



PROSIDING

SEMIRATA 2014

Bidang MIPA BKS-PTN-Barat

“Integrasi sains MIPA untuk mengatasi masalah pangan,
energi, kesehatan, reklamasi, dan lingkungan”

IPB International Convention Center dan Kampus IPB Baranangsiang, 9-11 Mei 2014

BUKU 4

BIOLOGI I
(Sains, Integrasi dan Pendidikan)

Diterbitkan oleh: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor



ISBN 978-602-70491-0-9



ISBN : 978-602-70491-0-9

PROSIDING

Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014

“Integrasi Sains MIPA untuk Mengatasi Masalah Pangan, Energi, Kesehatan, Lingkungan, dan Reklamasi”

Diterbitkan Oleh :



**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor**

Copyright© 2014

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014, 9-11 Mei 2014

Diterbitkan oleh : FMIPA-IPB, Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Telp/Fax: 0251-8625481/8625708

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

Terbit Oktober, 2014

ix + 363 halaman

ISBN: 978-602-70491-0-9

Editor dan Reviewer

PROSIDING

Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014

Direktor Editor

- Drs. Ali Kusnanto, MSi.
- Dr. Heru Sukoco
- Dr. Wisnu Ananta Kusuma
- Dr. Imas Sukaesih Sitanggang
- Auzi Asfarian, M.Kom
- Wulandari, S.Komp
- Dean Apriana Ramadhan, S.Komp

Editor Utama

- Dr. Rika Raffiudin
- Dr. Ence Darmo Jaya Supena
- Dr. Utut Widyastuti
- Prof. Dr. Purwantiningsih
- Dr. Tony Ibnu Sumaryada
- Dr. Imas Sukaesih Sitanggang
- Dr. Wisnu Ananta Kusuma
- Dr. drh. Sulistyani, MSc.
- Dr. Indahwati
- Dr. Sobri Effendi
- Drs. Ali Kusnanto, MSi.

Editor Pembantu

- Fikar & Alif

Reviewer

- Dr. Rika Raffiudin
- Prof.Dr.Ir. Alex Hartana
- Dr.Ir. Tatik Chikmawati, M.Si
- Prof.Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si
- Prof.Dr.Dra. Anja Meryandini, MS
- Dr.Ir. Nampiah
- Dr.Ir. Achmad Farajallah, M.Si
- Dr.Ir. RR Dyah Perwitasari, M.Sc
- Dr. Sulistijorini, M.Si
- Dr.Ir. Rita Megia
- Prof.Dr. Okky Setiawati
- Dr. Utut Widyastuti
- Dr. Ence Darmo Jaya Supena

KATA PENGANTAR

Kegiatan Seminar dan Rapat Tahunan Bidang MIPA tahun 2014 (Semirata-2014 Bidang MIPA) Badan Kerja Sama Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (BKS-PTN Barat) yang diamanahkan kepada FMIPA-IPB sebagai penyelenggara telah dilaksanakan dengan sukses pada tanggal 9-11 Mei 2014 di IPB International Convention Center dan Kampus IPB Baranagsiang, Bogor. Salah satu program utama adalah Seminar Nasional Sains dan Pendidikan MIPA dengan tema: *"Integrasi sains MIPA untuk mengatasi masalah pangan, energi, kesehatan, dan lingkungan"*.

Dalam sesi pleno seminar telah disampaikan pemaparan materi oleh satu pembicara utama dan empat pembicara undangan yang berasal dari beragam institusi dan profesi. Dari sesi pleno ini, diharapkan peserta dapat menambah wawasan dan pemahaman tentang pengembangan dan pemanfaatan IPTEK, khususnya Bidang MIPA, sehingga sains dan pendidikan MIPA terus berkembang dan dapat berkontribusi nyata untuk kemajuan dan kemakmuran bangsa Indonesia.

Kegiatan yang tidak kalah pentingnya dalam seminar ini adalah sesi paralel karena telah memberi kesempatan kepada peserta untuk melakukan presentasi dan komunikasi ilmiah secara langsung dengan sesama kolega yang mempunyai minat yang sama dalam mengembangkan Sains dan atau Pendidikan MIPA. Dalam kegiatan sesi paralel ini dipresentasikan secara oral 592 judul makalah hasil penelitian yang disampaikan dalam 37 ruang seminar secara paralel, dan juga dipresentasikan 120 poster ilmiah. Dalam kegiatan komunikasi ilmiah secara langsung ini juga telah dimanfaatkan untuk menjalin jejaring agar lebih bersinergi dalam pengembangan Sains dan Pendidikan MIPA ke depannya. Supaya komunikasi ilmiah yang baik ini dapat juga tersampaikan ke komunitas ilmiah lain yang tidak dapat hadir pada kegiatan seminar, panitia memfasilitasi untuk menerbitkan makalah dalam bentuk **Prosiding**. Panitia juga tetap memberi kesempatan kepada peserta yang akan menerbitkan makalahnya di jurnal ilmiah, sehingga tidak seluruh materi yang disampaikan pada seminar diterbitkan dalam prosiding ini.

Dalam proses penerbitan prosiding ini, panitia telah banyak dibantu oleh Tim Reviewer dan Tim Editor yang dikoordinir oleh Ali Kusnanto yang telah dengan sangat intensif mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran. Untuk itu, panitia menyampaikan terima kasih dan penghargaan. Panitia juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada seluruh penulis makalah yang telah merespon dengan baik hasil review artikelnya. Namun, panitia juga menyampaikan permohonan ma'af karena dengan sangat banyaknya makalah yang akan diterbitkan dalam prosiding ini, waktu yang dibutuhkan dalam proses penerbitan prosiding ini mencapai lebih dari empat bulan, dan penerbitan prosiding tidak dilakukan dalam satu buku tetapi dalam tujuh buku prosiding. Semoga penerbitan prosiding ini selain bermanfaat bagi para pemakalah dan penulis, juga dapat bermanfaat dalam pengembangan Sains dan Pendidikan MIPA.

Bogor, September 2014
Semirata-2014 Bidang MIPA BKS-PTN Barat

Dr.Ir. Sri Nurdiati, MSc.
Supena
Dekan FMIPA-IPB

Ence Darmo Jaya
Ketua Panitia Pelaksana

Daftar Isi

Halaman

Editor dan Reviewer.....	vii
Daftar Isi.....	ix
INTEGRASI	13
LIMA GALUR KACANG HIJAU POTENSIAL HASIL MUTASI KOLKISIN	
Herman, Elfrida Oktavia, Dewi Indriyani Roslim.....	14
BIODIVERSITAS TUMBUHAN DI CAGAR ALAM MOROWALI SULAWESI TENGAH INDONESIA	
Ramadhanil Pitopang dan Muhammad Ihsan Nur Mallo	19
UJI VIABILITAS KAPANG DARI INOKULUM PROBIOTIK UNTUK PAKAN TERNAK PADA BERBAGAI JENIS KEMASAN	
Nurul Maulida dan Sumardi.....	29
EKSTRAKSI LINAMARIN DAN LINAMARASE DARI UBI KAYU (<i>MANIHOT ESCULENTA</i> CRANTZ) UNTUK PENGEMBANGAN SISTEM DETEKSI SENYAWA SIANOGEN	
Rini Riffiani.....	38
ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN-GEN ANALOG RESISTEN PADA TANAMAN KAKAO (<i>Theobroma cacao</i> L.)	
Surti Kurniasih, Sudarsono, Asep Setiawan, Agus Purwantara, Hugo Volkaert.....	47
KONSTRUKSI PRIMER UNTUK DETEKSI SNP RS7895340 PADA GEN TCF7L2 PENYEBAB DIABETES MELITUS TIPE-2 DENGAN METODE ARMS – PCR	
Syamsurizal, Yanwirasti, Asman Manaf, Husnil Kadri dan Jamsari	57
HASIL UMBI DARI UBI KAYU (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) GENOTIPE MENTEKA	
Dewi Indriyani Roslim, Robni Yanti, Herman.....	66
PRODUKSI BIOGAS DARI SEDIMEN DANAU SITU LEBAKWANGI DALAM SKALA LABORATORIUM	
Arif Raditya Nugraha, Megga Ratnasari Pikoli dan Irawan Sugoro.....	70
PENGARUH PEMBERIAN BIOKONTROL TERHADAP TINGKAT INFEKSI KAPANG PATOGEN <i>FOC</i> DAN KEANEKARAGAMAN MIKROORGANISME PERAKARAN DI PERKEBUNAN PISANG CUGENANG, CIANJUR	
Nur Laili, Dwi Agustiyani, Sarjiya Antonius.....	78
ANALISIS FILOGENETIK SPESIES-SPESIES <i>RADOPHOLUS</i> (NEMATODA: RADOPHOLINAE) MENGGUNAKAN DATA MORFOLOGI	
Abdul Gafur	88
ISOLASI DAN DETEKSI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN <i>AZOTOBACTER</i> SP.	

Ahmad Suryadi , Annisa Dwiana , Oktavia Damayanti , Achmad Alfian	97
POLIMORFISME GEN Mx PADA BURUNG-BURUNG AIR LIAR DI CAGAR ALAM PULAU DUA PROPINSI BANTEN	
Dewi Elfidasari, Retno D. Soejoedono, Sri Murtini, Dedy D. Solihin	103
KAJIAN MORFOLOGI DARI <i>PUNTIUS BINOTATUS</i> (VALENCIENNES, 1842) DI SUMATERA BARAT	
Dewi Imelda Roesma, Dwindi Kurniasih Vitri, Syaifullah.....	110
EFEK PENAMBAHAN SENYAWA ASAM AMINO SULFONAT TAURIN PADA PAKAN KOMERSIL TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KELULUS HIDUPAN IKAN GURAMI (<i>Osphronemus gouramy</i> Lac.) JUVENILE	
Elisa N. Fitriana, E.L.Widiastuti, N.Nurcahyani, M.Kanedi	119
VIABILITAS REPRODUKSI RAINBOW BOESEMANI (<i>Melanotaenia boesemani</i>)	
Frenzysca Yuliani , Siti Zuhriyyah Musthofa , Tutik Kadarini , Dewi Elfidasari	127
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (<i>Annona uricata</i> L.) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI ORGAN HATI TIKUS (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	
Endang Sulistyarini Gultom, Martina Restuati, Elen Elizabeth Panggabean	134
KAJIAN PERBANDINGAN <i>CARBON POOL</i> PADA EMPAT JENIS TUMBUHAN PIONIR DAN NON PIONIR DI KAWASAN HUTAN HUJAN TROPIS PINANG-PINANG SUMATERA BARAT	
Rafdinal, Erizal Mukhtar, Syamsuardi dan Hermansyah	142
TABEL KEHIDUPAN EPILACHNA VIGINTIOCTOPUNCTATA F. PADA TANAMAN INANG SOLANUM MELONGENA L.	
Suwarno, Tuti Arianti, Dalil Sutekad	151
POTENSI FUNGI ENDOFIT ASAL LAHAN KRITIS KALIMANTAN SELATAN SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN <i>Calopogonium mucunoides</i>	
Witiyasti Imaningsih, Siti Zulaikha, Miftahul Jannah	159
KAJIAN MENTOK RIMBA (<i>Cairina scutulata</i>) Di TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS, LAMPUNG	
Yusrina AviantiSetiawan, Muhammad Yunus, Sumianto, Nur Wahid Alim, Apriawan, Agus Subagyo, Elly Lestari Rustiati	168
KOORDINASI NEURMUSKULAR MENCIT (<i>Mus musculus</i> L.) PASKASAPIH SETELAH INJEKSI OCHRATOKSIN A SECARA INTRASISTERNAL	
Arum Setiawan , Mammed Sagi , Istriyati , Widya Asmara	174
KONDISI DAN STRATIFIKASI VERTIKAL TERUMBU KARANG DI PERAIRAN GUNUNG ANAK KRAKATAU	
Adi Ilhan Nuari , Endang Linirin Widiastuti, Rikha Aryani Surya	183
CADANGAN KARBON DI HUTAN TROPIK ULU GADUT, PADANG, SUMATERA BARAT	
Erizal Mukhtar, Adi Bejo, Delfina Saswita, Syamsuardi dan Chairul	192

AMELIORASI KONDISI TANAH BEKAS TAMBANG BAUKSIT DENGAN BAHAN ORGANIK PUPUK KANDANG DAN PENGARUHNYA TERHADAP RESPON FOTOSINTESIS, KANDUNGAN KLOROFIL DAN KONDUKTANSI STOMATA TANAMAN KARET	
Sri Wulandari dan L.N.Firdaus	200
KEANEKARAGAMAN JENIS COLEOPTERA COPROFAGUS PADA FESES GAJAH SUMATERA (<i>Elephas maximus sumatranus</i>) BINAAN DI PUSAT LATIHAN GAJAH, SEBLAT KABUPATEN BENGKULU UTARA	
Rizwar, F. Hildayati dan Helmiyetti	208
GAMBARAN HISTOLOGIS PANKREAS MENCIT DIABETES MELLITUS PASCA PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN DAN BIJI MIMBA (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss)	
Elsa Lisanti, A. Winarto.....	216
UPAYA KONSERVASI KUPU-KUPU <i>Papilio peranthus</i> DENGAN METODE PENGAYAAN HABITAT DI TAMAN KUPU-KUPU GITA PERSADA, GUNUNG BETUNG, LAMPUNG	
Herawati Soekardi.....	223
BIOKONSERVASI JERUK KEPROK BRASTAGI (<i>Citrus nobilis</i> BRASTEPU) JERUK LOKAL SUMATERA UTARA SECARA OKULASI	
Isnaini Nurwahyuni, Riyanto Sinaga.....	228
SEBAGAI HERBISIDA ORGANIK PADA GULMA <i>Borreria alata</i> (Aublet) DC	
Siti Fatonah, Herman , Mayta Novaliza Isda.....	237
PEMANFAATAN RADIOISOTOP ³² P SEBAGAI PENANDA SEL BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN PATIN	
Dina Hanifa, Narti Fitriana, Irawan Sugoro dan Adria Priliyanti Murni.....	247
INVENTARISASI JENIS-JENIS ARECACEAE DI TAMAN NASIONAL BUKIT DUABELAS JAMBI	
Dewi Komariah dan Muswita	255
VARIASI SEKUEN DENGAN PENANDA ITS DAN IMPLIKASINYA DALAM KLASIFIKASI <i>Hornstedtia schypifera</i> (ZINGIBERACEAE)	
Nurainas, Syamsuardi, Ardinis Arbain.....	262
STRUKTUR POPULASI <i>Daemonorops draco</i> (Willd.) Blume (ARECACEAE) BERDASARKAN PENANDA RAPD	
Revis Asra, Syamsuardi, Mansyurdin, Joko Ridho Witono	267
KARAKTERISTIK MORFOLOGI DURIAN MERAH BANYUWANGI JAWA TIMUR	
Rusmiati, Eko Mulyanto, Sumeru Ashari, M.Aris Widodo dan Lutfi Bansir.....	274
MORFOLOGI SERBUK SARI BEBERAPA VARIETAS KRISAN (<i>Chrysanthemum morifolium</i> R.)	
Des M, Moralita Chatri, Suci Rahmiati	282
AKTIVITAS AMILASE PADA ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK YANG BERASAL DARI SUMBER AIR PANAS SEMURUP, KERINCI, JAMBI	
Ruth Rize Paas Megahati S , Mansyurdin, Anthonie Agustien, dan Djong Hon Tjong	290

ADSORPSI ION LOGAM TEMBAGA (Cu^{2+}) DENGAN KARBON AKTIF DARI KAYU GELAM (<i>Melaleuca leucodendron</i> L)	
Fatma, Nova Yuliasari, Yuni Angela Nidianti.....	294
BIODEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI OLEH KULTUR TUNGGAL DAN KULTUR CAMPUR KAPANG HIDROKARBONOKLASTIK ASAL KAWASAN BAKAU YANG TERCEMAR MINYAK BUMI	
Hary Widjajanti , Nuni Gofar, Moh.Rasyid Ridho, Farhan Syahdi.....	302
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT PADA TUMBUHAN PIPERACEAE ASAL GUNUNG SALAK, JAWA BARAT DAN KEBUN RAYA EKA KARYA, BALI	
Muhammad Ilyas	312
EKSPLORASI SIANOBAKTERIA PLANKTONIK PADA PERAIRAN PAYAU DI EKOSISTEM MANGROVE CAGAR ALAM PULAU DUA SERANG-BANTEN	
Wineng Siti Rohmah, Siti Gia Syauqiah Fitri, Rida Oktorida Khastini.....	324
UJI VIABILITAS BAKTERI AMILOLITIK DARI INOKULUM PROBIOTIK UNTUK PAKAN TERNAK PADA BERBAGAI JENIS KEMASAN	
Shofia Rodiah dan Sumardi	332
PENGUNAAN SISTEM INFORMASI GEOGRAFIS (SIG) UNTUK KAJIAN TUTUPAN LAHAN HABITAT ALAMI GAJAH SUMATERA (<i>Elephas maximus sumatranus</i>) DI TAMAN NASIONAL BUKIT BARISAN SELATAN	
Suci Natalia, Jani Master, Yob Charles, Elly L. Rustiati, Agus Prayitno	339
PENINGKATAN KUALITAS BIJI KAKAO MELALUI PROSES FERMENTASI OLEH MIKROBA LOKAL ASAL SULAWESI TENGGARA	
Nur Arfa Yanti, Jamili dan Prima Endang Susilowati	345
IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF ASAL TANAH BERDASAR ANALISA PROFIL ASAM LEMAK METIL ESTER DAN SEKUEN GEN 16S rRNA	
Tri Ratna Sulistiyani.....	354

INTEGRASI



LIMA GALUR KACANG HIJAU POTENSIAL HASIL MUTASI KOLKISIN

FIVE POTENTIAL MUNGBEAN LINES MUTATED BY COLCHICINE

Herman*, Elfrida Oktavia, Dewi Indriyani Roslim

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau, Kampus Binawidya Km 12.5, Jl. HR Soebrantas, Panam,
Pekanbaru 28293, Riau

*Penulis untuk korespondensi: Tel./Faks. +6276163273/+6276163273
email: hermansyah@gmail.com

ABSTRACT

Colchicine is a mutagen and used to mutate of plants. This research was to select mung bean M4 mutant lines mutated by colchicine. The experiment was done using a randomized complete design. Fifty four lines were selected. Five seeds per lines were planted as replication. Morphological and agronomic characters, such as plant height (cm), number of productive branch, 50% days to flowering, number of pod per plant, pod length per plant (cm), number of seeds per pod, number of mature and immature pods at 90% harvest, and 100 seeds weight (g), were evaluated. Data was analyzed by using SPSS 17.00 to calculate ANOVA. The results showed that five mung bean lines are potential to be developed, i.e. PRCM_2153, PRCM_2353, PRCM_3144, PRCM_3314, and PRCM_3934. They have big seeds and suitable for food industry.

Keywords: colchicine, line, mung bean, mutation, Vigna radiata,

ABSTRAK

Kolkisin merupakan senyawa kimia yang dapat menyebabkan mutasi dan umum digunakan untuk menghasilkan mutan pada tanaman. Penelitian ini bertujuan menyeleksi galur-galur mutan kacang hijau generasi keempat hasil mutasi menggunakan kolkisin. Penelitian menggunakan RAK. Galur yang diseleksi berjumlah 54 galur. Lima biji untuk setiap galur ditanam sebagai ulangan. Parameter yang diamati adalah tinggi tanaman (cm), jumlah cabang produktif, hari berbunga 50%, jumlah polong per tanaman, panjang polong per tanaman (cm), jumlah biji per polong, jumlah polong masak dan mentah saat panen 90%, dan bobot 100 biji (gram). Analisis data menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lima galur yang memiliki nilai paling tinggi dari parameter yang diamati, yaitu galur PRCM_2153, PRCM_2353, PRCM_3144, PRCM_3314, and PRCM_3934. Kelima galur tersebut berpotensi untuk dikembangkan dan cocok untuk industri makanan.

Kata kunci: galur, kacang hijau, kolkisin, mutasi, *Vigna radiata*.

PENDAHULUAN

Kacang hijau (*Vigna radiata* L. Wilczek), dari famili Fabaceae dengan jumlah kromosom $2n=2x=22$ [1], merupakan salah satu tanaman pertanian dari golongan legum atau kacang-kacangan yang penting di Asia. Tanaman kacang hijau sudah sejak lama dibudidayakan di India, lalu secara luas dibudidayakan di Asia Tenggara, Afrika, Amerika Selatan, dan Australia [2]. Tipe liar tanaman kacang hijau, *Vigna radiata* var. *sublobata*, menyebar secara luas dari Afrika Tengah dan Timur, Madagaskar, Asia, Papua Nugini, dan Australia Utara dan Timur [3].

Tanaman kacang hijau memiliki banyak keunggulan, yaitu kaya akan nutrisi berupa protein (240 g/kg), karbohidrat (630 g/kg), dan mikronutrien [4]. Biji kacang hijau telah dimanfaatkan secara luas dalam bentuk kecambah tauge untuk campuran tumis sayur, sop, dan bakwan. Kecambah tauge mengandung protein (21%-28%), kalsium, fosfor, dan vitamin. Selain itu, biji kacang hijau juga telah dimanfaatkan pada industri makanan, yaitu diolah menjadi tepung pembuat roti dan biskuit bayi. Oleh karena itu, industri makanan menyukai biji kacang hijau berukuran besar dengan warna hijau yang mengkilap dan dapat menghasilkan 9-10 gram kecambah tauge dari 1 gram biji kacang hijau [2].

Perubahan iklim yang ekstrim menimbulkan efek tidak baik bagi tanaman pertanian yang berumur panjang, karena tingkat cekaman abiotik dan biotik tidak dapat diduga dan sangat merugikan tanaman. Oleh karena itu, tanaman kacang hijau menjadi tanaman pertanian alternatif untuk mengatasi masalah tersebut, karena memiliki umur genjah (sekitar 60 hari) [5]. Selain itu, kemampuannya untuk memfiksasi N menambah keunggulan tanaman kacang hijau, karena dengan demikian tanah yang ditanami kacang hijau dapat menjadi subur kembali [6] [7].

Tanaman kacang hijau relatif tahan ditanam di tanah yang miskin hara dan iklim kering [6] [7]. Kondisi tanah dan iklim di Provinsi Riau yang miskin hara, pH asam, dan kering dengan demikian dapat ditanami kacang hijau. Akan tetapi belum banyak masyarakat di Provinsi Riau yang berminat menanam kacang hijau atau menjadi petani kacang hijau. Hal ini karena polong mudah pecah selagi belum dipanen sehingga mengurangi produksi biji, matangnya buah tidak serentak, dan seluruh bagian tanaman ditumbuhi oleh trikoma atau bulu yang mengakibatkan gatal-gatal jika tersentuh [8]. Trikoma pada permukaan kulit polong akan menyulitkan pemanenan.

Usaha perbaikan genetik kacang hijau lokal Kampar telah dimulai oleh peneliti, yaitu dengan teknik mutasi menggunakan kolkisin [9] [10] [11] dan radiasi sinar gama [12]. Kedua teknik mutasi tersebut dilakukan terhadap kacang hijau lokal Kampar untuk mendapatkan galur kacang hijau yang polongnya tidak mudah pecah, matang serentak, dan tidak ada trikoma. Hasil penelitian menggunakan kolkisin telah mendapatkan galur kacang hijau yang memiliki polong tidak mudah pecah. Galur kacang hijau hasil mutasi kolkisin ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Oleh karena itu penelitian ini ditujukan untuk bertujuan menyeleksi galur-galur mutan kacang hijau generasi keempat hasil mutasi menggunakan kolkisin.

METODE PENELITIAN

Bahan tanaman yang digunakan adalah 54 galur mutan kacang hijau generasi keempat hasil mutasi kolkisin. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Lima biji untuk setiap galur ditanam pada plot berukuran 5 m x 1m, dengan jarak antar tanaman 25 cm x 25 cm. Parameter yang diamati adalah tinggi tanaman (cm), jumlah cabang produktif, hari berbunga 50%, jumlah polong per tanaman, panjang polong per tanaman (cm), jumlah biji per polong, jumlah buah masak dan mentah saat panen 90%, dan bobot 100 biji (gram). Analisis data menggunakan ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis ragam menunjukkan bahwa karakter panjang polong, jumlah biji per polong, dan bobot 100 biji berbeda nyata antar genotipe ($\alpha = 0.05$). Nilai rata-rata dari semua karakter morfologi dan agronomi yang diteliti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata karakter morfologi dan agronomi pada ke-54 galur kacang hijau generasi keempat hasil mutasi kolkisin.

