang dihasilkanpun mirip, hanya berbeda dalam nilai-nilai tegangan stasioner yang dihasilkan. Untuk sensor dengan doping HCl 6M menghasilkan penurunan tegangan sensor yang lebih besar dibanding dua sensor sebelumnya. Penambahan konsentrasi gas amonia hingga konsentrasi 22×10^4 ppm di dalam wadah uji menghasilkan tegangan stasioner mencapai 1,2 V. Dengan demikian kurva respon yang dihasilkan jauh lebih curam dari dua sensor sebelumnya.



Gambar 3. Kurva respon dinamik sensor polianilin dengan doping HCl 4M



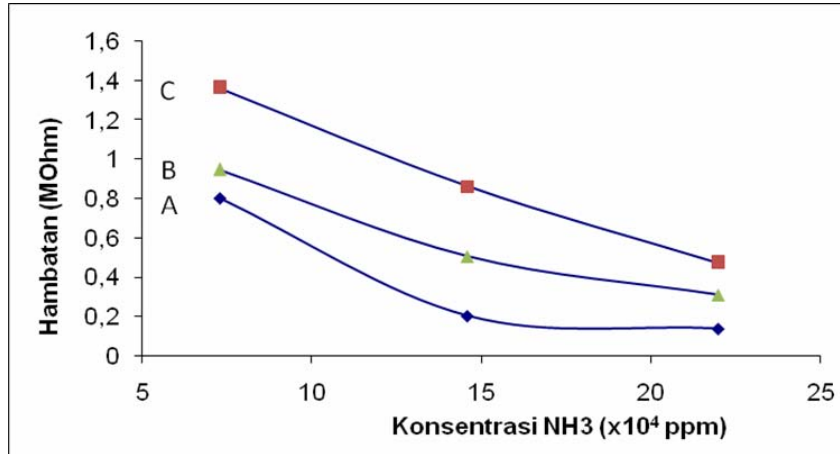
Gambar 4. Kurva respon dinamik sensor polianilin dengan doping HCl 5M



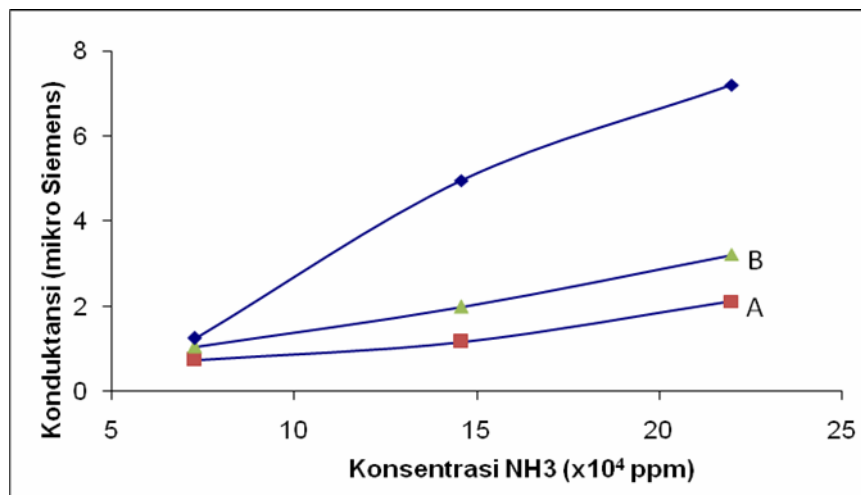
Gambar 5. Kurva respon dinamik sensor polianilin dengan doping HCl 6M

Kurva hubungan antara tegangan sensor terhadap konsentrasi gas amonia untuk masing-masing sensor ditunjukkan pada kurva yang insersi dalam kurva dinamik Gambar 3–5. Tampak bahwa nilai tegangan sensor untuk semua sensor menurun terhadap kenaikan konsentrasi gas amonia yang diberikan, namun memiliki linearitas kurva yang berbeda. Linearitas kurva terbaik dimiliki oleh sensor dengan konsentrasi doping HCl paling kecil yaitu 4M. Seiring kenaikan konsentrasi doping pada lapisan polianilin, linearitasnya menurun. Khusus untuk untuk sensor dengan doping HCl tertinggi yaitu 6M, linearitas sensor terpotong pada konsentrasi gas amonia 15×10^4 ppm. Artinya sensor dengan doping HCl 6M lebih sensitif untuk konsentrasi amonia dibawah 15×10^4 ppm dengan sensitivitas lebih tinggi dibanding yang lainnya. Sedangkan sensor dengan doping HCl 4M memiliki kisaran deteksi paling luas hingga konsentrasi tertinggi namun dengan sensitivitas lebih rendah.

Gambar 6 menunjukkan kurva hambatan lapisan polianilin terhadap konsentrasi gas amonia yang diperoleh dari kurva respon dinamik sensor. Nilai resistansi dihitung menggunakan hubungan $V=IR$, dimana tegangan (V) merupakan tegangan stasioner untuk setiap konsentrasi gas amonia yang diberikan. Gambar 6 memperlihatkan tiga kurva hubungan nilai hambatan sensor terhadap konsentrasi gas amonia masing-masing untuk sensor berdoping HCl 4M, 5m dan 6M. Ketiga kurva menunjukkan kecenderungan penurunan nilai resistansi sensor terhadap kenaikan konsentrasi gas amonia, yang mengakibatkan penurunan nilai tegangan stasioner. Namun tampak bahwa linearitas sensor lebih baik untuk sensor dengan konsentrasi doping HCl lebih kecil, bersesuaian dengan kurva tegangan sensor terhadap konsentrasi gas amonia.



Gambar 6. Kurva nilai hambatan sensor terhadap konsentrasi NH₃ untuk sensor dengan konsentrasi doping HCl (A) 4M, (B) 5M dan (C) 6M



Gambar 7. Kurva nilai konduktansi sensor terhadap konsentrasi NH₃ untuk sensor dengan konsentrasi doping HCl (A) 4M, (B) 5M dan (C) 6M

Gambar 7 memperlihatkan kurva hubungan antara konsentrasi gas amonia dengan konduktansi sensor untuk tiga sensor dengan konsentrasi doping HCl berbeda. Nilai konduktansi dihitung dari nilai resistansi sensor untuk setiap konsentrasi gas amonia. Ketiga sensor memperlihatkan bahwa nilai konduktansi sensor meningkat terhadap kenaikan konsentrasi gas amonia yang diberikan. Hal ini disebabkan oleh semakin tingginya jumlah proton yang ditransfer dari gas amonia ke polianilin ketika diekspose dengan gas amonia, akibatnya jumlah proton di dalam polianilin meningkat sehingga konduktansinya juga meningkat. Ketiga kurva memiliki kemiringan berbeda. Semakin tinggi konsentrasi doping HCl pada polianilin, semakin curam kurva yang dihasilkan. Ini mengindikasikan sensitivitas sensor meningkat terhadap kenaikan konsentrasi doping HCl pada polianilin.

4. KESIMPULAN

Telah berhasil dibuat sensor gas amonia menggunakan lapisan polianilin (PANI). Perubahan resistansi lapisan polianilin ketika diekspose dengan gas amonia dimanfaatkan untuk mendeteksi gas amonia. Semakin besar konsentrasi gas amonia yang diberikan maka resistansi polianilin semakin kecil, sebaliknya konduktansi sensor. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan ion proton di dalam lapisan polianilin yang meningkatkan nilai konduktansinya. Variasi doping HCl berpengaruh terhadap karakteristik sensor. Konsentrasi doping yang lebih tinggi menghasilkan sensitivitas sensor yang lebih tinggi untuk konsentrasi doping HCl yang lebih tinggi. Linearitas sensor menurun seiring kenaikan konsentrasi doping HCl pada bahan sensor (polianilin). Sensor juga memiliki reversibilitas dan reproduksibilitas yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim. *Toxic FAQ Sheet for Ammonia*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), September 2004.
- [2] Wang Y, Jing X, Kong J. *Polyaniline Nanofibers Prepared with Hydrogen Peroxide as Oxidant*. *Synthetic Metals* 157, 269-275 (2007)
- [3] Maddu A, Wahyudi ST, Kurniati M. *Sintesis dan Karakterisasi Nanoserat Polianilin*. *Jurnal Nanosains & Nanoteknologi* 1(2), Indonesia, 74-78 (2008)
- [4] Sayed WM, Soliman LI. *Optical Properties of Polyaniline Salt and Polyaniline Base With KBr, CO(CH₃COO)₂ and Picric Acid Composites*. *Fizika A (Zagreb)* 9(4), 147-152 (2000)
- [5] Hosseini SH, Oskooei SHA, Entezami AA. *Toxic Gas and Vapour Detection by Polyaniline Gas Sensors*. *Iranian Polymer Journal*. 14(4), 2005, 333-344.
- [6] Seo K, Lee K, Gopalan AI. *Horseradish Peroxidase (HRP) Immobilized Poly(aniline-comaminophenol) Film Electrodesfabrication and Evaluation as Hydrogen Peroxide Sensor*. *Sensors* 2007, 7, 719-729.
- [7] Hosseini SH, Entezami AA. *Studies of Thermal and Electrical Conductivity Behaviours of Polyaniline and Polypyrrole Blends with Polyvinyl Acetate, Polystyrene and Polyvinyl Chloride*. *Iranian Polymer Journal*. 14(3), 2005, 201-209

PEMBUATAN NANO ALLOY MgNi DENGAN TEKNIK BALL MILLING

M.N. Indro, R. Permatasari, A. Insani

Departemen Fisika, FMIPA Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Abstrak

Telah dibuktikan bahwa komposisi paduan logam Mg₂Ni dan MgNi₂ berukuran antara 50 - 90 nm dapat dihasilkan menggunakan teknik *ball milling* dengan waktu *milling* sekitar 20 jam. Komposisi Mg₂Ni lebih mudah dan lebih cepat terbentuk dengan peningkatan fraksi volume sekitar 1,13 %/jam dibanding 0,67 %/jam pada MgNi₂. Pembentukan kedua komposisi MgNi tersebut disertai proses oksidasi sehingga menghasilkan komposisi MgO yang cukup dominan.

Kata kunci: Nano alloy, MgNi, *Ball Milling*

1. PENDAHULUAN

Hidrogen merupakan salah satu sumber energi yang ramah lingkungan, banyak tersedia dan dapat diperbaharui namun belum ditemukan cara yang efektif dalam penyimpanannya [1-3]. Telah diteliti sebelumnya bahwa logam atau alloy berbasis magnesium dapat digunakan sebagai penyimpan gas hidrogen karena dapat membentuk senyawa hidrida walaupun kapasitasnya belum cukup besar, yaitu sekitar 7,6 % dari beratnya [4]. Alloy MgNi dengan beberapa komposisi Mg dan Ni merupakan salah satu material yang mampu mengabsorpsi hidrogen secara signifikan karena Ni merupakan katalis dalam proses absorpsi hidrogen tersebut [5-7].

Ball milling atau *mechanical alloying* merupakan salah satu cara untuk menghasilkan alloy berukuran nano meter [8]. Dalam proses *ball milling* partikel-partikel Mg dan Ni tercampur dan tertumbuk secara periodik oleh bola bola stainless steel sehingga dapat bergabung menjadi alloy Mg₂Ni atau MgNi₂ dengan ukuran yang lebih kecil [9].

2. BAHAN DAN METODE

Bahan yang dipergunakan: serbuk Mg (99,8%, 270 mesh), serbuk Ni (99,0%, 10 µm), aseton, aquades, gas argon. Alat-alat yang diperlukan: neraca, mesin *ball milling*, vial, 60 bola *stainless steel* (2 gram, 8 mm), gelas kimia 50 ml, XRD, dan SEM. Untuk membuat 15 gram Mg₂Ni diperlukan 6,8 gram serbuk Mg dan 8,2 gram serbuk Ni, sedangkan untuk membuat 15 gram MgNi₂ diperlukan 2,57 gram serbuk Mg dan 12,43 gram serbuk Ni. Kedua serbuk tersebut dimasukkan ke dalam vial yang berisi 60 bola *stainless steel* kemudian vial dikocok oleh mesin *ball milling*.

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan Mg₂Ni dan MgNi₂ dengan memvariasikan durasi waktu proses *ball milling* dari 5 jam hingga 20 jam seperti terlihat pada Tabel 1. Setelah proses *milling* selama 5 jam vial menjadi panas, sehingga proses *milling* 20 jam dilakukan secara bertahap (dihentikan setiap 5 jam).

Identifikasi fasa sampel dilakukan menggunakan XRD kemudian hasilnya dibandingkan dengan data JCPDS untuk komposisi bahan Mg₂Ni dan MgNi₂. Penentuan fraksi volume untuk kedua sampel tersebut dilakukan dengan menggunakan program MAUD, dan identifikasi ukuran partikel dilakukan menggunakan SEM.

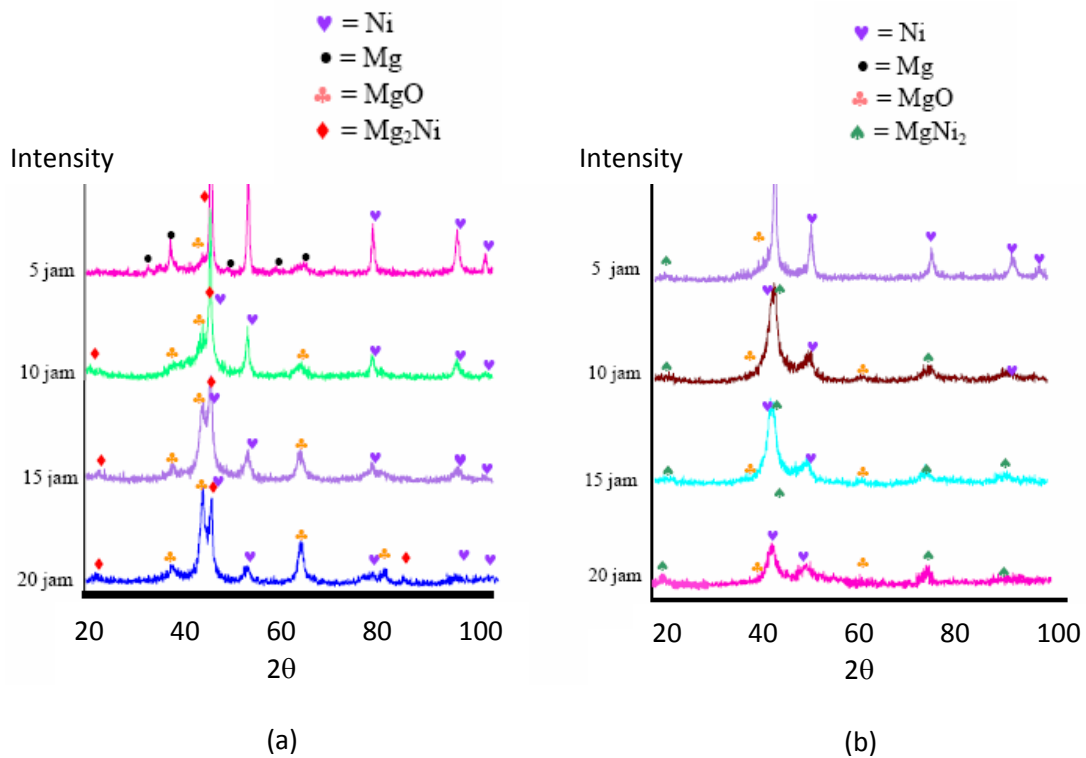
Tabel 1. Komposisi sampel dan durasi perlakuannya

Komposisi Sampel	Durasi waktu <i>milling</i>
Mg ₂ Ni	5 jam
	10 jam
	15 jam
	20 jam
MgNi ₂	5 jam
	10 jam
	15 jam
	20 jam

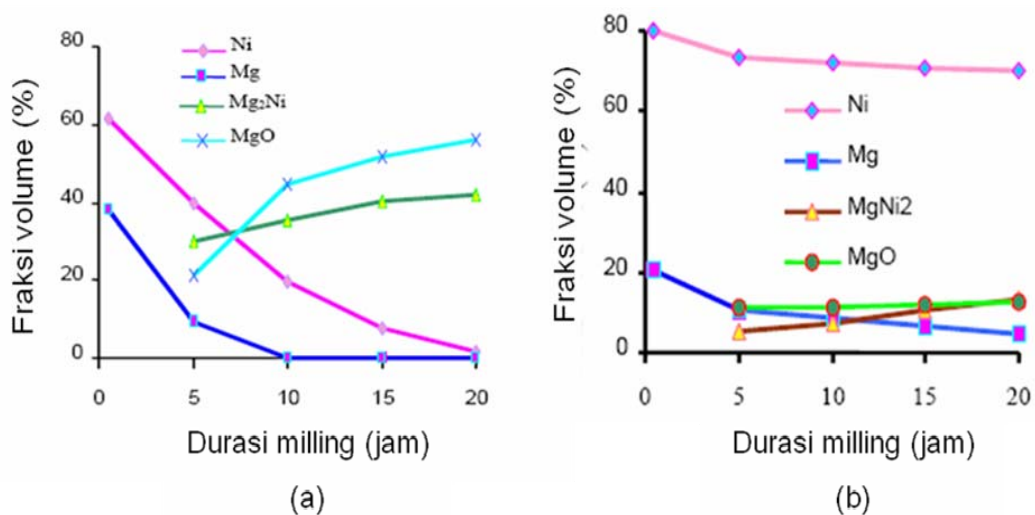
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan perlakuan *milling* 5 jam fasa Mg₂Ni maupun MgNi₂ sudah mulai terbentuk walaupun belum cukup banyak. Karakterisasi menggunakan XRD menunjukkan bahwa pembentukan kedua jenis sampel semakin meningkat seiring dengan meningkatnya durasi waktu *milling* seperti terlihat pada Gambar 1 (pola difraksi sinar-X) dan Gambar 2 (fraksi volume) untuk kedua sampel tersebut.

Pada pola difraksi XRD untuk kedua sampel terlihat pula munculnya MgO. Terbentuknya fasa MgO mengindikasikan bahwa proses *milling* disertai juga oksidasi karena sulit menjaga temperatur dan masuknya udara ke dalam vial. Selain meningkatkan fraksi volume Mg₂Ni dan MgNi₂, meningkatnya durasi waktu *milling* juga disertai dengan meningkatnya fraksi volume MgO dan menurunnya fraksi volume Mg dan Ni seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Hasil karakterisasi sampel menggunakan XRD untuk kedua sampel: (a) Mg₂Ni dan (b) MgNi₂



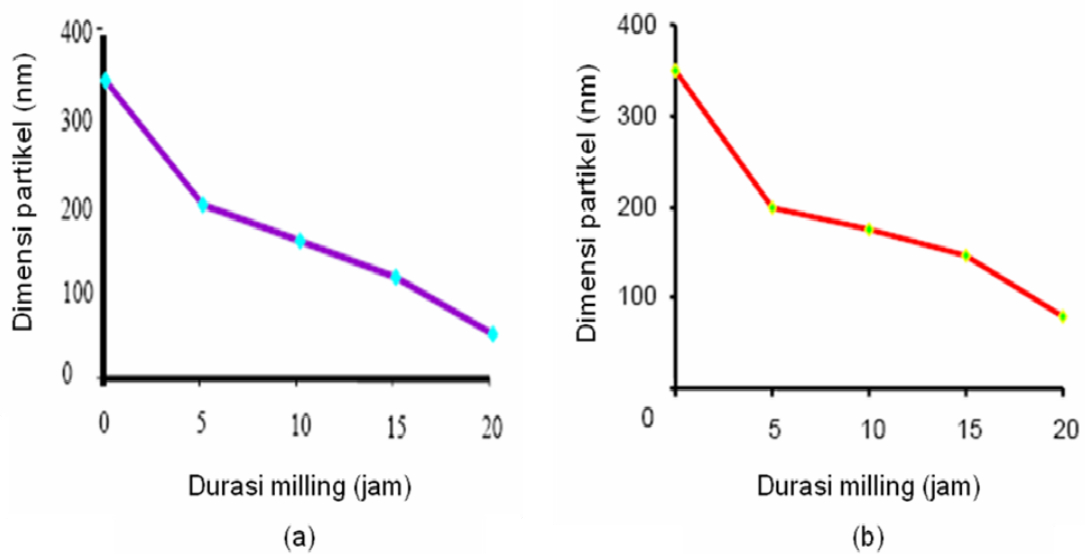
Gambar 2. Fraksi volume untuk kedua sampel : (a) Mg₂Ni dan (b) MgNi₂

Dari Gambar 2 (a) terlihat bahwa fraksi volume Mg dan Ni menurun secara drastis, bahkan setelah *milling* 20 jam kedua prekursor tersebut telah habis, berarti semua Mg dan Ni telah bereaksi membentuk senyawa MgNi dan MgO. Yang perlu diwaspadai adalah kenyataan bahwa peningkatan fraksi volume MgO lebih besar dibanding peningkatan Mg₂Ni. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa proses belum berjalan efisien,

seharusnya fraksi volume Mg_2Ni yang lebih besar. Fraksi volume Mg_2Ni telah meningkat dari sekitar 23% (5 jam *milling*) menjadi 40% (20 jam *milling*).

Dari Gambar 2 (b) terlihat bahwa fraksi volume Mg dan Ni menurun secara perlahan dan fraksi volume $MgNi_2$ maupun MgO naik secara perlahan. Ini menunjukkan bahwa pembentukan alloy $MgNi_2$ lebih sulit dibanding pembentukan Mg_2Ni . Fraksi volume $MgNi_2$ hanya meningkat dari sekitar 5% (5 jam *milling*) menjadi 15% (20 jam *milling*). Pada diagram ini juga terlihat bahwa pembentukan MgO lebih dominan dari $MgNi_2$ pada durasi waktu *milling* dibawah 15 jam, namun pembentukan kedua komposisi tersebut menjadi sebanding setelah waktu *milling*-nya sekitar 20 jam.

Variasi durasi waktu *milling* dapat menghasilkan variasi ukuran kristal sampel yang dihasilkan. Untuk Mg_2Ni ukuran partikelnya menurun secara signifikan seiring dengan meningkatnya durasi waktu *milling* yaitu dari sekitar 200 nm (5 jam *milling*) menjadi sekitar 50 nm (20 jam *milling*). Untuk variasi durasi waktu yang sama perubahan ukuran partikel $MgNi_2$ terjadi dari sekitar 200 nm (5 jam *milling*) menjadi sekitar 90 nm (20 jam *milling*). Variasi ukuran partikel terhadap variasi durasi waktu *milling* untuk kedua sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Dimensi partikel kedua sampel : (a) Mg_2Ni dan (b) $MgNi_2$

Pada Gambar 3 terlihat bahwa penurunan ukuran partikel lebih cepat terjadi pada fasa Mg_2Ni dibandingkan pada $MgNi_2$. Hasil ini dapat diasosiasikan bahwa kedua komposisi tersebut mempunyai sifat fisik yang berbeda, mungkin Mg_2Ni lebih rapuh walaupun proses pembentukan Mg_2Ni lebih cepat dan lebih mudah dibanding dengan pembentukan $MgNi_2$.

4. KESIMPULAN

Terbentuknya fasa Mg_2Ni dan fasa $MgNi_2$ terlihat nyata setelah proses *ball milling* dilakukan selama 5 jam. Terbentuknya fasa Mg_2Ni dan $MgNi_2$ tersebut semakin meningkat seiring dengan meningkatnya durasi waktu *milling*, walaupun fasa Mg_2Ni yang lebih mudah terbentuk dibanding $MgNi_2$. Fasa MgO yang terbentuk cukup signifikan mengindikasikan bahwa proses *milling*-nya belum efisien.

Fraksi volume Mg_2Ni telah meningkat dari sekitar 23% (5 jam *milling*) menjadi 40% (20 jam *milling*), atau rata-rata 1,13 %/jam. Sedangkan fraksi volume $MgNi_2$ hanya meningkat dari sekitar 5% (5 jam *milling*) menjadi 15% (20 jam *milling*) atau sekitar 0,67 %/jam. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa proses pembentukan Mg_2Ni lebih cepat dan lebih mudah dibandingkan pembentukan $MgNi_2$.

Peningkatan durasi waktu *milling* secara signifikan menurunkan ukuran partikel kedua sampel tersebut, Mg_2Ni menurun dengan laju rata-rata 10 nm/jam, sedangkan $MgNi_2$ menurun dengan laju rata-rata 7,33 nm/jam.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Zuttler, A., *Materials for Hydrogen Storage*, <http://www.hydrogen.html>, 2003, 16 Februari 2006.
- [2] Bornmann, R., *Hydrogen Storage Materials*, <http://www.hydrogen.html>, 2004, 16 Februari 2006.
- [3] Buschow, K H J., Bouten, P C P., and Miedema, A R., *Hydrides of Intermetallic Compounds of Two Transition Metals*, 1983.
- [4] Pyle, W., *Hydrogen Storage*, <http://www.hydrogen.html>, 1997, 16 Februari 2006.
- [5] Zaluski, L., Zaluska, A., and Strom-Olsen, J O., *J. Alloys Comp.*, 217 (1995) 245.
- [6] Yamaura, S., Kim, H Y., Kimura, H., Inoue, A., and Arata, Y., *J. Alloys Comp.*, 339 (2002) 230.
- [7] Liang, G., Boily, S., Huot, J., Van Neste, A., and Schulz, R., *J. Alloys Comp.*, 267 (1998) 302.
- [8] Gaffet, E., , *Mechanosynthesis: What does It Mean ? (mechanical Alloying, ball milling and attrition)*, <http://www.MechanosynthesisWhatdoesItMean.html>, 2000, 12 Maret 2006.
- [9] ASM International Handbook Committee., *Milling of Brittle and Ductile Materials*, Vol. 7., 1998.

SINTESIS DAN KARAKTERISASI MEMBRAN POLISULFON DIDADAH KARBON AKTIF UNTUK FILTRASI AIR

Rani Chahyani, Zahroul Athiyah, Kiagus Dahlan

Divisi Biofisika, Departemen Fisika, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Gedung Wing S, Bogor, Indonesia - 16680, Telp. 0251-8625728
Email : rani_chahyani@yahoo.com

Abstrak

Teknologi membran untuk filtrasi air semakin berkembang seiring dengan makin meningkatnya kebutuhan air bersih oleh industri dan masyarakat serta makin meluasnya masalah pencemaran air. Dalam penelitian ini dilakukan sintesis membran polisulfon dengan pemberian bahan *additive* karbon aktif, yang bertujuan untuk meningkatkan kinerja membran dalam filtrasi air. Membran dibuat dengan metode inversi fasa, dimana bahan polimer (polisulfon) dan karbon aktif dilarutkan dalam pelarut *N,N-Dimethylacetamid* (DMAc), yang selanjutnya dicetak menjadi lapisan tipis dan dikoagulasikan dalam non pelarut (air distilasi). Variasi konsentrasi karbon aktif yang digunakan dalam bahan terlarut adalah 0%, 5%, 10% dan 15% (% berat). Dari uji permeabilitas yang dilakukan, terlihat bahwa fluks air menurun dengan makin bertambahnya waktu operasi, yang mengindikasikan adanya fenomena *fouling* pada membran. Penambahan karbon aktif menunjukkan pengaruh yang cukup signifikan terhadap peningkatan fluks membran, di mana fluks tertinggi diperoleh pada konsentrasi 10% dan 15% dengan nilai rata-rata fluks yang tidak jauh berbeda. Nilai derajat penyerapan air juga semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi karbon aktif, yang menunjukkan adanya peningkatan sifat hidrofilitas membran.

Kata kunci: membran, filtrasi air, polisulfon, karbon aktif.

1. PENDAHULUAN

Air bersih dan air murni merupakan kebutuhan manusia yang semakin penting namun juga makin langka seiring dengan meningkatnya kemajuan iptek, industri dan peradaban masyarakat. Sebaliknya, dengan adanya perkembangan iptek, mutu air pun dapat diperbaiki. Berbagai teknologi pembersihan air, baik secara tradisional seperti dengan penyaringan pasir, penambahan zat kimia dan pensucian hama dengan khlorinasi, hingga pembersihan air dengan teknik membran filtrasi telah digunakan demi peningkatan kualitas air bersih (Hartomo dan Widiatmoko, 1994).