No.	Galur	TT (cm)	JCP	HR (HST)	JP	PP (cm)	JB	BPn	BPs	BB 100 (g)
1	PRCM_2113	31,6	5,2	38,6	12,8	8,08	8,2	3,2	11,8	7,0
2	PRCM_2153	29,9	6,0	39,0	15,8	7,90	8,0	3,0	15,6	7,0
3	PRCM_2183	30,2	4,8	31,2	10,0	6,88	6,8	2,0	8,0	5,6
4	PRCM_2213	21,8	4,2	31,0	9,8	7,02	7,2	0,2	9,6	5,0
5	PRCM_2243	20,4	4,4	30,0	7,6	6,76	7,2	0,0	7,6	5,6
6	PRCM_2263	30,6	5,6	39,0	16,2	8,28	8,4	1,8	13,8	6,6
7	PRCM_2333	23,6	4,2	31,2	13,4	6,50	6,6	0,6	12,8	5,2
8	PRCM_2353	31,6	6,0	39,2	18,4	9,34	9,4	2,0	16,4	7,0
9	PRCM_2383	30,4	5,6	39,0	11,2	9,08	9,0	3,8	7,8	7,0
10	PRCM_2413	21,8	3,8	23,4	9,8	5,04	5,0	1,4	9,8	4,0
11	PRCM_2483	28,9	4,2	31,2	6,8	6,88	6,8	1,0	5,8	5,2
12	PRCM_2493	26,6	4,2	30,6	12,0	6,80	7,2	1,2	10,8	4,6
13	PRCM_2513	32,2	5,6	39,0	10,8	9,30	9,6	1,8	9,0	6,4
14	PRCM_2543	34,0	5,4	39,0	10,8	8,78	8,4	0,4	10,4	7,0
15	PRCM_2573	27,8	5,2	39,0	10,0	8,60	8,8	0,6	9,4	6,6
16	PRCM_2623	19,6	3,0	23,4	7,4	5,08	5,2	1,6	7,8	4,2
17	PRCM_2653	30,5	5,0	39,0	10,0	9,18	9,4	3,0	7,0	6,6
18	PRCM_2683	29,9	4,8	31,2	11,8	6,56	6,8	2,2	9,6	5,6
19	PRCM_2713	24,0	4,0	31,0	9,0	7,00	7,4	1,0	8,0	5,0
20	PRCM_2783	27,8	4,2	29,8	8,6	6,84	7,0	1,2	7,4	4,6
21	PRCM_2793	25,6	4,8	30,8	9,4	7,10	7,0	1,2	8,2	5,4
22	PRCM_2833	30,4	5,6	39,0	14,8	8,48	8,6	0,6	13,2	7,0
23	PRCM_2853	23,6	3,8	31,2	8,6	7,08	7,0	1,6	7,0	5,6
24	PRCM_2873	26,0	4,2	31,2	12,4	7,32	7,4	1,2	11,2	5,6
25	PRCM_2933	28,8	5,0	31,2	11,6	6,82	7,2	2,8	8,8	5,4
26	PRCM_2953	33,0	4,6	39,0	11,8	8,46	8,6	1,0	10,8	7,0
27	PRCM_2993	28,2	4,6	31,2	12,0	7,06	7,0	1,0	11,0	4,6
28	PRCM_3144	30,4	5,8	39,0	16,0	9,28	9,4	3,0	13,0	7,0
29	PRCM_3154	10,6	2,2	15,6	8,4	3,08	2,8	0,6	7,8	2,4
30	PRCM_3174	24,6	4,2	30,8	11,0	6,44	6,6	1,6	9,4	5,2
31	PRCM_3214	29,4	4,8	30,4	10,4	6,82	6,4	0,0	10,4	5,6
32	PRCM_3244	34,6	5,0	39,4	14,8	8,20	8,2	1,6	13,2	6,6
33	PRCM_3284	12,5	2,0	15,6	3,6	3,44	4,0	0,4	3,2	2,6
34	PRCM_3314	36,6	5,4	39,0	15,0	8,60	8,6	1,6	13,4	7,0
35	PRCM_3334	21,6	3,8	23,4	8,8	5,18	5,4	0,6	8,2	4,2

No.	Galur	TT (cm)	JCP	HR (HST)	JP	PP (cm)	JB	BPn	BPs	BB 100 (g)
36	PRCM_3374	28,6	4,6	31,2	8,2	6,66	6,8	1,6	6,6	5,0
37	PRCM_3414	16,6	2,8	23,4	6,4	4,86	4,6	0,0	6,4	5,4
38	PRCM_3434	21,5	3,2	23,4	12,8	5,28	5,0	0,4	12,4	4,0
39	PRCM_3474	19,0	3,6	22,8	10,8	4,96	5,0	0,8	5,0	4,2
40	PRCM_3514	34,8	6,0	39,0	13,2	8,68	8,4	2,2	9,8	7,0
41	PRCM_3544	25,4	3,8	31,0	10,6	6,70	4,8	1,2	9,4	4,8
42	PRCM_3584	29,0	4,8	39,0	11,4	8,86	9,2	2,6	10,4	7,0
43	PRCM_3634	32,4	5,4	38,4	10,2	8,62	8,8	1,8	10,4	7,0
44	PRCM_3654	21,2	2,6	23,4	9,2	5,66	5,8	4,6	6,6	4,2
45	PRCM_3674	25,8	4,6	30,2	11,8	6,80	7,2	3,6	8,2	4,8
46	PRCM_3714	33,6	5,2	39,0	13,6	7,68	7,6	3,0	12,4	6,0
47	PRCM_3724	30,8	5,8	39,0	10,8	8,26	8,2	3,0	7,8	6,4
48	PRCM_3744	24,8	5,0	30,0	7,2	6,70	6,8	2,6	4,6	6,6
49	PRCM_3824	32,2	5,6	39,0	13,8	8,64	8,8	3,0	10,8	7,0
50	PRCM_3844	37,7	5,6	39,0	11,6	8,32	8,2	1,6	10,4	6,0
51	PRCM_3884	34,0	5,4	38,0	12,6	8,30	8,4	1,2	11,4	5,4
52	PRCM_3914	12,6	2,2	15,6	6,0	3,42	3,8	0,4	5,6	2,8
53	PRCM_3934	34,2	6,0	39,0	16,0	8,82	8,8	6,0	10,0	7,0
54	PRCM_3984	13,0	2,4	15,6	3,4	3,26	3,4	1,0	3,4	4,2
	Rata-rata	26,9	4,5	32,2	10,9	7,1	7,2	1,7	9,4	5,6

Keterangan: TT = tinggi tanaman; JCP = jumlah cabang produktif; HR = hari berbunga 50%; JP = jumlah polong; PP = panjang polong; JB = jumlah biji per polong; BPn = jumlah buah mentah saat panen 90%; BPs = jumlah buah masak saat panen 90%; BB 100 = bobot biji 100 butir.

Berdasarkan karakter tersebut, terpilih lima galur potensial, karena memiliki nilai rata-rata dari jumlah cabang produktif, panjang polong, jumlah biji per polong, dan bobot 100 biji yang paling besar dibandingkan ke-54 galur. Kelima galur potensial tersebut adalah PRCM_2153, PRCM_2353, PRCM_3144, PRCM_3314, and PRCM_3934. Kelima galur tersebut memiliki ukuran biji yang besar. Biji kacang hijau yang besar baik untuk industri makanan [2]. Sebaliknya, kacang hijau dengan ukuran biji yang kecil cocok untuk industri pembuatan tauge atau kecambah tauge [5]. Galur kacang hijau yang memiliki biji berukuran kecil pada penelitian ini adalah galur PRCM_2493, PRCM_2993, dan PRCM_3434. Akan tetapi jumlah polong per tanaman pada ketiga galur tersebut tergolong rendah, yaitu rata-rata 12 polong per tanaman. Oleh karena itu, evaluasi lanjutan terhadap ketiga galur tersebut juga perlu dilakukan.

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Lima galur memiliki nilai paling tinggi dari parameter yang diamati, yaitu galur PRCM_2153, PRCM_2353, PRCM_3144, PRCM_3314, and PRCM_3934. Kelima galur tersebut berpotensi untuk dikembangkan dan cocok untuk industri makanan. Tiga galur lainnya, yaitu PRCM_2493, PRCM_2993, dan PRCM_3434 berpotensi dikembangkan dan cocok untuk pembuatan kecambah tauge.

PUSTAKA

- [1] Parida A, Raina SN, Narayan RKJ. 1990. Quantitative DNA variation between and within chromosome complements of *Vigna* species (Fabaceae). *Genetica* 82:125-133.
- [2] Oplinger ES, Hardman LL, Kaminski AR, Combs SM, Doll JD. 1990. Mungbean. Minnesota: University of Wisconsin-Extension, Cooperative Extension.
- [3] Tateishi Y. 1996. Systematics of the species of *Vigna* subgenus *Ceratotropis*. In "Mungbean Germplasm : Collection, Evaluation and Utilization for Breeding Program" JIRCAS Working Report No.2. pp.9-24. Japan: Japan International Research Center for Agricultural Science (JIRCAS).
- [4] Dahiya P, Linnemann A, S van Boekel M, Khetarpaul N, Grewal R, Nout M. 2013. Mung bean: technological and nutritional potential. *Crit. Rev.Food Sci. Nutr.*
- [5] Trustinah, Iswanto R. 2012. Keragaman Bahan Genetik Galur Kacang Hijau. Di dalam Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi 2012. Malang.
- [6] Lavanya GR, Srivastava J, Ranade SA. 2008. Molecular assessment of genetic diversity in mung bean germplasm. *Journal of Genetics* 87: 66-74.
- [7] da Silva H, Murdolelono. 2012. Introduksi teknologi kacang hijau untuk mengantisipasi perubahan iklim pada lahan kering iklim kering di wilayah Timor Barat. Di dalam Prosiding Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi 2012. Malang.
- [8] Atman. 2007. Teknologi budidaya kacang hijau (*Vigna radiata* L.) di lahan sawah. *Jurnal Ilmiah Tambua* 6(1):89-95.
- [9] Herman, Faturrahman. 2012. Breeding mungbean *Phaseolus vulgaris*. Di dalam Prosiding Seminar UR-UKM ke-7 2012. Pekanbaru.
- [10] Herman, Fitmawati, Roslim DI, Faturrahman, Nuzila O. 2012. Penilaian dan seleksi galur kacang hijau (*Phaseolus radiata*) hasil kolkisin generasi M1 dan M2. *Dinamika Pertanian XXVII(3):167-172.*
- [11] Herman, Malau IN, Roslim DI. 2013. Pengaruh mutagen kolkisin pada biji kacang hijau (*vigna radiata* l.) terhadap jumlah kromosom dan pertumbuhan. Di dalam Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas dan Ekologi Tropika Indonesia (BioETI) 14 September 2013. Padang: Universitas Andalas.
- [12] Fiatin I. 2014. Penentuan LD50 biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) lokal Kabupaten Kampar hasil radiasi sinar gamma. [skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

BIODIVERSITAS TUMBUHAN DI CAGAR ALAM MOROWALI SULAWESI TENGAH INDONESIA

PLANT BIODIVERSITY OF MOROWALI NATURE RESERVE CENTRAL SULAWESI INDONESIA

Ramadhanil Pitopang¹ dan Muhammad Ihsan Nur Mallo²

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Tadulako,
Kampus Bumi Tadulako Tondo, Jl.Sukarno Hatta km 9 Palu Sulawesi Tengah
Telepon/Fax : 0451-422844, E-mail : pitopang_64@yahoo.com

²Jurusan Manajemen Hutan, Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako,
Kampus Bumi Tadulako Tondo, Jl.Sukarno Hatta km 9 Palu Sulawesi Tengah

ABSTRACT

The research on plant biodiversity of Morowali Nature Reserve, Central Sulawesi has been conducted from May to December 2008. It was located at two sites namely Kea-kea (Lapangga) and Uwata Salubiru in the district North Bungku. The research aims to study the plant diversity using plot line transect methods along 3000 m with 43 nested subplots 20 by 20 m² in size. Dumbois-Muller and Ellenberg Formula was followed to analyses the vegetation data. The results showed that the studied areas were very rich in plant biodiversity with Shannon diversity Index was more than 3. We recorded 254 flowering plant species which were categorized tree, poles, sapling and seedling. There were a number of endemic species for Sulawesi such as *Sarcotheca celebica* Veldk. (Oxalidaceae), *Palaquium maliliensis* van Royen (Sapotaceae), *Dillenia serrata* Thunb (Dilleniaceae), *Dillenia celebica* Hoogland (Dilleniaceae), *Garcinia celebica* L (Clusiaceae), *Macadamia hildebrandii* Steenis (Proteaceae), *Dinochloa scanden* (Blume ex Nees) Kuntze (Poaceae), *Hydriastele nannostachys* W.J.Baker & Loo, *Korthalsia celebica* Becc. (Arecaceae), *Knema celebica* de Wilde (Myristicaceae), *Nepenthes eymae* Sh Kurata, *Nepenthes tomoriana* Danser and *Nepenthes glabrata* J.R.Turnbull & A.T.Middleton

Keywords : Central Sulawesi, Morowali Nature Reserve, Plant biodiversity.

ABSTRAK

Penelitian tentang keanekaragaman jenis tumbuhan Cagar Alam Morowali telah dilakukan dari bulan Mei- Desember 2008 berlokasi di desa Kea-kea (Lapangga) and Uwata (Salubiru) kecamatan Bungku Utara. Penelitian bertujuan untuk mempelajari keanekaragaman jenis tumbuhan (vegetasi) menggunakan metoda survey melalui garis transek berpetak yang panjangnya 3000 m dan di dalamnya terdapat sebanyak 43 subplot berukuran 20 X 20 m untuk pengamatan pohon. Selanjutnya data dianalisis mengikuti rumus Dumbois-Muller dan Ellenberg. Hasil menunjukkan tercatat 254 spesies tumbuhan tingkat tinggi yang dikategorikan pohon, tiang, pancang dan tingkat semai di daerah penelitian. Selain itu tercatat pula beberapa jenis tergolong endemik Sulawesi seperti *Sarcotheca celebica* Veldk. (Oxalidaceae), *Palaquium maliliensis* van Royen (Sapotaceae), *Dillenia serrata* Thunb (Dilleniaceae), *Dillenia celebica* Hoogland (Dilleniaceae), *Garcinia celebica* L (Clusiaceae), *Macadamia hildebrandii* Steenis (Proteaceae), *Dinochloa scanden* (Blume ex Nees) Kuntze (Poaceae), *Hydriastele nannostachys* W.J.Baker & Loo, *Korthalsia celebica* Becc. (Arecaceae), *Knema celebica* de Wilde (Myristicaceae), *Nepenthes eymae* Sh Kurata, *Nepenthes tomoriana* Danser and *Nepenthes glabrata* J.R.Turnbull & A.T.Middleton

Kata kunci : Keanekaragaman hayati tumbuhan, Cagar Alam Morowali, Sulawesi Tengah.

PENDAHULUAN

Sulawesi merupakan pulau terbesar dan penting secara biogeografi di Indonesia, terletak dalam subregion biogeografi *Wallacea* yaitu suatu wilayah yang unik karena merupakan kawasan peralihan antara Benua Asia dan Australia yang memiliki keanekaragaman hayati dengan tingkat endemisitas yang cukup tinggi. Kekayaan keanekaragaman hayati ini bisa ditemukan di beberapa habitat alaminya seperti di berbagai kawasan konservasi seperti Taman Nasional, Suaka Margasatwa dan Cagar Alam [no ref].

Salah satu kawasan konservasi di Sulawesi Tengah adalah Cagar Alam (CA) Morowali, yang ditetapkan sebagai cagar alam pada tanggal 24 November 1986 melalui Surat Keputusan Menteri Kehutanan No.374/kpts-VII/1986. Cagar Alam ini berukuran cukup luas sekitar 225.000 ha. Kawasan konservasi ini terletak pada daerah $1^{\circ} 20' - 1^{\circ} 57' 25''$ LS dan $121^{\circ} 15' - 121^{\circ} 46'$ BT, dengan topografi yang bervariasi mulai dari landai sampai berbukit pada elevasi 0 – 2.600 m dpl. Berdasarkan sistem klasifikasi yang diusulkan oleh Whitten *et al.* [no ref], CA Morowali termasuk ke dalam hutan dataran rendah (0-1500 m dpl) dan hutan pegunungan bawah (1500 – 2400 m dpl). Sedangkan Coates dan Bishop [no ref] membagi habitat berdasarkan adanya pengaruh laut yaitu pantai, mangrove, hutan sekunder dan daerah pinggiran hutan, serta hutan pamah dan dataran rendah

Keanekaragaman hayati di Cagar Alam Morowali memiliki karakteristik tersendiri namun secara umum potensi keanekaragaman hayati CA. Morowali sampai saat ini belum terungkap secara baik dan menyeluruh [no ref]. Tujuan dari penelitian ini untuk mempelajari keanekaragaman hayati tumbuhan di dua lokasi di kawasan CA Morowali. Hasilnya dapat dijadikan sebagai data base keanekaragaman hayati tumbuhan selanjutnya bermanfaat untuk pengelolaan dan konservasi Cagar Alam Morowali.

METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Mei sampai Desember 2008 berlokasi di dua wilayah yang masuk ke dalam dusun Uwata desa Salubiru dan dusun Kea-kea desa Lapangga Kecamatan Bungku Utara Kabupaten Morowali Propinsi Sulawesi Tengah (Gambar 1).

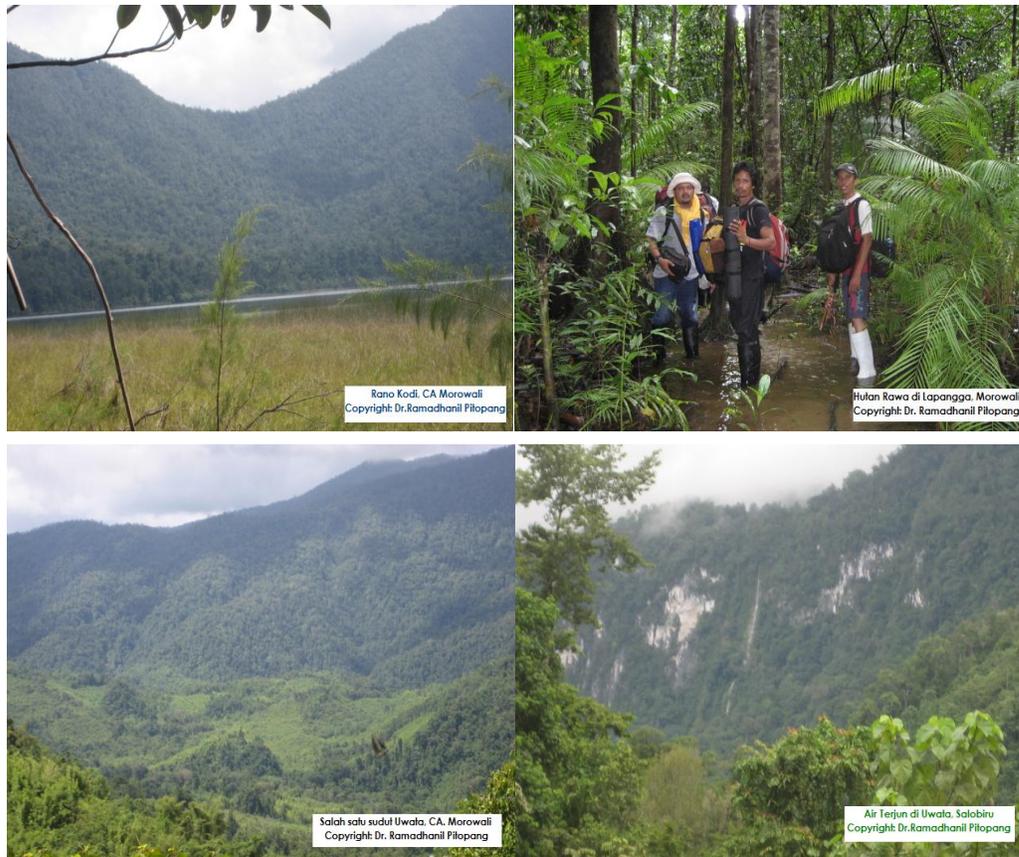
Berdasarkan peta geologi lokasi penelitian termasuk ke dalam Mendala Sulawesi Timur yang menyusun daerah bagian dari “Zone Kolonodale”. meliputi daerah yang sebagian besar terdiri dari batuan beku ultra basik, serta batuan endapan tak terpisahkan. Di bagian tertentu terdapat formasi kuarter yang terdiri dari endapan aluvium dari batuan ultra basik, dan endapan permukaan seperti endapan sungai dan pantai. Tanah-tanah yang mendominasi lokasi penelitian berasal dari bahan induk ultra basik, menempati daerah berbukit sampai bergunung dengan fisiografi cembung dan tertoreh dengan lereng curam, sehingga erosi lebih berperan selama proses pembentukannya (Gambar 2). Hasil dari proses pembentukan tanah yang dijumpai adalah sebagian besar tanah di daerah dataran tinggi (elevasi lebih dari 300 m dpl), serta mempunyai solum yang tidak tebal (Tabel 1). Tanah-tanah demikian dapat diklasifikasikan sebagai Inceptisols tidak masam (Eutropepts) atau Ultisol lembab.

Iklm lokasi penelitian cukup terpengaruh oleh angin laut. Menurut klasifikasi Schmidt dan Ferguson, iklim kawasan cagar alam dan sekitarnya termasuk type A, atau merupakan daerah basah dengan nilai Q antara 0 - 14,3%. Hampir seluruh kawasan cagar alam dan sekitarnya yang dipetakan mempunyai curah hujan di atas 2.500 mm per tahun, kecuali

pada sebagian kecil bagian kawasan sebelah Utara, dengan curah hujan antara 2.000 mm - 2.500 mm pertahun.



Gambar 1. Peta lokasi penelitian di Uwata Desa Salubiru dan Kea-kea desa Lapangga, Kecamatan Bungku Utara, Kabupaten Morowali (Sumber : The Nature Conservancy)



Gambar 2. Kondisi Kea-kea dekat Rano Kodi dan "lowland rain forest" (kiri dan kanan atas) desa Lapangga desa Uwata (gambar kiri dan kanan bawah) CA Morowali.

Tabel 1. Informasi posisi geografi dan topografi wilayah penelitian

No	Uraian	Lokasi	
		Kea-kea, Rano Kodi, Desa Lapangga	Dusun Uwata, Desa Salubiru
1	Kabupaten	Bungku Utara	Bungku Utara
2	Altitude (m dpl)	0-20	300-600
3	Topografi	Rata, hutan rawa, Dekat muara sungai yang berasal dari Rano Kodi.	Curam dan berbukit-bukit dan sungai

2. 2. Metode Penelitian

2.2.1. Cara Kerja

Pengamatan keanekaragaman jenis tumbuhan meliputi struktur dan komposisi dilakukan secara survey menggunakan metoda jalur (*Transect methods*) berplot yang panjangnya 3 km (3000 m) . Di dalam jalur yang lebarnya 20 m dibagi menjadi petak-petak yang ukurannya 20 X 20 m² (untuk pohon) yang di dalamnya terdapat petak-petak berukuran kecil berukuran 10 X 10 m² (tiang), 5 X 5 m² (pancang) dan 2 X 2 m² (anakan) yang diletakan secara sengaja (*Purposive Randomized Sampling*) pada setiap jarak 50 m [no ref]. Pada setiap subpetak (recording units), seluruh individu pohon yang berukuran dbh \geq 20 cm (*diameter breast high*/setinggi dada) dbh-nya diukur menggunakan “Diameter Tape”, sedangkan tinggi bebas cabang dan tinggi total dihitung menggunakan Vertex model “Sweden”. Pencatatan juga dilakukan terhadap tumbuhan tingkat tiang (poles), pancang (sapling) dan semai (seedling) serta tumbuhan liana dan efitit. Seluruh morphospecies yang dapat dikenali dicatat nama jenisnya baik nama lokal ataupun nama ilmiah (“scientific name”) sedangkan yang tidak dapat dikenal di lapangan dilakukan pengkoleksian spesimen voucher untuk keperluan identifikasi dan determinasi.

Untuk pengumpulan spesimen herbarium mengikuti prosedur Pitopang *et al* [no ref] dan Bridson dan Forman [no ref] terutama untuk tumbuhan yang berbunga dan berbuah (fertil). Setiap nomor koleksi spesimen terutama untuk jenis yang fertil dibuat sebanyak tiga duplikat dan disimpan di Herbarium Celebense (CEB) Universitas Tadulako Palu dan duplikat dikirim ke Herbarium Bogoriense (BO) Cibinong Indonesia.

2.2.2. Analisis Data

Dari hasil pengukuran dapat dihitung besaran-besaran seperti Basal Area (BA), Kerapatan Relatif (KR), Frekuensi Relatif (FR), Dominansi (DR), and Indek Nilai Penting (INP) yang dihitung dan dianalisis mengikuti rumus Dumbois-Muller dan Ellenberg [no ref]. Tinggi atau rendahnya tingkat keanekaragaman jenis vegetasi ditentukan menggunakan rumus Indek Shannon-Whiener [no ref].

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

3.1.1. Jumlah Jenis , Marga, Suku dan Indek Keanekaragaman Jenis (H')

Jumlah jenis, marga dan suku untuk vegetasi pada tingkat pohon, tiang, pancang dan semai berbeda-beda pada tiap-tiap lokasi. Untuk lebih jelasnya jumlah masing-masing strata vegetasi dapat dilihat seperti pada tabel 2. Untuk vegetasi tingkat pohon (dbh \geq 20 cm) 57 jenis/ha di Kea-kea sedangkan di Uwata hanya sebanyak 47 jenis/ha. Jumlah jenis vegetasi strata tiang (dbh 10-19.9 cm) di Kea-kea 42 dan di Uwata 41. Untuk vegetasi strata Pancang (dbh 2-9.9 cm) di Uwata sebanyak 50 sedangkan di Kea-kea hanya sebesar 38. Untuk vegetasi tingkat semai dan tumbuhan bawah tercatat sebanyak 66 di Kea-kea dan 56 di Uwata.

Terdapatnya perbedaan jumlah jenis pohon, tiang, pancang dan semai di dua lokasi yang dibandingkan mungkin disebabkan karena terdapatnya perbedaan kondisi faktor lingkungan seperti faktor edapik yang meliputi tekstur, struktur dan jenis tanah. Selain itu juga karena curah hujan dan suhu lingkungan. Pada lokasi Kea-kea, habitat vegetasi yang diamati sebagian besar merupakan hutan dataran rendah yang kadang-kadang terdapat genangan air (*swampy*) dan hutan-hutan dekat sungai yang menghubungkan danau "Rano Kodi" dengan laut. Hal ini mengakibatkan hanya jenis-jenis pohon tertentu yang dapat tumbuh dengan baik. Sedangkan di Uwata sebagian besar vegetasinya disusun oleh jenis-jenis hutan yang topografinya sedikit berbukit yang termasuk ke dalam tipe hutan sekunder yang mengalami gangguan aktivitas manusia. Hal ini ditunjukkan dengan terdapatnya padang alang-alang disekitar lokasi dan tumbuhnya beberapa species pioner seperti *Macaranga* spp, dan *Trema* sp.

Tabel 2. Jumlah jenis pohon, tiang, pancang serta semai dan tumbuhan bawah pada dua lokasi pengamatan di CA. Morowali.

No	Lokasi	Jumlah	Stratifikasi Vegetasi			
			Pohon	Tiang	Pancang	Semai
1	Kea-kea Lapangga Kec. Bungku Utara	Jenis	57	42	38	65
		Marga	51	36	32	57
		Suku	32	25	22	32
		J.Ind.	326	580	12400	41600
		H'	3.61	3.35	3.16	2.85
2	Uwata, Salubiru Kec. Bungku Utara	Jenis	47	41	50	56
		Marga	40	37	38	51
		Suku	26	20	21	36
		J.Ind.	186	284	1875	25900
		H'	3.47	3.57	3.85	3.66

Keterangan: Jumlah jenis, Jumlah Marga, dan Jumlah Suku, J.Ind = Jumlah Individu/ha,
H' = Indek diversity Shanon-Whiener.

Kalau dilihat dari besarnya Indek keanekaragam jenis ("Shanon-Whienerindex) baik pada stata pohon, tiang, pancang serta semai dan tumbuhan bawah pada dua lokasi pengamatan nilainya dikategorikan sangat tinggi, hal ini ditunjukkan dengan index Shanon lebih dari 3 seperti diperlihatkan pada Tabel 2. Nilai index keanekaragaman jenis

menunjukkan stabilitas dan kompleksitas ekosistem tersebut. Semakin tinggi nilai indeks keanekaragaman maka ekosistem di wilayah tersebut juga semakin baik. Barbour *et al.* [no ref] mengklasifikasikan nilai indeks keanekaragaman jenis Shannon (H') atas 4 kategori yaitu $H' = 1 - 2$ (rendah), $H' = 2 - 3$ (sedang), $H' = 3 - 4$ (tinggi) and $H > 4$ (sangat tinggi).

3.1.2. Komposisi Taksonomi

Dusun Kea-kea Desa Lapangga

Secara visual Kea-kea merupakan daerah dataran rendah yang rata, wilayahnya kadang-kadang tergenang oleh air, walaupun beberapa disusun oleh pasir terutama pada lokasi peneluran burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) dan rawa (dipinggir Rano Kodi), dan sungai yang merupakan *outlet* dari Sungai Kea-kea yang bermuara di laut. Gambaran vegetasi di Kea-kea Secara umum ditumbuhi oleh pohon, liana, epifit dan tumbuhan bawah.

Jenis pohon yang memiliki nilai INP tertinggi adalah *Acmena accuminatisima* dengan INP 27,46 %, diikuti oleh jenis pohon lain seperti “sengilu” (*Sarcotheca celebica*), “jongi” *Dillenia celebica*, *Metrosideros petiolata*. Untuk vegetasi tingkat tiang didominasi oleh *Dillenia celebica* dengan INP 39.06 diikuti oleh *Sarcotheca celebica*, *Syzigium accuminatisima*, *Alstonia spectabilis*, *Gymnacranthera maliliensis*, *Dillenia celebica* dan lain-lain. Sedangkan vegetasi tingkat pancang INP tertinggi adalah jenis *Syzigium accuminatisima* dengan nilai 32.42%, diikuti oleh *Sarcotheca celebica*, *Garcinia balica*, *Dillenia serrata*, *Macadamia hildebrandii* dan lain-lain.

Untuk vegetasi tingkat semai, tumbuhan bawah dan liana pada dasarnya disusun oleh jenis rotan “lauro nenga/rotan batang ” (*Calamus zollingerii*), *Cratoxillon celebicum* (Clusiaceae), *Phaleria capitata* (Thymelacaceae), *Pandanus tectorius*, *Dillenia celebica* (Dilleniaceae), *Korthalsia celebica* (Arecaceae), *Pandanus dibus*, *Melastoma affinis*, *Sarcotheca celebica*, *Freycinetia de vriese*, *Garcinia celebica* dan lain-lain. Jenis yang memiliki INP terkecil adalah *Gymnacranthera maliliensis* (Myristicaceae) dan *Mucuna* sp (Fabaceae).

Rotan (“lauro”) masih mempunyai kelimpahan yang tinggi di lokasi ini. Tercatat beberapa jenis rotan seperti “lauro nenga” (*Calamus zollingerii*), “lauro ronti” (*Calamus minahasae*), *Calamus ornatus* var. *celebicus*, dan “lauro tai manu” (*Korthalsia celebica*) begitu juga dengan jenis palem tegak seperti *Gronophyllum macrospadix* dan *Caryota rumphiana*. Tumbuhan liana lain seperti bambu rambat (*Dinochloa barbata*), *Poikilospermum suaviolens*, *Dischidia* sp, *Gnetum cuspidatum*, *Piper* sp dan *Photos rhumpii* (Araceae) juga masih melimpah. Di wilayah ini juga banyak ditemukan anggrek epifit dari jenis *Cymbidium filansoynianum*, *Gramatophyllum scriptum*, *Dendrobium crumeniatum* yang banyak tumbuh pada jalur “tracking” Kea-kea-Poli. Pada daerah-daerah terutama di pinggiran danau Rano Koni banyak ditumbuhi oleh *Cyperaceae* dan *Nepenthes* spp.

Uwata, Salubiru

Jenis pohon yang dominan di dusun Uwata, Salubiru adalah “lero” (*Pterospermum celebicum* Miq), “leotu” (*Pomettia pinnata*), “kume” *Palaquium obtusifolium*, *Castanopsis acuminatisima*, *Horsfieldia costulata*, *Gymnacranthera maliliensis*, *Elaeocarpus* sp, *Cryptocarya crassinerviopsis*, *Planchonella valida*, *Vernonia arborea* dan lain-lain. Pohon jenis *Pterospermum celebicum* merupakan jenis yang dominan di daerah tersebut karena memiliki INP tertinggi sebesar 31.66%, diikuti oleh *Pomettia pinnata* dengan INP 30.96%.

Untuk vegetasi tingkat tiang (pole) vegetasi yang mempunyai INP tertinggi adalah *Horsfieldia costulata* Miq dengan INP 20.54%, diikuti oleh *Castanopsis accuminatisima* dengan INP 18.46%, *Bisofia javanica* (INP 14.07%), *Myristica fatua* (INP 13.53%) dan *Memecylon celebicum* (INP 12.50). Sedangkan jenis yang memiliki INP terendah adalah *Garcinia* sp (Clusiaceae) dengan INP 3.68%. Untuk tumbuhan tingkat tiang didominasi oleh *Horsfieldia costulata* dengan INP 20,54%, diikuti oleh *Castanopsis accuminatisima* dengan INP 18,46. Sedangkan untuk tumbuhan tingkat semai dan anakan nilai INP yang tertinggi adalah *Memecylon celebicum* Bakh.f dengan INP 10.83%, diikuti oleh *Macaranga hispida* (Tabel 3).

Tabel 3. Sepuluh jenis tumbuhan tingkat pohon, tiang, pancang dan anakan yang disusun berdasarkan nilai INP terbesar di Kea-kea desa Lapangga dan Uwata CA Morowali

Dusun Kea-kea, Lapangga			Dusun Uwata, Salubiru		
POHON			POHON		
No	Nama Jenis	INP	No	Nama Jenis	INP
1	<i>Acmena accuminatisima</i>	27.46	1	<i>Protospermum celebicum</i> Miq.	31.66
2	<i>Sarcotheca celebica</i> Veldk.	19.2	2	<i>Pomettia pinnata</i> Blume	30.95
3	<i>Dillenia celebica</i> Hoogland	19.1	3	<i>Palaquium obtusifolium</i> Burck.	21.28
4	<i>Casuarina equisetifolia</i> L.ex J.R.Forst.	15.99	4	<i>Castanopsis acuminatisima</i> (Bl) Rheder	14.52
5	<i>Unidentified</i>	14.9	5	<i>Horsfieldia costulata</i> (Miq.) Warb.	14.46
6	<i>Syzigium</i> sp 1	12.32	6	<i>Syzigium</i> sp3	13.97
7	<i>Syzigium</i> sp3	11.57	7	<i>Eleocarpus</i> sp	12.7
8	<i>Garcinia balica</i> Miq.	11.18	8	<i>Memecylon celebicum</i> Bakh.f	10.76
9	<i>Metrosideros petiolata</i> Koord.	9.98	9	<i>Syzigium</i> sp4	7.68
10	<i>Dillenia serrata</i> Thunb.	9.7	10	<i>Elaeocarpus teysmanii</i> Koord &Valeton	7.5
	Jenis lain-lain	148,6		Jenis lainnya	134,52
	T O T A L	300		T O T A L	300
TIANG			TIANG		
1	<i>Dillenia serrata</i> Tunb.	39.06	1	<i>Horsfieldia costulata</i> (Miq.)Warb	20.54
2	<i>Garcinia celebica</i> Hoogland	26.04	2	<i>Castanopsis accuminatisima</i> (Bl) Rheder	18.46
3	<i>Sarcotheca celebica</i> Veldk.	22.45	3	<i>Bisofia javanica</i> Blume	14.07
4	<i>Syzigium accuminatisima</i>	18.54	4	<i>Myristica fatua</i> Miq.	13.53
5	<i>Alstonia spectabilis</i> R.Br.	15.71	5	<i>Memecylon celebicum</i> Bakh.f	12.5
6	<i>Gymnacranthera maliliensis</i> R.T.A. Schouten	14.05	6	<i>Malotus barbatus</i> Welzen	12.1
7	<i>Dillenia celebica</i> Hoogland	13.89	7	<i>Ailanthus integrifolia</i> (Dennst) Alston	11.71
8	<i>Gymnostoma sumatrana</i> L.A.S. Johnson	8.8	8	<i>Palaquium obtusifolium</i> Burck	11.7
9	<i>Palaquium obovatum</i> (Giff.) Engl.	8.37	9	<i>Planchonia valida</i> (DC.) Blume	9.32
10	<i>Syzigium</i> sp3	7.89	10	<i>Bridelia glauca</i> Blume	9.23
	Jenis lainnya	125,2		Jenis lainnya	166,84
	T O T A L	300		T O T A L	300
PANCANG			PANCANG		
1	<i>Syzigium accuminatisima</i>	32.42	1	<i>Memecylon celebicum</i> Bakh.f	23.63
2	<i>Sarcotheca celebica</i> Veldk	25.25	2	<i>Macaranga hispida</i> Mull Arg.	19.01
3	<i>Garcinia balica</i> Miq	16.21	3	<i>Palaquium obovatum</i> (Griff) Engl.	17.1
4	<i>Dillenia serrate</i> Thunb	13.89	4	<i>Palaquium obtusifolium</i> Burck	13.52
5	<i>Macadamia hildebrandii</i> Steenis	12.96	5	<i>Sarcotheca celebica</i> Veldk	11.65
6	<i>Goniothalamus bervicuspis</i> Miq.	12.88	6	<i>Polyaltia lateriflora</i> King	11.52

7	<i>Syzigium accuminatisima</i> L	12.78	7	<i>Castanopsis accuminatisima</i> (Bl) Rehder.	11.22
8	<i>Syzigium sp4</i>	12.72	8	<i>Pterospermum celebicum</i> Miq	11.05
9	<i>Semecarpus forstenii</i> Blume	12.57	9	<i>Baccaurea sp</i>	9.85
10	<i>Cratoxylon celebicum</i> Miq.	11.94	10	<i>Pometia pinnata</i> JJ Forst	9.83
	Jenis lainnya	136,38		Jenis lainnya	161,62
	TOTAL	300		TOTAL	300
ANAKAN			ANAKAN		
1	<i>Calamus zollingerii</i> Becc	11.29		<i>Pterospermum celebicum</i> Miq	10.83
2	<i>Cratoxylon celebicum</i> Miq.	10.77		<i>Macaranga hispida</i> Mull Arg	8.42
3	<i>Phaleria coccinea</i> (Gaundich) F. Mull.	9.85		<i>Rubus mullucanus</i> L	6.77
4	<i>Pandanus tectorius</i> Parkinson	8.77		<i>Arcangalesia flava</i> (L) Merr	5.89
5	<i>Dillenia celebica</i> Hoogland	8.27		<i>Smilax leucophylla</i> Blume	4.21
6	<i>Korthalsia celebica</i> Becc.	7.88		<i>Calamus zollingerii</i> Becc	4.20
7	<i>Pandanus dubius</i> Spreng	7.23		<i>Pometia pinnata</i> JJ Forst	3.77
8	<i>Freyenetia ceramensis</i> Martelli	7.02		<i>Syzigium sp3</i>	3.5
9	<i>Sclerea purpurians</i>	6.85		<i>Sarcotheca celebica</i> Veldk	2.87
10	<i>Garcinia celebica</i> Miq	6.2		<i>Tacca celebica</i> Miq	2.45
	Jenis lainnya	115,87		Jenis lainnya	147.09
	TOTAL	200		TOTAL	200

3.2 Pembahasan

Secara umum kondisi vegetasi di CA Morowali beberapa sudah mengalami gangguan oleh aktivitas manusia seperti peladangan dan “selective logging”, meskipun banyak ditemukan jenis-jenis pohon berdiameter besar dan tinggi lebih dari 30 m di dalam plot penelitian. Jenis yang tergolong ke dalam stratum A (lapisan atas diantaranya adalah *Palaquium obovatum* (Sapotaceae) dan *Haplolobus floribundus* (Burseraceae). Di sisi lain CA Morowali yakni di Taronggo Khairuddin [no ref] melaporkan pohon Kumea batu (*Manilkara fasciculata*), merupakan kerabat “sawo-sawoan yang memiliki batang tinggi (up to 45 m) dan bercirikan memiliki getah putih, kulit batang (*outer bark*) berwarna hitam dan beralur. Secara komersil pohon jenis ini banyak digunakan sebagai lantai rumah dan perkakas rumah tangga, banyak diekspor ke Jepang, Hongkong dan Eropa. Menurut Yuzami et al [no ref], pohon jenis ini mengalami resiko kepunahan di alamnya apabila tidak segera mendapat perhatian. Pohon jenis lain dari famili yang sama penting adalah “kume randa ira” (*Palaquium maliliensis*), “langori merah” (*Haplolobus floribundus* dan “suju bolong” (*Santiria laevigata*). Di wilayah ini juga ditemukan banyak tumbuhan dari anggota Gymnospermae seperti: “kaju sogu” (*Agathis dammara*), “suka” (*Gnetum gnemon*), “kaju lapi” (*Podocarpus neriifolius*), “Pato’o” (*Gymnostoma sumatrana*). “Soga/damar” (*Agathis dammara*) adalah suatu jenis kayu perdagangan dengan “trade name” Agathis/ Damar, yang merupakan salah satu jenis kayu yang bukan saja dimanfaatkan kayunya akan tetapi juga dimanfaatkan resin/dammar-nya yang disadap oleh masyarakat lokal dan merupakan salah satu produk hasil hutan kayu (*Non Timber Forest Product*) yang penting di Indonesia. Bagi masyarakat lokal (Tao Taa Wana) damar adalah jenis pohon penting yang tidak dapat dipisahkan dalam kehidupan sosial ekonomi mereka karena sebagian besar mata pencaharian mereka adalah mencari damar (“badamar”) dan mencari rotan [no ref]. Kessler et al [no ref] melaporkan bahwa terdapat 3 jenis agathis di Sulawesi yaitu *Agathis dammara* Rich, *Agathis celebica* Warb dan *Agathis philippinensis*. *Agathis celebica* dan *Agathis philippinensis* merupakan 2 jenis yang banyak didapatkan didataran tinggi Taman Nasional

Lore Lindu (> 1500 asl). Van Balgooy [no ref] melaporkan *Agathis dammara* merupakan salah satu vegetasi yang tumbuh di atas ultrabasa di Soroako Sulawesi Selatan.

Jenis pohon lain yang penting yang merupakan vegetasi khas di wilayah studi adalah “sengilu” *Sarcotheca celebica* (Oxalidaceae) sejenis pohon yang menghasilkan buah yang dapat dimakan tetapi rasanya asam. “marantaripa” *Buchanania arborescens* (Anacardiaceae), “tiro” (*Ailanthus integrifolia*/Simaroubaceae) yang sering muncul sebagai jenis “emergent” karena kanopi yang tinggi pada ekosistem hutan primer.

Pada strata B umumnya disusun oleh *Knema celebica* (Myristicaceae) yang sangat mudah di kenali di lapangan karena bentuk ujung daunnya yang tumpul dan tersobek, *Deplancena bencana* (Bignoniaceae) yang memiliki bunga warna kuning terang dan cantik, *Macadamia hildebrandii* (Proteaceae) endemik timur Indonesia, *Gymnostoma sumatrana*, “mansili” (*Metrosideros petiolata*), “kapongan” *Garcinia celebica* (Clusiaceae) dan *Alstonia spectabilis* (Apocynaceae).

Vegetasi yang tergolong kedalam strata C umumnya disusun oleh *Goniothalamus* sp (Annonaceae), *Rauvolfia* sp (Apocynaceae), *Baccaurea* sp (Euphorbiaceae), “baang” (*Ficus* sp), *Polyalthia* sp (Annonaceae), *Callophyllum* sp, “tuwata” (*Dracaena angustifolia*), “naso tida” (*Pandanus dubius*) dan *Ardisia* sp (Myrsinaceae). Vegetasi tingkat semai, tumbuhan bawah dan liana yang didapatkan di lokasi ini umumnya disusun oleh anakan “Kume” dan nantu (*Palaquium* spp dan *Pouteria* spp), *Callophyllum* spp, *Gironniera subaquealis*, “bang” (*Ficus* sp), *Haplolobus floribundus* dan *Santiria laevigata*. Tumbuhan memanjat/liana umumnya terdiri atas rotan (*lauro*) seperti *Calamus zollingerii*, *Calamus minahasae*, *C. ornatus* var. *celebicus*, dan *Korthalsia celebica* yang sebagian besar secara alami distribusinya hanya di kawasan Wallacea termasuk Sulawesi.

Salah satu jenis bambu menjalar yang juga merupakan jenis endemik Sulawesi adalah “valopayu” (*Dinochloa scandens*) juga melimpah di lokasi penelitian. Liana lain adalah *Arcangalesia flava*, *Aeschynanthus radicans* (Asclepiadaceae), *Poikilospermum suaviolens* (Cecropiaceae), *Piper* sp (Piperaceae). Jenis palm tegak (*erect palm*) yang banyak terdapat di lokasi penelitian adalah *Hydriastele nannostachys*, *Areca vestiaria* dan *Pinanga caesea* dimana ketiganya merupakan palem endemik untuk Wallacea. Mogeia [no ref] melaporkan bahwa paling tidak 60% palem Sulawesi bersifat endemik.. *Hydriastele nannostachys* kelihatannya distribusinya juga sangat spesifik dan sangat berbeda dengan *Arenga pinnata* (“saguer”) dimana jenis *Hydriastele nannostachys* sangat jarang ditemukan di kawasan konservasi seperti di Taman Nasional Lore Lindu (TNLL) sebaliknya *Arenga pinnata* adalah jenis yang mempunyai kelimpahan cukup tinggi di TNLL [no ref].

Jenis tumbuhan bawah yang tergolong herbaceous di lokasi pengamatan umumnya disusun oleh anggrek *Calanthe triplicata*, *Nepenthes* spp (paling tidak terdapat 5 jenis) dan salah satunya diduga merupakan spesies baru (new species) yang berukuran sangat kecil. Ukurannya 0.5 kali jika dibandingkan dengan baterai kecil Disamping itu didapatkan *Agallilla* sp (Gesneriaceae) *Spathoglottis* sp (Orchidaceae), *Tacca celebica* (Taccaceae), *Sclerea* sp (Cyperaceae) dan *Bauhinia* sp (Fabaceae). Jenis paku-pakuan umumnya terdiri atas “yuku” *Asplenium nidus* (Aspleniaceae).

PUSTAKA

- [1] Barbour GM, Burk JK, Pitts WD. 1987. *Terrestrial Plant Ecology*. The Benjamin Cummings Publishing Inc, New York.
- [2] Bridson D. and L. Forman. 1989. *The Herbarium Handbook*. Kew-London: the Royal Botanic Garden of Kew.
- [3] Coates JB dan Bishop KD (2000). *Panduan Lapangan Burung-Burung di Kawasan Wallacea; Sulawesi, Maluku Nusa Tenggara*.
- [4] Keßler PJA, M Bos SEC. Sierra Daza, LPM Willemse, R Pitopang and SR Gradstein. 2002b. Checklist of Woody plants of Sulawesi, Indonesia. *Blumea Supplement* 14: 1-160.
- [5] Khairuddin I. 2008. Studi Komunitas Tumbuhan di Cagar Alam Morowali Propinsi Sulawesi Tengah. *Journal Biocelbes*. Vol II. 2008. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Tadulako Palu
- [6] Ludwig JA, Reynolds JE. 1988. *Statistical Ecology. A primer on methods and computing*. John Willey and Sons. New York, Singapore
- [7] Moge JP 2002. Preliminary Studi On the Palm Flora of the Lore Lindu National Park, Central Sulawesi, Indonesia, *Biotropia* No. 18 : 1-20
- [8] Pitopang R, Lapanjang I dan Burhanuddin I. 2011. *Profil Herbarium Celebense dan Deskripsi 100 Jenis Pohon Sulawesi*. Editor : Basri Z. Universitas Tadulako Press. Palu
- [9] Pitopang R dan Safaruddin. 2012. Ethnoecological study of Tao Taa Wana Tribe in The Morowali Nature Reserve, Central Sulawesi Indonesia. *Proc Soc. Indon. Biodiv Int. Conference*. Vol1.. 209-2014. Juli 2012
- [10] Setiadi D, Qoyim I, Muhandiono H. 2001. *Penuntun Praktikum Ekologi*. Laboratorium Ekologi. Jurusan Biologi. FMIPA. Institut Pertanian Bogor.
- [11] Sub Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sulawesi Tengah. 1994. *Mengenal Beberapa Kawasan Konservasi Di Propinsi Sulawesi Tengah*
- [12] Soerianegara I, Indrawan A. 1988. *Ekologi Hutan Indonesia*. Laboratorium Ekologi Hutan. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor
- [13] Van Balgooy MMJ, Hovenkamp PH, Welzen PC. 1996. Phytogeography of the Pasific- Floristic and historical distribution pattern in plant. In *The origin and evolution of Pasific island biotas. New Guinea to eastern Polynesia ; pattern and process*. Pp. 191-213. edited by Keast A, Miller SA. SPB academic Publishing bv. Amsterdam.
- [14] Whitten AJM. Mustafa and Henderson GS. 1987. *The Ecology of Sulawesi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- [15] Yuzammi and Hidayat. 2002. *The Unique, Endemic and Rare Flora of Sulawesi*. Bogor: Bogor Botanical Garden.

UJI VIABILITAS KAPANG DARI INOKULUM PROBIOTIK UNTUK PAKAN TERNAK PADA BERBAGAI JENIS KEMASAN

VIABILITY ASSAY OF MOLD FROM PROBIOTIC INOCULUM FOR ANIMAL FEED IN VARIOUS TYPES OF PACKAGING

Nurul Maulida^{1*} dan Sumardi²

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung¹
<http://fmipa.unila.ac.id> – Telp. 0721-704625 – Fax. 0721-704625

*E-mail : nurulmaulida12@gmail.com

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung²

ABSTRACT

The purpose of this study is testing mold viability of probiotic inoculum which are packed in 4 packaging types, so probiotic inoculum still have a good quality after being in the hands of consumers. Beside that it is also used to know genus of mold in probiotic inoculum. This study used a Completely Randomized Design (CRD) method and 2 x 4 x 4 treatments factorial design. A factor (temperature) are storage of room temperature (27 °C) and 37 °C temperature. B factor (packaging) are aluminum foil, brown paper, heat-resistant plastic, and zipack plastic. And C factor (storage time) are 0, 1, 2, and 3 months. From the result analysis of variance (Anova) showed that the mold viability of the probiotic inoculum is not significantly different ($P > 0.05$) toward storage of four kinds of packaging and different temperatures. All kinds of packaging which are used, have same capabilities, that can properly maintain the mold viability of probiotic inoculum. Some kind mold genus which are in probiotic inoculum and temporary identified are *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.*, and *Monilia sp.*

Keywords: Mold, packaging, probiotic inoculum, and viability.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji viabilitas kapang dari inokulum probiotik yang dikemas dengan 4 jenis kemasan, sehingga inokulum probiotik masih memiliki kualitas yang baik setelah berada di tangan konsumen. Selain itu juga untuk mengetahui genus kapang yang terdapat pada inokulum probiotik. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan rancangan perlakuan faktorial 2 x 4 x 4. Faktor A (suhu) yaitu penyimpanan pada suhu ruang (27°C) dan suhu 37 °C. Faktor B (kemasan) yaitu aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, dan plastik zipack. Dan faktor C (waktu penyimpanan) yaitu 0, 1, 2, dan 3 bulan. Dari hasil analisis sidik ragam (Anova) menunjukkan bahwa viabilitas kapang dari inokulum probiotik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap penyimpanan pada empat jenis kemasan dan suhu yang berbeda. Keempat jenis kemasan yang digunakan memiliki kemampuan yang sama yaitu dapat mempertahankan dengan baik viabilitas kapang dari inokulum probiotik. Beberapa genus kapang yang terdapat dalam inokulum probiotik dan diidentifikasi sementara yaitu *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.* dan *Monilia sp.*

Kata kunci : Kapang, kemasan, *inokulum probiotik*, dan viabilitas.