Proses membran semakin penting dalam aplikasi air sebagai akibat dari kemajuan teknologi membran dan persyaratan peningkatan kualitas air. Dibandingkan dengan treatment konvensional, filtrasi membran menawarkan beberapa keunggulan seperti

memerlukan lebih sedikit bahan kimia, air yang dihasilkan berkualitas baik, sedikit produksi endapan, proses yang rapi serta kemudahan otomatisasi (Xia *et al.*, 2008).

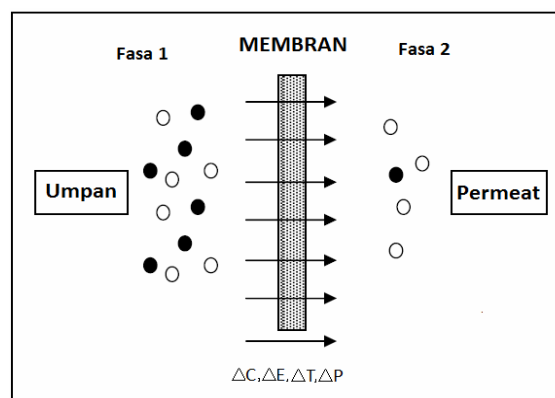
Selain teknologi membran, penjernihan air dengan absorpsi karbon aktif juga sering digunakan. Karbon aktif dapat mengabsorpsi bahan-bahan terlarut dalam air sehingga dapat memurnikan air. Bahkan karbon aktif juga telah dibentuk menjadi membran karbon dengan berbagai keunggulan dalam proses absorpsi, seperti teknologi *composite carbon-carbon membranes* (Membran CMS) (Drozdov *et al.* 2009).

Melihat keunggulan dari membran sebagai media filtrasi dan karbon aktif sebagai absorban, serta kinerja mereka yang sudah dikenal baik dalam proses penjernihan air, maka kedua teknologi ini memiliki peluang untuk digabungkan menjadi satu kesatuan teknik membran pemurnian air. Dalam penelitian ini, penulis mencoba untuk menggabungkan membran polimer dan karbon aktif menjadi suatu membran komposit, dengan mencampurkan bahan polimer polisulfon dan karbon aktif sebagai bahan pembuatan membran. Membran komposit ini kemudian dikarakterisasi melalui uji permeabilitas terhadap air dan derajat penyerapan air, guna mengetahui kinerja membran sebagai media filtrasi air.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Membran

Secara umum membran didefinisikan sebagai suatu lapisan tipis semipermeabel di antara dua fasa yang berbeda karakter, fasa pertama adalah *feed* atau larutan umpan dan fasa kedua adalah *permeat* atau hasil pemisahan (Gambar 1). Operasi membran dapat diartikan sebagai proses pemisahan dua atau lebih komponen dari aliran fluida melalui suatu membran. Pemisahan dicapai karena membran mempunyai kemampuan untuk melewatkan suatu komponen yang ukurannya lebih kecil dari pori membran (Mulder, 1996).

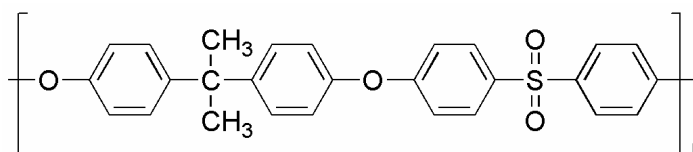


Gambar 1. Proses pemisahan pada membran (Mulder, 1996)

Proses membran dapat bergantung pada dorongan tekanan, gradien potensial listrik, gradien konsentrasi, gradien temperatur, atau kekuatan pendorong lainnya. Proses membran berdasarkan gaya tekanannya terdiri atas mikrofiltrasi (MF) ultrafiltrasi (UF), nanofiltrasi (NF) dan reverse osmosis (RO). Membran MF beroperasi pada tekanan berkisar antara 0,1-2 bar, UF pada 1-5 bar, NF pada tekanan 5-20 bar, dan membran RO beroperasi pada tekanan 10-100 bar. Membran, terutama dengan berat molekul *cut off* dalam kisaran 100 sampai 500 Dalton, sangat efektif untuk menghilangkan garam dan senyawa organik (Mulder, 1996; Tansel, 2008).

2.2. Polisulfon

Polisulfon adalah polimer yang banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan membran. Polisulfon memiliki ketahanan yang baik terhadap temperatur tinggi, rentang pH yang lebar 1-13, memiliki resistansi yang baik terhadap klorin, serta mudah dipabrikasi (Wenten 1999). Polisulfon merupakan polimer yang banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan membran pada proses ultrafiltrasi (Baker, 2004).



Gambar 2. Struktur Polisulfon

Polisulfon sering digunakan sebagai polimer karena memiliki sifat kestabilan kimia yang cukup tinggi, yaitu tahan terhadap perubahan pH, daya ulur rendah, dan kekuatan tarik tinggi. Polimer ini menunjukkan sifat amorf pada keadaan seperti gelas, stabil terhadap panas dan oksida, derajat polimerisasi antara 50-80. Polisulfon bersifat hidrofob atau tidak suka air, juga tidak larut dalam larutan asam maupun alkali. Kelarutan polisulfon dalam larutan alifatik rendah tetapi masih dapat larut dalam beberapa pelarut polar seperti dimetil formamida (DMF), dimetil asetamida (DMAc) dan dimetil dulfide (DMSO) yang sering digunakan dalam pembuatan membran (Kesting, 1993).

2.3. Karbon Aktif

Karbon aktif atau arang aktif adalah arang yang konfigurasi atom karbonnya dibebaskan dari ikatan dengan unsur lain serta rongga atau porinya dibersihkan dari senyawa atau kotoran lain sehingga permukaan dan pusat aktif menjadi luas dan daya adsorpsi terhadap cairan dan gas akan meningkat. Arang aktif dapat dibuat dari semua bahan yang mengandung karbon, baik organik maupun anorganik, dengan syarat bahan tersebut memiliki struktur berpori (Sudrajat dan Soleh, 1994).

Secara fisik arang aktif berbentuk padatan, berwarna hitam, tidak berbau, tidak berasa, bersifat higroskopis, tidak larut dalam air, basa, asam dan pelarut organik, serta tidak rusak karena perubahan pH maupun suhu. Susunan atom karbon dalam arang aktif mirip dengan susunan atom karbon dalam grafit, yang terdiri dari pelat-pelat datar di mana atom karbonnya tersusun dan terikat secara kovalen di dalam suatu kisi heksagonal secara paralel. Struktur arang aktif berbeda dengan struktur grafit karena pelat-pelat karbon heksagonal dalam arang aktif tidak terorientasi sempurna tegak lurus terhadap sumbunya. Besar kecilnya ukuran pori dari kristalit arang aktif selain bergantung pada suhu karbonasi, juga bahan baku yang digunakan. Ukuran porinya dapat berkisar antara 10 – 250 Å (Pari, 2004).

3. BAHAN DAN METODE

3.1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah polisulfon (Merck), pelarut *N,N*-Dimethylacetamid (DMAc) (Merck), karbon aktif komersil dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bogor, dan aquades dari Laboratorium Kimia Fisika, IPB. Alat yang digunakan terdiri dari neraca analitik, *hot plate stirrer* (Wise-Stir MHD 200), *magnetic stirrer*, *ultrasonic processor*, pipet tetes, gelas ukur, gelas piala, labu erlenmeyer, wadah plastik berskala mililiter, stop watch, plat kaca sebagai alat cetak membran, dan alat uji fluks tipe *dead-end*.

3.2. Metode

3.2.1. Pembuatan Membran

Teknik pembuatan membran yang digunakan adalah metode inversi fasa. Proses pembuatannya melalui dua tahap yakni pembuatan larutan cetak atau *dope* dan pencetakan membran untuk memperoleh lapisan tipis padat membran. Perbandingan komposisi larutan dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Perbandingan fraksi massa polisulfon, karbon aktif dan DMAc

No.	Bahan Terlarut (gr)		Pelarut DMAc (gr)	Total massa (gr)
	Polisulfon	Karbon aktif		
1.	1,20	0,00 (0%)	8,8	10
2.	1,14	0,06 (5%)	8,8	10
3.	1,08	0,12 (10%)	8,8	10
4.	1,02	0,18 (15%)	8,8	10

Setelah penimbangan, masing-masing bahan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditutup kertas aluminium foil untuk menghindari penguapan pelarut DMAc. Larutan membran kemudian disimpan pada suhu ruang hingga seluruh bagian

polisulfon dan karbon aktif terlarut dalam DMAc (± 24 jam). Selanjutnya membran distirer selama 1 jam dan disonikasi selama 1 jam, yang bertujuan untuk menghasilkan campuran larutan yang lebih homogen.

Langkah kedua adalah proses pencetakan membran. Larutan siap cetak dituangkan ke atas plat kaca yang telah dibatasi selotip berketebalan 0,05 cm pada kedua sisinya, kemudian diratakan dengan batang silinder kaca agar menjadi lapisan tipis. Plat kaca bersama lapisan membran kemudian dicelupkan (dikoagulasikan) ke dalam nampan berisi non pelarut (aquades) selama 10 detik. Selama pencelupan terbentuklah membran komposit polisulfon-karbon aktif. Membran selanjutnya dilepaskan dari plat kaca, ditiriskan, dan dibiarkan mengering pada suhu ruang.

3.2.2. Karakterisasi Membran

3.2.2.1. Permeabilitas Membran

Permeabilitas membran merupakan ukuran kecepatan suatu spesi tertentu untuk melewati membran. Permeabilitas membran ditentukan dengan nilai fluks membran, yaitu jumlah volume permeat yang diperoleh pada operasi membran persatuan luas membran per satuan waktu, dengan adanya perbedaan tekanan (Mulder, 1996). Nilai fluks membran dapat diperoleh dengan persamaan berikut :

$$J = \frac{V}{A \cdot t} \quad (1)$$

Di mana J merupakan nilai fluks membran (Liter/m².jam), V adalah volume permeat (liter), A adalah luas permukaan membran (m²), dan t adalah waktu (jam).

3.2.2.2. Derajat Penyerapan Air

Penentuan derajat penyerapan air dilakukan melalui penimbangan membran kering dan membran basah. Membran kering dipotong dengan ukuran 4x4 cm, ditimbang dengan neraca analitis, kemudian direndam dalam aquades selama 24 jam. Setelah perendaman, seluruh permukaan membran dikeringkan dengan tisu kemudian ditimbang kembali. Derajat penyerapan air kemudian dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$W(\%) = \frac{W_b - W_k}{W_k} \times 100\% \quad (2)$$

W_b dan W_k masing-masing adalah massa membran basah dan kering.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Proses Pembuatan Membran

Umumnya membran dibuat dengan proses inversi fasa. Pembuatan membran dengan teknik ini melibatkan tiga komponen yaitu polimer, pelarut, dan non pelarut. Penggunaan metode ini memungkinkan diperolehnya struktur morfologi membran yang rapat dan berpori (Mulder 1996). Ketebalan membran, tekanan trans membran, temperatur, dan perbandingan konsentrasi antara bahan terlarut terhadap pelarut dibuat tetap, agar kinerja membran hanya dipengaruhi oleh variasi tingkat konsentrasi membran polisulfon yang didadah karbon aktif.

Pembuatan membran polisulfon dilakukan dengan mencampurkan bahan polimer polisulfon dan karbon aktif sebagai bahan terlarut, dengan pelarut *dimethylacetamid* (DMAc). Larutan membran terdiri atas 12% bahan terlarut dan 88 % pelarut, dengan massa keseluruhan 10 gram. Nilai perbandingan ini didasarkan pada penelitian Romli dkk., (2006) yang melakukan uji permeabilitas membran polisulfon terhadap air, di mana fluks tertinggi diperoleh pada konsentrasi polisulfon terlarut 12%. Juga didasarkan pada penelitian Mawardah (2009) yang mensintesis membran polisulfon didadah TiO_2 , di mana fluks air yang lebih tinggi didapatkan pada konsentrasi bahan terlarut 10 dan 12%. Untuk mengetahui pengaruh penambahan karbon aktif terhadap kinerja membran polisulfon, konsentrasi karbon aktif dalam bahan terlarut divariasikan dari 0, 5, 10 dan 15%.

Dari teknik pembuatan membran yang dilakukan, membran yang dihasilkan adalah membran berpori karena bahan non pelarut yang digunakan adalah air. Membran digolongkan ke dalam membran asimetrik karena struktur pori yang dihasilkan tidak seragam. Menurut Romli dkk. (2006), membran yang dibentuk dari proses inversi fasa menghasilkan membran jenis ultrafiltrasi.

Secara fisik, larutan membran polisulfon tanpa karbon aktif terlihat berwarna putih bening, sedangkan larutan dengan campuran karbon aktif berwarna hitam pekat, sesuai dengan ciri karbon aktif yang berwarna hitam akibat dari proses pengarangannya. Setelah dicetak dan dikeringkan, membran polisulfon murni terlihat berwarna putih, sedangkan membran lainnya yang mengandung karbon aktif terlihat berwarna abu-abu dengan tingkat warna yang semakin gelap dengan meningkatnya kandungan karbon aktif (Gambar 3).

Teknik inversi fasa pada prinsipnya merupakan perubahan fasa cair menjadi fasa padat. Fasa padat menghasilkan membran dengan dua lapisan, yaitu lapisan aktif dan lapisan penyangga. Romli dkk. (2006) menyatakan bahwa saat pembentukan fase padat membran, pelarut DMAc berdifusi keluar membran sehingga terbentuk lapisan tipis pada permukaan atas membran. Lapisan ini disebut lapisan aktif karena kekurangan DMAc akibat difusi, sehingga hanya sedikit pori yang terbentuk. Sedangkan pada lapisan bawah

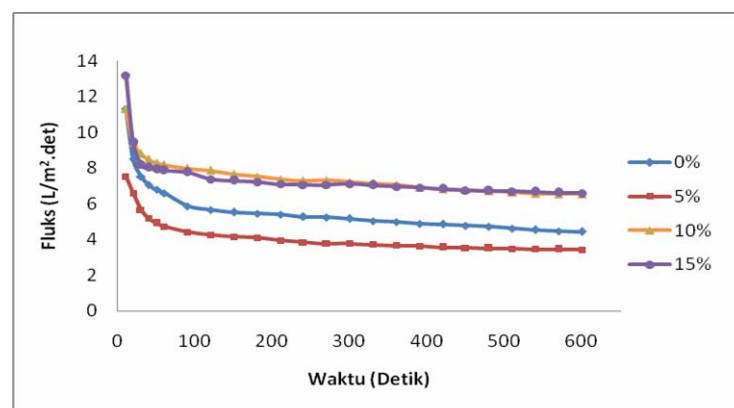
terbentuk lapisan pasif yang kaya akan DMAc karena sulitnya pelarut tersebut untuk berdifusi ke udara, sehingga pori yang terbentuk lebih banyak daripada lapisan aktif. Kedua lapisan ini dapat dengan mudah dibedakan pada membran, di mana lapisan aktif yang berpori kecil merupakan bagian membran dengan sisi mengkilap (*tight side*), dan sisi membran dengan lapisan pasif yang berpori besar (*loose side*) terlihat buram.



Gambar 3. Perbedaan warna membran akibat perbedaan tingkat kandungan karbon aktif

4.2. Permeabilitas Membran

Penentuan fluks membran dilakukan dengan melewati air (aquades) pada membran yang diuji. Sistem aliran yang digunakan dalam analisis permeabilitas membran ini adalah sistem aliran *dead-end*, dimana aliran cairan menembus permukaan membran secara tegak lurus. Pengukuran fluks membran dilakukan selama 10 menit, di mana pada 60 detik pertama pertambahan volume membran diukur setiap 10 detik, dan menit selanjutnya diukur setiap 30 detik. Teknik ini dilakukan agar kecenderungan perubahan fluks membran pada menit pertama dapat lebih teramati dengan baik karena sifatnya yang lebih dinamis. Bagian sisi aktif membran dihadapkan langsung dengan umpan. Hal ini dilakukan karena sisi aktif memiliki pori yang lebih kecil sehingga dapat mencegah terjadinya fouling. Hasil uji fluks membran dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Fluks membran terhadap waktu operasi pada berbagai konsentrasi karbon aktif

Dari Gambar 4 terlihat bahwa fluks membran terkecil berada pada tingkat kandungan karbon aktif 5%, diikuti dengan fluks membran tanpa karbon aktif (0%). Fluks

tertinggi dimiliki oleh membran dengan kandungan karbon aktif 10% dan 15%. Meskipun fluks awal membran 15% terlihat lebih tinggi yakni senilai 13,2 L/m².det, namun seiring bertambahnya waktu operasi, nilai rata-rata fluks yang dihasilkan tidak begitu berbeda dengan membran 10%. Hal ini dimungkinkan karena tingkat kandungan karbon aktif pada membran 10% dan 15% tidak begitu jauh. Dari gambar juga terlihat adanya kecenderungan penurunan fluks membran meski dengan nilai yang tidak begitu besar, yang menunjukkan adanya fenomena fouling. Fouling adalah suatu proses di mana kinerja membran menurun akibat adanya deposisi bahan terlarut atau tersuspensi pada permukaan luar, pada bukaan pori ataupun di dalam pori membran (Arnal *et al.*, 2009).

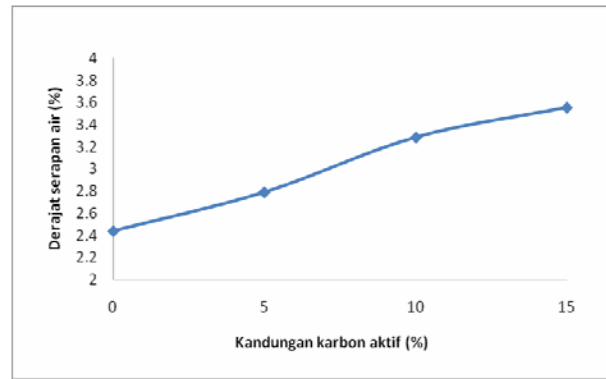
Dengan adanya sejumlah konsentrasi karbon aktif yang cukup besar pada membran 10% dan 15%, akan menambah kemampuan membran mengalirkan air. Hal tersebut dapat terjadi karena karbon aktif juga memiliki sejumlah pori mikro dan makro. Dengan penambahan konsentrasi karbon aktif, jumlah pori juga bertambah sehingga meningkatkan porositas membran. Dengan demikian jumlah air yang dapat menembus membran dalam waktu tertentu menjadi lebih besar. Di samping itu, kandungan polisulfon berkurang seiring dengan bertambahnya kandungan karbon aktif akibat jumlah kandungan bahan terlarut dijaga tetap. Jumlah polimer yang lebih besar menunjukkan adanya penurunan permeabilitas membran.

Meningkatnya konsentrasi polimer akan mengakibatkan permeabilitas menurun, porositas keseluruhan membran menurun, dan waktu pengkoagulasian meningkat. Hal ini terjadi karena jumlah fraksi polimer yang naik pada proses presipitasi akan bertambah banyak sehingga laju non pelarut yang masuk ke dalam larutan polimer terhambat dan menyebabkan pori yang terbentuk akan semakin rapat dan jumlahnya berkurang, sehingga sifat permeabilitas membran akan menurun (Romli *dkk.*, 2009).

4.3. Derajat Penyerapan Air

Derajat penyerapan air atau *swelling* merupakan faktor yang berpengaruh terhadap kinerja membran dalam aplikasinya. Nilai ini dapat menentukan sifat fisik membran apakah resistan terhadap air atau tidak. Grafik hubungan antara kandungan karbon aktif terhadap derajat serapan air dapat dilihat pada Gambar 5.

Dari Gambar tersebut terlihat bahwa keempat membran memiliki nilai derajat serapan air yang sangat kecil yakni 2,44%, 2,79%, 3,29% dan 3,55 %, secara berturut untuk membran dengan konsentrasi karbon aktif 0, 5, 10 dan 15%. Nilai terkecil diperoleh pada membran polisulfon tanpa dadah (0%). Hal ini mengindikasikan bahwa membran polisulfon bersifat hidrofobik (anti air).



Gambar 5. Derajat serapan air membran pada berbagai konsentrasi karbon aktif

Menurut Radiman (2002), polisulfon merupakan salah satu jenis polimer yang banyak digunakan dalam teknologi membran karena memiliki kestabilan kimia dan termal yang cukup baik. Polisulfon cenderung bersifat hidrofobik sehingga permeabilitasnya untuk sistem larutan air tidak terlalu baik. Polisulfon bersifat hidrofobik karena mempunyai gugus aromatik pada struktur kimianya dan memiliki kelarutan yang rendah dalam larutan alifatik rendah, tetapi masih bisa larut dalam pelarut polar.

Sebaliknya dengan peningkatan kandungan karbon aktif, derajat serapan air meningkat. Karbon aktif umumnya memiliki afinitas air yang rendah. Namun, gugus fungsi pada permukaan karbon tadi bisa berinteraksi dengan air, sehingga menyebabkan naiknya sifat hidrofilitasnya (walaupun sedikit). Oksidasi permukaan, yang merupakan perilaku yang tidak terpisahkan dalam produksi karbon aktif, akan menghasilkan gugus hidroksil, karbonil, dan karboksilat yang memberikan sifat amfoter pada karbon, sehingga karbon aktif dapat bersifat sebagai asam maupun basa (Othmer, 1993).

5. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Proses sintesis membran dengan memadukan bahan polimer polisulfon dan karbon aktif sebagai bahan pembuatan membran berhasil dilakukan dengan baik. Karakterisasi membran dilakukan dengan uji permeabilitas air dan uji derajat serapan air. Fluks tertinggi diperoleh pada membran dengan kandungan karbon aktif 10% dan 15%, dengan nilai rata-rata fluks yang tidak jauh berbeda. Meningkatnya jumlah kandungan karbon aktif pada membran menunjukkan adanya peningkatan permeabilitas membran.

Hasil pengukuran derajat serapan air menunjukkan bahwa membran yang dihasilkan pada percobaan ini memiliki derajat serapan air yang sangat kecil, berkisar pada nilai 2,44% hingga 3,55 %, yang diakibatkan oleh sifat hidrofilitas membran polisulfon. Dengan adanya penambahan karbon aktif, nilai derajat serapan air meningkat karena adanya sifat hidrofilitas dari karbon aktif, meskipun dengan kenaikan nilai yang tidak begitu besar.

Hasil penelitian yang diperoleh memberikan indikasi bahwa membran polisulfon yang didadah karbon aktif memiliki prospek yang cukup baik sebagai membran filtrasi air. Namun penelitian lebih lanjut perlu dilakukan karena nilai perpaduan polisulfon dan karbon aktif dalam penelitian ini belum benar-benar mendapatkan titik optimum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, atas Dana Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional No. 162/SP2H/PP/DP2M/V/2009, tanggal 30 Mei 2009, yang menjadi sumber dana dari penelitian ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Dinas Pendidikan Nasional atas Beasiswa Unggulan yang diperoleh penulis untuk pelaksanaan studi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnal JM, Garcia-Fayos B, Sancho M, and Verdu G, 2009, Ultrafiltration Membrane Cleaning with Different Chemical Solutions After Treating Surface Water, Desalination and Water Treatment 7 (2009) 198-205.
- Baker RW, 2004. Membrane Technology and Application 2nd Edition, John Wiley & Sons, England.
- Drozdoz VA, Baklanova ON, Likholobov VA, Chirkova OA, and Gulyaeva TI, 2009, Developing the Synthesis of Homogeneously Microporous Carbon Membranes for Selective Extraction and Accumulation of Organic Molecules with a Carbon Unit as a Carrier, Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces, 2009, Vol. 45, No. 2, pp. 191–196.
- Hartomo AJ dan Widiatmoko MC, 1994, Teknologi Membran Pemurnian Air, Penerbit Andi Offset, Yogyakarta.
- Kesting RE, 1993, Synthetic Polymerric Membranes: A Structural Perspective 2nd Edition, John Willey & Sons, England.
- Mawardah D, 2009. Kajian Struktur Membran Polisulfon yang Didadah TiO₂ Sebagai Media Filtrasi [Skripsi], Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mulder M, 1996, Basic Principle of Membrane Technology. Kluwer Academic Publisher, Netherlands.
- Othmer K, 1993, Encyclopedia of Chemical Technology 4th edition, A Wiley-Interscience Publication.
- Pari G, 2004. Kajian Struktur Arang Aktif dari Serbuk Gergaji Kayu Sebagai Adsorben Emisi Formaldehida Kayu Lapis [Disertasi], Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Radiman CL, Yuliany, Suendo V, 2002. Pengaruh Media Perendam terhadap Permeabilitas Membran Polisulfon. Jurnal Matematika dan Sains 7(2):77-83.
- Romli M, Suprihatin, dan Indrasti NS, 2006, Pengembangan Proses Pembuatan Membran Ultrafiltrasi Polimerik dengan Metode Inversi Fase: Efek Komposisi Larutan Polimer pada Struktur dan Kinerja Membran, LPPM Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sudrajat R dan Soleh S, 1994, Petunjuk Teknis Pembuatan Arang Aktif, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Bogor.
- Tansel B, 2008, New Technologies for Water and Wastewater Treatment: A Survey of Recent Patents, Recent Patents on Chemical Engineering, 2008, 1, 17-26.
- Xia S, Li X, Yao J, Dong B and Yao J, 2008, Application of Membrane Techniques to Produce Drinking Water in China, Desalination 222 (2008) 497-501.

PEMANFAATAN DAN KAJIAN TERMAL TUNGKU SEKAM UNTUK PENYULINGAN MINYAK ATSIRI DARI DAUN CENGKEH SEBAGAI PENGEMBANGAN PRODUK DAN ENERGI ALTERNATIF TERBARUKAN

Abdul Djamil Husin¹, M. Misbakhushudur¹, Irzaman¹, Jajang Juansah¹, Sobri Effendy²

¹Departemen Fisika, FMIPA IPB,
Kampus IPB Dramaga Gedung Wing S no 3 Dramaga Bogor - 16680

²Departemen Geofisika dan Meteorologi, FMIPA IPB,
Kampus IPB Dramaga Bogor - 16680

Abstrak

Penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam dihasilkan warna minyak daun cengkeh yang berwarna kuning - coklat tua sesuai SNI 06-2387-2006. Nilai indeks bias minyak daun cengkeh dengan pemanas tungku sekam cukup dikatakan baik karena nilai indeks bias dengan pemanas tungku sekam adalah 1,5325-1,5341 masih berada pada rentan nilai indeks bias yang sesuai SNI 06-2387-2006 yaitu 1,528-1,535. Rendemen minyak daun cengkeh yang dihasilkan dengan menggunakan pemanas tungku sekam berkisar dari 1,0769 % - 2,7692 %. Dari hasil penyulingan dihasilkan debit yang paling besar yaitu dengan debit rata-rata 0,038 ml/s, dan yang paling kecil yaitu 0,028 ml/s. Berdasarkan hasil penelitian terlihat keunggulan dan kelayakan dari proses penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam adalah minyak yang dihasilkan baik dan bagus jika dilihat dari segi warna dan indeks bias serta rendemen yang dihasilkan. Pemanas tungku sekam layak dipromosikan sebagai alternatif pemanas untuk proses penyulingan minyak atsiri.

Kata kunci: tungku sekam, penyulingan, minyak daun cengkeh, energi, debit, rendemen, indeks bias

1. PENDAHULUAN

Akhir-akhir ini sering kita dengar dan rasakan terjadi krisis energi, terutama energi yang berasal dari fosil seperti minyak tanah, bensin, solar dll. Dari krisis tersebut berimbas ke banyak aspek salah satunya pada Industri,. Mahalnya harga bahan bakar minyak menyebabkan meningkatnya biaya produksi. Misalnya pada industri pembuatan minyak atsiri membutuhkan bahan bakar untuk pemanasan dalam proses penyulingan. Hal ini mendorong pengusaha atau para pelaku industri untuk penggunaan bahan baku alternatif. Salah satu alternatif dengan menggunakan tungku sekam untuk mengatasi masalah tersebut. Fungsi tungku sekam dapat digunakan sebagai pengganti kompor minyak, kompor gas untuk proses penyulingan selain itu tentu tungku sekam juga dapat diaplikasikan untuk berbagai kegiatan lain, seperti untuk memasak, sumber pemanas.