PENDAHULUAN

Inokulum probiotik merupakan formula dari mikroorganisme khamir, kapang, dan bakteri *Bacillus*. Probiotik merupakan makanan pelengkap berupa mikroorganisme hidup yang memberi keuntungan pada hewan inang dengan memperbaiki keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan. Pemberian probiotik akan menambah jumlah mikroorganisme yang menguntungkan dan menekan mikroorganisme yang merugikan dengan cara berkompetisi untuk hidup di dalam saluran pencernaan unggas.

Jenis mikroorganisme probiotik dapat diberikan sebagai pakan ternak. Menurut Haetami, *et al.* [1], campuran ketiga jenis mikroorganisme probiotik terdiri dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) dapat meningkatkan kinerja saluran pencernaan ikan untuk kepentingan nutrisi ikan. Dalam penelitian ini formula campuran dari mikroorganisme probiotik berupa khamir, kapang dan bakteri *Bacillus sp.* diharapkan dapat menghasilkan formula probiotik yang baik bagi kesehatan ternak. Dalam dunia industri ternak penyimpanan pakan yang terlalu lama dapat mempengaruhi kualitas inokulum probiotik sehingga menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme lainnya yang dapat menurunkan kualitas inokulum probiotik.

Salah satu cara untuk melindungi produk adalah pengemasan. Pengemasan terhadap produk bertujuan untuk melindungi produk dari pengaruh oksidasi dan mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme dari udara. Viabilitas kapang pada inokulum probiotik dapat dikendalikan dengan pengemasan, termasuk pengendalian cahaya, konsentrasi oksigen, kadar air, perpindahan panas, kontaminasi dan serangan serangga. Setiap jenis kemasan dapat mempengaruhi masa simpan produk, sehingga dapat menentukan berapa lama produk dapat disimpan. Kualitas inokulum probiotik yang disimpan terlalu lama akan menurun apabila melebihi batas waktu tertentu, untuk itu perlu dilakukan uji ketahanan terhadap inokulum agar dapat mengetahui batas maksimal penyimpanan inokulum, sehingga inokulum probiotik yang berada ditangan konsumen masih memiliki kualitas nutrisi yang baik. Dengan demikian diperlukan penelitian tentang uji viabilitas kapang pada formula inokulum probiotik setelah 1, 2 dan 3 bulan penyimpanan pada empat jenis kemasan dan suhu yang berbeda.

METODE PENELITIAN

2.1 Pembuatan Inokulum Probiotik

Pembuatan inokulum probiotik terdiri dari campuran 3 komponen yaitu komponen A (inokulum khamir), komponen B (inokulum kapang), dan komponen C (bakteri *Bacillus sp.*). Pembuatan inokulum probiotik ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

2.1.1 Pembuatan komponen A

Tepung beras, lada putih, lengkuas, bawang putih, dan cabe jawa dibersihkan dari bagian yang tidak dibutuhkan. Setelah itu bahan-bahan tersebut ditimbang dan dihaluskan sesuai dengan komposisi yang dibutuhkan, selanjutnya dicampur menjadi satu, dan ditambah inokulum tape yang sudah disiapkan sebagai starter. Kemudian diadon dengan air perasan jeruk nipis dan air gula, sehingga dapat dibentuk bulatan-bulatan pipih dengan diameter 5 cm. Bulatan - bulatan yang sudah dibentuk kemudian diletakkan di atas nampan

dan ditutup dengan plastik. Selanjutnya disimpan didalam inkubator kapang selama 48 jam hingga mikroorganismenya tumbuh dan berkembang biak. Kemudian adonan yang telah ditumbuhi mikroorganismenya dikeringkan dengan cara dijemur oleh bantuan sinar matahari selama 2-4 hari.

2.1.2 Pembuatan komponen B

Ampas kelapa direbus dengan air hingga mendidih, kemudian ampas kelapa dipress hingga kering, selanjutnya ditaburi inokulum tepe secukupnya dan diaduk hingga merata, lalu dimasukkan ke dalam plastik yang sudah dilubangi sama seperti pembuatan tepe dan diinkubasi 2-3 hari pada suhu ruang, sehingga kapang tumbuh. Setelah kapang tumbuh dengan padat, ampas kelapa dipotong kecil-kecil (dengan ukuran 1x5 cm) agar waktu penjemuran ampas lebih singkat. Potongan yang sudah kering ditumbuk hingga halus, agar siap digunakan.

2.1.3 Pembuatan komponen C

Sebanyak 10 mL kultur bakteri *Bacillus* sp. yang berumur 24 jam, ditempatkan di dalam tabung rekasi yang berisi 1000 mL *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam *water bath shaker*. Setelah diinkubasi biakan digunakan untuk membuat inokulum probiotik.

Komponen A dan B yang telah dihaluskan dicampur dengan komponen C, kemudian diaduk sampai seluruhnya merata, kemudian dibentuk bulatan pipih (diameter 15 cm). Inokulum probiotik disimpan dalam inkubator pada suhu 50°C selama 5 hari sampai inokulum mengering, lalu dihaluskan.

2.2 Uji Viabilitas Inokulum Probiotik.

Uji viabilitas inokulum probiotik dilakukan dengan 3 jenis perlakuan yaitu dikemas menggunakan 4 jenis kemasan yaitu aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, dan plastik zipack. Sebanyak 5 g, inokulum ditempatkan di dalam setiap jenis kemasan, dan setiap kemasan dibuat 3 ulangan. Keempat jenis kemasan disimpan pada suhu ruang 27 °C, dan 4 jenis kemasan lagi disimpan pada inkubator suhu 37 °C selama 1, 2 sampai 3 bulan. (Gambar 1).



Gambar 1. Berbagai jenis kemasan yang digunakan pada penelitian
Keterangan : A = Aluminium foil, B = Plastik Zipack, C = Plastik tahan panas, D = Kertas kopi

2.3 Perhitungan Kapang

Sebanyak 1 g inokulum probiotik dari 8 kemasan ditimbang, diencerkan dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} , dengan menggunakan larutan garam fisiologis steril. Setiap pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dibuat cawan tuang pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu ruang selama 3-5 hari. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan metode *Standard Plate Count* (SPC) yaitu menggunakan *colony counter* dengan syarat jumlah koloni setiap cawan Petri antara 30-300 koloni, dan tidak ada koloni yang ukurannya hingga menutupi lebih dari setengah luas cawan Petri (Ferdiaz 1992) [2]. Setelah diketahui jumlah koloni pada masing-masing hasil *pourplate* pada setiap seri pengenceran, maka hasilnya dirata-rata sehingga dapat dibandingkan untuk perhitungan bulan pertama, kedua, dan ketiga.

2.4 Identifikasi Kapang

Selanjutnya, bila pada pengamatan makroskopis ditemukan adanya miselium atau hifa dan spora, dilaporkan sebagai adanya kapang, Terhadap kapang yang sudah diperoleh kemudian dilakukan identifikasi berdasarkan penampakan makroskopis dan mikroskopis (Wanatabe, 2001)[3].

2.4.1 Karakterisasi makroskopis kapang

Karakterisasi makroskopis kapang dilakukan dengan mengamati pertumbuhan kapang pada media PDA berumur 3 hari. Pengamatan kapang meliputi bentuk, warna, margin, dan elevasi koloni.

2.4.2 Karakterisasi mikroskopis kapang

Karakterisasi kapang dilakukan dengan cara membuat preparat pada kaca objek dengan pewarnaan *lactofenol cotton blue* dari kultur kapang berumur 3 hari. Pengamatan kapang meliputi sekat hifa, warna spora, jenis spora aseksual, pendukung spora, dan adanya modifikasi hifa.

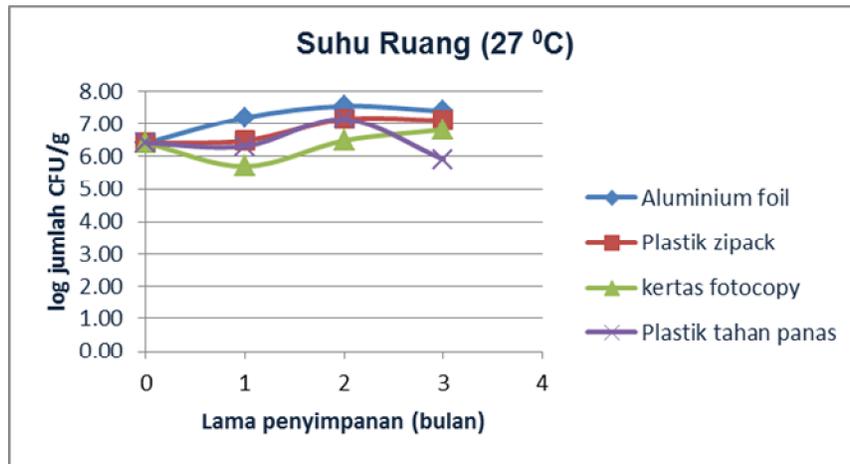
HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Viabilitas Kapang dari Inokulum Probiotik pada Berbagai Jenis Kemasan.

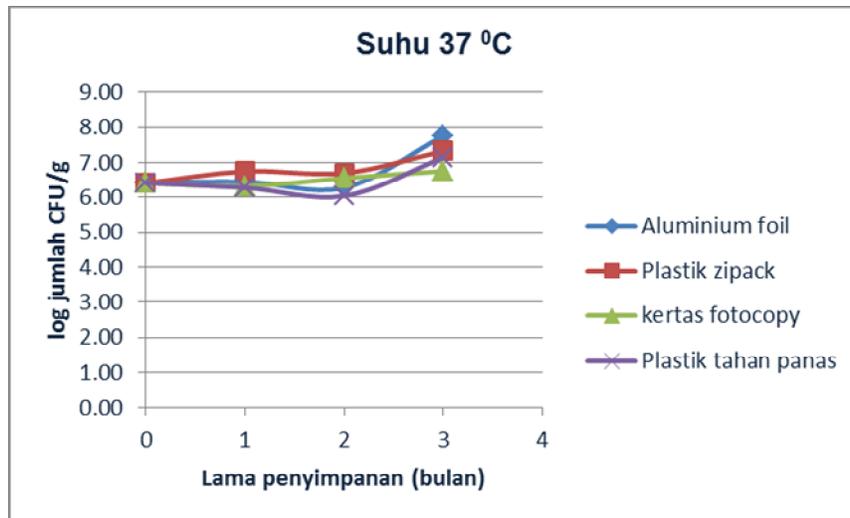
Setelah dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni kapang pada media PDA dari pengambilan sampel 8 jenis kemasan maka diperoleh hasil viabilitas kapang pada suhu ruang mengalami peningkatan hingga bulan ke-2, kecuali pada kemasan kertas foto copy yang mengalami penurunan setelah bulan ke-1. Pada penyimpanan suhu ruang viabilitas kapang paling tinggi terdapat pada kemasan aluminium foil dan terendah terdapat pada kemasan kertas kopi. Rata-rata viabilitas kapang pada inokulum probiotik pada empat jenis kemasan berkisar antara 6.44 – 7.03 log jumlah CFU (Colony Forming Unit)/g (Gambar 2).

Padap penyimpanan suhu 37 °C viabilitas kapang mengalami peningkatan hingga bulan ke-1, kecuali pada kemasan plastik tahan panas yang mengalami penurunan setelah bulan ke-2. Jumlah kapang paling tinggi terdapat pada kemasan aluminium dan terendah terdapat pada kemasan plastik tahan panas. Rata-rata viabilitas kapang pada inokulum

probiotik yang dikemas dengan empat jenis kemasan berkisar antara 6.49 – 6.83 log jumlah CFU/g (Gambar 3).



Gambar 2. Viabilitas kapang pada berbagai jenis kemasan pada penyimpanan suhu ruang (27°C)



Gambar 3. Viabilitas kapang pada berbagai jenis kemasan pada penyimpanan suhu 37 °C

Dari hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam dengan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pada taraf nyata 5 % diperoleh F hitung < F tabel yang berarti viabilitas kapang dari inokulum probiotik tidak berbeda nyata terhadap penyimpanan pada empat jenis kemasan dan 2 suhu yang berbeda nyata. Jumlah kapang pada 1 – 3 bulan tidak memiliki perbedaan yang nyata terhadap perhitungan kapang pada bulan ke 0, sehingga penyimpanan inokulum probiotik selama 3 bulan masih memiliki viabilitas yang stabil. Jumlah kapang yang disimpan pada kemasan aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, dan plastik zipack tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap perhitungan kapang sebelum perlakuan, dengan demikian keempat jenis kemasan yang digunakan memiliki kemampuan yang sama yaitu dapat mempertahankan dengan baik

viabilitas kapang dari inokulum probiotik. Jumlah kapang yang stabil menunjukkan terjadinya penyimpanan inokulum probiotik yang optimal oleh kemasan.

Tedesco *et al.* [4]. merekomendasikan probiotik dengan konsentrasi 10^6 - 10^7 CFU/g perlu ditambahkan dalam pakan ayam untuk mencapai keseimbangan antara mikroorganisme probiotik dan mikroorganisme yang terdapat dalam usus. Pada semua spesies hewan, sangat direkomendasi untuk menggunakan probiotik pada kondisi dalam cekaman, transportasi, perubahan diet pakan, lepas sapih, kehamilan, dan laktasi (ruminansia dan babi).

Inokulum probiotik yang dikemas bertujuan untuk mempertahankan mutu kesegaran, warna yang tetap, memberikan kemudahan dalam penyimpanan. Berbagai jenis bahan digunakan untuk keperluan kemasan, diantaranya adalah bahan-bahan dari aluminium foil, kertas dan plastik. Plastik mempunyai beberapa keunggulan sifat antara lain ringan, fleksibel, multiguna, kuat, tidak bereaksi, tidak karatan, bersifat termoplastis (*heat seal*), dapat diberi warna dan harganya yang murah. Namun plastik memiliki kelemahan karena adanya zat monomer dan molekul kecil dari plastik yang mungkin bermigrasi ke dalam bahan pangan yang dikemas. Sedangkan aluminium foil memiliki sifat-sifat yaitu tidak terpengaruh sinar matahari, tidak dapat terbakar, tidak bersifat menyerap bahan atau zat lain, tidak menunjukkan perubahan ukuran dengan perubahan kelembaban relatif ruang simpan. Apabila secara ritmis kontak dengan air, pengaruhnya sangat kecil. Sifat-sifat mekanis aluminium foil yang sangat penting adalah "*tensile strength*", elastisitas dan daya tahannya terhadap sobekan dan lipatan [5]. Aluminium foil memiliki sifat tidak berbau, tidak ada rasa, tidak berbahaya dan higienis, bakteri dan kapang tidak mudah tumbuh. Kertas memiliki *sizer* yang berpengaruh terhadap daya serap air. *Sizer* merupakan tambahan untuk meningkatkan ketahanan kertas terhadap cairan. Permukaan *sizer* umumnya terdiri dari selaput tipis tepung, getah, dan polimer sintesis. Namun kertas memiliki kelemahan yaitu mudah robek, terbakar, tidak dapat untuk mengemas cairan, dan tidak dapat dipanaskan, akan tetapi sampah kertas dapat didegradasi secara alami [6].

Keempat jenis kemasan dapat menekan peluang terjadinya kontaminasi inokulum probiotik dari udara, air, dan tanah, baik oleh mikroorganisme pembusuk, mikroorganisme yang dapat membahayakan kesehatan manusia, maupun bahan kimia yang bersifat merusak atau racun. Pada umumnya sel mikroorganisme rusak akibat cahaya, terutama pada mikroba yang tidak mempunyai pigmen fotosintetik. Sinar dengan gelombang pendek akan berpengaruh buruk terhadap mikroba. Sedangkan sinar dengan gelombang panjang mempunyai daya fotodinamik dan daya biofisik, misalnya cahaya matahari. Bila energi radiasi diabsorpsi oleh sel mikroorganisme akan menyebabkan terjadinya ionisasi komponen sel. Aluminium foil dan kertas kopi memiliki daya tahan terhadap cahaya karena memiliki sifat tidak tembus pandang, sehingga dapat menjaga mikroorganisme dalam inokulum probiotik dari kerusakan. Sedangkan kemasan yang memiliki daya tahan terhadap oksigen yaitu plastik dan aluminium foil, karena memiliki pori yang sangat kecil sehingga mencegah terjadinya oksidasi terhadap mikroorganisme sehingga jumlah mikroorganisme dapat tetap terjaga.

3.2 Identifikasi Isolat Kapang

3.2.1 Karakter makroskopis isolat kapang

Dari hasil pengamatan makroskopis diketahui ada 6 perbedaan karakter makroskopis kapang. Perbedaan ini menunjukkan perbedaan pengelompokan dalam

taksonomi. Kapang 2 dan 3, dan 4 memiliki karakter makroskopis yang berbeda dengan kapang 1, 5, dan 6 (Tabel 1)

Tabel 1. Karakter makroskopis isolate kapang

No.	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Tepi Koloni
1	Kelabu	Filamentous	Filamentous
2	Hitam	Circular	Serrate
3	Hijau	Circular	Serrate
4	Hijau	Circular	Serrate
5	Putih	Filamentous	Filamentous
6	Kelabu	Filamentous	Filamentous

3.1.1 Karakter mikroskopis isolat kapang

Dari hasil pengamatan mikroskopis diketahui kapang 1 tidak memiliki sekat dan rhizoid sehingga dikelompokkan sebagai kapang *Mucor*. Kapang 2, 3, dan 4 memiliki karakter mikroskopis yang sama dan dikelompokkan sebagai kapang *Aspergillus*. Kapang 5 berbeda dengan kapang 1, 2, 3, 4, dan 6, kapang ini hanya memiliki konidiofor dan konidium sehingga disebut *Monilia*. Kapang 6 hampir menyerupai kapang 1, namun kapang 6 memiliki rizoid sehingga disebut sebagai *Rhizopus* (Tabel 2)

Tabel 2. Karakter mikroskopis isolat kapang

Kapang	Hifa	Spora aseksual	Modifikasi hifa	Pendukung spora	Cendawan
1	Tidak bersekat	Sporangiospora	Stolon	Kolumela	<i>Mucor</i> sp.
2	Bersekat	Konidium	Sel Kaki	Sterigma	<i>Aspergillus</i> sp.1
3	Bersekat	Konidium	Sel Kaki	Sterigma	<i>Aspergillus</i> sp.2
4	Bersekat	Konidium	Sel Kaki	Konidiofor	<i>Monilia</i> sp.
5	Tidak bersekat	sporangiospora	Rizoid	Sporangiofor	<i>Rhizopus</i> sp.

Setelah dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni kapang pada media PDA diketahui terdapat empat genus kapang pada inokulum probiotik yaitu *Aspergillus*, *Mucor*, *Monilia*, dan *Rhizopus*.

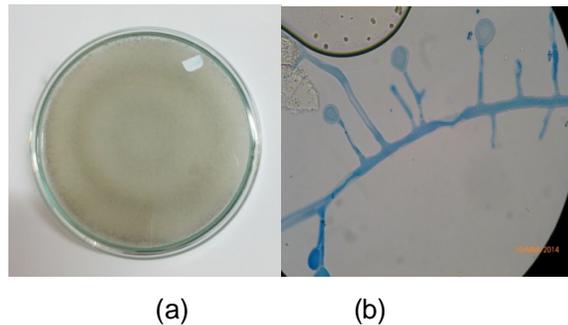
KESIMPULAN

Aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas dan plastik zipack dapat mempertahankan viabilitas kapang dari inokulum probiotik untuk pakan ternak selama 3 bulan. Penyimpanan pada suhu 25 – 37 °C merupakan kondisi terbaik untuk menjaga kestabilan jumlah kapang. Kapang yang terdapat pada inokulum probiotik yaitu *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Monilia* sp., dan *Rhizopus* sp.

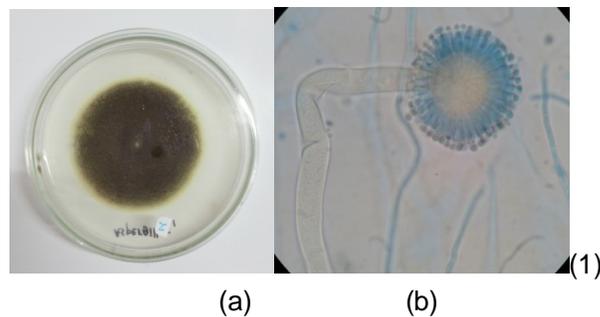
PUSTAKA

- [1] Haetami, K., Abun, Mulyani, Y. 2008. Studi Pembuatan Probiotik BAS (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*) sebagai Feed Supplement Serta Implikasinya terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Merah. *Jurnal Internasional*. UNPAD. Bandung.
- [2] Ferdiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Pt. Gramedia Utama. Jakarta.
- [3] Wanatabe, Tsuneo. 2001. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morfologi of Cultured Fungi and Key to Species Second Edition*. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- [4] Tedesco, D., C. Catrovilli, G. Coni, D. Bartoli, V. Voltro and Polidori. 1994. Use Of Probiotics In The Feeding of Neat Rabbits: Effects on Performance and Intestinal Microorganism. *Journal Internasional*. Rivistadj. Coniglicoltura..
- [5] Suyitno. 1990. *Bahan-bahan Pengemas*. Yogyakarta: UGM
- [6] Nurmiah, Mimi. 2002. *Penelitian Sifat Berbagai Bahan Kemasan Plastik dan Kertas Serta Pengaruhnya terhadap Bahan yang Dikemas*. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. Medan.

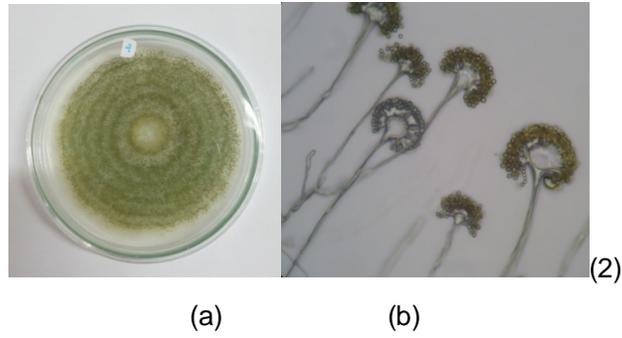
LAMPIRAN: Gambar-gambar Kapang dari Inokulum Probiotik



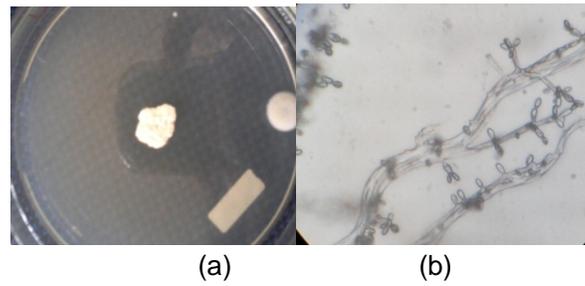
Gambar 1. Biakan murni (a) dan foto mikroskop (b) *Mucor* sp. (Perbesaran 400 kali)



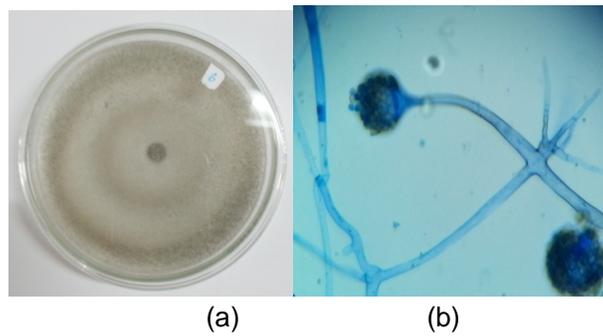
Gambar 2. Biakan murni (a) dan foto mikroskop (b) *Aspergillus* sp.1 (warna hitam) (Perbesaran 400 kali)



Gambar 3. Biakan murni (a) dan foto mikrograf (b) *Aspergillus* sp.2 (warna hijau) (Perbesaran 400 kali)



Gambar 4. Biakan murni (a) dan foto mikrograf (b) *Monilia* sp. (Perbesaran 400 kali)



Gambar 5. Biakan murni (a) dan foto mikrograf (b) *Rhizopus* sp. (Perbesaran 400 kali)

EKSTRAKSI LINAMARIN DAN LINAMARASE DARI UBI KAYU (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ) UNTUK PENGEMBANGAN SISTEM DETEKSI SENYAWA SIANOGEN

PREPARATION OF LINAMARIN AND LINAMARASE SOLUTION FOR USE IN CASSAVA CYANIDE KIT

Rini Riffiani

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jl. Jakarta – Bogor km 46, Cibinong
Email: riniriffiani@gmail.com

ABSTRACT

Studied on cyanogenic potential (CP) of roots and leaves of Indonesian cassava are still inadequate in relation to food toxicity and human health. The CP of leaves and roots was analyzed using picrate paper kits. The simple method is described for the preparation from very young cassava leaves, of dilute hydrochloric acid solution of linamarin. The linamarin solution is used in the preparation of performanfe of picrate kits for determination of total cyanide content of cassava roots. The simple picrate kit uses the enzyme linamarase to catalyse to hydrolysis of linamarin to acetone cyanohydrins and glucose, which then hydrolyses in slightly alkaline condition to acetone and HCN. The research result showed that linamarase had optimum condition in some activities; pH for about 7, temperature for about 40°C, incubation period for about 15 minute, and concentration substrat 150 µL

Keywords: cassava, cyanogenic, HCN, linamarin, linamarase.

ABSTRAK

Telaah mengenai potensial sianogenik (PC) pada bagian umbi dan daun ubi kayu di Indonesia berhubungan dengan keamanan pangan dan kesehatan. Hal ini untuk mencegah terjadinya keracunan karena konsumsi pangan yang mengandung sianida yang tinggi. Potensial sianogenik yang terdapat di daun dan umbi ubi kayu dianalisis menggunakan kertas pikrat. Metoda pendeteksi sianida metode yang sederhana ini membutuhkan substrat linamarin yang diekstrak menggunakan larutan HCl. Linamarin diperlukan sebagai substrat pada kertas pikrat untuk mendeteksi total sianida yang terdapat dalam umbi ubi kayu. Pada sistem deteksi sianida ini, enzim linamarase mengkatalisis linamarin menjadi aseton sianohidrin. Pada kondisi netral atau basa, aseton sianohidrin terurai menjadi aseton dan HCN/CN⁻. Hasil analisis menunjukkan kondisi optimum enzim linamarinase yaitu suhu 40°C, pH 7, waktu inkubasi 15 menit dan konsentrasi substrat sebesar 150 µL.

Kata kunci: HCN, *linamarin*, *linamarase*, sianogenik, ubi kayu

PENDAHULUAN

Ubi kayu merupakan tanaman yang menjadi sumber bahan pangan ketiga terpenting setelah padi dan jagung. Indonesia dilaporkan menghasilkan tidak kurang dari 14 juta ton ubi segar per anum. Umbi-umbian mengandung karbohidrat cukup tinggi (> 80% dari bobot kering), sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber karbohidrat alternatif pengganti beras (7).

Salah satu peran singkong dalam bidang pangan adalah sebagai sumber karbohidrat alternatif. Proses pengolahan singkong yang tidak sempurna dapat menimbulkan resiko keracunan senyawa HCN yang mana dalam kadar tertentu akan menyebabkan kematian. Kasus tersebut dapat terjadi dikarenakan singkong mengandung senyawa glukosida sianogenik, linamarin dan sejumlah lotaustratin (metil-linamarin) dimana ketiganya terdapat di bagian dalam sel tumbuhan yang dilengkapi dengan suatu enzim hidrolitik spesifik yaitu linamarase yang terletak di bagian dinding sel (15). Senyawa-senyawa ini dapat berubah menjadi sianida yang sangat beracun. Berdasarkan WHO/FAO kadar sianida yang diperbolehkan dalam makanan dari singkong maksimal adalah 10 ppm (10). Konsumsi ubi kayu dengan kadar sianida yang tinggi terutama pada singkong pahit dapat menyebabkan kretinisme, kelainan pada tulang kaki bahkan kematian (1).

Munculnya senyawa sianida dalam singkong disebabkan adanya katalisis oleh linamarase dimana linamarin dihidrolisis menjadi aseton sianohidrin dan glukosa serta lotaustratin dihidrolisis menjadi sianohidrin dan glukosa. Kondisi dibawah neutral atau basa, aseton sianohidrin terurai menjadi aseton dan HCN/CN⁻. Proses pengolahan singkong seperti perendaman, perebusan dan pengeringan belum dapat menghilangkan secara sempurna senyawa sianida ini karena proses ini masih menyisakan senyawa glukosida sianogenik dan residu sianida sehingga diperlukan upaya penurunan yaitu mengoptimalkan kerja enzim linamarase dalam menghidrolisis glukosida sianogenik (5).

Untuk memonitor kadar sianida dalam ubi kayu secara mudah dikembangkan sistem deteksi menggunakan picrate paper test yang dapat dilakukan secara mudah dilapangan dan dilakukan secara akurat di laboratorium (16). Untuk lebih mengembangkan metode deteksi ini diperlukan substrat linamarin sebagai substrat yang diekstrak dari daun ubi kayu untuk aktivitas enzim linamarase (9). Selain itu juga diperlukan enzim linamarase yang digunakan untuk sebagai katalis untuk menghidrolisis linamarin menjadi acetone sianohidrin. Enzim linamarase ini tersedia secara komersial, akan tetapi harganya terlalu mahal untuk analisa di laboratorium di negara berkembang. Oleh karena itu dikembangkan metode ekstraksi linamarase dari umbi, daun ubi kayu yang tidak membutuhkan alat yang canggih dan hanya membutuhkan *phenyl Sepharose short colum* untuk purifikasi linamarase secara parsial (16).

METODE PENELITIAN

Preparasi Asam Pikrat untuk membuat Kertas Pikrat

Sebanyak 1,4 gram dilarutkan dalam 100 mL larutan Na₂CO₃ 2,5% dan dihomogenkan kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *stirer* selama 24 jam. *Whatman paper* No.1 dipotong dengan ukuran 90 mm x 70 mm, dan bagian ujung dari potongan kertas tersebut dilekatkan pada plastik transparan dengan ukuran 5 x 50 mm. *Whatman paper* strip tersebut kemudian dicelupkan ke dalam larutan pikrat selama 2-3 menit dan dikering anginkan. Setelah kering paper strip tersebut dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan dalam kotak tertutup

Kadar HCN pada Bagian Daun, Batang Dan Umbi Tanaman Ubi kayu

Sampel ubi kayu yaitu ubi kayu jenis mentega dan ubi kayu karet. Masing masing jenis ubi kayu diambil bagian daun, batang, dan umbi. Masing-masing bagian tersebut diiris kemudian sebanyak 0,1 g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 500 µl buffer fosfat pH8 dan 500 µl aquadest Masing-masing tabung dimasukkan kertas pikrat,

kemudian tabung dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 30⁰ C dan overnight. Kertas pikrat dimasukkan dalam tabung reaksi lain yang telah berisi aquadest 5m, didiamkan selama 30 menit hingga berubah warna. Sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dengan absorbansi 510 nm.

Isolasi Linamarin dari daun ubi kayu

Sebanyak 5 gr daun ubi kayu muda dipotong kecil, ditumbuk dan ditambahkan HCl 0,1M sebanyak 5 ml dan dihomogenkan, selanjutnya ditambahkan 0,5 ml larutan HCl 0,1 M. Larutan campuran tersebut di sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak linamarin dari daun ubi kayu dan dapat disimpan dalam -20⁰C agar bisa bertahan selama 5 bulan (9).

Isolasi Crude Enzim Linamarase dari Ubi kayu dengan metode PMSF

Metode isolasi crude enzim linamarase menggunakan PMSF dilakukan dengan cara 100g umbi ubi kayu dipotong kecil. Umbi ubi kayu yang telah dipotong ditambahkan 100 ml buffer sitrat PH 7 dan 0,25 ml PMSF kemudian diblender pada suhu dingin hingga membentuk pasta ubi kayu. Pasta kayu dimasukkan dalam botol dan disonikasi selama ± 5 menit selanjutnya disaring menggunakan kasa dan filtrat dimasukkan dalam erlenmeyer. Filtrat kemudian dibagi ke dalam falcontube dengan volume yang sama. Filtrat disentrifuge selama ± 20 menit pada 3500 rpm dan suhu 4⁰C. Supernatan yang dihasilkan merupakan *crude* enzim (3).

Uji Aktivitas Linamarase

Uji aktivitas enzim linamarase dilakukan dengan cara 1 gr ubi kayu dipotong kecil kemudian diblender kering tanpa penambahan aquadest. Ubi kayu yang telah diblender dimasukkan dalam *falcontube* dan ditambahkan aquadest sebanyak 4 ml, kemudian dihomogenisasi, kemudian didiamkan selama 30 menit. Campuran ini kemudian disentrifuge pada suhu 25⁰C, 3500 rpm selama 15 menit. Supernatan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dengan volume 0µl, 100µl, 200µl, 300µl, 500µl. Aquadest ditambahkan ke dalam masing-masing tabung hingga total volume menjadi 500µl. Setiap tabung ditambahkan 50µl buffer fosfat 1 M PH 6 dan 100µl linamarin.

Picrate paper dimasukkan ke dalam tabung yang telah ditutup, kemudian didiamkan pada suhu 30⁰C. Setelah 15 menit, 200 mg guanidine hydrochloride. Tabung reaksi ditutup kembali dan didiamkan pada suhu 30⁰C selama 3 jam untuk mengetahui perubahan *picrate paper*, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain yang masing-masing telah diisi 5 ml aquadest. Picrate paper dimasukkan dalam aquadest hingga warna larut dan terjadi perubahan warna dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan $\lambda=510\text{nm}$ (5). Grafik yang terbentuk yaitu jumlah HCN yang terbentuk (µg) dan volume larutan linamarase. Gradien yang didapat (g) kemudian dimasukkan kedalam rumus sebagai berikut untuk mendapatkan aktivitas enzim linamarase.

$$\text{Rumus : } \text{akti\textit{f}itas} = \text{slope} \times \frac{4000}{27t.w}$$

Keterangan : Slope : didapat dari persamaan garis antara ppm dan absorbansi

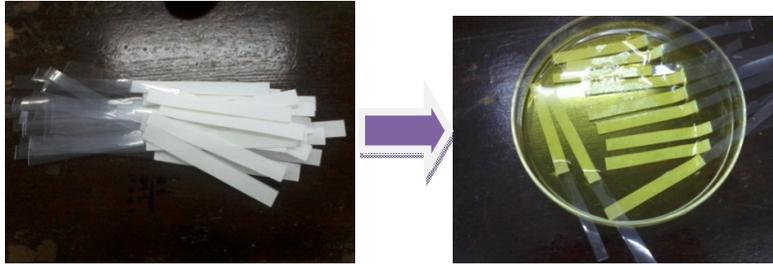
t : waktu reaksi enzimatis

w : bobot sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

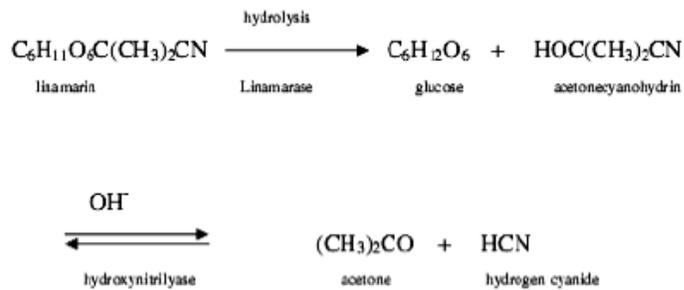
Pembuatan Kertas Pikrat

Metode picrate paper merupakan metode sederhana yang dikembangkan untuk menentukan pengujian secara semikuantitatif adanya potensi sianogenik dalam ubi kayu. Secara prinsip metode pendeteksian sianida menggunakan *picrate paper test* atas dasar reaksi hidrolisis linamarin atau senyawa glukosida sianogenik yang melepaskan HCN yang kemudian dideteksi dengan *picrate paper test*. Gambar 1 menunjukkan kertas saring yang direndam dalam asam pikrat



Gambar 1. Kertas Saring yang direndam dalam asam pikrat jenuh

Reaksi kimia yang mendasari sistem deteksi *picrate paper test* yaitu penguraian metabolik linamarin oleh beta glukosidase menghasilkan gula, ketone dan cyanide (Gambar 2)



Gambar 2. Reaksi kimia degradasi linamarin yang mendasari sistem deteksi

Sianida yang dilepaskan dalam reaksi hidrolisis tersebut akan bereaksi dengan asam pikrat dalam *picrate paper test*. Semakin pekat warna yang timbul pada kertas pikrat tersebut semakin tinggi kandungan sianida.

Kadar HCN pada daun, batang, dan umbi ubi kayu

Kadar HCN bagian daun, batang, dan umbi kayu dari dua jenis sampel ubi kayu jenis karet dan ubi kayu jenis mentega yang mengandung kadar sianida yang berbeda.. Kadar sianida pada ubi kayu jenis karet dan mentega tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar sianida pada ubi kayu jenis karet dan mentega

Jenis ubi kayu	Kadar Sianida (ppm)		
	Daun	Umbi	Batang
Karet (pahit)	491.4	300.2	53.9
Mentega (manis)	269.5	142.7	155,3

Isolasi Linamarin Dari Daun Ubi Kayu

Linamarin termasuk dalam kelas yang dikenal sebagai beta-cyanogenetic glucosides. Linamarin juga dikenal sebagai nitriloside (12). Senyawa senyawa tersebut larut dalam air, tidak beracun yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Ubi kayu dilaporkan mengandung nitrilosida linamarin antara 225-1830mg/kg (8)

Linamarin merupakan substrat yang dapat dikatalisasi oleh aktivitas enzim linamarase. Dalam proses isolasi linamarin digunakan pereaksi HCl karena HCl dapat mengikat linamarin dan memisahkannya dengan zat. Warna larutan yang dihasilkan oleh linamarin ini berbeda setiap jenis dan kondisi daun itu sendiri. Warna larutan yang dihasilkan ini adalah coklat muda sampai berwarna merah jambu (Gambar 3). Larutan linamarin ini juga mengandung enzim linamarase yang telah diinaktifkan oleh larutan 0,1M HCl. Larutan linamarin sebagai substrat dapat disimpan pada suhu -20°C dan akan tetap stabil selama 5 bulan (9).



Gambar 3. Linamarin yang diekstrak dari daun ubi kayu

Selanjutnya dilakukan uji variasi sumber linamarin sebagai substrat terhadap aktivitas enzim linamarase tercantum pada table 2.

Tabel 2. Aktivitas linamarase dari sumber linamarin (substrat) yang berbeda

Sumber Linamarin	Aktivitas linamarase (U/g)
A = daun karet yang muda	0,0039
B = daun ubi kayu manis yang sangat muda	0,0004
C = dari daun karet yang sangat muda	0,00048
D = daun ubi kayu manis yang muda	0,00047

Hasil pengukuran aktivitas enzim linamarase menggunakan 4 macam substrat dari sumber yang berbeda menghasilkan aktivitas enzim yang tidak jauh berbeda. Ekstraksi linamarin menggunakan teknik ekstraksi HCl, dapat diperoleh 100% linamarin pada daun yang sangat muda, dikarenakan HCl mampu mengikat linamarin dari zat lainnya (9).

Isolasi Linamarase Metode PMSF

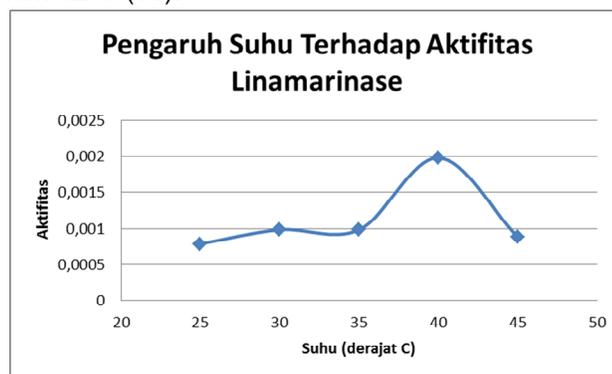
Selain menggunakan metode tepung aseton, linamarase dapat diisolasi menggunakan pereaksi *Phenyl Methyl Sulfonyl Flouride* (PMSF). Penggunaan PMSF ini adalah sebagai inhibitor protease yang bereaksi dengan residu *serine*. Karena enzim protease diinhibisi oleh adanya PMSF ini maka molekul protein seperti enzim tidak akan rusak, maka linamarase yang didapatkan akan tetap utuh. Selain penggunaan PMSF, pereaksi yang digunakan lainnya adalah buffer sitrat-fosfat pH 7. Pereaksi ini digunakan agar linamarase berada dalam kondisi optimumnya, sehingga kadar linamarase yang didapatkan semakin maksimal. Penggunaan instrumen ultrasonikator dimaksudkan agar lebih banyak linamarase yang terisolasi (3).

Pada isolasi ini hanya dilakukan sampai mendapatkan enzim kasar (*crude enzyme*). Enzim kasar yang telah diperoleh kemudian diuji aktivitasnya. Aktivitas enzim adalah jumlah produk yang dihasilkan dalam 1 mL enzim per menit. Substrat linamarin digunakan untuk uji aktivitas linamarase.

Pengaruh Suhu Inkubasi Enzim

Optimasi suhu penting dilakukan karena suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kerja enzim. Penentuan suhu dilakukan pada rentang suhu 25-45°C. Pada Gambar 13 terlihat adanya peningkatan aktivitas linamarase pada suhu 25°C hingga 40°C. Selama kenaikan tersebut, aktivitas enzim terus meningkat karena adanya peningkatan energi kinetik yang mempercepat vibrasi, translasi, dan rotasi enzim dan substrat sehingga memperbesar kemungkinan keduanya saling bertumbukan. Meningkatnya suhu dapat mempengaruhi meningkatnya afinitas enzim terhadap katalisator dan aktivator sehingga mempercepat reaksi.

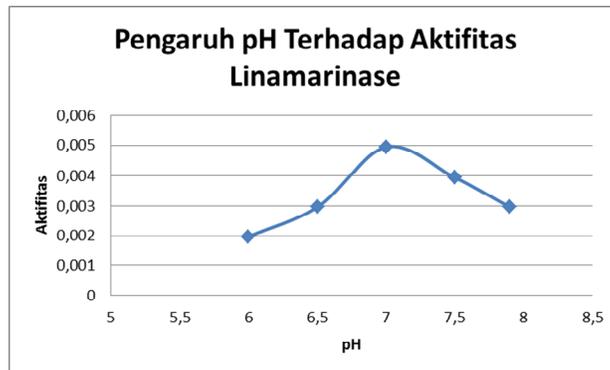
Setelah suhu 40°C, aktivitas enzim mengalami penurunan. Menurut Arteaga and Nakai (1990), pada suhu diatas suhu optimal, akan terjadi denaturasi yaitu kerusakan protein sehingga terjadi penurunan aktivitas linamarase. Suhu optimum linamarase adalah 40°C dengan aktivitas sebesar 0,002 U/mL (Gambar 4). Enzim linamarase yang diisolasi dari daun ubi kayu memiliki suhu optimum 55°C, dan linamarase yang diisolasi dari kacang koro memiliki suhu optimum 62°C (11).



Gambar 4. Suhu optimum aktivitas enzim linamarase

Pengaruh pH Enzim

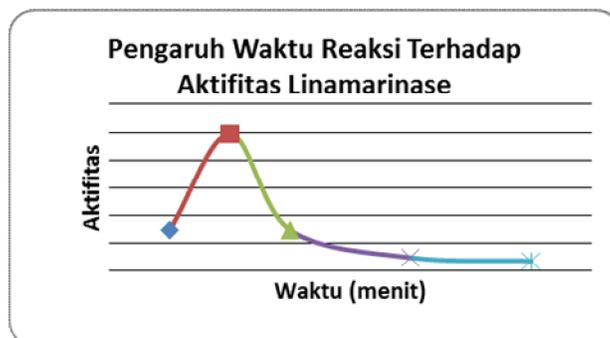
Pengujian optimasi pH dilakukan pada selang pH 6-8 dengan interval 0.5. Buffer yang digunakan adalah buffer PO_4 0.1 M. Aktivitas enzim mulai meningkat dari pH 6 hingga 7 dan mulai menurun di pH selanjutnya (Gambar 5). Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada pH 7 yaitu 0,005 U/mL. Pengaruh pH terhadap katalitik enzim terutama disebabkan oleh perubahan ionisasi enzim pada gugus ionik pada sisi aktif atau sisi lain yang secara tidak langsung mempengaruhi sisi aktif. Gugus ionik berperan dalam menjaga formasi sisi aktif mengikat substrat menjadi produk (13). pH optimum linamarase dari ubi kayu yaitu pada pH 6 dengan nilai aktivitas sebesar 0,287 unit.



Gambar 5. pH Optimum Enzim Linamarase

Waktu Inkubasi (reaksi) Enzim

Waktu inkubasi merupakan waktu yang diperlukan enzim untuk berikatan dengan substrat. Pengujian waktu inkubasi optimum dilakukan antara 10-40 menit. Pada waktu inkubasi yang singkat, produk yang dihasilkan masih sedikit karena pengikatan enzim terhadap substrat masih rendah, sedangkan, waktu inkubasi yang lama akan meningkatkan produk yang dihasilkan tetapi bila berlangsung lebih lama hingga mencapai suatu titik tertentu enzim akan mengalami kejenuhan terhadap substrat sehingga produk yang dihasilkan akan tetap (serta mengalami penurunan aktifitas karena waktu merupakan variabel pembagi dalam penentuan aktifitas, sehingga jika waktu semakin besar maka aktifitas akan semakin kecil. Waktu inkubasi 15 menit digunakan untuk optimasi selanjutnya dengan aktifitas yang dihasilkan sebesar 0,005 μmol (Gambar 6).

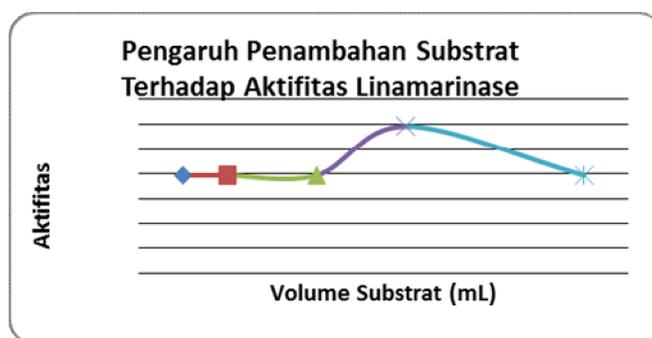


Gambar 6. Waktu inkubasi Enzim Linamarase

Konsentrasi Substrat

Substrat yang ditambahkan kepada enzim akan mencapai nilai kejenuhannya sampai pada konsentrasi tertentu. Pada suatu reaksi enzimatis bila konsentrasi substrat diperbesar, sedangkan kondisi lainnya tetap, maka kecepatan reaksi (v) akan meningkat sampai suatu batas kecepatan maksimum (V). Pada titik maksimum ini enzim telah jenuh dengan substrat

Pada percobaan ini dilakukan dengan memvariasikan nilai konsentrasi linamarin yang ditambahkan ke dalam linamarase yang telah dipersiapkan dalam kondisi suhu, pH, dan waktu inkubasi yang optimum. Konsentrasi penambahan linamarin sebanyak 150 ml menunjukkan aktivitas linamarase yang optimal. Hal ini dikarenakan proses ikatan antara linamarase dengan linamarin semakin tinggi sehingga mempengaruhi kecepatan reaksinya. Nilai aktivitas yang didapat adalah sebesar 0,003 U/mL, terjadi penurunan aktifitas dari sebelumnya (Gambar 7)



Gambar 7. Penambahan substrat linamarin pada aktivitas linamarase

KESIMPULAN

Ekstraksi linamarin dari daun ubi kayu jenis pahit dan manis tidak menunjukkan perbedaan bila digunakan sebagai substrat pada aktivitas linamarase. Ekstraksi crude enzim linamarase pada menggunakan metode PMSF menghasilkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan aseton. Hasil analisa menunjukkan kondisi optimum enzim linamarase yaitu suhu 40 °C, pH 7, waktu inkubasi 15 menit dan konsentrasi substrat sebesar 150 µL.

PUSTAKA

- [1] Akintonwa, A., Tunwashe, Onifade, A. (1994). Fatal ad non fatal acute poisoning attributed to cassava-based meal. *Acta Hort*, 375, 285-288.
- [2] Artega, GE and S. Nakai. 1990, Tetrathionate Protect Proteolytic Activity of Simultade Papaya Latek and Crude Papain. *J. Food Sci. J. Food Sci.* 55(6): 1728-1734
- [3] Askurrahman 2010. Isolasi dan karakterisasi linamarase hasil isolasi dari umbi ubi kayu (*Manihot esculenta*, Crantz). *Agrointek* Vol 2. No 2: 138-144
- [4] Bradbury, M.G., S.V. Egan & J.H. Bradbury. 1999. Picrate paper kits for determination of total cyanogens in cassava roots and all forms of cyanogens in cassava products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79 : 593-601

- [5] Bradbury, 2006. Simple wetting method to reduce cyanogen content of cassava flour, *Journal of Food Composition and Analysis* 19 . pp. 388–393.
- [6] Brimer L. M, Nout and G. Tuncel. 1998. Glucosidase (amygdalase and Linamarase) from *Endomyces fibuliger* (LU677): formation and crude enzyme properties. *J. Appl Microbiol Biotechnol.* 49:182-188\
- [7] Chalil, D. 2003. Agribisnis Ubi Kayu di Provinsi Sumatera Utara. Jurusan Sosial Ekonomi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Medan
- [8] Cardoso, A.P. Cardoso, E. Mirione, M. Ernesto, F. Massaza, J. Cliff and M.R.Haque. 2005. Processing of cassava roots to remove cyanogens, *Journal of Food Composition and Analysis* 18 (2005), pp. 451–460.
- [9] Haque, RM, Bradbury J.H. 2004. Preparation of linamarin from cassava leaves for use in a cassava cyanide kit. *Food Chemistry* 85 (27-29).
- [10] Iglesias, C.A., T. Sanchez, and H.H. Yeoh. 2002. Cyanogens and Linamarase Activities in Storage Roots of Cassava Plant from Breeding Program. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15 : 379-387
- [11] Mpong OE. H. Yan. G. Chism and R.T Sayre. 1990. Purification, Characterization, and Localization of Linamarase in Cassava. *J. PlanPhysiol.* 93: 176-181
- [12] Nambisan B. 1999. Cassava Latex and Source of Linamarase for Determination of Linamarin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47: 372-373
- [13] Whittaker Jr. 1994. Principle of Enzymology for The Food Science. Second Edition. New York: Marcel Decker
- [14] Yeoh, H.H & S.V. Egan. 1997. An enzyme-based dipstick for the estimation of cyanogenic potential of cassava flour. *Food Chemistry*, Vol. 60 (1) : 119-122
- [15] Yeoh, H.H. and S.V. Egan. 1998. Enzyme-based dipstick : An easy-to-use alternative for estimation of cyanogens level in cassava roots. *Trop. Agric (Trinidad)*, Vol. 75(2) : 305-307
- [16] Yeoh, H. H., Bradbury, J.H. & Egan S. V. (1997). A simple and rapid method for isolating cassava leaf linamarase suitable for cassava cyanide determination. *Journal of the science of food and agriculture.* 75, 258-262.

ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN-GEN ANALOG RESISTEN PADA TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF RESISTANCE AND DEFENSE GENE ANALOGS IN COCOA (*Theobroma cacao* L.)

Surti Kurniasih^{1*}, Sudarsono², Asep Setiawan², Agus Purwantara³, Hugo Volkaert⁴

¹Universitas Pakuan, Jln Pakuan Kotak Pos 452 Bogor
kurniasihurti@yahoo.com,

²Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, Bogor

⁴Central of Agriculture Biotechnology, Kasetsart University, Bangkok Thailand

ABSTRACT

Plant disease resistance is controlled by a number of resistance genes. Generally there are two groups of resistance genes namely (1) *R gene* that encode proteins involved in recognizing pathogens; and (2) *defense response gene* that encode proteins that inhibit the growth of pathogens. This research aims to study the analog genes thought related to the nature of plant resistance to *Phytophthora palmivora*. A PCR strategy was used to clone resistance gene analogs (RGAs) and defense gene analogs (DGAs) using specific primers (Tc-ICLR, TcCat, Tc-Chit Tc-Pox), and non-specific primers (NBS-LRR, Pto, IPTO, and I Glu). Of the eight cloned sequences, only three sequences were successfully isolated, they are one RGA sequence of *Pto* and two sequences of DGA of *Cat1* and *Cat2*. Based on the analysis of alignments and phylogenetic dendrogram at the amino acid level, those three analogue genes have a fairly high level of homology against other plants. From the obtained sequences, the specific primer will be designed to analyze the genetic diversity of cocoa by resistant gene analog marker.

Keywords: *Resistance gene, defense gene, specific primer, non specific primer*

ABSTRAK

Resistensi tanaman terhadap penyakit dikendalikan oleh sejumlah gen ketahanan. Secara umum terdapat dua kelompok gen ketahanan yaitu (1) *R gene* yang menyandi protein-protein yang berperan dalam mengenali patogen; dan *defense gene* yang menyandi protein-protein yang berperan menghambat pertumbuhan patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari gen-gen analog yang diduga terkait dengan sifat resistensi tanaman kakao terhadap *Phytophthora palmivora*. Melalui teknik PCR dilakukan kloning terhadap gen-gen resisten analog (RGA) dan defense gen analog (DGA) menggunakan primer spesifik dan non spesifik. Empat primer spesifik yang digunakan adalah Tc-ICLR, Tc Cat, Tc-Chit, dan Tc-Pox, sedangkan primer non spesifik adalah NBS-LRR, Pto, iPto, dan iGlu. Dari delapan sekuens yang diklon, hanya tiga sekuens yang berhasil diisolasi, yaitu satu sekuens RGA berupa *PTo* dan dua sekuens DGA yaitu *Cat1* dan *Cat2*. Berdasarkan analisis perbandingan dan dendrogram filogenetik pada tingkat asam amino, ketiga gen analog yang diperoleh memiliki tingkat homologi yang cukup tinggi dengan berbagai tanaman lain. Dari sekuens yang diperoleh selanjutnya dibuat primer spesifik yang dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik kakao berdasarkan marka gen analog resisten.

Kata kunci: *Resistance gene, defense gene, primer spesifik, primer non spesifik*

PENDAHULUAN

Sejalan dengan pertumbuhan jumlah penduduk dan konsumsi masyarakat terhadap berbagai produk berbahan dasar coklat, maka terjadi peningkatan permintaan biji kakao baik untuk pasar lokal maupun internasional. Hal ini merupakan peluang yang amat baik bagi Indonesia sebagai salah satu Negara produsen kakao untuk meningkatkan produksinya baik secara kualitas maupun kuantitas.

Pengembangan budi daya kakao di Indonesia masih menemui berbagai kendala, salah satunya adalah gangguan berbagai penyakit yang dapat menyerang tanaman ini. Salah satu penyakit utama yang menyerang tanaman kakao adalah busuk buah yang disebabkan oleh cendawan *Phytophthora palmivora*. Buah yang terinfeksi akan menunjukkan gejala pembusukan disertai bercak coklat kehitaman dengan batas yang tegas, biasanya dimulai dari ujung atau pangkal buah [16].

Phytophthora bersifat patogen pada semua bagian tanaman kakao, mulai dari kecambah sampai tanaman dewasa, menyebabkan sejumlah penyakit. Hingga kini ada delapan species *Phytophthora* yang telah diisolasi dari tanaman kakao yaitu: *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici*, *P. tropicalis*, *P. katsurae*, *P. arecae*, *P. nicotianae*, dan *P. megasperma* [2]

Mekanisme resistensi penyakit tanaman dibagi menjadi dua kategori yaitu *preformed resistance* (resistensi alami) dan *induced resistance* (resistensi yang diinduksi) [1]. Tanaman sejenis dapat memberikan respon yang berbeda terhadap serangan patogen. Ada yang rentan, agak rentan, tahan atau agak tahan. Hal ini bergantung pada jenis dan jumlah gen-gen resisten yang terdapat pada tanaman tersebut [1]. Ketika tanaman terserang patogen maka sejumlah gen ketahanan akan diaktifkan, sehingga tanaman akan membatasi penyebaran penyakit dengan membentuk bercak-bercak, lesion, atau benjolan melalui pembentukan struktur maupun senyawa yang dapat menahan penyebaran patogen.

Tanaman memiliki sistem yang kompleks dalam hal mempertahankan diri dari serangan penyakit, nematode maupun serangga [5]. Salah satu pertahanan yang efektif dikenal dengan interaksi gen dengan gen yang membutuhkan gen ketahanan (*R*) khusus dan berhubungan dengan gen avirulen (*Avr*) dari pathogen [15]. Fungsi utama dari *R gene* adalah mengendalikan ketahanan terhadap penyakit dengan memiliki hubungan antar gen (*gene for gene relationship*) dengan gen avirulen (*avr*) pathogen [12]

Beberapa gen yang terlibat dalam interaksi tanaman-patogen telah berhasil dikenali. Gen yang mengendalikan sifat resistensi terdiri atas dua kelompok: yang pertama adalah kelompok gen yang terlibat dalam pengenalan patogen dan atau sinyal transduksi disebut gen ketahanan (*R gene*); yang lainnya terlibat dalam mekanisme ketahanan dan sintesis produk yang dibutuhkan untuk pengenalan patogen [12].

Ketahanan secara kuantitatif pada tanaman kakao telah banyak dipelajari. Berdasarkan pengamatan fenotipik dijelaskan bahwa sifat resistensi dikendalikan oleh banyak gen (poligenik), oleh karena itu pendekatan yang digunakan untuk mempelajarinya difokuskan pada gen-gen yang berpotensi terlibat dalam lintasan biokimia ketahanan terhadap penyakit. Hal ini didasarkan pada dugaan bahwa gen-gen tertentu yang dikenal fungsinya berhubungan dengan ketahanan tanaman memegang peranan dalam interaksi antara tanaman dengan patogen [13]. Bailey [4] berhasil mempelajari gen-gen yang terekspresi sebagai respon kakao terhadap infeksi *Phytophthora megakarya* dan menemukan bahwa ekspresi gen-gen tersebut berbeda pada berbagai umur daun.

Saat ini telah lebih dari 60 gen ketahanan (*R gene*) yang berhasil diperoleh dan diperbanyak dari berbagai spesies tanaman [6]. Berdasarkan domain structural yang dimilikinya, gen ketahanan (*R gene*) dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok: 1) gen yang menyandi protein yang mengandung *Nucleotide Binding Site* dan *Leucine-Rich Repeat* (NBS-LRR); 2) gen yang menyandi protein yang mengandung serin/threonin kinase (STK); 3) gen yang menyandi protein yang mengandung *extracitoplasmic Leucine-Rich Repeat* (eLRR) [11]. Gen *NBS menyandi protein NBS* yang memegang peran penting dalam ketahanan terhadap patogen dan siklus sel. Keberadaan kelompok gen *NBS* cukup berlimpah dalam genom tanaman berkisar antara 0.6 – 2% dari jumlah gen total [8]. Genom kakao paling sedikit mengandung 253 gen *LRR-RLK* yang memiliki kemiripan dengan *A thaliana* [3].

Kelompok gen lainnya dikenal sebagai gen pertahanan (*defence response gene*), berperan dalam pembatasan serangan patogen pada jaringan tanaman dengan cara membatasi pertumbuhan, perkembangan dan perbanyakannya dalam tubuh tanaman. Gen ini menyandi protein yang dikenal dengan *PR protein (Pathogenesis Related Protein)*. Beberapa senyawa yang sudah diidentifikasi sebagai *PR protein* antara lain glucanase, chitinase, peroxidase, dsb. ([13]).

Berbagai gen ketahanan telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari berbagai jenis tumbuhan seperti anggur [9], kedelai [18], kapas [11], sorghum [17], zizania [5], pisang [20]; [15]; juga ubi rambat [6]. Demikian pula pada kakao, penelitian tentang RGA/DGA sebelumnya telah dilakukan oleh Lanaud *et al.* [15]; Clement *et al* [7]; dan Bailey *et al.* [4].

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk: (1) mengisolasi gen-gen analog yang diduga terkait dengan sifat resistensi kakao terhadap *Phytophthora palmivora*; (2) mengidentifikasi fragmen DNA gen-gen DGA/RGA pada tanaman kakao; (3) menentukan runutan fragmen DNA gen-gen DGA/RGA pada kakao. Selanjutnya dari hasil penelitian ini akan dikembangkan penanda molekuler spesifik untuk gen-gen DGA/RGA yang dapat digunakan untuk analisis keragaman kakao koleksi Puslit Kopi dan Kakao Indonesia.

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan di laboratorium “Biodiversity and Conservation”, Central of Agricultural Biotechnology Kasetsart University, Thailand mulai bulan September 2008 sampai dengan Januari 2009, dan laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura (Agrohort), Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor dari bulan September 2009 sampai dengan Januari 2010.

2.2 Bahan tanaman dan ekstraksi DNA kakao

DNA kakao diisolasi dari sepuluh klon kakao koleksi Puslit Kopi dan Kakao Indonesia, yaitu DR 1, DR 2, DR 38, ICCRI 1, ICCRI 2, ICCRI 3, ICCRI 4, DRC 15, PA 300, dan Sca 6. Lebih kurang 20-30 mg daun kering dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf bersama bola gir kecil. Sampel daun dihancurkan dalam mesin penghancur jaringan (Retsch MM301) selama 3 menit dengan frekuensi 300 hertz. Jaringan yang sudah hancur diinkubasi dengan buffer lisis yang mengandung RNase selama semalam, dan difiltrasi melalui filter column. Ekstraksi larutan DNA selanjutnya dilakukan sesuai dengan protokol Plant Genomic DNA Mini Kit (Geneaid, Geneaid Biotech Ltd. <http://www.geneaid.com>).

2.3 PCR dan Amplifikasi DNA

Template DNA dari masing-masing klon kakao diamplifikasi dengan empat primer spesifik dan empat primer non spesifik. Primer spesifik yang digunakan adalah Tc-ICLR, Tc Cat, Tc-Chit, dan Tc-Pox, sedangkan primer non spesifik adalah NBS-LRR, Pto, iPto, dan iGlu. Primer yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari primer yang sudah digunakan dalam penelitian sebelumnya pada kakao [13]. PCR dilakukan dengan total volume 15 µl, terdiri atas 2 µl DNA template, 1 µl primer, 1.5 µl 10x buffer, 0.15 µl MgCl, 0.075 Taq DNA polymerase, dan 2.7 µl dNTP. Proses PCR dilakukan dengan 39 siklus, diawali denaturasi pada 94 °C selama 4 menit, kemudian 39 siklus berikutnya yang terdiri atas denaturasi pada 94 °C selama 45 detik, penempelan (*annealing*) pada suhu 50 °C (untuk primer spesifik) dan 42 °C (untuk primer non spesifik) selama 45 detik, dan perpanjangan (*extension*) pada suhu 72 °C selama 30 detik. Tahap terakhir dilanjutkan dengan perpanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72 °C selama 5 menit dan pendinginan (*cooling*) sampai suhu 16 °C selama 10 menit. Hasil amplifikasi PCR dievaluasi dengan melakukan running pada gel agarose 1% selama 20 menit pada mesin elektroforesis dengan arus 300 Am dan 200 V.

2.4 Kloning dan Sekuensing Fragmen DNA

Produk PCR yang telah divisualisasikan pada gel agarose, dipilih yang memiliki pita yang jelas untuk keperluan kloning dan sekuensing. Produk PCR dilakukan menurut protokol PCR Clean Up Kit dari produk Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid). Fragmen DNA PCR yang telah murni diperbanyak di bakteri *Eschericia coli* strain DH 10B. Fragmen DNA sebanyak 1.5 ul diligasikan ke vektor p GEMP-T 0.5 ul menggunakan enzim T4 DNA ligase 0.5 ul dan buffer 2.5 ul pada suhu 4°C selama semalam. Sebanyak 2.5 ul DNA plasmid hasil ligasi ditransformasikan ke 40 ul sel kompeten *E. coli* dengan sistem kejut listrik. Bakteri *E. coli* kemudian dikultur pada media LB cair 800 ul. Bakteri *E. coli* digoyang di atas shaker dengan kecepatan 220 rpm dan suhu 37°C selama lebih kurang dua jam. Sel *E. coli* sebanyak 80 ul kemudian disebar di media LB padat yang mengandung ampisilin, dan IPTG. *E. coli* diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama semalam. Sel *E. coli* transforman yang mengandung DNA sisipan akan membentuk koloni putih.

Konfirmasi adanya DNA sisipan pada plasmid dilakukan dengan elektroforesis PCR koloni di agarose 1.0%. Koloni bakteri yang positif mengandung plasmid dan DNA sisipan diambil sebanyak 5 ul dan dikultur dalam media LB cair 5 ml, selanjutnya digoyang di atas shaker incubator dengan kecepatan 220 rpm selama 16 jam. Ekstraksi plasmid rekombinan dari bakteri *E. coli* dilakukan sesuai dengan protokol High-Speed Plasmid Mini Kit (Geneaid). DNA plasmid diukur konsentrasinya dengan metode elektroforesis dalam agarose gel 1.0 % dengan marka kuantitas. DNA plasmid dikirim ke manufaktur untuk disekuensing.

2.5 Analisis Hasil Sekuensing dan Desain Primer Spesifik

Data hasil sekuensing berupa runutan DNA selanjutnya dianalisis tingkat kemiripannya dengan tanaman lain menggunakan metode BlastN, yang dapat diakses dari situs NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Runutan asam amino diperoleh dengan mentranslasikan runutan nukleotida hasil sekuensing menggunakan perangkat lunak DNAMAN. Analisis pensejajaran runutan asam amino dilakukan dengan program ClustalW yang tersedia di situs Genebee (<http://www.genebee.msu.su/clustal/advanced.html>)

dan diekspor ke program Genedoc. Selanjutnya analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan program UPGMA untuk memperoleh dendogram. Berdasarkan hasil sekuensing diperoleh runutan fragmen DNA yang kemudian dibuat desain primer spesifik dengan menggunakan program software Primer 3. Selanjutnya primer spesifik ini akan digunakan untuk menganalisis keragaman genetik hibrida F1 kakao.

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Amplifikasi PCR dan sekuensing klon yang mengandung DGA/RGA

Hasil amplifikasi dengan PCR menunjukkan bahwa di antara delapan pasang primer yang digunakan, tidak semuanya dapat mengamplifikasi genom kakao. Primer-primer yang dapat mengamplifikasi genom kakao terdiri atas empat primer spesifik dan dua primer non spesifik (Tabel 1). Produk PCR dari setiap gen diligasi ke dalam plasmid vector dan selanjutnya diperbanyak dalam bakteri *E. coli*, menghasilkan masing-masing dua klon untuk TcCat, NBS-LRR, dan Pto. Klon-klon yang mengandung fragmen DNA tersebut selanjutnya dilakukan sekuensing.

Tabel 1. Primer spesifik dan non spesifik, dan suhu annealing untuk amplifikasi gen-gen RGA/DGA pada kakao

No.	Nama Primer	Sekuens	Suhu annealing
1.	A. Primer spesifik Tc-ICLR	F: ATGGCTGCATCTTTCTCAGTGCC R: GTTCTCCATAAC TTCTTGCCAT	56 °C
2.	Tc Cat	F: TCACTAATGGATCCCTACAAGG R: GTGACCTCAAAGAAACCCTTTGC	56 °C
3.	Tc-Chit	F: TTCGCTACAACCGGTGATGATGC R: AGAAGGCTTTGGGTGGATTGTGGAG	56 °C
4.	Tc-Pox,	F: CTTCATTTCCATGACTGCTTCGT R: GGTGGTAAGGTTCTGCAAGGTTACT	56 °C
5.	B. Non spesifik NBS-LRR	F: GGTGGCATTGGTAARACNACNCTNGC R: GTTGTCTTACCAATGCCNCCCATNCC	42 °C
6	Pto	F: GGAGGATTTGGTAARGTNTAYAAR R: ACCACACCAAATGAPTANACPTC	42 °C

3.2 Analisis Runutan Fragmen DNA dan Asam amino

Runutan fragmen DNA hasil sekuensing ditranslasikan menjadi urutan asam amino menggunakan perangkat lunak DNAMAN versi 4. Berdasarkan *konserv domain* yang dimilikinya, dari lima sekuens yang ditranslasikan menjadi urutan asam amino hanya diperoleh tiga sekuens yang mengandung *konserv domain*, yaitu dua untuk Catalase dan satu Pto. Urutan asam amino yang diperoleh selanjutnya dianalisis tingkat kemiripannya dengan berbagai jenis tanaman lain yang terdapat di data base Gen Bank, menggunakan algoritma Blast X dan Blast P (tabel 2 dan table 3).

Tabel 2. Hasil penelusuran tingkat kemiripan antara Pto-like kinase pada kakao dengan sejumlah aksesori tanaman dari Gen Bank menggunakan algoritma BlastP

Aksesori	Protein yang dihasilkan	Jenis tanaman	E value	Max Ident
AAF43394.1	serine/threonine protein kinase	<i>Oryza sativa</i>	1e-82	68%
CAB62020.1	receptor-like protein kinase homolog	<i>Arabidopsis thaliana</i>	2e-81	68%
AAQ82660.1	Pto-like serine/threonine kinase	<i>Capsicum chinense</i>	4e-81	67%
AAT28296.1	Pto-like receptor kinase resistance protein	<i>Rosa roxburghii</i>	2e-79	65%
AAL51075.1	kinase R-like protein	<i>Triticum aestivum</i>	2e-79	66%
ABV30740.1	kinase-like protein	<i>Prunus avium</i>	6e-78	68%
ACA05214.1	pto-like protein	<i>Fragaria x ananassa</i>	7e-78	62%
ACN87619.1	kinase-like protein	<i>Corylus avellana</i>	2e-80	68%
XP_002528705.1	kinase, putative	<i>Ricinus communis</i>	1e-79	72%
ACX80234.1	Pto-type resistance protein	<i>Cucumis x hytivus</i>	4e-83	67%
ACO25571.1	protein kinase-coding resistance protein	<i>Nicotiana repanda</i>	2e-80	65%
ACA05217.1	pto-like protein		2e-79	67%
XP_002534329.1	Serine/threonine-protein kinase	<i>Potentilla tucumanensis</i> <i>Ricinus communis</i>	2e-84	71%

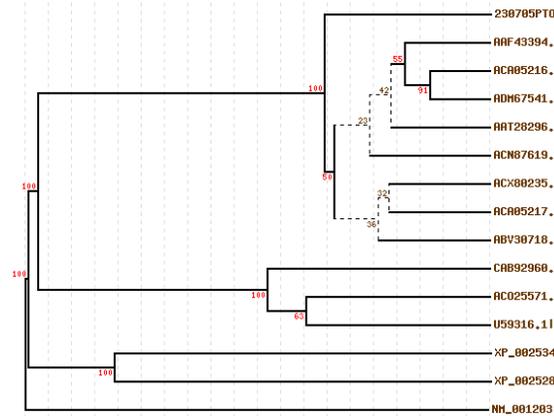
Fragmen DNA *Pto* ditranlasikan dengan menggunakan program Blast X untuk mengetahui susunan dan panjang asam amino pada masing-masing fragmen. Runutan asam amino ini mempunyai tingkat homologi yang cukup tinggi (72%) dengan asam amino dari *Ricinus communis* (XP002534329.1). Runutan asam amino untuk fragmen DNA *Pto* juga memiliki homologi dengan *Arabidopsis thaliana* (CAB92960.1), *Oryza sativa* (AAF43394.1), *Prunus avium* (ABV30740.1), dan *Corylus avellana* (ACN87619.1) sebesar 68%. Selanjutnya berturut-turut pada *Capsicum chinensis*, *Potentilla tucumanensis*, *Cucumis x hytivus* (67%), *Triticum aestivum* (66%), *Rosa roxburghii* dan *Nicotiana repanda* (65%), *Fragaria x ananassa* (62%).

Tabel 3. Hasil penelusuran tingkat kemiripan antara Catalase pada kakao dengan sejumlah aksesori tanaman dari Gen Bank menggunakan algoritma Blast P

Aksesori	Protein yang dihasilkan	Jenis tanaman	E value	Max Ident
AET97564.1	Catalase	<i>Ziziphus jujube</i>	4e-12	91%
ACJ11733.1	Catalase	<i>Gossypium hirsutum</i>	5e-12	94%
BAH37035.1	Catalase 1	<i>Pisum sativum</i>	6e-11	91%
CAD42909.1	Catalase	<i>Prunus persica</i>	1e-10	82%
AAK96854.1	Catalase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	4e-10	82%
AAD17933.1	Catalase	<i>Brassica juncea</i>	5e-10	82%
AAB71764.1	Catalase 1	<i>Nicotiana tabacum</i>	2e-08	88%
CAA42720.1	Catalase-1	<i>Zea mays</i>	5e-08	79%
ACJ22771.1	Catalase 1	<i>Jatropha curcas</i>	6e-08	84%
AAL83720.1	Catalase	<i>Vitis vinifera</i>	7e-08	76%

Hasil analisis Fragmen DNA *Cat* pada kakao setelah ditranslasikan menghasilkan runutan asam amino yang memiliki homologi tinggi dengan tanaman lain. Runutan yang memiliki homologi tertinggi adalah *Gossypium hirsutum* (94%), selanjutnya berturut-turut tanaman *Pisum sativum* dan *Ziziphus jujube* (91%). Runutan catalase kakao juga memiliki homologi yang tinggi dengan tanaman dikotil lainnya seperti *Nicotiana tabacum* (88%), *Jatropha curcas* (84%), *Arabidopsis thaliana* dan *Prunus persica* (82%), *Zea mays* (79%), dan *Vitis vinifera* (76%).

Dendrogram filogenetik Pto dan catalase dibuat berdasarkan sekuens asam amino yang diturunkan dari masing-masing fragmen DNANYa. Dendrogram filogenetik Pto menunjukkan adanya 3 group. Pto kakao (PTO230705) mengelompok dalam satu group dengan *Oryza sativa* (AAF43394.1), *Capsicum chinense* (AAQ82660.1), *Rosa roxburghii* (AAT28296.1), *Prunus avium*, *Fragaria x ananassa* (ABV30740.1), *Corylus avellana* (ACA05214.1), *Cucumis x hytivus* (XP002528705.1), dan *Potentilla tucumanensis* (ACO25571.1). Group Pto yang ke dua terdiri atas *Arabidopsis thaliana* (CAB62020.1), *Nicotiana repanda* (ACX80234.1), dan *Lycopersicon esculentum*, sedangkan grup yang ketiga adalah *Ricinus communis* (ACN87619.1) dan *Arabidopsis thaliana* (Gambar 2).