Cara penyulingan pada proses penyulingan mempengaruhi kandungan kimiawi minyak atsiri maka agar didapatkan hasil yang baik kita perlu memperhatikan cara proses

penyulinganya. Pengaruh lama pemanasan pada proses penyulingan akan berpengaruh terhadap mutu minyak atsiri. Perlakuan lama pelayuan dan lama penyulingan berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar sitral, bobot jenis dan indeks bias minyak. Semakin lama pelayuan dan lama penyulingan, semakin tinggi rendemen minyaknya (Sofyan Rusli *et al*, 1979).

Umumnya kandungan minyak dalam bahan baku minyak atsiri relatif rendah oleh sebab itu pembuatan konstruksi alat penyulingan yang tepat akan sangat menguntungkan ditinjau dari segi rendemen minyak yang akan dihasilkan (Sofyan, 1977). Untuk itu akan dirancang tungku sekam untuk pemanasan pada proses penyulingan dengan menggunakan seng sebagai penghantar panas ke labu yang digunakan untuk proses penyulingan.

Kenaikan harga bahan bakar minyak tanah dan gas memberikan dampak terhadap kenaikan biaya produksi minyak atsiri, terutama pada proses penyulingan minyak atsiri. Semakin lama proses penyulingan maka akan semakin besar jumlah bahan bakar yang dibutuhkan untuk proses penyulingan. Hal ini dapat memperbesar biaya produksi minyak atsiri. Oleh karena itu akan digunakan pemanas tungku sekam untuk proses pemanasan pada proses penyulingan minyak atsiri.

Penelitian ini bertujuan memecahkan persoalan energi untuk proses penyulingan minyak atsiri yang dapat berpengaruh terhadap nilai ekonomi dengan menggunakan tungku sekam. Analisis dan pengukuran kualitas rendemen minyak daun cengkeh dari segi warna minyak, indeks bias dan rendemen.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun cengkeh yang berasal dari kebun percobaan cikabayan, air, sekam padi. Peralatan yang digunakan meliputi tungku sekam, lapisan seng 30 x 27, 5 x 0,05, korek api, perangkat alat destilasi, corong pisah, erlemeyer, gelas ukur, corong, stopwatch, timbangan, ember, pisau, aquator, refraktometer ATAGO NAR-3T, Mini thermometer SE 9785 A.

2.1. Penyulingan minyak daun cengkeh

Penyulingan dilakukan dengan metode penyulingan menggunakan air (*water destillation*). Bahan yang berupa daun cengkeh dicampur langsung dengan air di dalam labu. Tiga sampel dengan tiga kali ulangan yang disuling dengan pemanas tungku sekam terdiri dari ulangan pertama dengan perbandingan (daun cengkeh:air = 0,050 kg:0,5 liter), ulangan kedua dengan perbandingan (daun cengkeh:air = 0,065 kg:0,5 liter) dan ulangan

ketiga dengan perbandingan (daun cengkeh:air = 0,075 kg:0,5 liter). Proses penyulingan dilakukan selama 1 jam 30 menit terhitung setelah kompor sekam dinyalakan.

2.2. Penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam

Penyulingan dengan menggunakan tungku sekam dilakukan dengan prinsip konduktivitas termal. Dalam hal ini digunakan lapisan tipis seng dengan ukuran 30 cm x 27,5 cm dan tebal 0,05 cm sebagai penghantar panas dari tungku sekam menuju labu.

2.3. Proses pemisahan air dan minyak

Proses pemisahan destilat dilakukan dengan merendam destilat dalam es batu. Karena perbedaan titik beku antara minyak dan air sehingga antara air dan minyak akan terpisah. Dengan menggunakan pipet, air dalam destilat diambil sampai tersisa minyaknya saja.

2.4. Analisis kinerja tungku sekam

Uji energi bertujuan untuk mengetahui energi yang dihasilkan oleh tungku sekam yang dilakukan selama 1 jam 30 menit terhitung setelah kompor sekam dinyalakan. Selain mengetahui energi yang dihasilkan oleh pemanas tungku sekam, dianalisis transfer energi secara konduksi dari api tungku sekam menuju lapisan tipis seng, dan dari lapisan tipis seng menuju permukaan bawah labu pada proses penyulingan yang menggunakan pemanas tungku sekam.

2.5. Analisis hasil penyulingan dengan pemanas tungku sekam

Uji rendemen bertujuan untuk mengetahui berapa persen (%) minyak yang dihasilkan untuk masing-masing perbandingan bahan. Warna minyak daun cengkeh berpengaruh terhadap kualitas minyak daun cengkeh. Berdasarkan standar mutu minyak daun cengkeh menurut SNI 06-2387-2006 minyak daun cengkeh yang baik adalah berwarna kuning - coklat tua. Indeks bias dari minyak daun cengkeh diukur dengan menggunakan refraktometer. Hasil minyak daun cengkeh yang didapat dari proses penyulingan kompor sekam nantinya dapat dibandingkan dengan SNI 06-2387-2006 untuk menentukan kualitas minyak yang dihasilkan dari minyak daun cengkeh yang dilihat dari besar indeks biasnya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Energi yang dihasilkan oleh tungku sekam

Pada proses penyulingan minyak atsiri daun cengkeh dibutuhkan panas untuk mengeluarkan minyak yang terdapat pada daun cengkeh. Energi panas pada proses penyulingan dihasilkan dari pemanas tungku sekam. Terdapat tiga proses perubahan panas selama penyulingan yaitu konduksi, konveksi serta radiasi. Peristiwa konduksi terjadi saat energi kalor dari api tungku sekam ditransfer menuju labu destilator melalui lapisan tipis seng. Energi panas yang digunakan labu destilator untuk menguapkan air dan daun cengkeh berasal dari perpindahan kalor secara konduksi melalui lapisan tipis seng. Lapisan tipis seng merupakan bahan konduktor yang baik sehingga kalor dari api tungku sekam dapat ditransfer dengan baik. Semakin tebal dan lebar lapisan seng yang digunakan maka semakin kecil energi kalor yang ditransfer menuju labu destilator, sebaliknya semakin tipis dan kecil lapisan seng maka energi kalor yang ditransfer besar. Energi rata-rata yang digunakan untuk menguapkan bahan (air dan daun cengkeh) selama proses penyulingan dengan tungku sekam ditunjukkan pada Tabel 1.

Dari informasi Tabel 1, energi yang digunakan tungku sekam selama proses penyulingan dapat dilihat hasil yang berbeda di setiap ulangan. Perbedaan jumlah energi yang dibutuhkan selama proses penyulingan menggunakan tungku sekam disebabkan oleh faktor kekonsistenan panas yang dihasilkan dari api tungku sekam yang berubah setiap saat yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Kondisi lingkungan terdiri dari angin, suhu lingkungan dan faktor penjagaan api.

Tabel 1. Energi yang digunakan tungku sekam selama proses penyulingan (90 menit)

Ulangan	Perbandingan Bahan (Daun cengkeh: air)	Energi yang digunakan tungku sekam
1	0,050 Kg :0,5 liter	7590Kkal
	0,065 Kg :0,5 liter	6930Kkal
	0,075 Kg :0,5 liter	7920Kkal
2	0,050 Kg :0,5 liter	7920Kkal
	0,065 Kg :0,5 liter	7260Kkal
	0,075 Kg :0,5 liter	6930Kkal
3	0,050 Kg :0,5 liter	6765Kkal
	0,065 Kg :0,5 liter	7920Kkal
	0,075 Kg:0,5 liter	7260Kkal

Kebutuhan energi selama proses penyulingan berpengaruh besar terhadap nilai ekonomis atau jumlah biaya yang dibutuhkan selama proses penyulingan. Biaya yang dibutuhkan untuk proses penyulingan bisa dilihat di Tabel 2.

Semakin hemat energi yang digunakan maka biaya yang dibutuhkan selama proses penyulingan akan semakin rendah. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan

menggunakan tungku sekam. Dari tiap-tiap ulangan, ada yang paling banyak mengkonsumsi sekam, dengan konsumsi sekam lebih banyak akan menyebabkan harga setiap penyulingan akan lebih mahal.

Tabel 2. Biaya yang dibutuhkan untuk proses penyulingan dengan menggunakan tungku sekam

Perbandingan Bahan (Daun cengkeh: air)	*Jumlah sekam yang terpakai (Kg)	Biaya sekam (Rp.500 per kg)
0,050 Kg :0,5liter	2,3	Rp.1150
0,065 Kg :0,5liter	2,1	Rp.1050
0,075 Kg :0,5liter	2,4	Rp.1200
0,050 Kg :0,5liter	2,4	Rp.1200
0,065 Kg :0,5liter	2,2	Rp.1100
0,075 Kg :0,5liter	2,1	Rp.1050
0,050 Kg :0,5liter	2,05	Rp.1025
0,065 Kg :0,5liter	2,4	Rp.1200
0,075 Kg :0,5liter	2,2	Rp.1100

* Jumlah sekam yang terpakai = jumlah sekam yang digunakan - jumlah arang sekam

Energi yang dihasilkan oleh tungku sekam berupa energi panas dari api tungku yang mengenai permukaan bawah lapisan tipis seng ditransfer secara konduksi menuju ke permukaan atas lapisan tipis seng, selanjutnya energi kalor tersebut ditransfer secara konduksi menuju ke permukaan bawah labu destilator. Besarnya energi yang dihasilkan pada peristiwa konduksi panas dari api tungku sekam menuju permukaan bawah labu destilator disebabkan karena jenis bahan yang digunakan sebagai penghantar panas dari api tungku sekam, jenis labu destilator, suhu api tungku sekam, serta waktu penyulingan. Energi yang dihasilkan oleh tungku sekam ditunjukkan oleh Tabel 3.

Tabel 3. Energi kalor keluaran yang dihasilkan oleh tungku sekam melalui proses konduksi

Ulangan	Perbandingan Bahan (Daun cengkeh: air)	Energi (kkal)
1	0,050 kg :0,5 liter	49013,4 kkal
	0,065 kg :0,5 liter	30026,5 kkal
	0,075 kg :0,5 liter	18227 kkal
2	0,050 kg :0,5 liter	504236,7 kkal
	0,065 kg :0,5 liter	7735,8 kkal
	0,075 kg :0,5 liter	39144,1 kkal
3	0,050 kg :0,5 liter	66737,3 kkal
	0,065 kg :0,5 liter	7501,9 kkal
	0,075 kg :0,5 liter	3233,9 kkal

Tabel 4. Hubungan debit serta lama penyulingan pada proses penyulingan dengan menggunakan tungku sekam

Perbandingan Bahan (daun cengkeh:air)	Ulangan	Waktu* (sekon)	Volume destilat	Debit ml/s	Waktu mulai menetes	Lama penyulingan
0,050 kg : 0,5liter	1	5400	150	0,028	30 menit	90 menit
	2	5400	172	0,032	31 menit	90 menit
	3	5400	183	0,034	28 menit	90 menit
0,065 kg : 0,5liter	1	5400	166	0,031	25 menit	90 menit
	2	5400	168	0,031	20 menit	90 menit
	3	5400	197	0,036	18 menit	90 menit
0,075 kg :0,5liter	1	5400	179	0,033	21 menit	90 menit
	2	5400	205	0,038	21 menit	90 menit
	3	5400	186	0,034	25 menit	90 menit

Kalor yang mampu ditransfer oleh seng dan permukaan bawah labu menuju bahan sangat dipengaruhi oleh suhu dari api tungku sekam. Semakin besar suhu api tungku sekam maka semakin besar energi kalor yang mampu ditransfer menuju permukaan labu destilator, tetapi pada proses penyulingan sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yaitu angin. Selain beberapa faktor tersebut, faktor waktu penyulingan juga berpengaruh besar terhadap energi kalor yang dihasilkan oleh tungku sekam. Semakin lama waktu penyulingan maka semakin besar jumlah energi yang ditransfer secara konduksi menuju labu destilator.

3.2. Analisis mutu minyak daun cengkeh

3.2.1. Rendemen minyak daun cengkeh

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen minyak daun cengkeh yang dihasilkan berkisar 1,0769 % - 2,7692 % Rendemen yang dihasilkan selama penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam bisa dilihat pada Tabel 5. Faktor yang menyebabkan kecilnya jumlah rendemen dari proses penyulingan dengan pemanas tungku sekam adalah ketidakkonsistenan energi panas dari api tungku sekam yaitu kondisi api yang dapat berubah ubah setiap waktu selama proses penyulingan yang berpengaruh terhadap debit destilat.

Jika aliran debit destilat konstan maka akan dihasilkan rendemen yang besar. Kondisi tersebut tidak bisa dicapai dengan menggunakan tungku sekam.

Tabel 5. Rendemen minyak daun cengkeh yang dihasilkan dengan pemanas tungku sekam

Perbandingan Bahan Daun Cengkeh : Air	Ulangan	Rendemen
0,050 Kg : 0,5 liter	1	1,6000 %
	2	2,4000 %
	3	1,6000 %
0,065Kg : 0,5 liter	1	1,0769 %
	2	1,5385 %
	3	2,7692 %
0,075 Kg : 0,5 liter	1	1,6000 %
	2	1,6000 %
	3	1,3333 %

Hal ini berarti kondisi yang baik untuk penyulingan adalah membutuhkan energi panas yang konstan sehingga proses penguapan minyak tidak terhenti, tetapi jumlah rendemen tidak menjamin bahwa kualitas minyak yang dihasilkan itu baik, kualitas minyak baik jika memenuhi Standar mutu minyak daun cengkeh menurut SNI 06-2387-2006.

3.2.2. Warna minyak daun cengkeh

Warna minyak daun cengkeh berpengaruh terhadap kualitas minyak. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa warna dari minyak daun cengkeh yang disuling dengan menggunakan tungku sekam berwarna kuning – coklat tua.

Tabel 6. Warna minyak daun cengkeh yang dihasilkan dengan pemanas tungku sekam

Perbandingan Bahan Daun Cengkeh : Air	Ulangan	Warna
0,050 Kg : 0,5 liter	1	Kuning
	2	Kuning
	3	Kuning
0,065Kg : 0,5 liter	1	Coklat Tua
	2	Kuning
	3	Kuning
0,075 Kg : 0,5 liter	1	Coklat Tua
	2	Kuning
	3	Kuning

Warna hasil penyulingan akan dibandingkan dengan standar SNI 06-2387-2006. Terlihat pada Tabel 6 perbedaan warna minyak dari masing-masing perbandingan dapat disebabkan karena perbedaan panas. Karena faktor kekonsistenan panas yang dihasilkan dari api tungku sekam yang berubah setiap saat yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan.

Tabel 7. Nilai indeks bias minyak daun cengkeh dengan menggunakan pemanas tungku sekam

Perbandingan Bahan (Daun cengkeh:air)	Ulangan	Suhu °C	Indeks bias	Faktor Koreksi Daun Cengkeh (0,0004)	
0,050 Kg : 0,5 liter	1	1	26,1	1,5339	1,53634
		2	26,1	1,5338	1,53624
		3	25,9	1,5339	1,53626
	2	1	25,8	1,5332	1,53552
		2	25,8	1,5334	1,53572
		3	25,8	1,5334	1,53572
	3	1	25,8	1,5330	1,53532
		2	25,8	1,5334	1,53572
		3	25,8	1,5334	1,53572
0,065Kg : 0,5 liter	1	1	25,9	1,5340	1,53636
		2	25,9	1,5341	1,53646
		3	25,9	1,5340	1,53636
	2	1	25,8	1,5332	1,53552
		2	25,8	1,5329	1,53522
		3	25,8	1,5333	1,53562
	3	1	25,8	1,5334	1,53572
		2	25,8	1,5334	1,53572
		3	25,8	1,5333	1,53562
0,075Kg : 0,5 liter	1	1	25,8	1,5330	1,53532
		2	25,8	1,5330	1,53532
		3	25,8	1,5328	1,53512
	2	1	25,8	1,5332	1,53552
		2	25,8	1,5332	1,53552
		3	25,8	1,5336	1,53592
	3	1	25,8	1,5325	1,53482
		2	25,8	1,5326	1,53492
		3	25,8	1,5325	1,53482

3.2.3. Indeks bias minyak daun cengkeh

Dalam penelitian ini nilai indeks bias minyak daun cengkeh dengan pemanas tungku sekam adalah 1,5325-1,5341 bisa ditunjukkan pada Tabel 7. Setelah dibandingkan dengan faktor koreksi berada pada rentang nilai 1,53482 - 1,53646.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian terlihat kelayakan dari proses penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam. Bisa dilihat hasil minyak yang dihasilkan baik dan bagus jika dilihat dari segi warna, indeks bias serta rendemen yang dihasilkan sesuai dengan standar SNI 06-2387-2006.

Penelitian ini memberikan gambaran dan penjelasan kelayakan dari proses penyulingan dengan menggunakan pemanas tungku sekam sebagai pemanas pengganti pemanas kompor atau gas. Bisa dibuktikan dengan hasil minyak yang dihasilkan baik dan

bagus jika dilihat dari segi warna dan indeks bias minyak daun cengkeh serta rendemen yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Armando R. 2009. *Memproduksi 15 Minyak Atsiri berkualitas*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- BSN. 2006. *Standar Nasional Indonesia Minyak Daun Cengkeh*. SNI 06-2387-2006.
- Brumbaugh. 1977. *Heating, Ventilating and Air Conditioning Library*. United States of America: Theodore Audel & Co.
- Giancoli DC. 2001. Fisika Ed ke-5. Hanum Y, penerjemah; Hilarius WH, editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: Physics Principles with Application.
- Guenther E. 2006. Minyak Atsiri Jilid 1. Ketaren S, penerjemah. Jakarta : UI Press. Tejemahan dari: Essential Oils.
- Irzaman, H. Darmasetiawan, H. Alatas, Irmansyah, A.D. Husin, M.N. Indro, H. Hardhienata, K. Abdullah, T.Mandang, S. Tojo. 2009. Optimization of Thermal Efficiency of Cooking Stove with Rice-Husk Fuel in Supporting the Proliferation of Alternative Energy in Indonesia. Tokyo University of Agriculture and Technology (TUAT), Japan. Proceeding Symposium on Advanced Technological Development of Biomass Utilization in Southeast Asia, page 20.
- Ma'mun. 2006. Karakteristik Beberapa Minyak Atsiri Famili Zingiberaceae dalam Perdagangan. Bul. Littro. 2 (18), halaman 91 – 98.
- Masyithah Z, Haryanto B. 2006. Buku Ajar Perpindahan Panas. Sumatera Utara: Departemen Teknik Kimia, Universitas Sumatera Utara.
- Maulana R, Irzaman, Husin A. 2008. Optimasi Efisiensi Tungku Sekam dengan Variasi Lubang Utama pada Badan Kompom. Prosiding Seminar Nasional Sains FMIPA IPB, halaman 151-161.
- Rusli S. 1977. Konstruksi Unit Penyulingan Serai Wangi, Serai Dapur dan Daun Cengkeh. Pembr. L.P.T.I. (26).
- Rusli S, Sumangat D, Sumirat I S. 1979. Pengaruh Lama Pelayuan dan Lama Penyulingan terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Pada Penyulingan Serai Dapur. Pembr. L.P.T.I. (35).
- Soedrajat S. 1983. Mekanika Fluida dan Hidrolik. Bandung: Nova.
- Sutiah, Firdausi K S, Budi W S. Studi Kualitas Minyak Goreng dengan Parameter Viskositas dan Indeks Bias. Berkala Fisika 2 (2), halaman 53-58.
- Wirakartakusumah dkk. 1989. Bahan Pengajaran Prinsip Teknik Pangan. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB.
- Zemansky M W, Dittman R H. 1986. Kalor dan Termodinamika. The Houw Liong, penerjemah: Wirjosimin S, penyunting. Bandung: ITB. Terjemahan dari: Heat and Thermodynamics 6rd Ed.

PENGUJIAN BIPHASIC CALCIUM PHOSPHATE (BCP) DALAM SEL FIBROBLAS**S. U. Dewi¹, K. Dahlan¹, R. S. Rahayu¹, B. M. Bachtiar²**¹Department of Physics, Faculty of Mathematics and Sciences, Bogor Agricultural University²Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, University of Indonesia**Abstract**

This study was performed to evaluate the biocompatibility of *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP) in fibroblast line cells. BCP ceramics consist of both beta-tricalcium phosphate and hydroxyapatite, and are widely used as dental materials because of its biocompatibility and biodegradability. Toxicity is prerequisite of biocompatibility. BCP used was synthesized with sintering of precipitated chicken eggshells and diammonium hydrogen phosphate. The method used to evaluate toxicity of the sample was in vitro testing; BCP was immersed in cultured fibroblast cells. Materials toxicity measurement used was MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) which was held during 1, 2 and 3 days. The results showed that viability cells in BCP was higher than 100% which was 104.37% for the first day, 214.74% for the second day, and 154.48% for the third day. It could be concluded that BCP was non toxic because it induced growth of fibroblast cells. The cell growth represented that there were interactions between cells and BCP which was also observed by using Scanning Electron Microscope (SEM). Micrograph displayed the highest cell density after first day immersed. Therefore, in conclusion BCP was potential material to be used as cavity liner in dental surgery.

Keyword: *Biphasic Calcium Phosphate*, fibroblast, MTT, dental materials

1. PENDAHULUAN

Peningkatan kasus kerusakan gigi menyebabkan banyak peneliti melakukan penelitian untuk menghasilkan material pengganti gigi. Riset ini telah berkembang dari tahun 1920-an (Oliviera 2007). Berbagai material telah digunakan untuk pengganti atau penambal gigi (*tooth filler*), seperti emas, perak, titanium, kayu, dan berbagai komposit. Material yang digunakan terus diteliti untuk memperoleh karakteristik yang tepat dan nilai estetik yang tinggi. Pada pengembangannya material yang digunakan harus memenuhi syarat utama yaitu biokompatibel terhadap sel tubuh manusia. Biokompatibel berarti tidak toksik dan implan dapat berinteraksi dengan sel tubuh manusia (Shi *et al.* 2004).

Biokompatibel material yang telah lama dikenal adalah Hidroksiapatit (HAp), namun HAp sulit larut dalam tubuh. Senyawa kalsium fosfat yang lebih mudah larut adalah *Tricalcium phosphate* (TCP) (Victoria & Gnanam 2002). Paduan HAp dan TCP disebut *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP) (Li *et al.* 2003). Saat ini pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* BCP sebagai material implan menjadi topik penelitian yang banyak diminati karena

sifatnya yang lebih mudah larut dibandingkan dengan HAp (Ramay & Zhang 2004). Kumar *et al.* telah berhasil menyintesis BCP melalui proses *sintering* dengan menggunakan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan diamonium hidrogen ortofosfat. Sintering dilakukan pada suhu 900°C selama 20 menit sehingga terbentuk serbuk kering BCP (Kumar *et al.* 2005).

Pengujian biokompatibilitas secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan pendeteksian sel mati sebagai penanda derajat sitotoksitas. Coelho *et al.* menggunakan reaksi reduksi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) menjadi produk formazan yang berwarna hitam untuk mengukur viabilitas sel (Coelho *et al.* 2000). Riberio *et al.* telah berhasil menunjukkan adanya pelekatan sel dengan bahan implan BCP setelah 2 hari inkubasi di dalam sel osteoblas dengan menggunakan foto *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Riberio *et al.* 2009).

Penelitian ini bertujuan menguji toksisitas BCP terhadap sel *Normal Human Dermal Fibroblast* (NHDF). NHDF merupakan sel fibroblas yang diperoleh dari bagian dermal gigi melalui analisis secara *in vitro*. Analisis dilakukan dengan MTT dan SEM.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan untuk sintesis BCP adalah CaO dari cangkang telur, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, dan aquabides. Bahan yang digunakan untuk pengujian *in vitro* meliputi sel NHDF (fibroblas), dan bahan medium kultur sel (Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Fetal Bovine Serum (FBS), penicillin streptomycin, fungizone), trypsin EDTA, trypan blue, bahan pencuci Phosphate Buffered Saline (PBS), bahan uji sitotoksitas MTT, isopropanol, larutan NaCl, bahan preparasi SEM (PBS, 8% glutaraldehyd, etanol)

Peralatan dalam mensintesis BCP adalah timbangan analitik, *furnace*, *heating plate*, reaktor hidrotermal, buret, vakum, kertas saring, *stirrer* magnet, *aluminum foil*, cawan petri. Peralatan analisis *in vitro* adalah *syringe filter* steril $0.2\ \mu\text{m}$ (Corning, Germany), *syringe* 50 mL (Terumo, Japan), *tube* 15 mL, *tube* 50 mL (Falcon, USA), *scraper*, mikropipet (Eppendorf, Germany), tips mikropipet, *tube eppendorf* (Axygen, USA), hemositometer, inkubator (Memert), cawan kultur sel (35 mm×10 mm), *96-well plates* (NUNC, Denmark), mikroskop (Nikon Elipse 80i), *biohazard safety cabinet* (ESCO Micro PTE Ltd.), *water bath*, *centrifuge* (Sorvall), *vortexer* (Bio-rad BR 2000), *shaker* (Certomat).

Instrumen analisis adalah SEM (SEM-EDS, JEOL JCM-35C), mesin *coating* (Ion Sputter JFC-1100), dan spektrofotometer cahaya tampak (Bio-Rad Microplate Reader Benchmark).

2.2. Metode

2.2.1. Sintesis BCP

Sintesis BCP menggunakan bahan CaO diperoleh dari cangkang telur yang dikalsinasi pada suhu 1000°C selama 5 jam. Larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ sebanyak 100 mL dengan molaritas 0,67 M diteteskan pada 100 mL suspensi CaO dengan molaritas 1 M dengan laju presipitasi 7 mL/menit. Proses presipitasi dilakukan bersamaan dengan proses *stirring* dengan kecepatan 300 rpm dan diperoleh suspensi berwarna putih. Suspensi tersebut kemudian dipanaskan dengan menggunakan reaktor hidrotermal pada suhu 300°C selama 8 jam bersamaan dengan proses *stirring* kecepatan 300 rpm. Suspensi hasil proses hidrotermal didiamkan selama 12 jam pada suhu ruang sehingga diperoleh endapan presipitat pada suspensi. Selanjutnya, proses penyaringan dengan vakum dilakukan untuk memperoleh endapan presipitat tersebut dan dilanjutkan dengan pengeringan pada suhu 110°C selama 5 jam. Serbuk kering diperoleh setelah pengeringan yang dilanjutkan dengan proses *sintering* pada suhu 1000°C selama 6 jam.

2.2.2. Analisis *in vitro*

Pengujian *in vitro* diawali dengan sterilisasi BCP menggunakan radiasi gamma dengan dosis 25 kGy dan pengkulturan sel fibroblas dalam medium. Medium dasar kultur sel adalah DMEM yang disuplemen dengan 10% FBS, *penicillin streptomycin* dan *fungizone*. Proses pengkulturan yaitu dengan menginkubasi sel fibroblas dalam medium kultur selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, sel dicuci dengan PBS dan ditambah dengan 1 mL trypsin EDTA agar pelekatan sel pada dasar cawan lepas. Trypsin membutuhkan waktu agar dapat bekerja maka sel diinkubasi kembali selama 10 menit sebelum dilakukan proses *scrapping*, dipindahkan ke *tube* 15 mL, dan ditambahkan medium dasar. *Tube* tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit (24°C) agar sel terkonsentrasi menjadi pellet. Cairan *supernatant* hasil sentrifugasi dibuang dan ditambahkan 5 mL medium dasar untuk proses homogenisasi dengan *pipetting* beberapa kali agar terbentuk larutan sel.