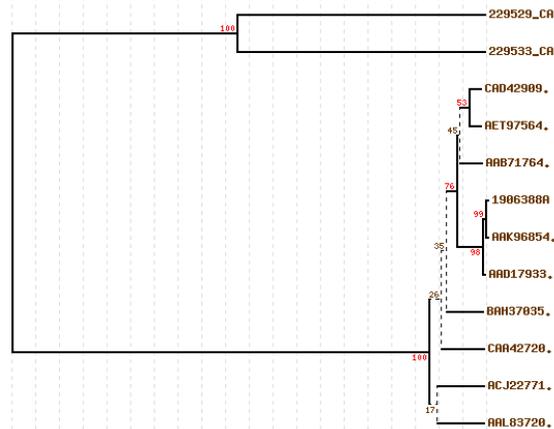


Gambar 2. Dendrogram filogenetik sekuens asam amino Pto like kinase dari kakao dengan Pto dari tanaman lainnya.

Dendrogram filogenetik Catalase terbagi menjadi tiga group dimana dua catalase kakao (CA 229529 dan 229533) terpisah dari tanaman lainnya, seperti *Prunus persica* (CAD42909.1), *Nicotiana tabacum* (AAB71764.1), *Ziziphus jujube* (AET97564.1), *Arabidopsis thaliana* (AAK96854.1), *Gossypium hirsutum* (ACJ11733.1), dan *Brassica juncea* (AAD17933.1) yang berada pada grup dua, sedangkan di grup tiga terdiri atas catalase dari tanaman *Pisum sativum* (BAH37035.1), *Jatropha curcas* (ACJ22771.1), *Vitis vinifera* (AAL83720.1), dan *Zea mays* (CAA42720.1). (Gambar 3).

Sejumlah gen ketahanan telah berhasil ditemukan pada berbagai jenis tanaman. Pada kakao, Lanaud *et al.* [13] berhasil mengisolasi sebelas fragmen DNA yang diduga terkait dengan gen-gen ketahanan. Dalam penelitian tersebut diperoleh dua sekuens termasuk NBS yang berlokasi pada kromosom nomor 7 dan 10, sekuens seperti *Pto* terdapat pada lima wilayah genom yang salah satunya berada pada kromosom no 4, sedangkan sekuens PR2 berada pada dua wilayah yang terdapat pada kromosom nomor 5 dan 9. Pada penelitian ini tidak didapat kan sekuens NBS-LRR, meskipun sebenarnya

kelompok ini cukup berlimpah ter kandung dalam genom tanaman yaitu berkisar antara 0.6% - 2% dari jumlah total genom tanaman [8].



Gambar 3. Dendrogram filogenetik sekuens asam amino catalase 1 dan 2 dari kakao dengan catalase dari berbagai tanaman lainnya.

Gen resisten analog yang diperoleh pada penelitian ini adalah *Pto*, yang merupakan salah satu anggota dari kelompok Serine-Threonin Kinase (STK). Martin *et al* [14] pertama kali menemukan *Pto* yang berperan dalam menghasilkan protein ketahanan terhadap bakteri pada tanaman tomat. Lanaud *et al* [13] telah berhasil menemukan sekuens *Pto* yang terkait dengan sifat resistensi terhadap *P.palmivora* pada kakao, tepatnya berada pada kromosom nomor 4. Catalase termasuk kelompok PR protein bersama dengan chitinase, glucanase, dan peroksidase, yang berperan dalam memicu mekanisme ketahanan pada sel tanaman.

Berbagai strategi untuk mencari kandidat gen perlu dikembangkan secara terus menerus. Salah satunya adalah dengan mengisolasi gen yang menghasilkan ekspresi berbeda selama proses infeksi pada tanaman yang tahan dan tanaman yang rentan ([13]. Menurut Totad *et al*. [17] studi mengenai *R gene* dan RGA masih perlu digali lebih lanjut. Masih diperlukan informasi yang lebih banyak mengenai sekuens *R gene* untuk mengetahui lebih banyak struktur domain yang merupakan dasar dari penelusuran gen-gen RGA pada berbagai tanaman.

3.3 Desain Primer Spesifik

Berdasarkan runutan DNA hasil sekuensing selanjutnya dilakukan desain primer spesifik dengan menggunakan program Primer 3. Primer spesifik yang dihasilkan selanjutnya diharapkan dapat digunakan untuk mengamplifikasi DNA kakao (Tabel 4). Primer spesifik yang berhasil didesain dalam penelitian ini selanjutnya digunakan untuk amplifikasi DNA kakao untuk mengevaluasi keragaman genetik tetua maupun hibrida F1. Hasil produk PCR dari templat DNA dengan primer spesifik di atas menunjukkan bahwa DNA kakao dapat teramplifikasi, setelah dievaluasi dengan running pada gel agarosa. Akan tetapi untuk mengetahui apakah primer ini dapat menghasilkan pita polimorfik untuk tetua maupun hibrida kakao yang digunakan, masih perlu evaluasi lebih lanjut.

Tabel 4. Hasil desain primer spesifik gen *Cat* dan *Pto* berdasarkan sekuen fragmen DNA kakao

Marker	Urutan Basa	Jmlh Basa	PCR Size (bp)	Tm (°C)
TcCAT 1	F: TTGCTGAGGTTTCGTTTTTGA	20	537	59.4
	R: GCAGTCAGTAGCGGGTGATT	20		60.3
TcCAT2	F: GTAACGTGGCCTTGTTTGCT	20	446	60.2
	R: GCCAGTAGGTGGGTGGAGTA	20		60.0
TcPTO	F: GTTCATTTGGCGTCCTTGAT	20	330	59.9
	R: CCATGTGCCCTTTATTCCAG	20		60.3

KESIMPULAN

Amplifikasi genom tetua kakao dengan primer spesifik dan non spesifik menghasilkan tiga sekuens kandidat gen resisten analog, yang terdiri atas satu sekuens *Pto* dan dua sekuens *Cat*. Hasil penelusuran dan pensejajaran sekuens tersebut pada level asam amino menunjukkan bahwa ketiga memiliki homologi yang cukup tinggi dengan berbagai jenis tanaman lain. Hal ini mengindikasikan bahwa sekuens-sekuens tersebut juga terdapat pada tanaman lain dengan tingkat kemiripan yang cukup tinggi.

PUSTAKA

- [1] Agrios GN. 2005. Plant Pathology.. Elsevier Academic Press. New York. 5th ed. 803p.
- [2] hometric variation and characterization of Phytophthora isolates from cocoa. Plant Pathology,52,168-180.
- [3] Argout *et al.*2010. The genome of *Theobroma cacao*. Nature Genetics. <http://www.nature.com/doi/10.1038/ng.736>
- [4] Bailey BA *et al.* 2005. Developmental expression of stress response genes in *Theobroma cacao* leaves and their response to Nep1 treatment and a compatible infection by *Phytophthora megakarya*, Plant physiology and Biochemistry. 43: 611-621.
- [5] Chen , L. Long, X. Lin, W. Guo, and B. Liu. 2006. Isolation and characterization of a set of disease resistance-gene analogs (RGAs) from wild rice, *Zizania latifolia* Griseb. I. Introgression, copy number lability, sequence change, and DNAmethylation alteration in several rice–*Zizania* introgression lines
- [6] Chen GS, Zhou YF, Hou LL, Pan DR. 2009. Cloning and characterization of full length cDNA of a CC-NBS-LRR Resistance Gene in Sweetpotato. Agricultural Science in China. 8(5): 538-545.
- [7] Clement D, Risterucci AM, GrivetL, MotamayorJC, GoranJN, and LanaudC, 2003. Mapping QTL for yield components, vigor and resistance to *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao* L. *Genome*. 46:204-212.

- [8] De young BI & Innes RW.2006. Plant NBS-LRR proteins in pathogen sensing and host defense. *Nat. Immunol.* 7: 1243-1249.
- [9] Di Gaspero G & Cipriani G. 2002. Resistance gene analogs are candidate marker for disease-resistance genes in grape (*Vitis spp.*). *Theoretical and Applied Genetics.* 106: 163-172.
- [10] Drenth A. and B. Sendall. 2004. Economic Impact of *Phytophthora* Diseases in Southeast Asia. In Drenth, A. and Guest, D.I., ed. 2004. Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. *ACIAR Monograph.* P. 10-18.
- [11] Gao Y, Guo W, Wang L, Zhang T. 2006. Isolation and characterization of resistance and defense gene analogs in cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Science in China Series C: Life Sciences.* 49.6: 530-542.
- [12] Hammond-Kosack KE, Jones JDG. 1997. Plant disease resistance gene. *Annual review plant Molecular Biology.* 48;575-607.
- [13] Lanaud C, Risterucci AM, Pieretti I, N'goran JAK, and Fargeas D.2004. Characterisation and genetic mapping of resistance and defence gene analogs in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Molecular Breeding* 13:211-227.
- [14] Martin *et al.* 1994. A member of the tomato *Pto* gene family confer sensitivity to fenthion in rapid cell death. *Plant Cell* 6: 1543-1552.
- [15] Miller RN, *et al.* 2008. Analysis of non-TIR-NBS-LRR resistance gene analogs in *Musa acuminata* Colla: isolation, RFLPmarker development, and physical mapping. *BMC Plant Biology.* 30: 8-15.
- [16] Sukamto S. 2008. Pengendalian Penyakit. Di dalam: Wahyudi T, editor. *Panduan Lengkap Kakao.* Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 154-167.
- [17] Totad AS, Fkhrudin B, Kuruvashetti MS. 2005. Isolation and characterization of resistance gene analogue (RGAs) from sorghum (*Sorghum bicolor* L.Moenih). *Euphytica* vol. 143, no 1-2.p 179-188.
- [18] Wang B *et al.* 2004. Characterization of an NBS-LRR resistance gene homologue from soybean. *Journal of Plant Physiology* 161: 815–822
- [19] Weising K, Nybom H, Wolff K, and Meyer W. 1995. *DNA Fingerprinting in Plant and Fungi.* CRC Press, Boca Raton, Fla.
- [20] Xinwu P *et al.* 2007. Isolation, characterization and phylogenetic analysis of the resistance gene analogues (RGAs) in banana (*Musa spp.*). *Plant Sci.* 172: 1166-1174

KONSTRUKSI PRIMER UNTUK DETEKSI SNP RS7895340 PADA GEN TCF7L2 PENYEBAB DIABETES MELITUS TIPE-2 DENGAN METODE ARMS – PCR

CONSTRUCTION PRIMER FOR RS7895340 SNP DETECTION IN TCF7L2 GENE CAUSES OF TYPE-2 DIABETES MELLITUS WITH ARMS-PCR METHODE

Syamsurizal¹, Yanwirasti², Asman Manaf², Husnil Kadri² dan Jamsari²

Universitas Negeri Padang, Padang¹
email: syam_unp@yahoo.co.id
Universitas Andalas, Padang²

ABSTRACT

TCF7L2 gene is one of the genes that cause type-2 diabetes mellitus (T2DM). The purpose of the research are: 1. The primary construct for the gene variant rs7895340 TCF7L; 2. Knowing polymorphism ability to detect primary gene TCF7L2 rs7895340 variant. The research method used was a cross-sectional study, the main steps: DNA isolation, primer design for gene TCF7L2 use primary software designer, amplification of the gene TCF7L2 rs7895340 variant with ARMS-PCR method, and the method then direct DNA sequencing bioinformatics analysis. Based on the analysis of data it can be concluded that it has successfully constructed three primary i.e. RS78F forward primer, reverse primer and primer forward RS78R RS78C. The third primary is constructed able to recognize the SNP rs7895340 TCF7L2 gene by ARMS-PCR method.

Keywords: snp rs7895340, gen TCF7L2 and ARMS-PCR

ABSTRAK

Gen TCF7L2 merupakan salah satu gen penyebab Diabetes Melitus Tipe-2 (DMT2). Tujuan riset adalah: 1. Mengkonstruksi primer untuk varian rs7895340 pada gen TCF7L; 2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs7895340. Metode penelitian yang dipakai adalah cross sectional study, dengan langkah utama: isolasi DNA, disain primer untuk gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer, amplifikasi varian rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR, dan metode direct DNA sequencing kemudian analisis bioinformatika. Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

Kata kunci: snp rs7895340 , gen TCF7L2 dan ARMS-PCR

PENDAHULUAN

Penderita diabetes melitus di dunia setiap tahun mengalami peningkatan, termasuk di Indonesia maupun Sumatera Barat. Prevalensi diabetes melitus di dunia tahun 2000 sebesar 2,8% (171 juta orang) dan proyeksi pada tahun 2030 sebanyak 4,4% (366 juta orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia tahun 2000 sebesar 4,1% (8,4 juta dari 205.132.000 orang penduduk Indonesia). Proyeksi pada tahun 2030 jumlah kasus diabetes melitus di Indonesia akan meningkat mencapai 7,8% (21,3 juta dari 273.219.200 orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia menempati posisi keempat terbanyak setelah India, Cina dan Amerika (1,2,3).

Secara klinis diabetes melitus dibedakan menjadi empat tipe, yaitu tipe I, II, Gestasional dan tipe lain. Diabetes melitus tipe-2 merupakan jenis yang paling sering ditemukan 95% (4). Diabetes melitus tipe-2 terjadi karena hormon insulin yang ada dalam darah tidak bekerja secara efektif, meskipun jumlah insulin yang diproduksi sel beta pulau Langerhans pankreas normal. Glukosa yang masuk ke dalam sel berkurang sehingga sel kekurangan sumber energi sehingga glukosa darah meningkat.

Diabetes melitus tipe-2 dipengaruhi beberapa faktor sebagai berikut: riwayat diabetes dalam keluarga, obese, gaya hidup yang berisiko, kurang istirahat, dan stres (5,6). Diabetes melitus tipe-2 akan muncul pada seseorang penyandang cacat genetik setelah melalui perubahan genetik dalam waktu yang panjang. Percepatan maupun perlambatan proses perubahan genetik tersebut sangat tergantung pada faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Andaikata faktor genetik tidak berkembang ke arah perburukan karena faktor lingkungan, maka secara teoritis diabetes melitus tipe-2 tidak akan muncul ke permukaan. Abnormalitas atau kelainan genetik pada tahap awal tanpa gejala apa-apa sehingga secara klinis sulit untuk dikenali (7). Penanda genetik yang berkembang ke arah perburukan namun belum menyebabkan toleransi gula terganggu (TGT) dapat diketahui melalui analisis DNA. Untuk melakukan analisis DNA diperlukan data genetik berupa gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2. Beberapa suku bangsa di dunia sudah memiliki gen bank untuk diabetes melitus tipe-2 seperti Kaukasus, Denmark, USA, Inggris, Prancis dan India (8)

Melalui analisis gen, penyandang cacat genetik calon penderita diabetes melitus tipe-2 dapat didiagnosis lebih cepat dan tepat. Banyak orang yang tidak menyadari bahwa mereka sedang menderita diabetes melitus. Pasien yang didiagnosa diabetes melitus tipe-2 sebenarnya telah dijangkiti penyakit ini sejak 8-12 tahun yang lalu. Diagnosis pada penderita diabetes melitus tipe-2 sering terlambat, sehingga sebagian besar dari mereka telah mengalami komplikasi yang serius. Diantara gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2 adalah gen "transcription factor 7 like 2 (TCF7L2)" pada kromosom 10q. Gen TCF7L2 berasosiasi kuat dengan diabetes melitus tipe-2 pada etnik Denmark, Kaukasia, India, dan etnik pada bangsa-bangsa di Asia (8). Varian gen TCF7L2 dapat dijadikan calon penanda genetik pada etnik Minangkabau penderita diabetes melitus tipe-2.

Salah satu kejutan baru yang ditemukan dalam *Human Genome Project* adalah *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). SNPs merupakan alel minor dengan keberadaannya lebih dari 1%. Apabila SNPs terjadi pada *gene coding regions* bisa mengakibatkan *synonymous* (tidak menyebabkan perubahan asam amino) atau *nonsynonymous*. Akan tetapi pada penelitian beberapa tahun terakhir SNP *synonymous* mendorong terjadinya evolusi yang mendorong terjadinya suatu penyakit (9). SNP *synonymous* dapat mengubah struktur, fungsi, ekspresi protein. Polimorfisme *synonymous* dapat menyebabkan splicing RNA, stabilitas dan struktur protein dapat rusak. Perubahan ini dapat menyebabkan efek signifikan pada fungsi protein, perubahan respon seluler. *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) merupakan variasi sekuen DNA yang dapat dihubungkan dengan kerentanan seseorang terhadap suatu penyakit seperti diabetes mellitus tipe-2. Sebagian besar SNPs merupakan non coding region yang merupakan dasar variasi genetik pada manusia dan mengacu pada perbedaan basa tunggal antar individu (10).

Penanda atau haplotype yang tepat akan dapat memberikan indikasi meningkatnya kerentanan individu terhadap diabetes melitus tipe-2. Perwujudan peningkatan kerentanan dicirikan oleh risiko relatif minimal 1,2-1,4. Varian gen TCF7L2 yang diduga paling kuat

berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2 adalah varian rs7895340. Sekuen rs 7895340 adalah:

ACAGTTCTAGACACCTAGAGAGTAAA[A/G]TGAAGAAGCCTGTTTTTCAGGTTTCC

(11). Kehadiran G alel dalam rs7895340 adalah indikasi meningkatnya kerentanan terhadap diabetes melitus tipe-2 (12,13).

Tujuan riset adalah untuk pengembangan sistem deteksi dini DM tipe-2 secara molekuler yang cepat, akurat sehingga dapat membantu pencegahan ataupun pengobatan DM tipe-2 pada etnik Minangkabau. Target khusus riset adalah: mengkonstruksi primer untuk snp rs7895340 pada gen TCF7L2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs7895340.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini mendeskripsikan hasil konstruksi primer dan konfirmasi kemampuan primer mengamplifikasi daerah snp rs7895340 pada gen TCF7L2. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biomedik FK Unand.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin thermocycler (*Polymerase Chain Reaction*), elektroforesis, gel doc, gel red, DNA ladder 100bp, kit isolasi DNA dan Mix PCR RTG dari invitrogen.

Dalam penelitian ini DNA yang digunakan berasal dari darah vena manusia. Isolat-isolat ini diperlukan untuk menguji apakah primer yang dikonstruksi dapat bekerja mengamplifikasi fragmen DNA yang diinginkan. Data dianalisis secara kualitatif, data yang dianalisis adalah hasil konstruksi primer dan kemampuan primer mengamplifikasi daerah snp rs7895340 pada gen TCF7L2.

Konstruksi Primer

Primer yang akan digunakan untuk mendeteksi SNP rs7895340 dari gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR dikonstruksi menggunakan piranti lunak komputer "primer designer". Akan dihasilkan tiga buah hasil konstruksi primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Primer RS78F, primer reverse RS78R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah ± 431 bp (selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS78C dan RS78R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran ± 209 bp, daerah yang meliputi SNP rs7895340 (disebut primer internal). Sekuen gen TCF7L2 yang akan digunakan untuk konstruksi primer ini diperoleh dari *gen bank* NCBI.

Konfirmasi dilakukan menggunakan *software* untuk melihat adanya kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah-daerah lain pada gen TCF7L2 selain daerah yang akan diamplifikasi. Jika tidak ditemukan kemungkinan adanya *mispriming* maka selanjutnya hasil konstruksi primer siap untuk disintesis menjadi oligonukleotida primer. Kemampuan primer mengamplifikasi daerah yang diinginkan dilakukan dengan urutan kegiatan sebagai berikut: Isolasi DNA menggunakan kit dari Invitrogen. Selanjutnya hasil isolasi DNA di elektroforesis.

Amplifikasi dengan metode ARMS-PCR. DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi dengan menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG. Untuk mengetahui hasil amplifikasi, dilakukan elektroforesis pada gel agarose 1,5%. Langkah-langkah yang akan dilakukan selama penelitian:

1. Isolasi DNA dari sampel
2. Disain primer untuk snp rs7895340 gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer.

3. Amplifikasi snp rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode touch-PCR
4. Analisis ARMS-PCR dan sequencing untuk analisis situs polimorfik.
5. Analisis bioinformatika.

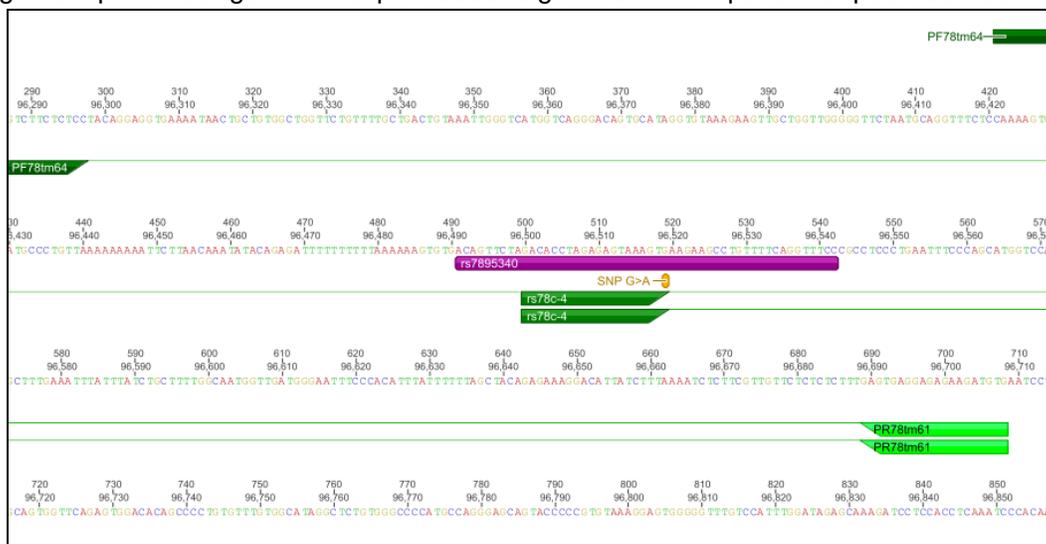
HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu hal yang sangat penting dalam reaksi PCR ialah konstruksi atau pemilihan primer DNA yang tepat. Primer bertanggung jawab untuk mengenali dan menandai segmen DNA *template* yang akan diamplifikasi. Pada penelitian ini dihasilkan tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Primer RS78F, primer reverse RS78R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah ± 431 bp(selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS78C dan RS78R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran ± 209 bp, untuk lebih jelas lihat tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil rekonstruksi primer RS78C untuk snp rs7895340 gen TCF7L2

Sequence: 5'-GAGACCTAGAGAGTGAAGTG-3'				
Kriteria	Pengaturankriteria		Hasil	Ket
%GC	Min 50,	Max 60	50	YES
TmC	Min 55,	Max 80	58	YES
NoHairpins	Energy cutoff 0.0kcal		-	YES
No3'Dimer	Reject ≥ 3 matches pada ujung 3'		1	YES
s	Reject ≥ 7 batasan homolbasa		4	YES

Spesifisitas konstruksi primer yang dibuat selanjutnya dikonfirmasi dengan *software*. Hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah lain pada gen TCF7L2 selain snp rs7895340 gen TCF7L2 yang akan diamplifikasi. Hasil alignment primer dengan DNA snp rs7895340 gen TCF7L2 dapat dilihat pada Gambar 1.



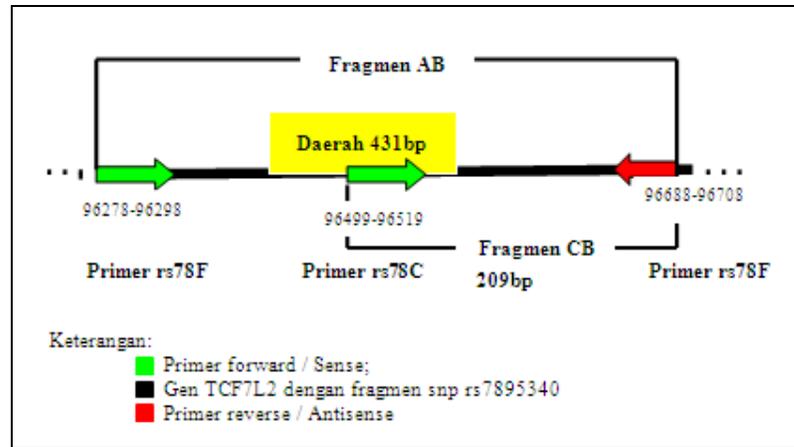
Gambar 1. Hasil *alignment* primer dengan fragmen snp rs7895340 Gen TCF7L2

Tabel 2. Hasil konstruksi primer RS78F dan RS78R untuk snp rs7895340 gen TCF7L2

		Sequence: 5'-CCTTGTGATGCTTCTCTCC-3'			
		Kriteria	Pengaturankriteria	Hasil	Ket
Primer RS78F	%GC	Min 50,	Max 60	50	YES
	TmC	Min 55,	Max 80	64	YES
	NoHairpins	Energycutoff0.0kcal		-	YES
	No3'Dimers	Reject>=3matchespadaujung3'		1	YES
	NoDimers	Reject>=7batasanhomolbasa Reject>=3basaruns		2	YES
	NoRuns	Reject>=3G atauCpadaujung3'		2	
	No3'GCruns			2	
		Sequence:5'-ACATCTTCTCTCCTCACTC-3'			
		Kriteria	Pengaturankriteria	Hasil	Ket
Primer RS78R	%GC	Min 50,	Max 60	50	YES
	TmC	Min 55,	Max 80	61	YES
	NoHairpins	Energycutoff0.0kcal		-	YES
	No3'Dimers	Reject>=3matchespadaujung3'		0	YES
	NoDimers	Reject>=7batasanhomolbasa Reject>=3basaruns		2	YES
	NoRuns	Reject>=3G atauCpadaujung3'		2	
	No3'GCruns			1	

Dari gambar 1 bisa dilihat bahwa posisi penempelan primer RS78C berada sequence 103894 dari DNA TCF7L2. Penempelan primer pada posisi tersebut sesuai dengan yang diprediksi sebelumnya bahwa primer internal RS78C akan mengenali daerah yang mengalami SNP. Secara teoritis *annealing* primer RS78C akan dimulai dari posisi 96520 serta tidak ditemukan adanya kemungkinan *mispriming*. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk secara relatif dapat dilihat pada gambar2.