Penghitungan konsentrasi sel membutuhkan larutan sel sebanyak 80 μL , FBS 10 μL , dan trypan blue 10 μL yang dicampurkan pada *tube eppendorf* 1,5 mL. Larutan dari *tube eppendorf* tersebut diambil sebanyak 10 μL untuk diteteskan pada hemositometer. Penghitungan sel dilakukan dengan menempatkan hemositometer dibawah mikroskop optik dengan perbesaran 40 kali. Kisi hemositometer ditunjukkan pada Gambar 1. A, B, C, D, dan E adalah hasil penghitungan sel secara manual dengan menggunakan mikroskop optik. Penghitungan konsentrasi sel menggunakan Persamaan 1. Suspensi sel disiapkan

dengan konsentrasi 2×10^5 sel/mL dan dipindahkan pada 96 *well plates* sebanyak 1 mL setiap *well plate*.

$$\text{konsentrasi sel} = \frac{A+B+C+D+E}{5} \times 10^4 \times 10 \times F \quad (1)$$

A				B
		C		
D				E

Gambar 1 Skema kisi hemositometer.

Perendaman serbuk BCP dalam sel. BCP dibubuhkan pada *well plates* dan diinkubasi selama 1, 2, dan 3 hari. Setiap perlakuan waktu inkubasi dilakukan 2 kali ulangan. Hasil perendaman kemudian diuji dengan MTT dan dianalisis dengan spektrofotometer. Panjang gelombang cahaya tampak yang digunakan pada pengukuran absorbansi adalah 655 nm, yaitu cahaya warna merah. Hasil pengukuran absorbansi ditampilkan dalam satuan *optical density* (OD) yang selanjutnya diolah untuk menentukan persentase viabilitas sel BCP dengan menggunakan Persamaan 2.

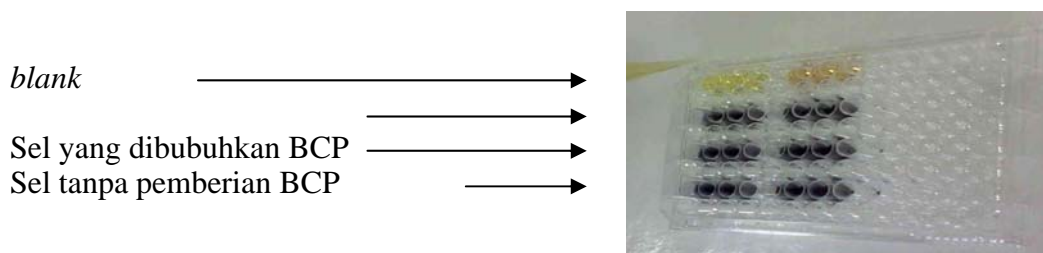
$$\text{viabilitas sel} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

2.2.3. Preparasi sampel untuk karakterisasi SEM

SEM digunakan untuk melihat adanya interaksi antara sel dan bahan implan berupa pelekatan setelah 1, 3, dan 14 hari inkubasi. Setelah inkubasi, sel dicuci PBS kemudian diberi trypsin. Larutan sel kemudian disentrifugasi sehingga terbentuk pelet dan *supernatant* dibuang. Proses selanjutnya adalah fiksasi glutaraldehid dengan konsentrasi 2,5% selama 30 menit. Proses fiksasi dilanjutkan dengan proses dehidrasi dengan menggunakan seri etanol 25%, 50%, 75%, 95%, dan 100% selama masing-masing 5 menit. Serangkaian dehidrasi dilakukan sebanyak 1 ulangan, sedangkan dehidrasi yang terakhir dilakukan sebanyak 2 ulangan. Proses dehidrasi mengangkat kandungan air dari sampel sehingga diperoleh sampel yang kering dan siap untuk dicoating. Proses *coating* menggunakan emas palladium (80% Au dan 20% Pd) dengan ketebalan 48 nm. Perbesaran yang digunakan adalah 5.000, 10.000, 15.000, dan 20.000.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis sitotoksitas material BCP terhadap viabilitas sel dilakukan dengan menggunakan sel fibroblas. Pengujian ini diawali dengan pengkulturan sel yang berfungsi sebagai media hidup dan nutrisi bagi sel (Lin *et al.* 1997). Analisis sitotoksitas menggunakan larutan MTT pada BCP yang telah direndam. Reaksi larutan MTT terhadap sel diindikasikan dengan perubahan warna yang menjadi hitam pekat, sedangkan pemberian larutan MTT pada *blank* tidak menyebabkan perubahan warna (Gambar 2). Perubahan warna menjadi hitam merupakan terjadinya reduksi MTT menjadi formazan (Ribeiro *et al.* 2009). Derajat kepekatan warna hitam sampel setelah pemberian MTT diukur dengan memanfaatkan prinsip absorbansi. Cahaya yang digunakan adalah warna merah agar cahaya diteruskan pada sampel berwarna kuning (sampel *blank*) dan diserap pada sampel yang berwarna hitam (sampel yang mengandung sel). Tabel 2 menunjukkan data hasil pengukuran absorbansi dari spektrofotometer.

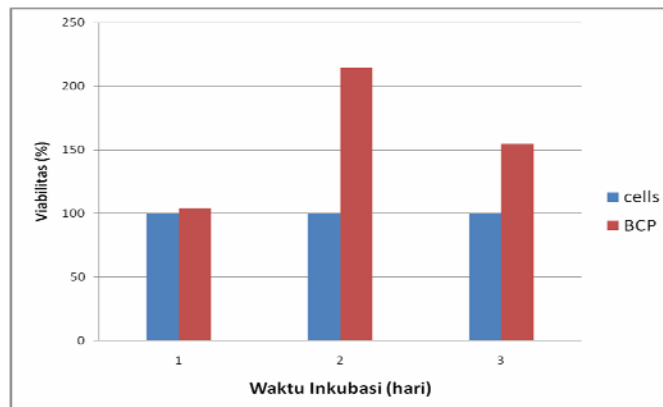


Gambar 2 Efek perubahan warna akibat pemberian larutan MTT pada sampel

Tabel 2 Absorbansi pada sel dan BCP

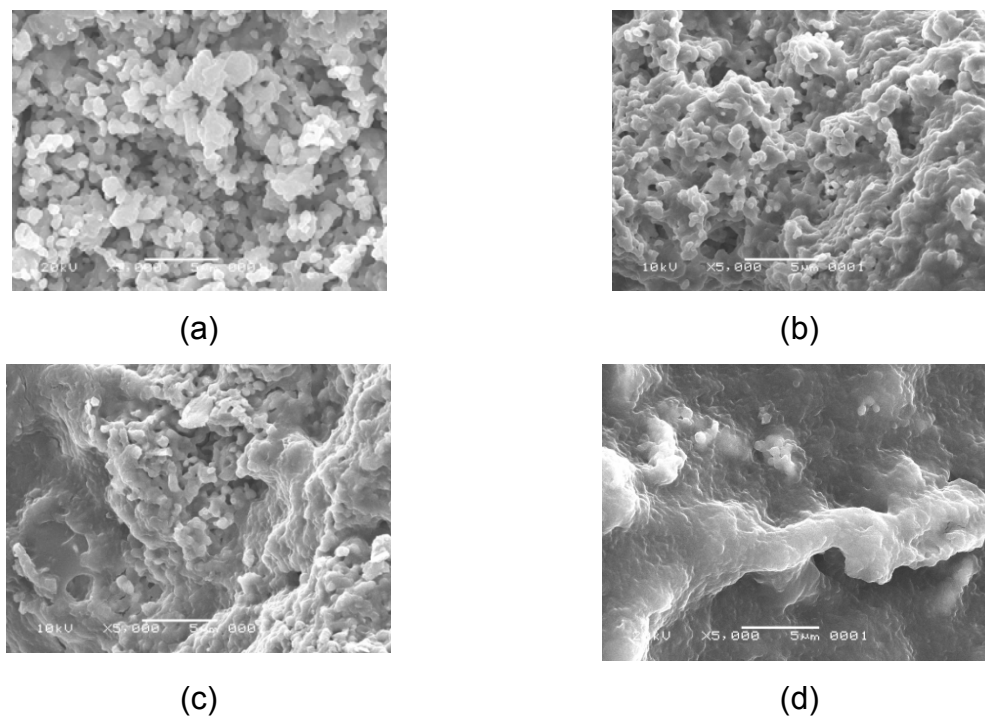
Waktu inkubasi (hari)	Absorbansi (OD)	
	Sel	BCP
1	2,332	2,134
2	0,869	1,866
3	0,714	1,103

Hasil pengolahan nilai absorbansi menjadi nilai viabilitas sel dengan menggunakan Persamaan 2 disajikan pada Gambar 3. Gambar 3 memperlihatkan perubahan persentase viabilitas sel pada sampel sel dan BCP dengan perlakuan waktu inkubasi 1, 2, dan 3 hari. Selama waktu inkubasi menunjukkan bahwa viabilitas sel sampel yang diberi bahan implan lebih tinggi dibandingkan dengan sel. Hal ini menunjukkan bahwa BCP berperan sebagai matriks ekstraseluler yang dapat menginduksi terjadinya pertumbuhan sel (Lin *et al.* 1997, Ribeiro *et al.* 2009). Dengan nilai persentase viabilitas sel di atas 100% yang membuktikan bahwa bahan BCP bersifat tidak toksik.



Gambar 3 Persentase viabilitas sel pada sampel sel dan BCP setelah waktu inkubasi 1, 2, dan 3 hari

Untuk menunjukkan adanya interaksi sel dengan material BCP dilakukan analisis dengan SEM. Gambar 4 memperlihatkan foto SEM untuk BCP sebelum dan setelah inkubasi dalam sel fibroblas. Sebelum perendaman BCP bersifat kristalit berupa bentuk kubus-kubus kecil (Gambar 4a). Sementara itu, Gambar 4b, 4c, dan 4d memperlihatkan foto SEM dari BCP yang telah diinkubasi selama 1, 3, dan 14 hari. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa pada hari ke 1 struktur BCP sudah mulai beragregasi karena tertutup sel. Foto SEM setelah inkubasi 3 hari semakin terlihat bahwa sel mulai berdiferensiasi dan terjadi sekresi protein matriks ekstraseluler seperti lengketan yang menutupi struktur BCP (Kim et al. 2004). Proses diferensiasi ini sama sebagaimana hasil analisis MTT setelah 3 hari inkubasi. Foto SEM setelah inkubasi 14 hari semakin memperlihatkan terjadinya sekresi protein dan interaksinya dengan material. Hal ini menunjukkan adanya interaksi antara sel dan BCP. Adanya interaksi sel fibroblas dengan BCP menunjukkan peluang penggunaan material ini sebagai *cavity liner* pada penambalan gigi karena dapat menginduksi diferensiasi sel untuk remodeling mineral. Kondisi ini sangat berguna untuk penumbuhan mineral pada bagian dentin gigi.



Gambar 4. Foto SEM untuk BCP sebelum inkubasi dalam sel fibroblas (a), setelah inkubasi dalam sel fibroblas 1 hari (b), inkubasi dalam sel fibroblas 3 hari (c), dan inkubasi dalam sel fibroblas 14 hari (d).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan analisis secara *in vitro* maka dapat terlihat bahwa BCP yang disintesis di Laboratorium Biofisika IPB bersifat tidak toksik melalui analisis MTT. Viabilitas sel yang diberi BCP lebih tinggi dibandingkan dengan yang sel saja menunjukkan bahwa BCP dapat berperan sebagai matriks ekstraseluler yang dapat menginduksi terjadinya pertumbuhan sel. Bukti adanya interaksi sel dan implan ditunjukkan melalui foto SEM. Interaksi tersebut berupa pelekatan sel terhadap implan yang menutupi hampir keseluruhan struktur bahan implan. Sifat tidak toksik dan adanya interaksi sel fibroblas dengan BCP menunjukkan peluang penggunaan material ini sebagai *cavity liner* pada proses penambalan gigi.

Hasil pengujian BCP dari cangkang telur yang menunjukkan bahwa material ini tidak bersifat toksik dan mampu berinteraksi dengan sel dapat dijadikan acuan untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai material penambal gigi (material dental). Sejauh ini belum ditemukan material penambal gigi yang diproduksi dalam negeri. Material penambal gigi yang digunakan selama ini oleh dokter gigi diperoleh secara impor dengan harga yang relatif tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Indonesia yang telah mendanai penelitian ini dalam program Hibah Penelitian Strategis Aplikatif (PSA) dengan kontrak No. 21/I3.24.4/SPK/PSN/2010 tanggal 5 MARET 2010 melalui DIPA IPB.

DAFTAR PUSTAKA

- Coelho MJ, Cabral AT, Fernandes MH. 2000. Human bone cell cultures in biocompatibility testing. Part I: osteoblastic differentiation of serially passaged human bone marrow cells cultured in α -MEM and in DMEM. *Biomaterials* 21: 1087-1094.
- Kim HW, Knowles JC, Kim HE. 2005. Hydroxyapatite and gelatin composite foams processed via novel freeze-drying and crosslinking for use as temporary hard tissue scaffolds. *J Biomed Mater Res* 72A: 136–145.
- Kumar KR, Kumar TSS, Sunder M, Babu NR, Victor SP. 2005. Biphasic calcium phosphates for antibiotic release. *Trends Biomater. Artif. Organ* 18 [2] : 213-218.
- Li S, Wijn JD, Li J, Layrolle P, Groot KD. 2003. Macroporous biphasic calcium phosphate scaffold with high permeability/porosity ratio. *Tissue Engineering* 9 [3] : 535-548.
- Lin FH, Liao CJ, Liu HC, Chen KS, Sun JS. 1997. Behavior of fetal rat osteoblasts cultured in vitro on the DP-bioactive glass substratum. *Materials Chemist and Physics* 49: 270-276.
- Oliveira JM, Mansur HS. 2007 Synthetic tooth enamel: SEM characterization of a fluoride hydroxyapatite coating for dentistry application. *Mat. Res.:* 10 (2)
- Ramay HRR, Zhang M. 2004. Biphasic calcium phosphate nanocomposite porous scaffolds for load-bearing bone tissue engineering. *Biomaterials* 25 : 5171–5180.
- Ribeiro C, Rojas-Cabrera WI, Marques M, Bressiani JC, Bressiani AHA. 2009. In vitro characterization of porous ceramic based calcium phosphate processing with albumin. *Key Engineering Materials Vols* 396-398 : 27-30.
- Shi D. 2004. Biocompatibility of materials. Di dalam: Wang M, Zhang M, Clare A, Kasuga T, Lin Q. *Biomaterials and Tissue Engineering*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. hlm 83-143.
- Victoria EC, Gnanam FD. 2002. Synthesis and characterization of biphasic calcium phosphate. *Trends Biomater. Artif. Organs* 16 [1] : 12-14.

MATHEMATICAL SCIENCE

KAJIAN STABILITAS MODEL TINGKAT BUNGA RENDLEMAN-BARTTER

Tri Handhika dan Murni

Program Magister Matematika, Departemen Matematika, Universitas Indonesia, Depok
tri.handhika@ui.ac.id ; murni@ui.ac.id

Abstrak

Umumnya investor dalam pasar keuangan tergolong *risk averse* di mana risiko tersebut berhubungan erat dengan pergerakan tingkat bunga. Ketidakpastian pergerakan tingkat bunga di masa depan merupakan bagian penting dalam teori pengambilan keputusan keuangan, misalnya dalam menentukan harga suatu produk turunan tingkat bunga atau dalam hal manajemen risiko. Penelitian ini mengkaji daerah stabilitas model tingkat bunga Rendleman-Bartter (RB) yang dipengaruhi oleh parameter model RB tersebut. Kriteria stabilitas yang akan dibahas adalah kriteria stabilitas stokastik asimtotik dan stabilitas *mean-square*. Kajian ini sangat dibutuhkan untuk menguji apakah hasil taksiran parameter model RB menghasilkan solusi yang masih mendekati solusi masalah sebenarnya atau tidak. Hal ini berdasarkan solusi suatu model tingkat bunga, tidak hanya ditentukan oleh metode penaksiran parameter yang digunakan tetapi juga dipengaruhi oleh stabilitas model.

Kata kunci: Model Rendleman-Bartter; Stabilitas model stokastik.

1. PENDAHULUAN

Umumnya investor dalam pasar keuangan tergolong *risk averse* di mana risiko tersebut berhubungan erat dengan pergerakan tingkat bunga. Ketidakpastian pergerakan tingkat bunga di masa depan merupakan bagian penting dalam teori pengambilan keputusan keuangan. Ketidakpastian ini juga merupakan kendala dalam menentukan harga suatu produk turunan tingkat bunga maupun dalam hal manajemen risiko. Secara matematis, fenomena perubahan tingkat bunga dapat dimodelkan dengan Persamaan Diferensial Stokastik (PDS). Solusi PDS bergantung pada parameter yang kenyataannya tidak diketahui nilainya. Masalah perilaku model PDS di sembarang waktu t disebut juga sebagai stabilitas model stokastik yang merupakan kriteria penting dalam melakukan peramalan (*forecasting*). Hal ini berdasarkan solusi suatu model tingkat bunga, tidak hanya ditentukan oleh metode penaksiran parameter yang digunakan tetapi juga dipengaruhi oleh stabilitas model. Kriteria stabilitas model stokastik yang akan dibahas adalah kriteria stabilitas stokastik asimtotik dan stabilitas *mean-square* dari salah satu model tingkat bunga, yakni model Rendleman-Bartter (model RB). Model RB ini mendeskripsikan pergerakan tingkat bunga (*short rate*) menurut satu sumber risiko atau satu variabel ketidakpastian, yaitu r_t . Berdasarkan kriteria-kriteria stabilitas tersebut, dapat diketahui nilai parameter yang mengakibatkan model RB menjadi stabil. Hal ini

diperoleh melalui identifikasi apakah parameter yang dimaksud terletak pada daerah stabilitasnya atau tidak. Pada akhir makalah, akan dilengkapi pula dengan ilustrasi daerah stabilitas model RB.

2. BAHAN DAN METODE

Permasalahan pada penelitian ini diselesaikan melalui studi literatur. Prosedur awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menentukan solusi eksplisit model RB melalui penerapan Rumus Ito dengan terlebih dahulu diberikan Lemma berikut ini [4]:

Misalkan $U : [0, T] \times \mathfrak{R} \rightarrow \mathfrak{R}$ memiliki turunan-turunan parsial yang kontinu $\frac{\partial U}{\partial t}$, $\frac{\partial U}{\partial x}$, dan

$\frac{\partial^2 U}{\partial x^2}$. Maka untuk sembarang $t, t + \Delta t \in [0, T]$ dan $x, x + \Delta x \in \mathfrak{R}$ terdapat konstanta-

konstanta $0 \leq \alpha \leq 1$, $0 \leq \beta \leq 1$ sedemikian sehingga

$$U(t + \Delta t, x + \Delta x) - U(t, x) = \frac{\partial U}{\partial t}(t + \alpha \Delta t, x) \Delta t + \frac{\partial U}{\partial x}(t, x) \Delta x + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 U}{\partial x^2}(t, x + \beta \Delta x) (\Delta x)^2.$$

Selanjutnya, dari Lemma di atas dapat dikembangkan menjadi Rumus Ito sebagai berikut [4]:

Misalkan $Y_t = U(t, X_t)$ untuk $0 \leq t \leq T$ di mana U seperti dalam Lemma di atas dan X_t memenuhi

$$X_t(\omega) - X_s(\omega) = \int_s^t e(u, \omega) du + \int_s^t f(u, \omega) dW_u(\omega)$$

dengan $\sqrt{|e|}$, $f \in \mathcal{L}_T^\omega$. Maka

$$Y_t - Y_s = \int_s^t \left\{ \frac{\partial U}{\partial t}(u, X_u) + e_u \frac{\partial U}{\partial x}(u, X_u) + \frac{1}{2} f_u^2 \frac{\partial^2 U}{\partial x^2}(u, X_u) \right\} du + \int_s^t f_u \frac{\partial U}{\partial x}(u, X_u) dW_u \quad (1)$$

dengan probabilitas 1, untuk sembarang $0 \leq s \leq t \leq T$.

Penerapan Rumus Ito tersebut diperlukan karena model RB termasuk dalam kategori PDS, yakni persamaan diferensial dengan efek random yang memiliki variasi tak terbatas [4]. Solusi PDS tidak dapat diperoleh dengan menerapkan Integral Riemann,

integral Lebesgue, maupun integral Riemann-Stieltjes, melainkan dengan menerapkan Integral Ito ataupun Integral Stratonovich yang memerlukan Rumus Ito di atas.

Prosedur selanjutnya adalah menentukan stabilitas model RB. Namun, sebelumnya akan dibahas beberapa kriteria stabilitas model stokastik. Misalkan diberikan masalah nilai awal stokastik berikut ini:

$$\begin{cases} dX_t = f(X_t)dt + g(X_t)dW_t \text{ untuk } 0 \leq t \leq T, \\ X_0 = x_0, \end{cases} \quad (2)$$

dengan $f(0) = g(0) = 0$, maka $X_t \equiv 0$ merupakan solusi stasioner dari masalah nilai awal stokastik tersebut. Terdapat banyak cara dalam mendefinisikan stabilitas model stokastik untuk solusi stasioner. Dalam penelitian ini, hanya akan dibahas stabilitas stokastik asimtotik dan stabilitas *mean-square*. Selanjutnya, asumsikan bahwa $X_0 \neq 0$, maka stabilitas stokastik asimtotik dan stabilitas *mean-square* masing-masing didefinisikan sebagai berikut [1]:

a) Jika $\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = 0$ dengan probabilitas 1, maka $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik.

b) Jika $\lim_{t \rightarrow \infty} E(|X_t|^2) = 0$, maka $X_t \equiv 0$ stabil secara *mean-square*. (3)

Berdasarkan definisi di atas, akan ditentukan stabilitas model RB.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Hasil dan Pembahasan berikut, pertama-tama akan ditunjukkan solusi eksplisit beserta kriteria stabilitas model PDS

$$dX_t = aX_t dt + bX_t dW_t \quad (4)$$

dengan $a, b \in \mathbb{R}$ dan W_t merupakan suatu proses Wiener pada waktu t . Selanjutnya, solusi eksplisit dan kriteria stabilitas tersebut dapat diimplementasikan ke dalam model RB yang persamaannya ekuivalen dengan PDS persamaan (4). Pada makalah ini akan dilengkapi pula ilustrasi kriteria stabilitas model RB yang dinyatakan sebagai suatu daerah stabilitas. Kemudian, dilakukan uji kestabilan model RB menggunakan parameter-parameter yang terletak di dalam maupun di luar daerah stabilitas tersebut.

Sebelum menentukan kriteria stabilitas model PDS tersebut, terlebih dahulu akan diselesaikan solusi eksplisit model PDS dengan menggunakan Rumus Ito yang telah dibahas pada Bab II di atas. Misalkan $Y_t = U(t, X_t)$ dengan $U(t, x) = \ln x$, maka berdasarkan persamaan (1) diperoleh

$$\begin{aligned}
Y_t - Y_0 &= \int_0^t \left\{ 0 + aX_u \frac{1}{X_u} + \frac{1}{2} b^2 X_u^2 \left(-\frac{1}{X_u^2} \right) \right\} du + \int_0^t bX_u \frac{1}{X_u} dW_u, \\
&= \int_0^t \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) du + b \left(\lim_{\delta t \rightarrow 0} \sum_{j=0}^{N-1} (W_{t_{j+1}} - W_{t_j}) \right); \quad t_j = j\delta t, \quad \delta t = \frac{t}{N}, \\
&= \int_0^t \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) du + b \left(\lim_{N \rightarrow \infty} \sum_{j=0}^{N-1} (W_{t_{j+1}} - W_{t_j}) \right), \\
&= \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) t + bW_t.
\end{aligned}$$

Dengan pemisalan $Y_t = U(t, X_t)$ di mana $U(t, x) = \ln x$ diperoleh

$$X_t = X_0 \exp \left\{ \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) t + bW_t \right\}. \quad (5)$$

Selanjutnya, pandang persamaan (2) dengan mensubstitusikan $f(X_t) = aX_t$ dan $g(X_t) = bX_t$ diperoleh

$$\begin{cases} dX_t = aX_t dt + bX_t dW_t & \text{untuk } 0 \leq t \leq T, \\ X_0 = x_0, \end{cases} \quad (6)$$

dengan $a, b \in \mathbb{R}$ dan W_t merupakan suatu proses Wiener pada waktu t . Sekarang, akan ditunjukkan stabilitas stokastik asimtotik dari X_t .

Berdasarkan persamaan (5) diperoleh bentuk mutlak berikut ini:

$$|X_t| = |X_0| \cdot |\exp(at)| \cdot |\exp(bW_t)| \cdot \left| \exp\left(-\frac{1}{2} b^2 t\right) \right|. \quad (7)$$

Misalkan $a = u + vi$ dan $b = m + ni$, maka persamaan (7) menjadi

$$\begin{aligned}
|X_t| &= |X_0| \exp(mW_t) \cdot \exp \left\{ \left(u - \frac{1}{2} (m^2 - n^2) \right) t \right\}, \\
&= |X_0| \exp(mW_t) \cdot \exp \left\{ \operatorname{Re} \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) t \right\},
\end{aligned}$$

dengan bentuk limit

$$\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = |X_0| \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp(mW_t) \cdot \exp \left\{ \operatorname{Re} \left(a - \frac{1}{2} b^2 \right) t \right\} \right]. \quad (8)$$

Kemudian, pembuktian ini akan dilanjutkan melalui dua tahap sebagai berikut:

Tahap pertama, jika diketahui $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) < 0$, maka akan ditunjukkan $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik pada waktu t besar. Berdasarkan definisi pada persamaan (3.a), $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik pada waktu t besar, berarti bahwa $\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = 0$ dengan probabilitas 1. Oleh karena $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) < 0$, maka persamaan (8) menjadi

$$\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = |X_0| \lim_{t \rightarrow \infty} [\exp(mW_t)] \cdot 0 = 0$$

dengan probabilitas 1.

Selanjutnya pada tahap kedua, jika diketahui $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik pada waktu t besar, maka akan ditunjukkan $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) < 0$. Misalkan $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) > 0$, maka dari persamaan (8) diperoleh

$$\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = |X_0| \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp(mW_t) \cdot \exp\left\{\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right)t\right\} \right].$$

Karena diketahui bahwa $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik pada waktu t besar maka persamaan di atas menjadi

$$\begin{aligned} |X_0| \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp(mW_t) \cdot \exp\left\{\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right)t\right\} \right] &= 0, \\ \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp(mW_t) \cdot \exp\left\{\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right)t\right\} \right] &= 0. \end{aligned}$$

Persamaan terakhir di atas hanya terpenuhi jika $\lim_{t \rightarrow \infty} [\exp(mW_t)] = 0$ atau

$\lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp\left\{\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right)t\right\} \right] = 0$. Oleh karena $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) > 0$, maka

$\lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp\left\{\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right)t\right\} \right] \neq 0$ sehingga $\lim_{t \rightarrow \infty} [\exp(mW_t)]$ haruslah 0 atau $mW_t \rightarrow -\infty$.

Akan tetapi, $-\infty < mW_t < \infty$. Hal ini kontradiksi dengan yang diketahui bahwa $\lim_{t \rightarrow \infty} |X_t| = 0$

dengan probabilitas 1. Oleh karena itu, haruslah $\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) < 0$.

Dengan pembuktian dua tahap tersebut, telah terbukti bahwa solusi stasioner $X_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik pada waktu t besar jika dan hanya jika

$$\operatorname{Re}\left(a - \frac{1}{2}b^2\right) < 0. \quad (9)$$

Berikut ini akan ditunjukkan pula bahwa solusi stasioner $X_t \equiv 0$ juga stabil secara *mean-square*. Berdasarkan persamaan (5) diperoleh bentuk mutlak kuadrat sebagai berikut:

$$|X_t|^2 = |X_0|^2 \cdot |\exp(at)|^2 \cdot \left|\exp\left(-\frac{1}{2}b^2t\right)\right|^2 \cdot |\exp(bW_t)|^2.$$

Misalkan $a = u + vi$ dan $b = m + ni$, maka $|X_t|^2$ menjadi

$$|X_t|^2 = |X_0|^2 \exp(2ut) \cdot \exp\left\{-(m^2 - n^2)t\right\} \cdot \exp(2mW_t),$$

sehingga

$$\begin{aligned} E(|X_t|^2) &= |X_0|^2 \exp\left\{(2u + (m^2 + n^2))t\right\}, \\ &= |X_0|^2 \exp\left\{(2\operatorname{Re}(a) + |b|^2)t\right\}. \end{aligned}$$

dengan bentuk limit

$$\lim_{t \rightarrow \infty} E(|X_t|^2) = |X_0|^2 \cdot \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp\left\{(2\operatorname{Re}(a) + |b|^2)t\right\} \right]. \quad (10)$$

Kemudian, pembuktian ini juga akan dilakukan melalui dua tahap sebagai berikut:

Tahap pertama, jika diketahui $X_t \equiv 0$ stabil secara *mean-square*, maka akan ditunjukkan $2\operatorname{Re}(a) + |b|^2 < 0$. Berdasarkan definisi pada persamaan (3.b), $X_t \equiv 0$ stabil secara *mean-square*, berarti bahwa $\lim_{t \rightarrow \infty} E(|X_t|^2) = 0$. Dengan demikian persamaan (10) menjadi

$$\lim_{t \rightarrow \infty} E(|X_t|^2) = |X_0|^2 \lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp\left\{(2\operatorname{Re}(a) + |b|^2)t\right\} \right] = 0,$$

atau

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \left[\exp\left\{(2\operatorname{Re}(a) + |b|^2)t\right\} \right] = 0.$$

Persamaan terakhir ini hanya dipenuhi jika $2 \operatorname{Re}(a) + |b|^2 < 0$.

Selanjutnya pada tahap kedua, jika diketahui $2 \operatorname{Re}(a) + |b|^2 < 0$, maka akan ditunjukkan $X_t \equiv 0$ stabil secara *mean-square*. Oleh karena $2 \operatorname{Re}(a) + |b|^2 < 0$, maka persamaan (10) menjadi

$$\lim_{t \rightarrow \infty} E(|X_t|^2) = |X_0|^2 \cdot 0 = 0.$$

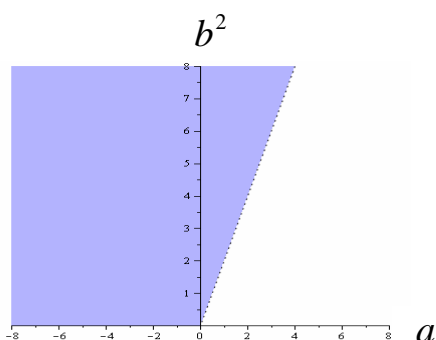
Dengan pembuktian dua tahap tersebut, solusi stasioner $X_t \equiv 0$ juga stabil secara *mean-square* jika dan hanya jika

$$2 \operatorname{Re}(a) + |b|^2 < 0. \tag{11}$$

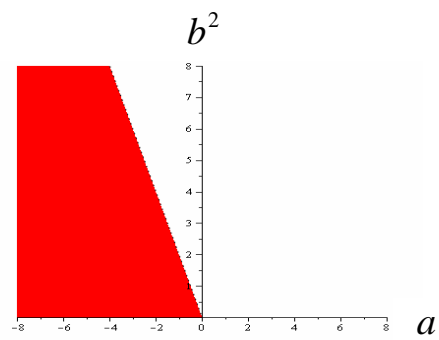
Kriteria stabilitas pada persamaan (9) dan (11) di atas dapat diterapkan pada salah satu model tingkat bunga dalam bidang keuangan, dalam hal ini model RB yang persamaannya ekuivalen dengan model PDS persamaan (4) untuk $a, b \in \mathbb{R}$ seperti diberikan berikut ini [5]:

$$dr_t = ar_t dt + br_t dW_t, \tag{12}$$

dengan r_t adalah tingkat bunga (*short rate*) pada waktu t , a adalah parameter ekspektasi laju pengembalian, b adalah parameter standar deviasi yang menunjukkan volatilitas *short rate*, sedangkan W_t adalah suatu proses Wiener pada waktu t . Berdasarkan persamaan (8), stabilitas stokastik asimtotik model RB memenuhi $b^2 > 2a$. Sedangkan, berdasarkan persamaan (9) stabilitas *mean-square* model RB memenuhi $b^2 < -2a$. Kriteria stabilitas stokastik asimtotik dan stabilitas *mean-square* model RB di atas dapat diilustrasikan sebagai daerah stabilitas model stokastik dengan menggunakan *software* Maple 11 sebagai berikut:

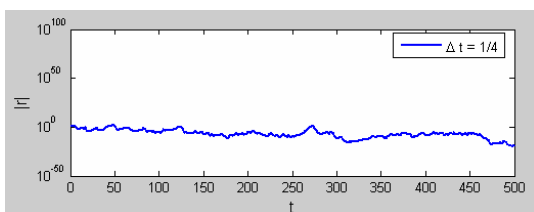


Gambar 1.a Daerah stabilitas stokastik asimtotik model RB

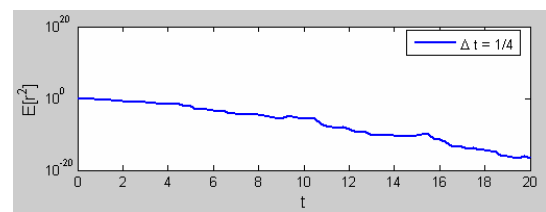


Gambar 1.b Daerah stabilitas *mean-square* model RB

Berdasarkan kedua gambar di atas, terlihat bahwa daerah stabilitas *mean-square* model RB terletak di dalam daerah stabilitas stokastik asimtotik model RB atau dengan kata lain solusi model RB yang stabil secara *mean-square* juga akan stabil secara stokastik asimtotik tetapi tidak berlaku sebaliknya. Dengan memilih salah satu nilai parameter yang terletak di dalam daerah stabilitas model RB tersebut dapat terlihat bahwa $r_t \equiv 0$ stabil secara stokastik asimtotik dan stabil secara *mean-square* seperti diilustrasikan pada Gambar 2.a dan 2.b. Kedua gambar tersebut diperoleh melalui implementasi metode Euler-Maruyama terhadap persamaan (12) dengan menggunakan *software* Matlab 7.01 berikut ini [3]:

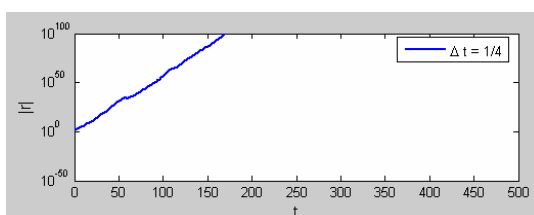


Gambar 2.a Uji kestabilan stokastik asimtotik model RB dengan $a = 1$ dan $b = 2$

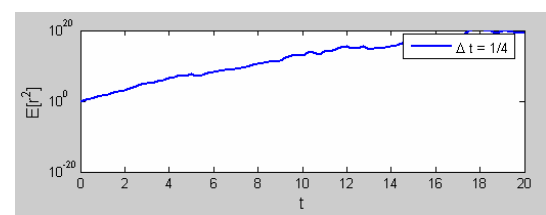


Gambar 2.b Uji kestabilan *mean-square* model RB dengan $a = -1$ dan $b = 1$

Gambar 2.a mengilustrasikan sebuah lintasan tingkat bunga model RB terkait dengan kestabilan stokastik asimtotik untuk $a = 1$ dan $b = 2$. Sedangkan, Gambar 2.b mengilustrasikan suatu lintasan yang merupakan rata-rata dari 10.000 simulasi lintasan model RB terkait dengan kestabilan *mean-square* untuk $a = -1$ dan $b = 1$. Nilai $|r_t|$ dan $E(|r_t|^2)$ pada masing-masing lintasan semakin lama akan menuju nol sehingga $r_t \equiv 0$ memenuhi kestabilan stokastik asimtotik maupun kestabilan *mean-square*. Akan tetapi, jika dipilih nilai parameter yang terletak di luar daerah stabilitas model RB, maka terlihat bahwa $r_t \equiv 0$ tidak stabil baik secara stokastik asimtotik maupun secara *mean-square*. Hal ini terjadi karena semakin lama baik nilai $|r_t|$ dan $E(|r_t|^2)$ menuju tak hingga, seperti diilustrasikan pada gambar berikut ini:



Gambar 3.a Uji ketidakstabilan stokastik asimtotik model RB dengan $a = 2$ dan $b = 1$



Gambar 3.b Uji ketidakstabilan *mean-square* model RB dengan $a = 1$ dan $b = 2$

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Berdasarkan Hasil dan Pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa model RB memiliki kriteria stabilitas *mean-square* dan stabilitas stokastik asimtotik. Jika diperoleh taksiran parameter model RB yang masuk dalam kriteria stabilitas *mean-square* maka taksiran parameter tersebut juga masuk dalam kriteria stabilitas stokastik asimtotik. Taksiran parameter yang masuk dalam paling tidak salah satu kriteria tersebut akan menghasilkan solusi model RB yang stabil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Bevina D. Handari dan Bapak Gatot F. Hertono selaku pembimbing. Pendanaan penelitian ini diperoleh melalui dana Riset Unggulan Universitas Indonesia (RUUI) tahun anggaran 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Allen, E. (2007), *Modeling with Ito Stochastic Differential Equations*, Netherland: Springer.
- [2] Anggono, S. (2004), *Kajian Stabilitas pada Masalah dan Metode Numerik untuk Persamaan Diferensial Stokastik*, Depok: Departemen Matematika, Universitas Indonesia.
- [3] Higham, D. J. (2001), *An Algorithmic Introduction to Numerical Simulation of Stochastic Differential Equations*, SIAM Review, Vol. 43, No. 3, pp. 525-546.
- [4] Kloeden, P. E. and Platen, E. (1992), *Numerical Solution of Stochastic Differential Equations*, Heidelberg: Springer-Verlag.
- [5] Yolcu, Y. (2005), *One-Factor Interest Rate Models: Analytic Solutions and Approximations*, Turkey: Department of Financial Mathematics, Middle East Technical University.

RANDOMISASI PEMILIHAN BUTIR AWAL PADA ALGORITMA *COMPUTERIZED ADAPTIVE TEST* SEBAGAI UPAYA MENGURANGI *ITEM EXPOSURE*

Agus Santoso

Jurusan Statistika FMIPA Universitas Terbuka
email: aguss@mail.ut.ac.id

Abstrak

Computerized adaptive test (CAT) lebih efisien dibandingkan tes konvensional menggunakan *paper and pencil test* maupun *computerized testing*. Namun, penerapan metode kemungkinan maksimum dan fungsi informasi maksimum untuk mengestimasi kemampuan peserta tes dan untuk menampilkan butir soal pada tes adaptif mengakibatkan munculnya masalah *item exposure* atau seringnya suatu butir soal diberikan kepada peserta tes, sehingga butir soal mudah dikenali. Hal ini terjadi khususnya pada urutan butir soal awal yang diberikan pada peserta tes. Oleh karena itu diperlukan modifikasi pada algoritma CAT. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi dengan randomisasi pada algoritma CAT terhadap panjang tes dan estimasi kemampuan peserta tes. Penelitian ini dilakukan dengan prosedur simulasi. Bank soal untuk keperluan simulasi menggunakan 404 butir soal hasil kalibrasi menggunakan model *item response theory*. Dua desain algoritma CAT, dengan dan tanpa randomisasi dikembangkan. Pada algoritma CAT dengan randomisasi, perandoman butir dilakukan pada urutan butir kedua, ketiga, dan keempat, sedangkan pada algoritma CAT tanpa randomisasi, tidak dilakukan perandoman. Hasil simulasi menunjukkan bahwa secara statistik randomisasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap panjang tes ($sig = 0,194$), juga tidak berpengaruh terhadap estimasi kemampuan peserta tes ($sig = 0,612$). Berdasarkan hasil simulasi ini maka desain algoritma dengan randomisasi lebih disarankan untuk diaplikasikan pada algoritma CAT karena tanpa mengurangi tingkat efisiensi dan reliabilitas, butir soal yang diberikan kepada peserta tes di urutan awal lebih bervariasi sehingga dapat mengurangi masalah *exposure item*.

Kata kunci: *computerized adaptive test*, *item exposure*, algoritma, randomisasi

1. PENDAHULUAN

Computerized Adaptive Testing (CAT) merupakan generasi kedua dari penggunaan komputer untuk pengujian (Bunderson, Inouye, & Olsen, 1989). Perbedaan utama antara CAT dan *Computerized Testing* (CT) maupun *paper and pencil test* (PPT) yaitu pada CT maupun PPT, semua peserta tes diberikan butir-butir soal yang sama dan dengan jumlah butir (panjang tes) yang sama, sedangkan pada CAT, butir-butir soal diberikan secara adaptif atau disesuaikan dengan kemampuan individu peserta tes. Pada CAT, setiap individu peserta tes menerima butir-butir soal yang berbeda tergantung pada kemampuan setiap individu peserta tes sehingga CAT disebut juga sebagai tes individual (Lord, 1980). Karena butir-butir soal yang diberikan disesuaikan dengan kemampuan setiap individu

peserta tes maka panjang tes dapat dikurangi sehingga CAT lebih efisien. Dan juga karena butir-butir soal yang diberikan disesuaikan dengan kemampuan peserta maka kesalahan pengukuran akan kecil, dengan demikian CAT lebih reliabel.

Efisiensi dan reliabilitas CAT didukung oleh beberapa penelitian. McBride & Martin (1983) menyimpulkan bahwa untuk mencapai tingkat reliabilitas yang sama, pada tes konvensional masih memerlukan jumlah butir sebanyak 2,57 kali jumlah butir pada tes adaptif. Eignor, *et al.* (1993) juga menyimpulkan hal yang senada bahwa dengan rancangan tes adaptif hanya memerlukan panjang tes kurang lebih separoh dari panjang perangkat PPT pada tingkat presisi pengukuran yang sama. Weiss (2004) menyimpulkan bahwa tes adaptif juga efisien dan efektif untuk pengukuran di bidang konsultasi dan pendidikan.

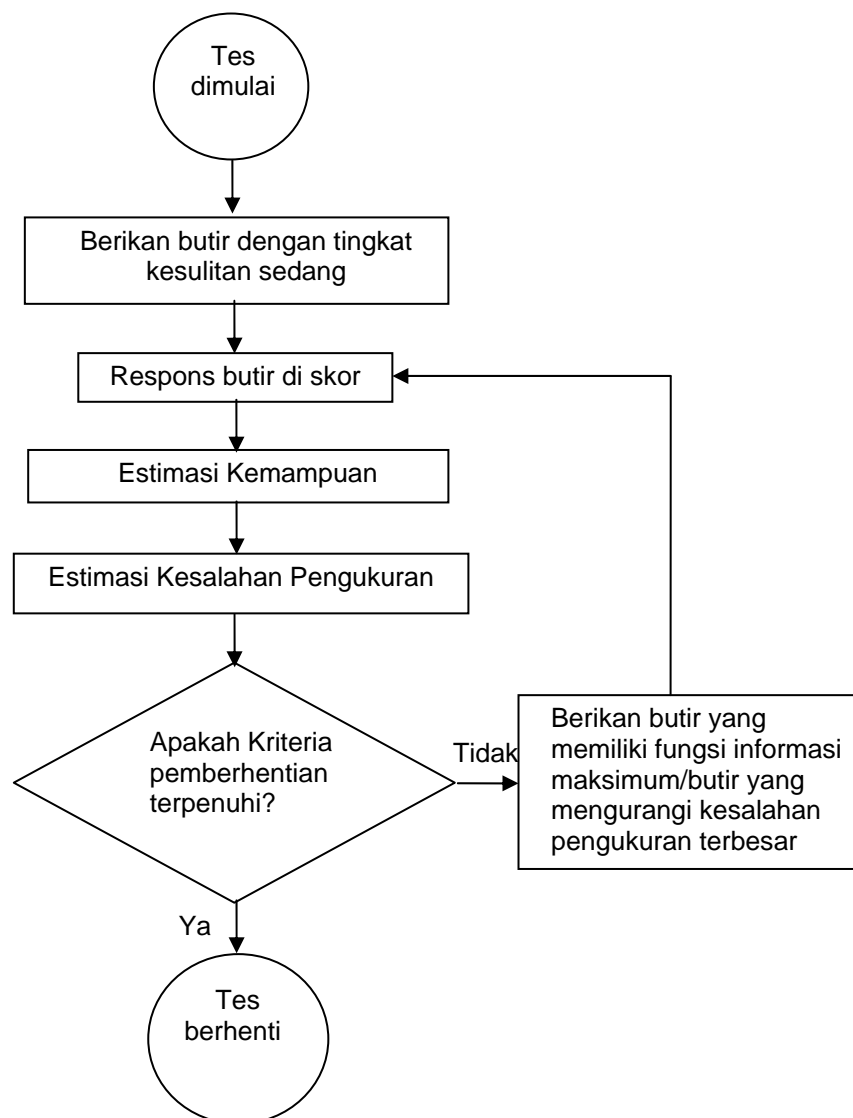
CAT menggunakan dasar *item respons theory* (IRT) untuk menciptakan sebuah algoritma. Pada CAT, komputer diatur untuk menyeleksi dan memberikan butir soal, selanjutnya komputer menskor jawaban peserta. Kemudian komputer memilih butir soal baru untuk diberikan lagi kepada peserta. Butir soal yang diberikan adalah butir soal yang memberikan informasi tertinggi atau yang mengurangi kesalahan pengukuran terbesar untuk peserta tes berdasarkan jawaban butir soal sebelumnya, proses ini berlanjut terus sampai aturan pemberhentian telah tercapai. Melalui proses ini umumnya peserta tes akan menerima butir soal yang sesuai dengan kemampuan mereka dan menghindari butir soal yang terlalu sulit atau terlalu mudah untuk mereka.

Namun demikian, penerapan metode kemungkinan maksimum (*maximum likelihood*) untuk mengestimasi kemampuan peserta tes dan kriteria fungsi informasi maksimum untuk menampilkan butir soal berikutnya pada tes adaptif mengakibatkan beberapa butir soal yang diberikan kepada peserta tes mudah dikenali, hal ini terjadi khususnya pada urutan butir soal awal yang diberikan kepada peserta tes. Oleh karena itu diperlukan strategi atau modifikasi pada algoritma tes adaptif untuk mengurangi masalah butir yang mudah dikenali karena butir soal itu sering dimunculkan atau dikenal sebagai *item exposure*. Jika muncul masalah *item exposure* maka walaupun rancangan tes adaptif ini lebih efisien dan reliabel tetapi keamanan tes tidak terjamin.

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode pemilihan butir untuk mengontrol *item exposure* (misalnya Stocking, 1993; Stocking & Lewis, 1998). Kingsbury & Zara (1989) menganjurkan dengan menerapkan metode randomisasi atau pengacakan pada pemilihan butir soal pada tes adaptif.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi dengan randomisasi pemilihan butir soal awal pada rancangan algoritma CAT terhadap panjang tes dan estimasi kemampuan peserta tes.

Gambar 1 adalah bagan alur pengujian algoritma CAT yang dikembangkan pada penelitian ini. Berdasarkan Gambar 1, tes dimulai dengan memilih butir soal awal dari bank soal dengan tingkat kesukaran sedang. Berikutnya respons terhadap butir diskor, kemudian diestimasi (sementara) tingkat kemampuan peserta. Selanjutnya dicari nilai fungsi informasi butir pada tingkat kemampuan peserta yang telah diperoleh dan dihitung pula estimasi kesalahan baku pengukurannya. Kemudian dipilih lagi butir yang memiliki nilai fungsi informasi tertinggi atau yang mengurangi kesalahan pengukuran terbesar. Begitu seterusnya sampai tes dihentikan jika kriteria pemberhentian terpenuhi.



Gambar 1. Bagan Alur Pengujian Algoritma CAT

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan studi simulasi. Bank soal untuk keperluan simulasi sebanyak 404 butir soal yang telah terkalibrasi menggunakan model IRT 1 parameter.

Berdasarkan model ini, peluang seseorang yang berkemampuan (θ) tertentu menjawab butir soal dengan benar bergantung hanya pada satu parameter butir soal, yaitu tingkat kesukaran (Hambleton, Swaminathan, & Rogers, 1991). Selanjutnya, dua rancangan tes adaptif dikembangkan yaitu rancangan tes adaptif murni (tidak dirandom) dan yang dirandom.

Prosedur simulasi untuk rancangan tes adaptif murni maupun rancangan yang dirandom berdasarkan pada 2100 simuli peserta tes yang disimulasikan, yang mewakili 100 simuli peserta tes untuk setiap 21 titik skala tingkat kemampuan, θ (θ) dari -3,0 sampai +3,0 dengan kenaikan 0,3.

Langkah simulasi untuk rancangan tes adaptif murni sebagai berikut:

1. Untuk tingkat kemampuan peserta tes, θ tertentu, tes adaptif diberikan. Berdasarkan metode pemilihan butir awal, satu butir soal dipilih dan diberikan. Peluang peserta tes menjawab benar pada butir soal ke- i , $P_i(\theta)$ dihitung. Untuk membangkitkan jawaban atau respons dari peserta tes, nilai $P_i(\theta)$ dibandingkan dengan peubah acak x yang diambil dari sebaran uniform $[0,1]$. Jika $P_i(\theta)$ lebih besar dari x maka respons diskor 1, sebaliknya jika $P_i(\theta)$ kurang dari atau sama dengan x maka respons diskor 0. Berdasarkan respons dan parameter butir soal selanjutnya kemampuan peserta tes, θ diestimasi. Estimasi θ dan butir soal yang diberikan dicatat untuk dianalisis lebih lanjut.
2. Berdasarkan metode pemilihan butir soal, diberikan butir soal berikutnya untuk peserta tes, θ tersebut sampai mencapai tingkat kesalahan baku pengukuran (*standard error of measurement, SEM*) sebesar 0,30.
3. Langkah 1 dan 2 diulang untuk seluruh 2100 simuli peserta tes.
4. Banyaknya butir soal dan estimasi tingkat kemampuan dicatat untuk dianalisis.

Metode pemilihan butir soal awal menggunakan tingkat kesukaran sedang yaitu dimulai dengan rentang antara -0,50 sampai 0,50 yang dipilih secara acak. Metode pendugaan tingkat kemampuan menggunakan *maximum likelihood estimation* (Baker, 1992), namun ketika pola respons belum berpola pendugaan tingkat kemampuan menggunakan metode *step size* berukuran 0,5 (Dodd, 1990). Metode pemilihan butir soal berikutnya menggunakan kriteria fungsi informasi maksimum yaitu butir soal yang mempunyai nilai fungsi informasi terbesar pada kemampuan tertentu dipilih untuk diberikan pada peserta tes.

Langkah simulasi untuk rancangan tes adaptif yang dirandom prinsipnya sama dengan rancangan tes adaptif murni bedanya pada pemilihan butir kedua dipilih satu butir secara random dari 10 butir yang memiliki nilai fungsi informasi (10) terbesar, pada

pemilihan butir ketiga dipilih satu butir secara random dari 7 butir yang memiliki nilai fungsi informasi (7) terbesar, sedangkan untuk butir soal keempat dipilih satu butir secara random dari 4 butir soal yang memiliki nilai fungsi informasi (4) terbesar. Selanjutnya untuk butir soal kelima dan seterusnya kriteria pemilihan butir soal berikutnya kembali ke kriteria fungsi informasi maksimum yang tidak dirandom.

Pada penelitian ini, kriteria pemberhentian tes yang digunakan adalah tes dihentikan jika nilai estimasi kesalahan baku pengukuran (*standard error of measurement, SEM*) sudah mencapai 0,30. Nilai SEM sebesar 0,30 ini setara dengan reliabilitas sebesar 0,91 pada tes konvensional dengan *paper and pencil test* (Thissen, 1990).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ringkasan statistik tingkat kesukaran butir dari 404 butir soal yang digunakan sebagai bank soal untuk keperluan simulasi disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Ringkasan Statistik Tingkat Kesukaran Butir Soal pada Bank Soal

Rata-rata	0,015
Standard deviasi	0,818
Minimum	-3,14
Maksimum	2,08

Berikut dipaparkan contoh hasil simulasi rancangan tes adaptif murni atau rancangan yang tidak dirandom. Misalkan untuk $\theta = 0$ yang diambil secara acak. Berdasarkan hasil simulasi, peserta ini sudah dapat diestimasi dengan butir soal sebanyak 17 butir. Nomor induk soal (NIS), tingkat kesukaran butir soal, pola respons untuk setiap urutan butir soal yang ditampilkan serta estimasi θ , kesalahan baku pengukuran dan nilai fungsi informasi disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa butir pertama yang terpilih adalah butir soal dengan NIS 388, memiliki tingkat kesukaran, $b = -0,37$, artinya ini sesuai dengan kriteria yang diterapkan pada algoritma desain CAT murni bahwa butir soal awal yang dipilih adalah butir dengan tingkat kesukaran sedang, yang dipilih secara acak pada rentang tingkat kesukaran sedang (-0,5 sampai +0,5).

Tabel 2. Nomor Induk Soal, Pola Respons, Estimasi Theta, SEM, dan Nilai Fungsi Informasi

No.Urut	1	2	3	4	5	6	...	15	16	17
N.I.S	388	359	26	210	322	5	...	16	288	178
Tingkat Kesukaran	-0.37	0.49	0.04	0.48	0.15	-0.12	...	0.05	-0.04	0.04
Respons	1	0	1	0	0	1	...	0	1	0
Theta	0.5	0.0535	0.4888	0.1570	-0.104	0.1040	...	-0.024	0.0504	-0.023
SEM		0.8983	0.7338	0.6313	0.5606	0.5085	...	0.3136	0.3032	0.2938
Info	0.6270	0.6123	0.6176	0.6526	0.6725	0.6853	...	0.7045	0.7050	0.7054

Keterangan: Respons 1 = benar; 0 = salah

Berdasarkan Tabel 2, terlihat pula bahwa butir soal ini direspons 1, artinya dijawab benar, selanjutnya karena benar maka ditampilkan lagi butir soal dengan NIS 359. Butir soal dengan NIS 359 ini dipilih karena memiliki fungsi informasi terbesar pada theta sebesar 0,5, yaitu sebesar 0,6270. Hal ini juga telah sesuai dengan kriteria pemilihan butir soal berikutnya yang diterapkan pada algoritma CAT murni yang menggunakan kriteria *step size* sebesar 0,5. Berdasarkan kriteria *step size* ini maka ketika butir soal pertama dijawab benar maka butir soal kedua dipilih adalah butir soal yang mampu memberikan informasi maksimum bagi peserta dengan kemampuan pada tingkat 0,5, sebaliknya jika butir pertama dijawab salah maka butir soal kedua dipilih adalah butir soal yang memberikan informasi maksimum bagi peserta dengan kemampuan pada tingkatan -0,5. Pada butir soal pertama ini, kesalahan baku estimasi atau kesalahan pengukuran belum bisa ditentukan karena belum ada pola respons.

Selanjutnya ketika butir soal kedua direspons salah, maka pemilihan butir soal ketiga sudah didasarkan pada hasil pengestimasi theta. Hal ini karena metode MLE yang diterapkan pada algoritma desain tes adaptif murni akan berproses setelah respons sudah berpola (minimal ada satu benar atau satu salah). Berdasarkan metode MLE setelah menjawab butir soal nomor urut 1 benar dan nomor urut 2 salah, maka berdasarkan metode MLE kemampuan peserta ini diestimasi sebesar 0.0535, dan kesalahan pengukuran sudah dapat dihitung, yaitu sebesar 0,8983, dan karena kesalahan baku pengukuran belum mencapai 0,30 maka tes masih berlanjut.

Berdasarkan nilai fungsi informasi maksimum, maka butir soal ketiga yang dipilih adalah butir soal dengan NIS 26. Butir soal ini terpilih karena memiliki nilai fungsi informasi terbesar diantara butir-butir soal lainnya di bank soal untuk theta sebesar 0.0535. Seperti terlihat pada Tabel 2, nilai fungsi informasi butir soal ini sebesar 0.6123. Selanjutnya butir soal ketiga ini direspons, kemampuan dan kesalahan baku pengukuran diestimasi kembali, kemudian butir soal keempat dipilih, direspons, kemampuan diestimasi ulang, begitu seterusnya sampai tes dihentikan pada butir soal ke-17 karena pada butir ke-17 kesalahan baku pengukurannya telah mencapai 0,30 dengan estimasi theta sebesar -0.023.

Berdasarkan hasil simulasi rancangan tes adaptif murni atau yang tidak dirandom, menghasilkan variasi NIS di urutan butir soal pertama sebanyak 205 NIS, di urutan kedua hanya 2 NIS yang sering dimunculkan, yaitu NIS 59 dan NIS 359. NIS 59 dimunculkan jika butir soal pertama direspons salah dan NIS 359 dimunculkan jika butir soal pertama direspons benar. Di urutan ketiga ada 61 NIS, dengan sebanyak 8 NIS yang sering dimunculkan, yaitu NIS 180, 478, 348, 163, 240, 26, 264, dan NIS 204. Di urutan keempat ada 140 NIS yang dimunculkan, dengan sebanyak 15 NIS yang sering dimunculkan. Di

urutan kelima sampai urutan ketujuh belas, variasi NIS yang dimunculkan bervariasi antara 190 sampai 300 NIS.

Variasi butir soal yang dimunculkan di awal tes, khususnya pada urutan kedua, ketiga, dan keempat pada rancangan tes adaptif yang tidak dirandom menyebabkan butir soal mudah dikenali atau pada tes tersebut muncul masalah *exposure item*, jika ini terjadi maka keamanan tes tidak terjamin.

Selanjutnya, berdasarkan hasil simulasi rancangan tes adaptif yang dirandom, di urutan kedua terdapat variasi NIS sebanyak 19, dengan frekuensi kemunculannya adalah sama. Di urutan ketiga terdapat variasi NIS sebanyak 100. Di urutan keempat sebanyak 177, di urutan kelima sampai urutan butir soal ketujuhbelas terdapat variasi NIS sebanyak 190 sampai 300.

Berdasarkan hasil simulasi diperoleh bahwa panjang tes (banyaknya butir soal yang diperlukan) untuk rancangan tes adaptif yang tidak dirandom dan yang dirandom untuk setiap tingkat kemampuan yang disimulasikan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Panjang Tes pada 21 Tingkatan Theta yang Disimulasikan

Theta	Tidak Dirandom	Dirandom
-3	48.77	46.84
-2.7	35.74	32.62
-2.4	24.66	25.16
-2.1	21.43	20.19
-1.8	18.8	18.43
-1.5	17.97	17.95
-1.2	17.51	17.59
-0.9	17.37	17.29
-0.6	17.13	17.08
-0.3	17.09	17.05
0	17.03	17.05
0.3	17.12	17.15
0.6	17.16	17.2
0.9	17.4	17.3
1.2	17.62	17.56
1.5	18.22	18.76
1.8	20.5	19.79
2.1	24.46	25.23
2.4	38.65	39.07
2.7	65.36	64.95
3	105.09	89.37

Dari Tabel 3 terlihat bahwa banyaknya butir yang diperlukan untuk mengestimasi tingkat kemampuan peserta tes untuk rancangan yang tidak dirandom dan yang dirandom berkisar antara 17 sampai 25 butir soal untuk rentang tingkat kemampuan (theta) antara -2,4 sampai 2,1. Hal ini menunjukkan bahwa dengan rancangan tes adaptif tingkat peserta tes sudah dapat diestimasi kemampuannya hanya dengan 17 sampai 25 butir soal saja untuk rentang theta antara -2,4 sampai 2,1. Namun untuk tingkat kemampuan ekstrim

(rendah maupun tinggi) dibutuhkan jumlah butir (panjang tes) yang lebih banyak, yaitu antara 35 sampai 60 butir, bahkan untuk tingkat kemampuan yang paling tinggi ($\theta=+3$) membutuhkan jumlah butir sebanyak 105 butir. Hal ini dikarenakan bank soal yang digunakan kurang menyediakan butir soal dengan tingkat kesukaran tinggi untuk peserta dengan kemampuan tinggi, seperti terlihat pada Tabel 1 bahwa tingkat kesukaran tertinggi dari bank soal yang digunakan pada penelitian ini maksimum adalah sebesar 2,08.

Selanjutnya, berdasarkan hasil analisis menggunakan uji- t menunjukkan bahwa panjang tes dengan rancangan yang dirandom tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan rancangan yang tidak dirandom ($sig = 0,194$) atau dengan kata lain rancangan tes adaptif yang dirandom tidak berpengaruh terhadap panjang tes. Dengan demikian, panjang tes dari rancangan tes adaptif tetap efisien dengan keamanan tes lebih dijamin dibandingkan dengan rancangan yang tidak dirandom.

Berdasarkan hasil simulasi, diperoleh hasil estimasi tingkat kemampuan untuk rancangan tes adaptif yang tidak dirandom dan yang dirandom untuk setiap tingkat kemampuan yang disimulasikan disajikan pada Tabel 4.

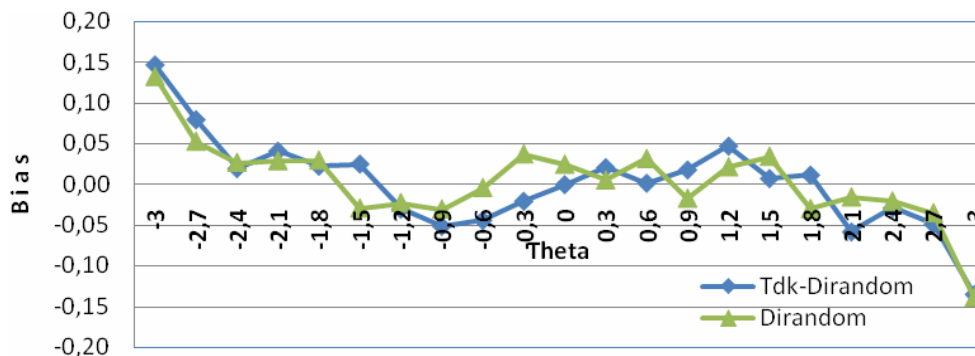
Tabel 4. Estimasi Tingkat Kemampuan pada 21 Titik Theta yang Disimulasikan

Tingkat Kemampuan (Theta)	Tidak Dirandom	Dirandom
-3	-2.85367	-2.86741
-2.7	-2.62088	-2.64714
-2.4	-2.38101	-2.37322
-2.1	-2.05954	-2.07106
-1.8	-1.778	-1.77046
-1.5	-1.47543	-1.5293
-1.2	-1.23093	-1.22261
-0.9	-0.95186	-0.93047
-0.6	-0.64467	-0.60402
-0.3	-0.32115	-0.26279
0	-0.0007	0.0247
0.3	0.3202	0.30531
0.6	0.60108	0.63165
0.9	0.91734	0.88292
1.2	1.24657	1.2214
1.5	1.50684	1.53436
1.8	1.81096	1.77013
2.1	2.04119	2.08437
2.4	2.37054	2.37939
2.7	2.65042	2.66487
3	2.86437	2.86104

Selanjutnya, berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa secara statistik estimasi tingkat kemampuan peserta tes dengan rancangan yang dirandom dan rancangan yang tidak dirandom tidak berbeda nyata ($sig = 0,612$) atau dengan kata lain rancangan tes adaptif yang dirandom tidak berpengaruh terhadap estimasi kemampuan peserta tes. Dengan demikian, estimasi kemampuan dari rancangan tes adaptif yang

dirandom tetap reliabel dengan keamanan tes lebih dijamin dibandingkan dengan rancangan yang tidak dirandom.

Gambar 1 adalah bias dari dua rancangan yang disimulasikan. Dari Gambar 1 terlihat pola bias kedua rancangan ini hampir mirip hanya di tingkat kemampuan $-0,3$ tidak begitu mirip yaitu dengan selisih bias sebesar $0,058$. Namun demikian, hasil analisis juga menyimpulkan bahwa bias kedua rancangan ini juga tidak berbeda secara signifikan.



Gambar 1. Bias Rancangan Tes Adaptif Tidak Dirandom dan yang Dirandom

4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

Berdasarkan hasil simulasi maka dapat disimpulkan bahwa panjang tes dan estimasi tingkat kemampuan peserta dengan rancangan yang dirandom dan yang tidak dirandom secara statistik tidak berbeda nyata atau dengan kata lain rancangan yang dirandom tidak berpengaruh terhadap panjang tes dan estimasi tingkat kemampuan.

Dari penelitian ini, maka rancangan algoritma dengan randomisasi lebih disarankan untuk diterapkan pada algoritma tes adaptif karena tanpa mengurangi tingkat efisiensi dan presisi pengukuran, butir soal pada urutan awal yang diberikan kepada peserta tes lebih bervariasi sehingga dapat mengurangi masalah *item exposure* dan keamanan tes lebih terjamin.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, F.B. (1992). *Item response theory: Parameter estimation techniques*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Bunderson, C.V., Inouye, D.K., & Olsen, J.B. (1989). The four generations of computerized educational measurement. Dalam R. L. Linn (Eds.), *Educational Measurement* (3rd ed., pp. 367–407). New York: American Council on Education & Macmillan Publishing Company.
- Dodd, B.G. (1990). The effect of item selection procedure and stepsize on computerized adaptive attitude measurement using the rating scale model. *Applied Psychological Measurement*, 4, 355 – 366.

- Eignor, D.R., Stocking, M.L., Way, W.D., et al. (1993). *Case studies in computer adaptive test design through simulation* (Research Report 93 – 56). Princeton, NJ: Educational Testing Service.
- Hambleton, R.K., Swaminathan, H., & Rogers, H.J. (1991). *Fundamentals of item response theory*. Newbury Park, CA: Sage Publications, Inc.
- Kingsbury, G.G., & Zara, A.R. (1989). Procedures for selecting items for computerized adaptive tests. *Applied Measurement in Education*, 4, 359 – 375.
- Lord, F.M., (1980). *Applications of item response theory to practical testing problems*. Hillsdale, NJ : Lawrence Erlbaum Associates.
- McBride, J.R., & Martin, J.T. (1983). Reliability and validity of adaptive ability tests in a military setting. Dalam D.J. Weiss, (Ed), *New Horizons in Testing*, (pp.223 – 236), New York, NY: Academic Press.
- Stocking, M.L. (1993). Controlling item exposure rates in a realistic adaptive testing program. Research Report 93-2, Princeton, NJ: Educational Testing Service.
- Stocking, M.L., & Lewis, C. (1998). Controlling item exposure conditional on ability in computerized adaptive testing. *Journal of Educational and Behavioral Statistics*, 1, 57 – 75.
- Thissen, D. (1990). Reliability and measurement precision. Dalam H. Wainer (Eds.), *Computerized Adaptive Testing: A Primer* (2nd ed., pp. 161–186). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Wainer, H. (1990). *Computerized adaptive testing: A primer* (2nd ed.). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Weiss, D.J. (2004). Computerized adaptive testing for effective and efficient measurement in counseling and education. *Measurement and Evaluation in Counseling and Development*, 2, 70 - 84.

PENGARUH PARAMETER TINGKAT PRODUKTIVITAS MANUSIA PADA MODEL PERTUMBUHAN EKONOMI REGIONAL

E. H. Nugrahani, A. L. Herliani

Departemen Matematika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Model pertumbuhan ekonomi regional disusun untuk memodelkan distribusi ekonomi antarkelompok pada dua daerah, dengan mempertimbangkan modal manusia (*human capital*) dalam fungsi produksi sebagai parameter pengukur produktivitas manusia. Sebagai suatu model pertumbuhan ekonomi neoklasik, fungsi produksi pada sistem ekonomi ini menggunakan modal dan tenaga kerja sebagai peubah bebas. Makalah ini menyajikan solusi ekuilibrium dari model dan menunjukkan bahwa pada saat ekuilibrium sistem dinamik memiliki solusi yang tunggal. Selanjutnya perubahan tingkat produktivitas manusia dan perubahan tingkat kecenderungan untuk menabung pada masing-masing kelompok akan mempengaruhi modal keseluruhan dan modal kelompok tersebut. Dari hasil simulasi dapat dilihat bahwa peningkatan produktivitas manusia dari masing-masing kelompok akan meningkatkan modal keseluruhan dan modal kelompok tersebut tetapi tidak berpengaruh terhadap modal ketiga kelompok lainnya. Selain itu peningkatan kecenderungan untuk menabung dari masing-masing kelompok juga akan meningkatkan modal keseluruhan dan modal kelompok tersebut.

Keywords: model pertumbuhan ekonomi, tingkat produktivitas manusia, kecenderungan menabung

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan ekonomi adalah proses kenaikan kapasitas produksi suatu perekonomian yang diwujudkan dalam bentuk kenaikan pendapatan nasional. Suatu negara dikatakan mengalami pertumbuhan ekonomi apabila terjadi kenaikan pendapatan nasional riil atau kenaikan produk nasional bruto (*Gross National Product*) riil di negara tersebut.

Model pertumbuhan ekonomi Domar menyatakan bahwa *output* (produksi) secara eksplisit merupakan fungsi dari modal/*capital* saja. Hal ini terjadi karena tenaga kerja selalu dikombinasikan dengan modal dalam proporsi yang tetap. Solow (1956) merevisi model Domar dengan memasukkan tenaga kerja sebagai variabel, artinya bahwa tenaga kerja dapat dikombinasikan dengan modal dalam berbagai proporsi. Model pertumbuhan ini dikenal sebagai model pertumbuhan neoklasik Solow (Chiang & Wainwright, 2005). Pengaruh positif dari kualitas modal manusia (*human capital*) terhadap pertumbuhan ekonomi telah banyak ditemukan di berbagai studi. Investasi dalam pengembangan modal

manusia dapat menyebabkan pertumbuhan produktivitas. Modal fisik menjadi lebih produktif jika mempunyai modal manusia yang memadai. Berbagai penelitian telah dilakukan dalam pengembangan model pertumbuhan ekonomi ini, di antaranya dalam Tajau (2008), Tajau *et.al* (2008), Herliani (2009), Herliani *et.al* (2009), Nugrahani (2009).

Oleh karena itu, berdasarkan pada kerangka berfikir model pertumbuhan ekonomi dari Zhang (1995, 2005), makalah berikut membahas model pertumbuhan ekonomi regional, yaitu suatu sistem ekonomi di mana dalam suatu kawasan terdiri dari beberapa daerah yang masing-masing memiliki beberapa kelompok pelaku ekonomi, dengan mempertimbangkan tingkat produktivitas manusia sebagai salah satu parameternya.

Dari model yang dibangun, eksistensi dari keadaan kesetimbangan dibuktikan secara analitis. Sedangkan pengaruh perubahan parameter tingkat produktivitas manusia terhadap pertumbuhan modal serta, sebagai pembanding, pengaruh dari parameter tingkat kecenderungan menabung dibahas secara teori dan disertai dengan studi simulasi.

2. PERUMUSAN MODEL

Misalkan sebuah sistem ekonomi terdiri atas dua daerah dan memproduksi sejumlah barang yang homogen. Barang tersebut diproduksi dengan menggunakan dua faktor produksi yaitu tenaga kerja dan modal. Masing-masing daerah memiliki dua kelompok dengan indeks 1 dan 2. Pada model ini diasumsikan kedua kelompok pada masing-masing daerah memiliki modal manusia (*human capital*) dan fungsi utilitas (*utility functions*) yang berbeda, dan diasumsikan pula tidak ada migrasi di antara kedua daerah (Zhang, 2005).

Untuk menggambarkan model tersebut, didefinisikan:

- $L(t)$ = banyaknya tenaga kerja keseluruhan pada waktu t ,
- $L_j(t)$ = banyaknya tenaga kerja daerah j pada waktu t , $j = 1, 2$;
- $L_{jk}(t)$ = banyaknya tenaga kerja pada kelompok k di daerah j pada waktu t , $k = 1, 2$;
- $K(t)$ = modal keseluruhan pada waktu t ,
- $K_j(t)$ = total modal daerah j pada waktu t ,
- $K_{jk}(t)$ = modal yang dimiliki oleh kelompok k di daerah j pada waktu t ,
- $E(t) > (<) 0$ = modal daerah 2 (1) yang digunakan oleh daerah 1 (2) pada waktu t ,
- $F_j(t)$ = banyaknya *output* daerah j pada waktu t ,
- z_{jk} = produktivitas manusia pada kelompok k di daerah j ;
- $r(t)$ = suku bunga pada waktu t ,
- $w_{jk}(t)$ = tingkat upah untuk kelompok k di daerah j pada waktu t ,
- $Y_{jk}(t)$ = pendapatan bersih kelompok k di daerah j pada waktu t ,
- $C_{jk}(t)$ = tingkat konsumsi kelompok k di daerah j pada waktu t ,
- $S_{jk}(t)$ = tingkat tabungan bersih kelompok k di daerah j pada waktu t .

Fungsi produksi dari dua kelompok dalam dua daerah yang didefinisikan adalah:

$$F_1(t) = (K_1 + E)^\alpha L_1^\beta, \quad F_2(t) = (K_2 - E)^\alpha L_2^\beta; \quad \alpha + \beta = 1 \quad \alpha, \beta > 0 \quad (1)$$

dengan:

$$K = K_1 + K_2, \quad K_j = K_{j1} + K_{j2}$$

$$L = L_1 + L_2, \quad L_j = z_{j1}L_{j1} + z_{j2}L_{j2}, \quad j = 1, 2 \quad (2)$$

$K_1 + E$ dan $K_2 - E$ berturut-turut adalah modal yang digunakan oleh daerah 1 dan 2. Besaran E adalah modal yang digunakan oleh (tanda: $-$) atau diperoleh dari (tanda: $+$) daerah lain. Parameter z_{jk} merupakan parameter yang mengukur produktivitas manusia pada kelompok k di daerah j , dan untuk penyederhanaan dalam analisis model diasumsikan bahwa z_{jk} adalah konstan. Dengan asumsi bahwa tingkat suku bunga besarnya sama pada kedua daerah, sedangkan tingkat upah dapat berbeda di antara masing-masing kelompok pada dua daerah, maka kondisi marjinal diberikan oleh,

$$r = \frac{\alpha F_1}{K_1 + E} = \frac{\alpha F_2}{K_2 - E}, \quad w_{jk} = \frac{\beta z_{jk} F_j}{L_j} \quad (3)$$

Pendapatan bersih kelompok k di daerah j , dilambangkan dengan Y_{jk} , merupakan penjumlahan dari proporsi tertentu faktor-faktor produksi dalam perekonomian, yaitu tenaga kerja dan modal, yang dinyatakan dengan

$$Y_{jk} = rK_{jk} + w_{jk}L_{jk} \quad (4)$$

Diasumsikan bahwa tingkat utilitas (*utility level*), $U_{jk}(t)$, pada kelompok k di daerah j bergantung pada tingkat konsumsi $C_{jk}(t)$ dan tabungan bersih $S_{jk}(t)$. Fungsi utilitas (*utility functions*), $U_{jk}(t)$, diberikan oleh persamaan

$$U_{jk}(t) = C_{jk}^{\xi_{jk}} S_{jk}^{\lambda_{jk}}, \quad \xi_{jk} + \lambda_{jk} = 1, \quad (5)$$

dengan ξ_{jk} dan λ_{jk} berturut-turut adalah kecenderungan pada kelompok k di daerah j untuk mengonsumsi dan untuk menabung. Masing-masing daerah mempunyai dua variabel keputusan, yaitu C_{jk} dan S_{jk} . Kendala pembiayaan diberikan oleh:

$$C_{jk} + S_{jk} = T_{jk} \quad j, k = 1, 2, \quad (6)$$

dengan

$$T_{jk} = Y_{jk} + K_{jk} - \delta K_{jk} \quad (7)$$

dan δ adalah laju depresiasi kapital, $0 \leq \delta \leq 1$.

Optimasi fungsi utilitas (4) dengan kendala (5) memiliki solusi tunggal sebagai keputusan optimal konsumen yaitu:

$$C_{jk} = \xi_{jk} T_{jk}, \quad S_{jk} = \lambda_{jk} T_{jk} \quad j, k = 1, 2. \quad (8)$$

Dengan demikian, akumulasi modal kelompok k di daerah j diberikan oleh

$$\dot{K}_{jk} = S_{jk} - K_{jk} \cdot \tag{9}$$

Dengan substitusi persamaan (6) ke dalam persamaan (7) di atas, diperoleh

$$\dot{K}_{jk} = \lambda_{jk} Y_{jk} - \delta_{jk} K_{jk} \tag{10}$$

dengan

$$\delta_{jk} = \xi_{jk} + \delta \lambda_{jk}$$

yang merupakan persamaan dari model distribusi pertumbuhan ekonomi antarkelompok pada dua daerah, seperti yang diajukan oleh Zhang (2005).

Sistem ini terdiri atas 30 variabel endogen, yaitu: K_{jk} , C_{jk} , S_{jk} , Y_{jk} , w_{jk} , U_{jk} ($j, k = 1, 2$), K_1 , K_2 , F_1 , F_2 , E , dan r . Untuk menentukan variabel-variabel endogen tersebut, langkah pertama adalah dengan menyubstitusikan persamaan (1) ke dalam persamaan berikut

$$r = \frac{\alpha F_1}{K_1 + E} = \frac{\alpha F_2}{K_2 - E},$$

sehingga diperoleh E yang merupakan sebuah fungsi dari K_1 dan K_2 sebagai berikut

$$E(t) = \frac{L_1 K_2 - L_2 K_1}{L} \tag{11}$$

Dengan menyubstitusikan persamaan (1), (3), dan (9) ke dalam persamaan (4), maka akan diperoleh persamaan Y_{jk} , yaitu

$$Y_{jk} = \frac{\alpha L K_{jk} / K + \beta z_{jk} L_{jk}}{L^\alpha} K^\alpha, \tag{12}$$

yang merupakan sebuah fungsi dari K_{jk} . Dari persamaan (8) dan (10) dinamika keempat variabel $K_{jk}(t)$ ditentukan oleh sistem persamaan diferensial empat dimensi berikut

$$\dot{K}_{jk} = \lambda_{jk} Y_{jk}(K_{jk}) - \delta_{jk} K_{jk} \tag{13}$$

3. EKUILIBRIUM SISTEM DINAMIK

Selanjutnya akan ditentukan syarat keberadaan ekuilibrium dari sistem dinamik, yaitu persamaan diferensial (13). Ekuilibrium terjadi pada saat $\frac{dK_{jk}}{dt} = \dot{K}_{jk} = 0$, sehingga dari persamaan (12), (13), dan pada saat ekuilibrium, maka diperoleh

$$Y_{jk} = \frac{\alpha L K_{jk} / K + \beta z_{jk} L_{jk}}{L^\alpha} K^\alpha = \frac{\delta_{jk} K_{jk}}{\lambda_{jk}} \tag{14}$$

Dengan menyubstitusikan $Y_{jk} = \frac{\delta_{jk} K_{jk}}{\lambda_{jk}}$ dari persamaan (16) dan persamaan (8) ke persamaan (9) menghasilkan:

$$C_{jk} = \frac{\xi_{jk}}{\lambda_{jk}} K_{jk}, \quad S_{jk} = K_{jk}. \tag{15}$$

Persamaan tersebut menjelaskan bahwa pada saat ekuilibrium, tingkat konsumsi kelompok k di daerah j adalah proporsional dengan modal yang dimiliki oleh kelompok k di daerah j , dan tingkat tabungan bersih kelompok k di daerah j adalah sama dengan modal yang dimiliki oleh kelompok k di daerah j .

Dengan menyubstitusikan persamaan (15) ke dalam fungsi utilitas (5) diperoleh

$$U_{jk}(t) = \left(\frac{\xi_{jk}}{\lambda_{jk}} K_{jk} \right)^{\xi_{jk}} (K_{jk})^{\lambda_{jk}}. \tag{16}$$

Untuk menentukan K_{jk} pada saat ekuilibrium, dengan menggunakan persamaan (14), diperoleh persamaan

$$K_{jk} = \frac{\beta z_{jk} L_{jk} K}{(\delta_{jk} K^\beta / \lambda_{jk} L^\beta - \alpha) L}, \tag{17}$$

yang merupakan fungsi dari K . Karena $K_{jk} \geq 0$, dari persamaan (17) diperoleh

$$K \geq K_0 \equiv \min_{jk} \left\{ \left(\frac{\alpha \lambda_{jk}}{\delta_{jk}} \right)^{1/\beta} L, \text{ dengan } j, k = 1, 2 \right\} > 0. \tag{18}$$

Dengan menggunakan persamaan (17) dan $\sum_{jk} K_{jk} = K$, maka diperoleh

$$H(K) \equiv \frac{L}{\beta} - \sum_{jk} \frac{z_{jk} L_{jk}}{\delta_{jk} K^\beta / \lambda_{jk} L^\beta - \alpha}. \tag{19}$$

Karena $H(K_0) < 0$, $\lim_{K \rightarrow \infty} H(K) > 0$ dan $\frac{dH}{dK} = H' > 0$ untuk $K_0 < K < \infty$, maka persamaan berikut

$$H(K) = 0, \quad K_0 < K < \infty,$$

mempunyai sebuah solusi tunggal. Artinya bahwa modal keseluruhan K ditentukan secara tunggal. Persamaan di atas dibuktikan dengan menggunakan Teorema Nilai Antara yang menyatakan bahwa jika fungsi f kontinu pada selang tertutup $[a, b]$ dan N adalah bilangan di antara $f(a)$ dan $f(b)$, maka terdapat $c \in (a, b)$ sedemikian sehingga $f(c) = N$. Karena $H' > 0$, maka fungsi tersebut merupakan fungsi naik sehingga persamaan $H(K) = 0$, $K_0 < K < \infty$ mempunyai sebuah solusi tunggal. Karena modal keseluruhan (K) tunggal maka modal masing-masing kelompok pada setiap daerah (K_{jk}) juga adalah tunggal.

Modal daerah 2 yang digunakan oleh daerah 1 atau modal daerah 1 yang digunakan oleh daerah 2 yaitu E pada saat ekuilibrium diperoleh dengan menyubstitusikan persamaan (3)

dan (17) ke dalam persamaan (11). Sehingga E pada saat ekuilibrium dapat diselesaikan dengan persamaan berikut

$$E = \frac{\beta L_1 L_2 K}{L^2} \left\{ \sum_k \frac{z_{2k} L_{2k}}{(\delta_{2k} K^\beta / \lambda_{2k} L^\beta - \alpha) L_2} - \sum_k \frac{z_{1k} L_{1k}}{(\delta_{1k} K^\beta / \lambda_{1k} L^\beta - \alpha) L_1} \right\} \quad (20)$$

4. PENGARUH PERUBAHAN TINGKAT PRODUKTIVITAS MANUSIA

Selanjutnya akan ditentukan pengaruh perubahan beberapa parameter yaitu yang pertama adalah pengaruh perubahan produktivitas manusia (z_{jk}), dalam ekonomi keseluruhan. Pada bagian ini hanya ditekankan pada perubahan produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) dan pengaruhnya terhadap modal keseluruhan (K).

Dengan mendiferensialkan persamaan (19) terhadap z_{11} maka diperoleh

$$\frac{dH}{dK} \frac{dK}{dz_{11}} = \frac{(\lambda_{11} L^\beta - \delta_{11} K^\beta) L_{11}}{(\delta_{11} K^\beta - \alpha \lambda_{11} L^\beta) \beta} + K \frac{L_{11}}{L} \frac{dH}{dK}, \quad (21)$$

dengan

$$\frac{dH}{dK} = \sum_{jk} \frac{\beta \delta_{jk} z_{jk} L_{jk}}{\lambda_{jk} K^\alpha L^\beta (\delta_{jk} K^\beta / \lambda_{jk} L^\beta - \alpha)^2} > 0.$$

Dalam kasus $\lambda_{11} L^\beta \geq \delta_{11} K^\beta$, peningkatan produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 akan menyebabkan peningkatan modal keseluruhan. Untuk kasus $\delta_{11} K^\beta / \lambda_{11} L^\beta > 1$ sulit untuk menduga pengaruh dari K . Karena nilai ekuilibrium modal keseluruhan, K tidak secara eksplisit diselesaikan, hal ini sulit untuk menentukan $1 \geq \delta_{11} K^\beta / \lambda_{11} L^\beta$.

Dengan mendiferensialkan persamaan (17) terhadap z_{11} dan dengan mengasumsikan bahwa K adalah konstan, maka pengaruh produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) terhadap modal kelompok 1 di daerah 1 (K_{11}) diberikan oleh:

$$\frac{\delta_{11} K^\beta - \alpha \lambda_{11} L^\beta}{K_{11}} \frac{dK_{11}}{dz_{11}} = \frac{\delta_{11} K^\beta - \alpha \lambda_{11} L^\beta}{z_{11}} + \left(\frac{-\alpha \delta_{11} K^\beta L_{11} + \alpha \lambda_{11} L_{11} L^\beta}{L} \right) - \alpha L_{11} \left(\frac{\delta_{11} K^\beta - \lambda_{11} L^\beta}{L} \right). \quad (22)$$

Untuk menyederhanakan dalam menganalisis model, di dalam menentukan pengaruh produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) maka diasumsikan masing-masing kelompok pada setiap daerah mempunyai pilihan yang sama mengenai kecenderungan untuk mengonsumsi barang-barang dan untuk menabung yaitu, $\lambda = \lambda_{jk}$ ($\xi = \xi_{jk}$ dan

$\delta = \delta_{jk}$) untuk semua j, k . Dengan menggunakan persamaan (17) dan (18) maka diperoleh

$$K^\beta = \frac{\lambda L^\beta}{\delta}, \quad K_{jk} = \left(\frac{\lambda}{\delta}\right)^{1/\beta} z_{jk} L_{jk},$$

Selanjutnya dengan mendiferensialkan persamaan di atas maka diperoleh:

$$\frac{dK}{dz_{11}} = \left(\frac{\lambda}{\delta}\right)^{1/\beta} L_{11} > 0, \quad \frac{dK_{11}}{dz_{11}} = \frac{K_{11}}{z_{11}} > 0, \quad \frac{dK_{jk}}{dz_{11}} = 0. \quad (23)$$

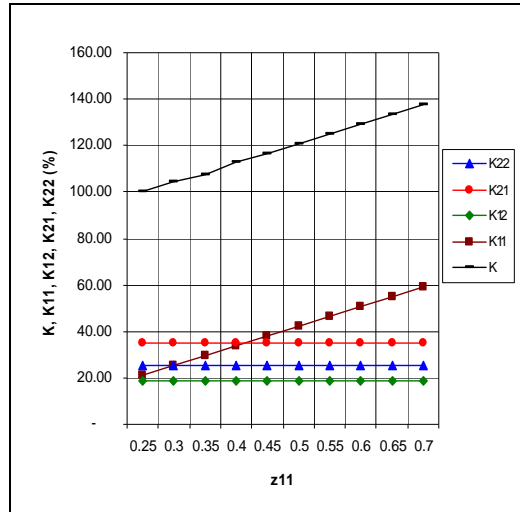
Dari persamaan di atas dapat dilihat bahwa peningkatan produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) akan memperbesar modal keseluruhan (K), dan modal kelompok 1 di daerah 1 (K_{11}) tetapi tidak memiliki pengaruh pada modal untuk ketiga kelompok lainnya.

5. SIMULASI PENGARUH PARAMETER

Dalam simulasi model distribusi pertumbuhan ekonomi ini akan ditentukan pengaruh perubahan tingkat produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) terhadap modal keseluruhan (K), modal kelompok 1 di daerah 1 (K_{11}), dan modal dari ketiga kelompok lainnya. Simulasi terhadap model ini mengasumsikan bahwa nilai parameter pada seluruh kelompok k di seluruh daerah j adalah identik satu sama lain kecuali dalam tingkat produktivitas manusia (z_{jk}) dan banyaknya tenaga kerja (L_{jk}).

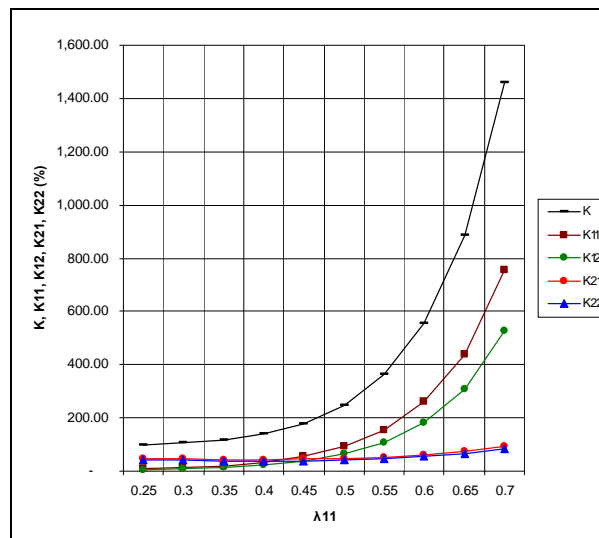
Untuk melihat pengaruh perubahan tingkat produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 terhadap modal keseluruhan (K), modal kelompok 1 di daerah 1, dan modal dari ketiga kelompok lainnya, dilakukan simulasi terhadap parameter z_{11} , sedangkan nilai parameter yang lain adalah tetap. Hasil simulasi disajikan pada Gambar 1.

Dari Gambar 1 tersebut dapat dilihat bahwa peningkatan produktivitas manusia kelompok 1 di daerah 1 (z_{11}) akan menyebabkan peningkatan secara linear modal keseluruhan dan modal kelompok tersebut, tetapi tidak mempunyai pengaruh pada modal ketiga kelompok yang lain. Hal ini dapat dijelaskan bahwa, peningkatan produktivitas manusia secara langsung akan menyebabkan meningkatnya *output* (produksi) dari masing-masing daerah seperti yang ditunjukkan oleh persamaan (1) dan (2). Sebagai akibatnya maka pendapatan masing-masing kelompok tersebut akan meningkat. Serta jika pendapatan masing-masing kelompok pada tiap daerah meningkat maka modal kelompok tersebut juga akan meningkat.



Gambar 1. Grafik simulasi peningkatan modal karena peningkatan produktivitas manusia.

Hasil simulasi terhadap pengaruh parameter tingkat kecenderungan menabung diberikan pada Gambar 2. Dalam gambar diberikan grafik perbandingan peningkatan kecenderungan menabung kelompok 1 di daerah 1 terhadap modal keseluruhan (K), modal kelompok 1 di daerah 1, dan modal dari ketiga kelompok lainnya.



Gambar 2. Grafik simulasi peningkatan modal karena peningkatan kecenderungan menabung.

Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa peningkatan kecenderungan menabung kelompok 1 di daerah 1 akan menyebabkan peningkatan secara eksponensial modal keseluruhan dan modal kelompok tersebut. Peningkatan kecenderungan menabung secara langsung akan menyebabkan meningkatnya tabungan kelompok tersebut. Dari persamaan (15) dapat dilihat jika tingkat tabungan masing-masing kelompok pada tiap

daerah meningkat maka modal kelompok tersebut juga akan meningkat, demikian pula dengan modal keseluruhan dan modal masing-masing kelompok.

Dengan membandingkan kedua hasil simulasi di atas, ternyata didapatkan bahwa akumulasi kapital akan terjadi dengan lebih cepat apabila terjadi peningkatan kecenderungan menabung dibandingkan dengan peningkatan tingkat produktivitas manusia.

6. KESIMPULAN

Dari kajian terhadap model modal manusia (*human capital*) diperhitungkan dalam fungsi produksi sebagai parameter yang mengukur produktivitas manusia. Pada saat ekuilibrium sistem dinamik memiliki solusi yang tunggal. Dengan menggunakan solusi analitik, peningkatan kedua parameter yaitu produktivitas manusia dan kecenderungan untuk menabung dapat meningkatkan modal keseluruhan dan modal dari masing-masing kelompok pada setiap daerah.

Dari hasil simulasi terungkap bahwa terhadap modal, pengaruh perubahan tingkat produktivitas manusia adalah linear, sedangkan pengaruh perubahan tingkat kecenderungan menabung dapat terjadi secara eksponensial.

DAFTAR PUSTAKA

- Chiang A C, Wainwright K. 2005. *Dasar-dasar Matematika Ekonomi*. Sudigno S, Nartanto, penerjemah; Jakarta: Erlangga Ed IV. Terjemahan dari: *Fundamental Methods of Mathematical Economics*.
- Herliani AL. 2009. Model distribusi pertumbuhan ekonomi antarkelompok pada dua daerah. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Herliani AL, Nugrahani EH, Lesmana DC. 2009. Model distribusi pertumbuhan ekonomi antarkelompok pada dua daerah, kajian teori dan simulasi. *Jurnal Matematika dan Aplikasinya*. Departemen Matematika, Institut Pertanian Bogor. Vol 8, No 1.
- Nugrahani EH. 2009. Model Dinamika Sistem Ekonomi Berdasarkan Akumulasi Modal. *Prosiding Seminar Nasional Sains II*, hal.440-449.
- Solow RM. 1956. A contribution to the economic growth. *The Quarterly Journal of Economics*. Vol 70, No. 1, pp. 65-94.
- Tajau, MTN. 2008. *Model pertumbuhan ekonomi dua daerah berdasarkan modal dan knowledge*. [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Tajau MTN, Nugrahani EH, Budiarti R. 2008. Model Pertumbuhan Ekonomi Dua Daerah dan Simulasi Efek Perubahan Parameternya. *Jurnal Matematika dan Aplikasinya*. Vol 7 No 1.
- Zhang, WB. 1995. A two-country dynamic trade model with multiple groups. *International Economic Journal*. Vol 9, No. 3.
- Zhang, WB. 2005. *Differential equations, bifurcations, and chaos in economics*. World Scientific.

PERBANDINGAN METODE PERAGAM PAPADAKIS RANCANGAN NEAREST NEIGHBOUR

Mohammad Masjkur

Departemen Statistika FMIPA-IPB

masjkur@gmail.com

Abstrak

Analisis peragam Papadakis merupakan alternatif rancangan nearest neighbour untuk memperhitungkan keragaman spasial tanah. Penelitian ini bertujuan membandingkan beberapa metode penentuan peragam papadakis rancangan nearest neighbour dan efisiensinya terhadap RAK. Penelitian menggunakan data percobaan pemupukan padi sawah pada daerah Karawang dan Kebumen. Di daerah Kebumen dilaksanakan selama dua musim tanam. Perlakuan pada daerah Kebumen musim pertama terdiri dari 12 macam pemupukan dengan tiga ulangan, sedangkan pada daerah Karawang dan Kebumen musim kedua terdiri dari 14 macam pemupukan. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode peragam RNN dengan jumlah plot sekitar empat dengan posisi di atas, kanan, bawah dan kiri dari plot mempunyai efisiensi relatif tinggi daripada metode lainnya. Metode tersebut mampu mengurangi keragaman sisaan pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 46 persen, 93 dan 79 persen. Pada lokasi Karawang penggunaan dua peragam spasial dengan jumlah dan posisi plot sekitar sama merupakan alternatif terbaik lainnya. Metode peragam RNN lebih efisien daripada RAKL.

Kata kunci : peragam Papadakis, spasial, plot sekitar, keragaman sisaan

1. PENDAHULUAN

Presisi dugaan pengaruh perlakuan pada percobaan lapangan membutuhkan pengendalian keragaman sisaan (*error variation*), baik dengan rancangan percobaan ataupun analisis statistika yang tepat. Rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) umumnya digunakan karena kesederhanaannya untuk percobaan lapangan. Namun demikian keabsahan RAKL tergantung pada apakah kondisi plot-plot percobaan dalam kelompok relatif homogen bagi pertumbuhan tanaman, misalnya kesuburan tanahnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman spasial dalam blok dengan lebih dari 8 sampai 12 plot jarang terjadi pada percobaan lapangan. Bahkan pada ukuran blok kecil rancangan kisi dapat terjadi keheterogenan spasial (Yang et al., 2004). Dengan demikian pengendalian keragaman sisaan dengan rancangan saja tidak cukup untuk menghilangkan trend spasial yang terjadi.

Alternatif analisis berdasarkan model dapat digunakan untuk memperhitungkan keragaman spasial tanah adalah analisis nearest neighbour (ANN). Rancangan ini menyesuaikan pengamatan dengan nilai yang diukur pada plot sekitarnya (neighbour plots). Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisis nearest neighbour (ANN) umumnya lebih baik daripada RAKL. Analisis peragam papadakis rancangan nearest neighbour (RNN) dapat mengendalikan lebih baik dan mengurangi galat percobaan daripada RAKL (Khan, 1992; Yang et al., 2004). Bermudez and Mallarino (2002) mendapatkan bahwa analisis nearest neighbour mengurangi galat baku rata-rata perlakuan dan meningkatkan tingkat nyata pengaruh perlakuan, sedangkan Smith and Casler (2004) mendapatkan bahwa analisis nearest neighbour lebih efisien daripada RAK.

Beberapa peneliti menggunakan jumlah dan posisi plot sekitar yang berbeda dalam rancangan nearest neighbour. Khan (1992) menggunakan empat plot sekitar (dua di kiri dan kanan plot) pada sumbu panjang, sedangkan Yang et al. (2004) menggunakan dua plot sekitar. Bermudez and Mallarino (2002) menggunakan empat plot sekitar dengan posisi masing-masing satu di kiri, kanan, atas dan bawah dari plot, sedangkan Smith and Casler (2004) menggunakan dua peragam dengan dua plot sekitar baris dan kolom.

Tujuan penelitian ini adalah : (1) membandingkan beberapa metode penentuan peragam papadakis rancangan nearest neighbour, dan (2) membandingkan efisiensinya terhadap RAK.

2. DATA DAN METODE

Penelitian ini menggunakan data percobaan pemupukan padi sawah pada daerah Karawang dan Kebumen. Di daerah Kebumen dilaksanakan selama dua musim tanam. Perlakuan pada daerah Kebumen musim pertama terdiri dari 12 macam pemupukan, sedangkan pada daerah Karawang dan Kebumen musim kedua terdiri dari 14 macam pemupukan dengan tiga ulangan. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK).

Data hasil setiap percobaan dianalisa dengan model spasial sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_{k(ij)} + T_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

dimana Y_{ij} adalah hasil padi (ku/ha) pada plot ke-j blok ke-i atau plot ij , suku $\mu + \tau_{k(ij)}$ menunjukkan rata-rata pengaruh pemupukan ke-k pada plot ij , T_{ij} menunjukkan pengaruh keragaman spasial pada plot tersebut, dan ε_{ij} adalah sisaan acak. Model dasar adalah analisis ragam RAK. Dalam hal ini pengaruh spasial T_{ij} dianggap konstan pada semua plot pada blok yang sama, yaitu $T_{ij} = \beta_i$ (pengaruh blok ke-i).

Untuk analisis nearest neighbour (ANN), digunakan prosedur peragam Papadakis untuk menghitung pengaruh spasial dari plot sekitar, tetapi pengaruh blok β_i tetap

dipertahankan. Dengan demikian $T_{ij} + \epsilon_{ij}$ pada persamaan di atas menjadi $\beta_i + bX_{ij} + \epsilon_{ij}$ pada analisis ANN, dimana X_{ij} = peragam spasial, b = koefisien regresi dari X_{ij} dan $\epsilon_{ij} = Y_{ij} - \bar{Y}_{ij}$ dimana \bar{Y}_{ij} adalah rata-rata pemupukan pada plot ij .

Nilai X_{ij} dihitung dengan beberapa cara sebagai berikut,

1. $X_{ij} = (\epsilon_{i,j-2} + \epsilon_{i,j-1} + \epsilon_{i,j+1} + \epsilon_{i,j+2})/4$. Posisi empat plot sekitar adalah dua di kiri dan kanan plot pada sumbu panjang (11 0 11). Nol menunjukkan plot ij .
2. $X_{ij} = (\epsilon_{i,j-1} + \epsilon_{i,j+1})/2$. Posisi dua plot sekitar adalah satu di kiri dan kanan plot pada sumbu panjang (1 0 1).
3. $X_{ij} = \epsilon_{ij} - (\epsilon_{i,j-1(r)} + \epsilon_{i,j-1(c)} + \epsilon_{i,j+1(r)} + \epsilon_{i,j+1(c)})/4$. Posisi empat plot sekitar adalah masing-masing satu di kiri, kanan, atas dan bawah dari plot.
4. Peragam pertama $X_{ij(1)} = (\epsilon_{i,r-1} + \epsilon_{i,r+1})/2$. Posisi dua plot sekitar adalah satu di kiri dan kanan plot pada baris r yang sama. Peragam kedua $X_{ij(2)} = (\epsilon_{i,c-1} + \epsilon_{i,c+1})/2$. Posisi dua plot sekitar adalah satu di atas dan bawah plot pada kolom c yang sama.

Kriteria untuk efisiensi rancangan RNN adalah,

1. Koefisien keragaman (KK).
2. Koefisien 1- $SSEa/SSEu$, dimana $SSEa$ = jumlah kuadrat sisaan RNN, $SSEu$ = jumlah kuadrat sisaan RAK.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asumsi kenormalan, kehomogenan ragam dan kebebasan sisaan terpenuhi bagi data hasil padi pada lokasi Karawang, dan data transformasi Box-Cox pada lokasi Kebumen musim pertama (Kebumen1) dan musim kedua (Kebumen2). Selanjutnya data tersebut digunakan untuk analisis peragam dengan beberapa metode penentuan nilai peragam.

3.1. Analisis Peragam Metode 1 (RNN1)

Hasil analisis peragam Metode1 pada lokasi Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 1.09 dan 10.10 dengan nilai- $P = 0.4077$ (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.0006 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 1). Hal ini berarti bahwa pemupukan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Adapun pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F 11.41 dengan nilai- $P = 0.0024$ menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 3.23 dan 6.66 dengan nilai- $P = 0.0101$ (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.0058 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 2). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan

pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 1.43 dengan nilai-P = 0.2459 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 6.63 dan 1.97 dengan nilai-P = <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.1608 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 3). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan pengelompokan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F 4.62 dengan nilai-P = 0.0414 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 1. Analisis Peragam RNN1 lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	1.09	0.4077
Blok	2	78.49	39.25	10.10	0.0006
Peragam	1	44.33	44.33	11.41	0.0024
Sisaan	25	97.16	3.89		
Total	41	275.21			

Tabel 2. Analisis Peragam RNN1 lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	3.23	0.0101
Blok	2	9.15E13	4.57E13	6.66	0.0058
Peragam	1	9.79E12	9.79E12	1.43	0.2459
Sisaan	21	1.44E14	6.87E12		
Total	35				

Tabel 3. Analisis Peragam RNN1 lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	6.63	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	1.97	0.1608
Peragam	1	2.83E16	2.83E16	4.62	0.0414
Sisaan	25	1.53E17	6.11E15		
Total	41	7.32E17			

3.2. Analisis Peragam Metode2 (RNN2)

Hasil analisis peragam Metode2 pada lokasi Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 3.11 dan 28.74 dengan nilai-P = 0.0072 dan <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 4). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F 78.60 dengan nilai-P <0.0001 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 4. Analisis Peragam RNN2 lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	3.11	0.0072
Blok	2	78.49	39.25	28.74	<0.0001
Peragam	1	107.35	107.35	78.60	<0.0001
Sisaan	25	34.14	1.37		
Total	41	275.21			

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 3.09 dan 6.37 dengan nilai-P = 0.0101 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.0058 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 5). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 0.45 dengan nilai-P = 0.5099 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 5. Analisis Peragam RNN2 lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	3.09	0.0126
Blok	2	9.15E13	4.57E13	6.37	0.0069
Peragam	1	3.23E12	3.23E12	0.45	0.5099
Sisaan	21	1.51E14	7.19E12		
Total	35				

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 8.13 dan 2.41 dengan nilai-P = <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.1101 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 6). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan pengelompokan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 11.33 dengan nilai-P = 0.0025 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 6. Analisis Peragam RNN2 lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	8.13	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	2.41	0.1101
Peragam	1	5.64E16	5.64E16	11.33	0.0025
Sisaan	25	1.25E17	4.98E15		
Total	41	7.32E17			

3.3. Analisis Peragam Metode3 (RNN3)

Hasil analisis peragam Metode3 pada lokasi Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 1.62 dan 14.94 dengan nilai-P = 0.1463 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 7). Hal ini berarti bahwa pemupukan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial

mendapatkan nilai statistik uji F 28.86 dengan nilai-P <0.0001 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 7. Analisis Peragam RNN3 lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	1.62	0.1463
Blok	2	78.49	39.25	14.94	<0.0001
Peragam	1	75.82	75.82	28.86	<0.0001
Sisaan	25	65.67	2.63		
Total	41	275.21			

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 45.54 dan 93.82 dengan nilai-P < 0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 8). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 295.05 dengan nilai-P < 0.0001 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 8. Analisis Peragam RNN3 lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	45.54	<.0001
Blok	2	9.15E13	4.57E13	93.82	<.0001
Peragam	1	1.44E14	1.44E14	295.05	<.0001
Sisaan	21	1.02E13	4.89E11		
Total	35	4.90E14			

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 26.86 dan 7.97 dengan nilai-P <0.0001 dan 0.0021 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 9). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 94.98 dengan nilai-P <0.0001 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 9. Analisis Peragam RNN3 lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	26.86	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	7.97	0.0021
Peragam	1	1.43E17	1.43E17	94.98	<.0001
Sisaan	25	3.77E16	1.51E15		
Total	41	7.32E17			

3.4. Analisis Peragam Metode4 (RNN4)

Hasil analisis peragam Metode4 pada lokasi Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 3.83 dan 35.41 dengan nilai-P = 0.0022 dan <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 10). Hal ini berarti

bahwa pemupukan maupun pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial baris dan kolom mendapatkan nilai statistik uji F masing-masing 96.84 dan 6.80 dengan nilai-P <0.0001 dan 0.0154 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) menunjukkan bahwa peragam spasial baris dan kolom kesuburan tanah berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 10. Analisis Peragam RNN4 lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	3.83	0.0022
Blok	2	78.49	39.25	35.41	<.0001
Peragamb	1	107.35	107.35	96.84	<.0001
Peragamk	1	7.54	7.54	6.80	0.0154
Sisaan	24	26.60	1.11		
Total	41	275.21			

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 3.86 dan 7.95 dengan nilai-P = 0.0043 dan 0.0029 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 11). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial baris dan kolom mendapatkan nilai statistik uji F masing-masing 0.56 dan 6.21 dengan nilai-P = 0.4626 dan 0.0216 menunjukkan bahwa peragam spasial baris pada lokasi ini tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan peragam spasial kolom pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 11. Analisis Peragam RNN4 lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	3.86	0.0043
Blok	2	9.15E13	4.57E13	7.95	0.0029
Peragamb	1	3.23E12	3.23E12	0.56	0.4626
Peragamk	1	3.57E13	3.57E13	6.21	0.0216
Sisaan	20	1.15E14	5.76E12		
Total	35				

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 7.83 dan 2.32 dengan nilai-P <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.1197 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 12). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan pengelompokan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial baris dan kolom mendapatkan nilai statistik uji F masing-masing 10.90 dan 0.06 dengan nilai-P = 0.0030 dan 0.8025 menunjukkan bahwa peragam spasial baris pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan peragam spasial kolom pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 12 Analisis Peragam RNN4 lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	7.83	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	2.32	0.1197
Peragamb	1	5.64E16	5.64E16	10.90	0.0030
Peragamk	1	3.31E14	3.31E14	0.06	0.8025
Sisaan	24	1.24E17	5.17E15		
Total	41				

3.5. Perbandingan metode peragam RNN dan RAK

Besarnya koefisien keragaman (KK) pada beberapa metode RNN dan RAK beragam antar lokasi. Umumnya koefisien keragaman metode RNN lebih kecil dibandingkan RAK, kecuali metode RNN2 pada lokasi Kebumen1. Hal ini menunjukkan bahwa ketelitian percobaan semakin tinggi dengan metode RNN dibandingkan RAK. Ketelitian tertinggi didapatkan pada lokasi Karawang dengan rata-rata koefisien keragaman 2.95 persen diikuti oleh Kebumen2 sebesar 17.89 persen dan Kebumen1 sebesar 23.64 persen. Pada lokasi Karawang koefisien KK terkecil didapatkan dengan metode RNN4 sebesar 1.90 persen, sedangkan pada lokasi Kebumen1 dan Kebumen2 adalah metode RNN3 masing-masing sebesar 7.47 dan 10.13 persen (Tabel 13).

Tabel 13. Koefisien keragaman RNN dan RAK

Lokasi	RAK	RNN1	RNN2	RNN3	RNN4
Karawang	4.22	3.57	2.11	2.93	1.90
	0.0032 a	0.0024 b	<0.0001	<0.0001	<.0001d(0.0154)e
	0.6728 c	0.4077	0.0072	0.1463	0.0022
Kebumen1	28.32	28.05	28.68	7.47	25.67
	0.0059	0.2459	0.5099	<.0001	0.4626 (0.0216)
	0.0102	0.0101	0.0126	<.0001	0.0043
Kebumen2	21.76	20.39	18.41	10.13	18.77
	0.1976	0.0414	0.0025	<.0001	0.0030 (0.8025)
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

a=nilai-P pengaruh blok b=nilai-P pengaruh peragam c=nilai-P pengaruh pupuk
d= nilai-P pengaruh peragam baris e= nilai-P pengaruh peragam kolom

Pada lokasi Karawang pengaruh peragam spasial nyata pada semua metode peragam, walaupun pengaruh blok nyata, sedangkan pada lokasi Kebumen2 peragam spasial berpengaruh nyata pada hasil padi, walaupun pengaruh blok tidak nyata. Hal ini menunjukkan bahwa heterogenitas spasial tidak cukup dikendalikan oleh pengelompokan saja. Namun demikian hal ini tergantung pada lokasi percobaan. Pada lokasi Kebumen1 pengaruh peragam spasial tidak nyata, sedangkan pengaruh blok nyata menunjukkan heterogenitas spasial cukup dikendalikan oleh pengelompokan saja.

Pemilihan metode penentuan peragam nampaknya berpengaruh nyata terhadap efektifitas pengendalian heterogenitas spasial. Pada lokasi Kebumen1, peragam spasial diidentifikasi tidak nyata terhadap hasil padi dengan metode RNN1 dan RNN2, namun

nyata pada metode RNN3 dan RNN4 peragam kolom. Pada lokasi Kebumen1 dan Kebumen2 metode terbaik adalah metode RNN3 dengan nilai-P <0.0001, sedangkan pada lokasi Karawang metode terbaik adalah RNN4 dengan nilai-P peragam baris dan kolom masing-masing <.0001 dan 0.0154.

Metode penentuan peragam RNN berbeda dalam meningkatkan peluang nyata pengaruh perlakuan. Misalnya pada lokasi Karawang pengaruh pupuk RAK diidentifikasi tidak nyata berpengaruh terhadap hasil padi dengan nilai-P sebesar 0.6728, namun nyata berpengaruh dengan metode peragam RNN2 dan RNN4 dengan nilai-P masing-masing 0.0072 dan 0.0022 (Tabel 13). Perbedaan metode peragam RNN menunjukkan efisiensi relatif lebih tinggi dan berbeda dibandingkan RAK. Kisaran besaran ragam sisaan dapat dikurangi antara 2-97 persen. Efisiensi relatif terbaik RNN pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing adalah metode RNN3 (46 persen, 93 dan 79 persen) (Tabel 14).

Tabel 14. Efisiensi relatif RNN terhadap RAK

Lokasi	RNN1	RNN2 1-SSEa/SSEu	RNN3	RNN4
Karawang	31	24	46	19
Kebumen1	6	2	93	25
Kebumen2	15	31	79	31

4. KESIMPULAN

Metode peragam RNN dengan jumlah plot sekitar empat dengan posisi di atas, kanan, bawah dan kiri dari plot mempunyai efisiensi relatif tinggi daripada metode lainnya. Pada lokasi tertentu penggunaan dua peragam spasial merupakan alternatif terbaik. Metode peragam RNN lebih efisien daripada RAKL.

DAFTAR PUSTAKA

- Bermudez, M. and A. P. Mallarino. 2004. Yield and Early Growth Responses to Starter Fertilizer in No-Till Corn Assessed with Precision Agriculture Technologies. *Agron. J.* 94:1024–1033.
- Khan, Noor-ul-Islam. 1992. Evaluation of Three Different Methods of Reduction of Experimental Error in Wheat Yield Trials. *Pakistan J. Agric. Res.* Vol. 13 No. 1.
- Smith, K. F. and M. D. Casler. 2004. Spatial Analysis of Forage Grass Trials across Locations, Years, and Harvests. *Crop Sci.* 44:56–62.
- Yang, Rong-Cai, Terrance Z. Ye, Stanford F. Blade, and Manjula Bandara. 2004. Efficiency of Spatial Analyses of Field Pea Variety Trials. *Crop Sci.* 44:49–55.

PERBANDINGAN RANCANGAN SPASIAL NEAREST NEIGHBOUR DAN RANCANGAN ACAK KELOMPOK PERCOBAAN PEMUPUKAN PADI SAWAH

Mohammad Masjkur

Departemen Statistika FMIPA-IPB

masjkur@gmail.com

Abstrak

Pengendalian lokal pada percobaan lapangan umumnya dilakukan dengan cara pengelompokan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Namun demikian jika keragaman spasial tanah terjadi pada skala dimana pengelompokan tidak dapat mengendalikan, maka RAK kurang efisien pada perbandingan pengaruh perlakuan. Penelitian ini bertujuan (1) mengetahui penggunaan rancangan spasial *nearest neighbour* (RNN) pada percobaan pemupukan padi sawah, dan (2) membandingkan efisiensi RNN terhadap RAK. Penelitian menggunakan data percobaan pemupukan padi sawah pada daerah Karawang dan Kebumen. Di daerah Kebumen dilaksanakan selama dua musim tanam. Perlakuan pada daerah Kebumen musim pertama terdiri dari 12 macam pemupukan dengan tiga ulangan, sedangkan pada daerah Karawang dan Kebumen musim kedua terdiri dari 14 macam pemupukan. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK). Data hasil setiap percobaan dianalisa dengan model RAK dan RNN. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rancangan RNN cenderung meningkatkan peluang nyata pengaruh perlakuan. Rancangan spasial RNN menunjukkan efisiensi relatif lebih tinggi dibandingkan RAK. Efisiensi relatif RNN pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 140, 102 dan 114 persen. Rancangan RNN dapat mengurangi keragaman sisaan pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 31, 6 dan 15 persen.

Kata kunci : spasial, *nearest neighbour*, pengendalian lokal, acak kelompok, efisiensi

1. PENDAHULUAN

Terdapat tiga prinsip dasar perancangan percobaan, yaitu ulangan (*replication*), pengacakan (*randomization*), dan pengendalian lokal (*local control*). Ulangan diperlukan agar supaya didapatkan nilai dugaan galat percobaan (*experimental error*) sebagai basis perbandingan pengaruh perlakuan. Pengacakan diperlukan untuk menghilangkan bias karena perbedaan karakteristik dari plot percobaan, sedangkan pengendalian lokal menunjukkan pengelompokan untuk mengurangi galat percobaan.

Pengendalian lokal pada percobaan lapangan umumnya dilakukan dengan cara pengelompokan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Harapannya adalah keragaman tanah dalam kelompok relatif homogen serta terpenuhinya asumsi galat percobaan menyebar normal, bebas dan identik dengan ragam sama. Namun demikian

jika keragaman spasial tanah terjadi pada skala dimana pengelompokan tidak dapat mengendalikan, maka asumsi kebebasan galat dapat tidak terpenuhi dan RAK kurang efisien pada perbandingan pengaruh perlakuan.

Metode alternatif dapat digunakan untuk memperhitungkan keragaman spasial tanah adalah rancangan *nearest neighbour* (RNN). Rancangan ini menyesuaikan pengamatan dengan nilai yang diukur pada plot sekitarnya (*neighbour plots*). Asumsinya adalah hasil suatu plot berhubungan erat dengan hasil dari plot-plot sekitarnya disebabkan karena terdapat korelasi positif antara kesuburan tanah dari plot-plot berdekatan.

Hasil beragam didapatkan dari rancangan *nearest neighbour*. Khan (1992) mendapatkan analisis peragam produktivitas, analisis *nearest neighbour* Wilkinson dan analisis *nearest neighbour* Schwarzbach tidak efisien dibandingkan RAK pada percobaan gandum. Namun demikian, metode ini dapat digunakan sebagai pengukuran koreksi jika pengelompokan tidak efektif dalam mengendalikan keragaman lapangan. Bermudez and Mallarino (2002) mendapatkan bahwa analisis *nearest neighbour* mengurangi galat baku rata-rata perlakuan dan meningkatkan tingkat nyata pengaruh perlakuan, sedangkan Smith and Casler (2004) mendapatkan bahwa analisis *nearest neighbour* lebih efisien daripada RAK.

Tujuan penelitian ini adalah: (1) mengetahui penggunaan rancangan *nearest neighbour* pada percobaan pemupukan padi sawah, dan (2) membandingkan efisiensi RNN terhadap RAK.

2. DATA DAN METODE

Penelitian ini menggunakan data percobaan pemupukan padi sawah pada daerah Karawang dan Kebumen. Di daerah Kebumen dilaksanakan selama dua musim tanam. Perlakuan pada daerah Kebumen musim pertama terdiri dari 12 macam pemupukan dengan tiga ulangan, sedangkan pada daerah Karawang dan Kebumen musim kedua terdiri dari 14 macam pemupukan. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK).

Data hasil setiap percobaan dianalisa dengan model spasial sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_{k(ij)} + T_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

dimana Y_{ij} adalah hasil padi (ku/ha) pada plot ke- j blok ke- i atau plot ij , suku $\mu + \tau_{k(ij)}$ menunjukkan rata-rata pengaruh pemupukan ke- k pada plot ij , T_{ij} menunjukkan pengaruh keragaman spasial pada plot tersebut, dan ε_{ij} adalah sisaan acak. Model dasar adalah analisis ragam RAK. Dalam hal ini pengaruh spasial T_{ij} dianggap konstan pada semua plot pada blok yang sama, yaitu $T_{ij} = \beta_i$ (pengaruh blok ke- i).

Untuk analisis *nearest neighbour* (ANN), digunakan prosedur peragam Papadakis untuk menghitung pengaruh spasial dari plot sekitar, tetapi pengaruh blok β_i tetap dipertahankan. Dengan demikian $T_{ij} + \varepsilon_{ij}$ pada persamaan di atas menjadi $\beta_i + bX_{ij} + e_{ij}$ pada analisis ANN, dimana X_{ij} = peragam spasial, b = koefisien regresi dari X_{ij} dan $e_{ij} = Y_{ij} - Y$ dimana Y adalah rata-rata pemupukan pada plot ij .

Nilai X_{ij} dihitung dengan cara merata-ratakan empat sisaan plot sekitar (*residual neighbours*). Posisi empat plot sekitar adalah dua di kiri dan kanan plot pada sumbu panjang (11 0 11). Nol menunjukkan plot ij .

Kriteria untuk efisiensi rancangan RNN adalah,

1. Koefisien keragaman (KK).
2. KTS rak/KTS rnn, dimana KTS = kuadrat tengah sisa
3. Koefisien 1-JKSa/JKSu, dimana JKSa = jumlah kuadrat sisaan RNN, JKSu = jumlah kuadrat sisaan RAK.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

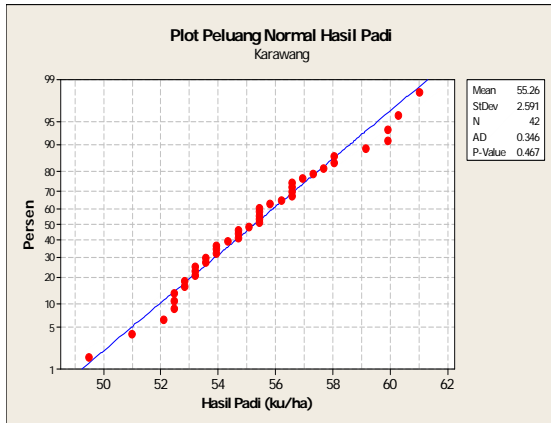
3.1. Pemeriksaan Kenormalan Data

Pemeriksaan asumsi kenormalan data dari model rancangan percobaan dilakukan dengan uji Anderson-Darling (AD) dan plot peluang normal (Aunuddin, 2005). Pemeriksaan dilakukan terhadap data hasil padi pada masing-masing lokasi dan musim tanam. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1, 2 dan 3.

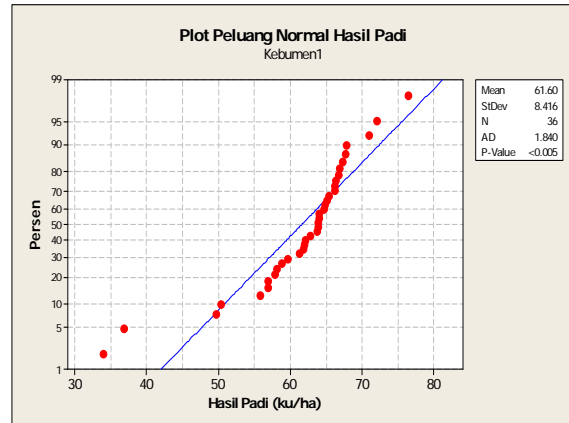
Didapatkan bahwa nilai statistik uji AD pada lokasi Karawang adalah 0.346 dengan nilai-P (*P-value*) = 0.467 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$). Hal ini berarti bahwa data hasil padi menyebar normal. Plot peluang normal cenderung membentuk pola garis lurus yang menunjukkan bahwa data menyebar normal (Gambar 1). Adapun pada lokasi Kebumen musim tanam pertama (Kebumen1) dan musim kedua (Kebumen2), nilai statistik uji AD masing-masing adalah 1.840 dan 1.283, sedangkan nilai-P masing-masing adalah <0.005 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa data hasil padi tidak menyebar normal pada kedua lokasi ini. Plot peluang normal membentuk pola melengkung atau tidak membentuk pola garis lurus yang mendukung hasil uji AD bahwa data tidak menyebar normal. Dengan demikian data hasil padi pada lokasi Kebumen perlu ditransformasi.

Transformasi data hasil padi menggunakan metode transformasi Box-Cox. Hasil uji AD pada data transformasi dan plot peluang normal dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5. Didapatkan hasil statistik uji AD pada lokasi Kebumen1 dan 2 masing-masing = 0.543 dan 0.338 dengan nilai-P masing-masing 0.152 dan 0.486 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha =$

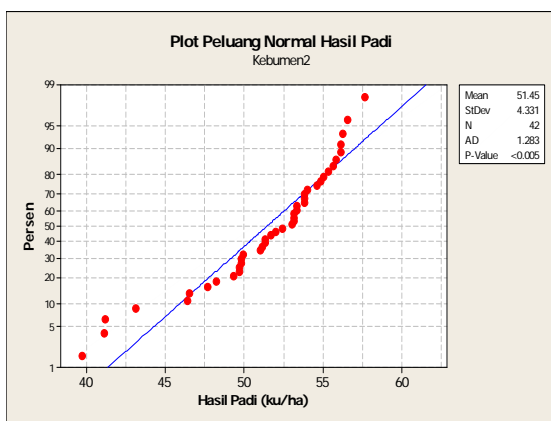
0.05). Hal ini berarti bahwa data menyebar normal. Plot peluang normal menunjukkan pola garis lurus yang mendukung hasil data menyebar normal. Data transformasi tersebut digunakan bagi analisis selanjutnya.



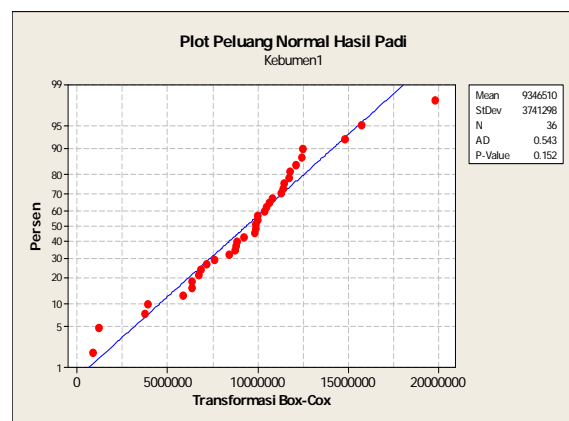
Gambar 1. Pemeriksaan asumsi normalitas data lokasi Karawang



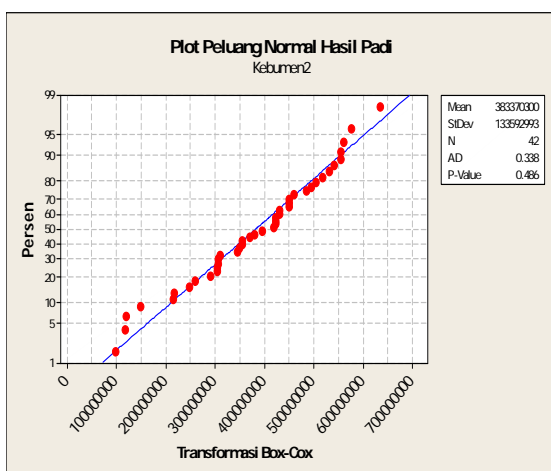
Gambar 2. Pemeriksaan asumsi normalitas data lokasi Kebumen1



Gambar 3. Pemeriksaan asumsi normalitas data lokasi Kebumen2



Gambar 4. Pemeriksaan asumsi normalitas data transformasi lokasi Kebumen1



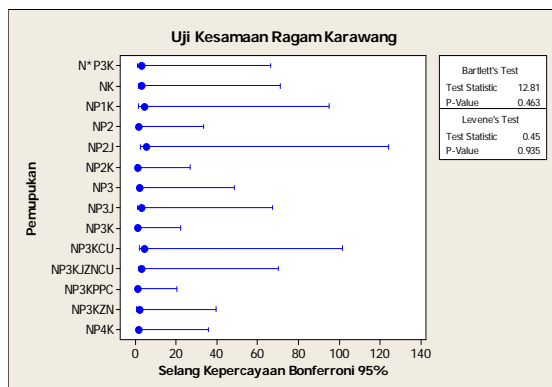
Gambar 5. Pemeriksaan asumsi normalitas data transformasi lokasi Kebumen2

3.2. Pemeriksaan Kesamaan Ragam

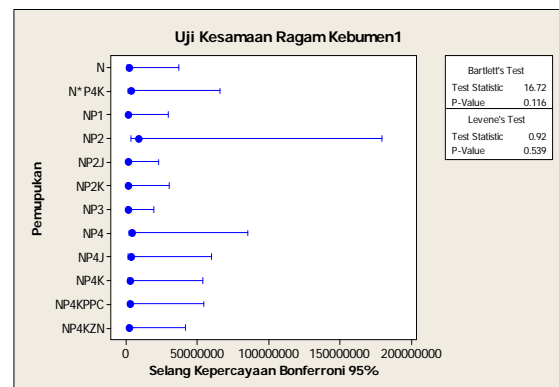
Pemeriksaan asumsi kesamaan ragam model rancangan percobaan dilakukan dengan uji Bartlett. Hasil pengujian pada masing-masing lokasi dapat dilihat pada Gambar 6, 7 dan 8. Statistik uji Bartlett pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan 2 masing-masing adalah 12.81, 16.72 dan 14.49 dengan nilai-P masing-masing adalah 0.463, 0.116 dan 0.340 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa data hasil padi pada lokasi tersebut mempunyai ragam sama.

3.3. Pemeriksaan Kebebasan Sisaan

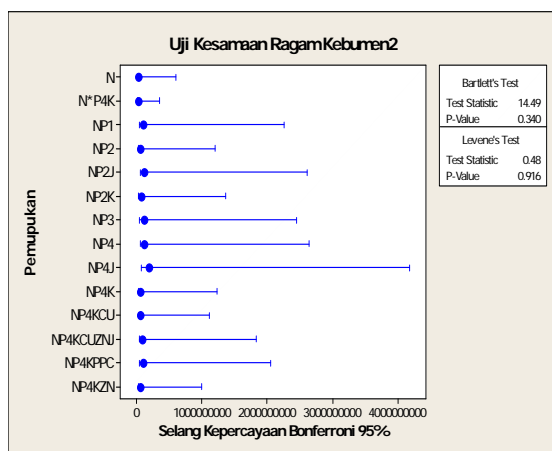
Pemeriksaan kebebasan sisaan dilakukan dengan uji kebebasan runtunan (*run-test*) dan plot sisaan dengan urutan pengamatan setelah data disuaikan dengan model (Rawlings, 1988). Hasil uji menunjukkan bahwa nilai-P pada tiga lokasi Karawang, Kebumen 1 dan 2 masing-masing 0.216, 0.300 dan 0.766 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) yang berarti sisaan model bersifat bebas stokastik. Hasil ini didukung oleh pola acak sisaan dengan urutan pengamatan (Gambar 9, 10 dan 11).



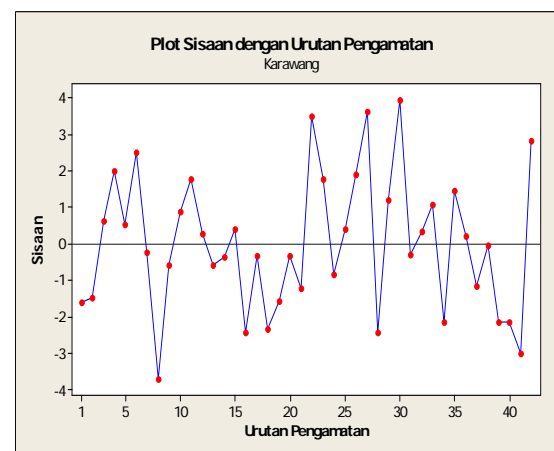
Gambar 6. Pemeriksaan asumsi kesamaan ragam lokasi Karawang



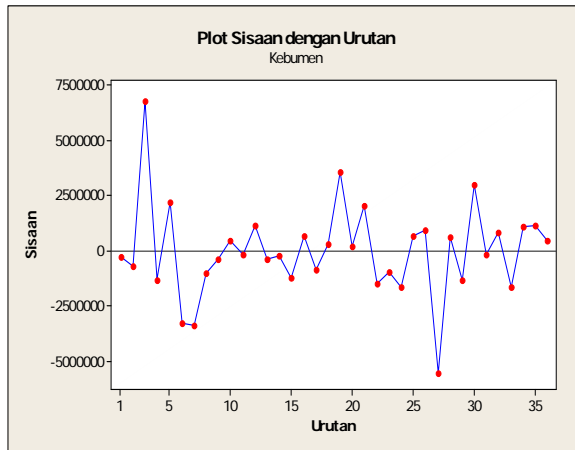
Gambar 7. Pemeriksaan asumsi kesamaan ragam lokasi Kebumen1



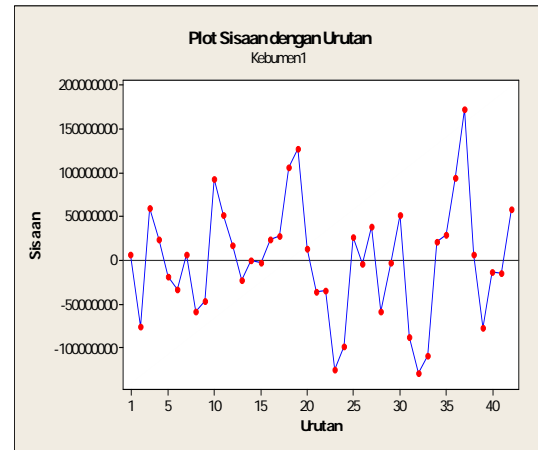
Gambar 8. Pemeriksaan asumsi kesamaan ragam lokasi Kebumen2



Gambar 9. Pemeriksaan asumsi kebebasan sisaan lokasi Karawang



Gambar 10. Pemeriksaan asumsi kebebasan sisaan lokasi Kebumen1



Gambar 11. Pemeriksaan asumsi kebebasan sisaan lokasi Kebumen2

3.4. Analisis Ragam RAK

Hasil analisis ragam RAK pada lokasi percobaan Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 0.78 dan 7.21 dengan nilai-P = 0.673 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.003 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 1). Hal ini berarti bahwa pemupukan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi atau hasil padi dari 14 macam pemupukan tidak berbeda nyata. Adapun pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi atau minimal ada dua kelompok hasil padinya berbeda nyata.

Tabel 1. Analisis Ragam RAK lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	0.78	0.6728
Blok	2	78.49	39.25	7.21	0.0032
Sisaan	26	141.49	5.44		
Total	41	275.21			

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 3.17 dan 6.53 dengan nilai-P = 0.010 dan 0.006 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 2). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi atau minimal ada dua hasil padi dari 14 macam pemupukan berbeda nyata. Pengelompokan berpengaruh nyata juga terhadap hasil padi.

Tabel 2. Analisis Ragam RAK lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	3.17	0.0102
Blok	2	9.15E13	4.57E13	6.53	0.0059
Sisaan	22	1.54E14	7.01E12		
Total	35	4.90E14			

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 5.82 dan 1.73 dengan nilai-P = <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.198 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 3). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan pengelompokan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 3. Analisis Ragam RAK lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	5.82	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	1.73	0.1976
Sisaan	26	1.81E17	6.96E15		
Total	41	7.32E17			

3.5. Analisis Peragam RNN

Hasil analisis peragam RNN pada lokasi Karawang menunjukkan bahwa nilai statistik uji F pengaruh pemupukan dan blok masing-masing 1.09 dan 10.10 dengan nilai-P = 0.4077 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.0006 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 4). Hal ini berarti bahwa pemupukan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Adapun pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F 11.41 dengan nilai-P = 0.0024 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 4. Analisis Peragam RNN lokasi Karawang

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	55.22	4.25	1.09	0.4077
Blok	2	78.49	39.25	10.10	0.0006
Peragam	1	44.33	44.33	11.41	0.0024
Sisaan	25	97.16	3.89		
Total	41	275.21			

Pada lokasi Kebumen1 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 3.23 dan 6.66 dengan nilai-P = 0.0101 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.0058 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 5). Hal ini berarti bahwa pemupukan dan pengelompokan berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 1.43 dengan nilai-P = 0.2459 menunjukkan bahwa peragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 5. Analisis Peragam RNN lokasi Kebumen1

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	11	2.44E14	2.22E13	3.23	0.0101
Blok	2	9.15E13	4.57E13	6.66	0.0058
Peragam	1	9.79E12	9.79E12	1.43	0.2459
Sisaan	21	1.44E14	6.87E12		
Total	35				

Pada lokasi Kebumen2 nilai statistik uji F pemupukan dan blok masing-masing 6.63 dan 1.97 dengan nilai-P = <0.0001 (lebih kecil dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) dan 0.1608 (lebih besar dari taraf nyata $\alpha = 0.05$) (Tabel 6). Hal ini berarti bahwa pemupukan berpengaruh nyata terhadap hasil padi, sedangkan pengelompokan tidak berpengaruh nyata terhadap hasil padi. Peragam spasial mendapatkan nilai statistik uji F = 4.62 dengan nilai-P = 0.0414 menunjukkan bahwa ragam spasial kesuburan tanah pada lokasi ini berpengaruh nyata terhadap hasil padi.

Tabel 6. Analisis Peragam RNN lokasi Kebumen2

Sumber	DB	JK	KT	F	P
Pupuk	13	5.27E17	4.05E16	6.63	<.0001
Blok	2	2.40E16	1.20E16	1.97	0.1608
Peragam	1	2.83E16	2.83E16	4.62	0.0414
Sisaan	25	1.53E17	6.11E15		
Total	41	7.32E17			

3.6. Perbandingan RNN dan RAK

Terdapat penurunan koefisien keragaman (KK) pada RNN dibandingkan RAK. Pada lokasi Karawang penurunan KK sebesar 0.65 persen, sedangkan pada lokasi Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 0.27 dan 1.37 persen (Tabel 7). Pada lokasi Karawang pengaruh ragam spasial nyata, walaupun pengaruh blok nyata, namun pada lokasi Kebumen1 pengaruh ragam spasial tidak nyata. Pada lokasi Kebumen2 pengaruh blok tidak nyata, tetapi ragam spasial berpengaruh nyata pada hasil padi. Nampaknya hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemupukan pada musim tanam sebelumnya pada lokasi Kebumen mengakibatkan keragaman spasial kesuburan tanah yang tidak dapat dikendalikan oleh pengelompokan.

Tabel 7. Koefisien keragaman RNN dan RAK

Lokasi	RAK	RNN
Karawang	4.22 (0.0032)**a (0.6728)tn c	3.57 (0.0024)**b (0.4077)tn c
Kebumen1	28.32 (0.0059)** (0.0102)*	28.05 (0.2459)tn (0.0101)*
Kebumen2	21.76 (0.1976)tn (<.0001)**	20.39 (0.0414)* (<.0001)**

a=nilai-P pengaruh blok b=nilai-P pengaruh ragam
c=nilai-P pengaruh pupuk *=nyata pada $\alpha=0.05$ **=nyata pada $\alpha=0.01$

Rancangan RNN cenderung meningkatkan peluang nyata pengaruh perlakuan. Misalnya pada lokasi Karawang nilai-P pengaruh pupuk RAK sebesar 0.6728 menurun menjadi 0.4077 pada RNN (Tabel 8). Rancangan spasial RNN menunjukkan efisiensi

relatif lebih tinggi dibandingkan RAK. Efisiensi relatif RNN pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 140, 102 dan 114 persen. Rancangan RNN dapat mengurangi keragaman sisaan pada lokasi Karawang, Kebumen1 dan Kebumen2 masing-masing sebesar 31, 6 dan 15 persen. Fakta di atas menunjukkan bahwa RNN lebih efisien daripada RAK.

Tabel 8. Efisiensi relatif RNN terhadap RAK

Lokasi	KTSrak/KTSrnn	1-JKSrak/JKSrnn
Karawang	140	31
Kebumen1	102	6
Kebumen2	114	15

4. KESIMPULAN

Rancangan Spasial *Nearest Neighbour* dikombinasikan dengan Rancangan Acak Kelompok perlu dipertimbangkan dalam analisis percobaan lapangan. Rancangan RNN meningkatkan ketelitian dan keakuratan percobaan. RNN mengurangi galat percobaan dan meningkatkan presisi pendugaan pengaruh perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aunuddin. 2005. *Statistika : Rancangan dan Analisis Data*. IPB Press. Bogor.
- Bermudez, M. and A. P. Mallarino. 2004. Yield and Early Growth Responses to Starter Fertilizer in No-Till Corn Assessed with Precision Agriculture Technologies. *Agron. J.* 94:1024–1033.
- Khan, Noor-ul-Islam. 1992. Evaluation of Three Different Methods of Reduction of Experimental Error in Wheat Yield Trials. *Pakistan J. Agric. Res.* Vol. 13 No. 1.
- Rawlings, J. O. 1988. *Applied Regression Analysis*. A Research Tool. Wadsworth & Brooks. Pacific Grove, California.
- Smith, K. F. and M. D. Casler. 2004. Spatial Analysis of Forage Grass Trials across Locations, Years, and Harvests. *Crop Sci.* 44:56–62.

PANITIA SEMINAR NASIONAL SAINS III (2010)

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Pertanian Bogor

Penanggung Jawab dan Pengarah	: 1. Dr. drh Hasim, DEA (Dekan FMIPA-IPB/ Sekjen MIPAnet) 2. Dr. Kiagus Dahlan (Wakil Dekan FMIPA-IPB) 3. Prof. Dr. Yonny Koesmaryono (Ketua Senat FMIPA-IPB)
Ketua Pelaksana	: Dr. Hamim
Sekretaris I	: Dr. Aris Tjahjoleksono
Sekretaris II	: Dr. Suryani
Bendahara dan Dana	: Dr. Dyah Iswantini
Pubdok & Promosi	: 1. Dr. Akhiruddin M (Koordinator) 2. Faozan, M.Si 3. Heriyanto Syaputra, MSi
Makalah & Persidangan	: 1. Dr. Ence Darmo Jaya Supena (Koord.) 2. Ali Kusnanto, MSi
Prosiding	: Indahwati, M.Si
Dewan Editor Prosiding	: 1. Dr. Ence Darmo Jaya Supena (Koord.) 2. Dr. Hamim (Biologi) 3. Dr. drh Hasim, DEA (Biokimia/Kimia) 4. Dr. Kiagus Dahlan (Fisika) 5. Dr. Endar H. Nugraheni (Matematika) 6. Indahwati, MSi (Matematika)