Untuk mengetahui kemampuan primer yang dikonstruksi dalam mendeteksi SNP rs7895340 gen TCF7L2, maka dilakukan pengujian dengan PCR. Prinsip PCR adalah melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara invitro. Agar dapat mengenali sekuen yang akan dilipatgandakan dibutuhkan suatu primer yang khusus dan spesifik. Daerah yang dikenal primer inilah yang nantinya akan dilipatgandakan hingga ribuan bahkan jutaan kopi, sekitar $10^6 - 10^7$ kali (14) sehingga setelah dielektroforesis akan terlihat pita DNA yang diamplifikasi tersebut.



Gambar 2. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk

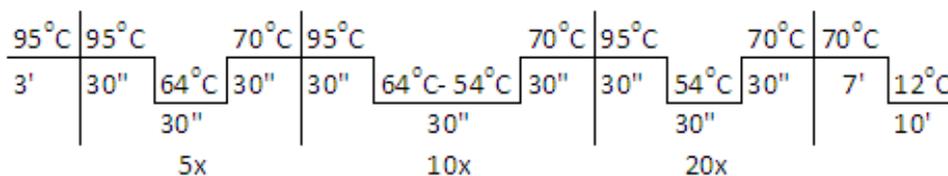
Tahap awal konfirmasi primer dilakukan secara terpisah sesuai dengan kondisi masing-masing pasangan primer. Faktor yang harus diperhatikan dalam mendapatkan hasil yang optimum dalam PCR adalah jumlah/konsentrasi mix yang digunakan. Masing-masing komponen tersebut memiliki peranan yang sangat penting dalam suatu reaksi PCR. Komposisi enzim, *template*, dNTP, MgCl₂, buffer dan primer yang tepat sangat menentukan berhasil suatu reaksi PCR. Komposisi mix yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Mix untuk Reaksi ARMS-PCR untuk SNP rs7895340 gen TCF7L2

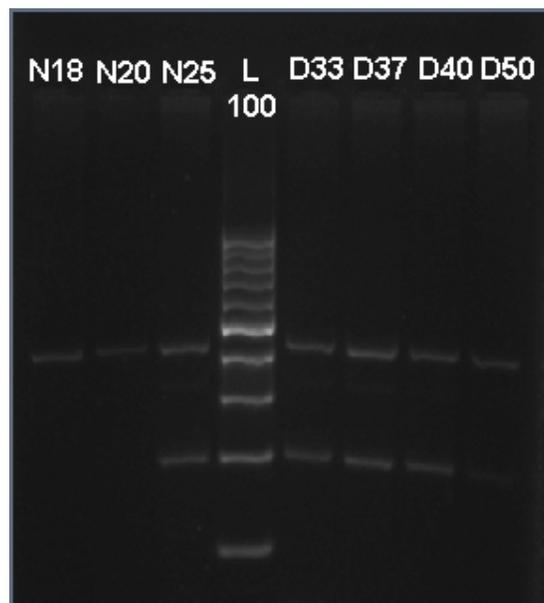
	Stok	Akhir	Volume
Go Tag Green MM	2 μM	1 μM	5 μL
Primer rs-78 C	10 μM	0,6 μM	0,8 μL
Primer rs-78 F	10 μM	0,1 μM	0,04 μL
Primer rs-78 R	10 μM	0,4 μM	0,2 μL
MgCl ₂	50 μM	3 μM	0,8 μL
ddH ₂ O			2,16 μL
DNA template		1	1 μL

Produk = 10 μL

Program PCR yang dipakai adalah touchdown PCR



DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG/ Go Tag Green. Hasil amplifikasi PCR dianalisis menggunakan teknik elektroforesis pada agarose. Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang Bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran molekul tersebut. Agarose dan poliakrilamid merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Pada penelitian ini digunakan agarose 1,5 %. Menurut Sambrook and Russel (1990;6.2) agarose 1,5 % sangat cocok untuk memisahkan fragmen DNA berukuran 200–300 basa. Lokasi dari DNA yang terdapat pada gel bisa diamati dengan staining menggunakan gel red, sehingga nantinya bisa dilihat sewaktu gel diletakkan diatas GelDoc. Visualisasi hasil elektroforesis produk PCR menggunakan pasangan primer dapat dilihat Gambar 3.



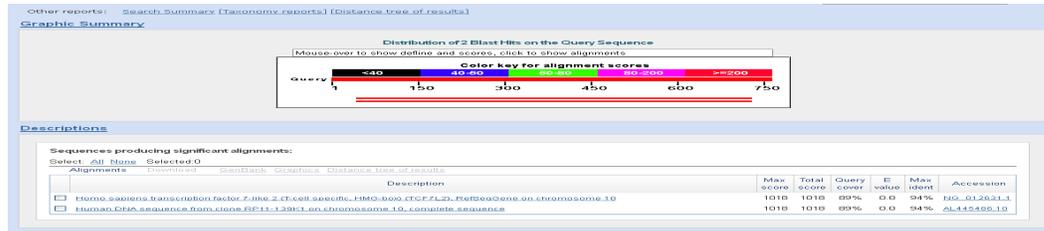
Gambar 3. Elektroforegram SNP rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR. Sampel N18 dan N20 mengalami polimorfisme sedangkan N25, D33, D37, D40 dan D50 tidak mengalami polimorfisme. L adalah DNA lader

Dari data tersebut bisa diketahui bahwa reaksi ARMS-PCR yang dilakukan bisa digunakan untuk mendeteksi SNP pada gen TCF7L2 khususnya SNP rs7895340. Tetapi metode ini memiliki keterbatasan diantaranya: reaksi ini tidak mungkin bisa mendeteksi 100 % SNP pada gen TCF7L2. Walaupun demikian spesifitas dan sensitifitasnya yang tinggi dalam mendeteksi SNP dapat dijadikan sebagai salah satu faktor mengapa metode ini bisa digunakan. Selain itu jika dibandingkan

dengan metode deteksi SNP lainnya, reaksi ARMS-PCR memiliki beberapa keuntungan diantaranya lebih murah dan mudah diaplikasikan.

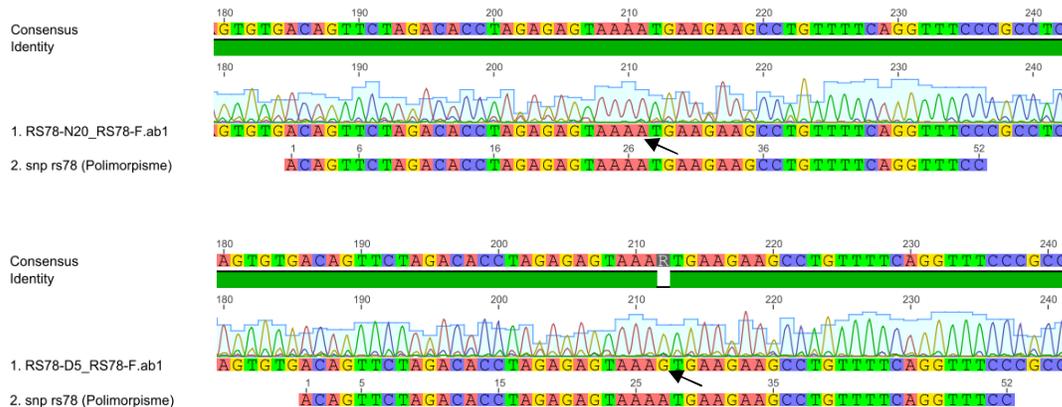
Proses/waktu pelaksanaannya lebih singkat, mulai dari persiapan reagen, peralatan termasuk penambahan DNA genom (*template*), ARMS-PCR amplifikasi dan elektroforesis pada agarose bisa diselesaikan dalam satu hari. Pengaplikasiannya yang cepat dan metode yang mudah untuk mendeteksi SNP rs7895340 merupakan nilai yang sangat penting untuk pencegahan DMT2.

Dua sampel disekuensing untuk memastikan akurasi metode ARMS-PCR. Hasil sekuensing di BLAST pada NCBI. Hasil BLAST menunjukkan bahwa sekuen hasil sekuensing memiliki nilai query 200. Hasil ini menunjukkan bahwa hasil pcr dengan primer forward rs78 dan primer reverse rs78 adalah benar merupakan fragmen dari gen TCF7L2. Hasil BLAST dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil BLAST fragmen dari SNP rs7895340gen TCF7L2

Hasil sekuensing kemudian di-alignment dengan profil nukletida SNP rs7895340. Hasil alignment membuktikan bahwa produk pcr dengan primer forward rs78 dan primer reverse rs78 adalah benar memiliki fragmen dari SNP rs7895340gen TCF7L2 sehingga bisa digunakan untuk mendeteksi snp pada populasi Diabetes mellitus tipe-2. Selain itu hasil sekuensing memiliki kesesuaian dengan metode ARMS-PCR. Hasil sekuensing dapat dilihat pada gambar berikut: (Gambar 5)



Gambar 5. Hasil sekuensing sampel yang mengalami polimorfisme pada rs7895340 dimana terjadi perubahan basa A menjadi G (gambar bawah)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs7895340gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

DAFTAR PUSTAKA

- [1] PERKENI, 2011. Konesensus Pengelolaan dan pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. Jakarta: PB PERKENI.
- [2] Perdomo RP, 2005. Epidemiology of Diabetes; Prevalence, Complications and Health Services Disparities. Para Puerto Rico: Centro de Diabetes
- [3] Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H, 2004. Global Prevalence of Diabetes, Estimate for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care* 27: 1047-1053.
- [4] Tjokprawiro A, 2002. Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu. Balai penerbit Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- [5] American Diabetes Association/ADA, 2010. Standards of Medical Care in Diabetes 2010. *Diab Care*: 33
- [6] Joshi, Shashank R, 2006. Family History and Pedigree Charting- A Simple Genetic Tool For Indian Diabetics. (<http://id.www.hindujahospital.com/IDCC2006>. diakses tanggal 10 september 2008)
- [7] Manaf A, 2011. Harmonizing The Metabolic Syndrome With Prediabetes. Makalah
- [8] Radha V and Mohan V, 2007. Genetic Predisposition To Type 2 Diabetes Among Asian Indians. *Mellitus. Indian J Med Res* 117: 259-274
- [9] Komar A (ed). 2009. Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols. Cleveland, USA: Humana Press
- [10] Kwok PY (ed). 2003. Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols. Totowa, NJ: © Humana Press Inc.
- [11] National Centre Biotechnology Information (NCBI), 2014
- [12] Florez JC, et al., 2006. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N. Engl. J. Med.* 355, 241–250
- [13] Grant S F, et al., 2006. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature Genet.* 38: 320–323
- [14] Fatchiyah dkk, 2008, Biologi Molekuler. Jakarta: Erlangga: 25.

HASIL UMBI DARI UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) GENOTIPE MENTEGA

TUBER YIELD OF MENTEGA GENOTYPE CASSAVA

Dewi Indriyani Roslim¹, Robni Yanti¹, Herman¹

¹ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau, Kampus Binawidya Km 12.5, Jl. HR Soebrantas, Panam, Pekanbaru 28293, Riau

^{*)}Penulis untuk korespondensi: Tel./Faks. +6276163273/+6276163273
email: zahra_iin@yahoo.com

ABSTRACT

Cassava is one of alternative crop plant to substitute rice as a major staple food. Cassava is more tolerant to drought, poor land, and biotic stress compare to rice. The objective of this research is to determine effect of manure compost, oil palm waste compost, and its combination to cassava growth and yield. Cassava genotype mentega came from Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar, Riau. A randomized complete block design with one factor and seven replicates was applied. Fertilization factor included: without fertilizer (control, P0), manure compost (P1), oil palm waste compost (P2), and combination of manure and oil palm waste composts (P3, 1:1(w/w)). Data was analyzed by using SAS v. 9.1.3 to calculate ANOVA. Parameters, such as stem diameter (cm), plant height (cm), tuber weight (g), tuber length (cm), and tuber diameter (cm), were evaluated. The results showed that fertilization treatment was not significantly different for all parameters observed. Cassava genotype mentega could produce tubers and growth well, with or without fertilization. Nevertheless, plant without fertilization produced highest tuber yield (mean 4.2±2.2 kg/plant), similarly with plant fertilized by oil palm waste compost (4.1±3 kg/plant). Plant fertilized by manure compost produced lowest tuber yield (mean 1.3±1.5 kg/plant).

Keywords: fertilization, Manihot esculenta, manure compost, oil palm waste, tuber yield.

ABSTRAK

Tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) relatif tahan terhadap kondisi tanah yang miskin hara, asam, dan kering dibandingkan tanaman padi. Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh pupuk kompos kotoran sapi dan limbah sawit, serta kombinasinya terhadap pertumbuhan dan hasil umbi dari ubi kayu mentega. Genotipe ubi kayu mentega diperoleh dari Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar, Propinsi Riau. Perlakuan berupa pemupukan, yaitu tanpa pupuk (P0), pupuk kompos kotoran sapi (P1), pupuk kompos limbah sawit (P2), dan campuran pupuk kompos kotoran sapi dan limbah sawit (P1+P2 = 1:1 (w/w)). Setiap perlakuan diulang tujuh kali, sehingga total satuan percobaan berjumlah 28 satuan percobaan (tanaman). Penempatan satuan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Parameter yang diamati meliputi diameter batang (cm), tinggi tanaman (cm), bobot (g), panjang (cm) dan diameter (cm) umbi. Data dianalisis menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pupuk tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap karakter yang diamati. Ubi kayu genotipe mentega dapat menampilkan hasil yang baik dengan atau tanpa pemupukan. Namun demikian, bobot umbi per tanaman paling besar diperoleh pada tanaman yang tidak diberi perlakuan pupuk (rata-rata 4.2±2.2 kg/tanaman), diikuti perlakuan pupuk kompos limbah sawit (4.1±3 kg/plant). Perlakuan pupuk kompos kotoran sapi menghasilkan bobot umbi paling sedikit (rata-rata 1.3±1.5 kg/tanaman).

Kata kunci: hasil umbi, limbah sawit, *Manihot esculenta*, pertumbuhan, pupuk kandang,

PENDAHULUAN

Kebutuhan pangan berupa beras di Indonesia terus meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk. Namun produksi beras di Indonesia terus menurun akibat perubahan iklim dan tekanan lingkungan yang ekstrim serta konversi lahan pertanian padi untuk keperluan perumahan dan industri. Untuk mengatasi krisis beras serta menjamin ketahanan pangan yang berkelanjutan, perlu digalakkan diversifikasi pangan. Diversifikasi pangan adalah program penganekaragaman jenis pangan serta peningkatan kualitas dan kuantitas pangan. Beberapa pangan alternatif diantaranya jagung, sagu, kentang, ubi jalar, dan ubi kayu.

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz), atau singkong, merupakan tanaman perdu berkayu yang dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Nigeria dan Brasil merupakan negara utama penghasil ubi kayu, diikuti Thailand dan Indonesia. Banyak manfaat yang dapat diperoleh dari ubi kayu, yaitu sebagai sumber pokok karbohidrat bagi manusia, pakan ternak, dan sumber energi alternatif terbarukan [1].

Tanaman ubi kayu lebih tahan kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti tanah miskin hara, pH asam, dan kekeringan [2] [3]. Penanaman atau perbanyak ubi kayu umumnya dilakukan dengan cara stek dan dapat dilakukan kapan saja sepanjang tahun. Panen umbi juga dapat dilakukan kapan saja. Jika petani sedang tidak membutuhkan, panen dapat ditunda dan umbi tidak mengalami kerusakan. Sebaliknya, jika sudah dipanen, umbi harus segera diolah, terutama jika diperuntukan untuk makanan manusia [3].

Sebelum tahun 2009, Pulau Jawa yang merupakan sentra produksi ubi kayu nasional memberikan kontribusi dominan terhadap produksi ubi kayu nasional, yaitu sebesar 57.2% dibandingkan Pulau Sumatera yang hanya sebesar 25.5%. Akan tetapi pada tahun 2009 terjadi pergeseran sentra produksi ubi kayu dari Jawa ke Sumatera, karena produksi ubi kayu dari Sumatera naik menjadi 42.33% sebaliknya dari Jawa turun menjadi 44.56% [4].

Produksi ubi kayu saat ini belum mencukupi untuk memenuhi kebutuhan industri. Oleh karena itu produksi dan kualitas dari tanaman ubi kayu perlu terus ditingkatkan untuk memenuhi kebutuhan konsumen. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi dan kualitas ubi kayu adalah dengan menggunakan pupuk organik. Dua macam pupuk organik, yaitu kompos limbah pelepah sawit dan kompos kotoran sapi. Pupuk organik merupakan pilihan yang terbaik saat ini, karena dapat memperbaiki struktur tanah. Berbeda dengan pupuk kimia yang dapat merusak lingkungan jika diaplikasikan terus-menerus dalam waktu yang lama.

Provinsi Riau memiliki beberapa varietas/genotipe ubi kayu yang berpotensi untuk dikembangkan dan tersebar di empat kabupaten, yaitu kabupaten Kampar, Rokan Hulu, Kuantan Singingi, dan Bengkalis. Ubi kayu tersebut telah beradaptasi dengan baik pada kondisi lingkungan yang umum dijumpai di Provinsi Riau, yaitu miskin hara, pH asam, dan kekeringan [5]. Salah satu ubi kayu dari Provinsi Riau adalah ubi kayu genotipe mentega. Ubi kayu genotipe mentega berasal dari Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar, Riau. Genotipe ini memiliki umur genjah, yaitu dapat dipanen pada umur 6 bulan [6].

Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh pupuk kandang (kotoran sapi) dan limbah sawit, serta kombinasinya terhadap pertumbuhan dan hasil umbi dari ubi kayu mentega.

METODE PENELITIAN

Bahan tanaman yang digunakan adalah ubi kayu genotipe mentega yang berasal dari Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. Perlakuan berupa pemupukan, yaitu tanpa pupuk (kontrol, P0), pupuk kompos kotoran sapi (P1), pupuk kompos limbah pelepah sawit (P2), dan campuran pupuk kompos kotoran sapi dan limbah pelepah sawit (P1+P2 = 1:1 (w/w)). Total pupuk yang diberikan pada setiap tanaman sebesar 2.5 kg. Setiap perlakuan diulang tujuh kali, sehingga total satuan percobaan berjumlah 28 satuan percobaan (tanaman). Penempatan satuan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Jarak antar tanaman 1 m x 1 m. Parameter yang diamati meliputi diameter batang (cm), tinggi tanaman (cm), bobot (g), panjang (cm) dan diameter (cm) umbi. Data dianalisis menggunakan ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata pada diameter batang, tinggi tanaman, panjang umbi, bobot umbi, dan diameter umbi (pangkal, tengah, dan ujung) di antara tanaman yang diberi pupuk kompos kotoran sapi, limbah sawit, kombinasi pupuk kotoran sapi dan limbah sawit, maupun tanpa pupuk (Tabel 1). Namun demikian, rata-rata hasil umbi per tanaman pada kontrol lebih tinggi, diikuti perlakuan pupuk kompos limbah pelepah sawit. Hasil umbi paling sedikit pada perlakuan pupuk kompos kotoran sapi. Hasil ini menunjukkan bahwa ubi kayu genotipe mentega lebih cocok diberikan pupuk kompos limbah pelepah sawit dibandingkan pupuk kompos kotoran sapi. Kenyataan di lapangan menunjukkan bahwa penggunaan pupuk kompos kotoran sapi tunggal membuat lingkungan perakaran lebih lembab dibandingkan yang diberikan pupuk limbah pelepah sawit, sehingga banyak umbi yang mengalami kebusukan pada perlakuan pupuk kompos kotoran sapi tunggal. Oleh karena itu, jika ingin menggunakan pupuk kompos kotoran sapi, maka dosisnya per tanaman harus dikurangi.

Tabel 1. Rata-rata diameter batang, tinggi tanaman, bobot umbi, panjang umbi, dan diameter umbi pada ubi kayu genotipe mentega yang diberi perlakuan pupuk kompos kotoran sapi dan limbah pelepah sawit.

Perlakuan	Diameter Batang (cm)	Tinggi Tanaman (cm)	Bobot Umbi (g)	Panjang Umbi (cm)	Diameter Umbi (cm)		
					pangkal	tengah	Ujung
P0	2.8±0.9	285.3±71.5	4233.3±2172.2	29.4±7.7	4.4±1.1	4.1±0.9	2.7±0.5
P1	2.9±0.3	262.4±34.6	1754.0±1541.9	24.5±5.5	4.3±0.4	4.0±0.3	2.4±0.1
P2	3.0±0.5	263.6±41.9	4121.4±3000.3	26.9±5.1	4.3±0.8	4.4±0.8	2.9±0.4
P3	2.8±0.4	247.9±44.6	2421.4±1977.3	24.7±5.5	4.2±0.9	4.4±0.7	2.9±0.4

Pertumbuhan tanaman yang diukur dari diameter batang dan tinggi tanaman tidak berbeda nyata antar perlakuan, demikian pula dengan diameter umbi. Rata-rata umbi terpanjang dijumpai pada tanaman yang tidak diberi perlakuan, diikuti oleh perlakuan dengan pupuk kompos limbah pelepah sawit.

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Perlakuan pupuk tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap karakter yang diamati. Ubi kayu genotipe mentaga dapat menampilkan hasil yang baik dengan atau tanpa pemupukan. Namun demikian, bobot umbi per tanaman paling besar diperoleh pada tanaman yang tidak diberi perlakuan pupuk (rata-rata 4.2 ± 2.2 kg/tanaman), diikuti perlakuan pupuk kompos limbah sawit (4.1 ± 3 kg/plant). Perlakuan pupuk kompos kotoran sapi menghasilkan bobot umbi paling sedikit (rata-rata 1.3 ± 1.5 kg/tanaman).

Pupuk kompos limbah pelepah sawit lebih cocok untuk pertumbuhan dan produksi umbi dibandingkan pupuk kompos kotoran sapi. Evaluasi lebih lanjut perlu dilakukan untuk menentukan dosis pupuk kompos pelepah kelapa sawit yang optimum untuk pertumbuhan dan hasil umbi pada ubi kayu secara umum.

PUSTAKA

- [1] Jennings DL, Iglesias C. 2002. Breeding for Crop Improvement. In: RJ Hillocks, JM Thresh, AC Bellotti. (eds). Cassava: Biology, Production, and Utilization CAB International Publishing. p. 149-166.
- [2] Scott GL, Best R, Rosegrant M, Bokanga M. 2002. Roots and tubers in the global food system: A vision. Statement to the Year 2020. Lima, Peru: A Co-Publication of the International Potato Center, Centro Internacional de Agricultura Tropical, International Food Policy Research Institute, International. Institute of Tropical Agriculture and International Plant Genetic Resources Institute.
- [3] Nassar N, Ortiz R. 2010. Breeding cassava. Scientific American May:78-84.
- [4] Saleh N, Rahayuningsih SA, Adie MM. 2011. Peningkatan produksi dan kualitas umbi-umbian. Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi).
- [5] Agus F, Subiksa IGM. 2008. Lahan Gambut: Potensi untuk Pertanian dan Aspek Lingkungan. Bogor: Balai Penelitian Tanah dan World Agroforestry Centre (ICRAF).
- [6] Roslim DI, Herman, Sofiyanti N. 2014. Plasma Nutfah Ubi Kayu di Provinsi Riau. Pekanbaru: UR Press.

PRODUKSI BIOGAS DARI SEDIMEN DANAU SITU LEBAKWANGI DALAM SKALA LABORATORIUM

BIOGAS PRODUCTION FROM LAKE SEDIMENT LEBAKWANGI IN LABORATORY SCALE

Arif Raditya Nugraha*, Megga Ratnasari Pikoli dan Irawan Sugoro

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

*Email: arif.raditya@gmail.com, Telp: 085697624284

ABSTRACT

Situ Lebakwangi is a lake in Parung, Bogor, West Java, which is decreased in quality due to sedimentation. Sedimentation maintains growth of methane-producing microorganisms, so the methane produced could potentially be used as biogas. In this study production of the biogas from the lake sediments was assessed in laboratory scale. Biogas production was conducted in a 1000 ml fermenter, inoculated with 50% sediment and 50% lake water, which was incubated at room temperature. Parameters measured were total gas production, methane content, carbon dioxide gas analyzer, pH and observation of microorganisms. Observation on day 7 showed that the fermenter produced biogas by 8 ml of the fermenter volume, which was consisted of 4.1% methane and 7.5% carbon dioxide. The result confirmed that Situ Lebakwangi can be developed further as source of inocula for biogas production.

Keywords: Biogas, methane, sediment, Situ Lebakwangi.

ABSTRAK

Situ Lebakwangi adalah salah satu danau di Parung, Bogor, Jawa Barat yang mengalami penurunan kualitas akibat adanya sedimentasi. Sedimentasi menyuburkan pertumbuhan mikroorganisme penghasil gas metana, sehingga gas metana yang dihasilkan berpotensi dimanfaatkan sebagai biogas. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui produksi biogas dari sedimen danau tersebut dalam skala laboratorium. Produksi biogas dilakukan dengan menggunakan fermentor skala 1000 ml dengan 50% sedimen dan 50% air danau, yang diinkubasi pada suhu ruang. Parameter yang diamati adalah produksi gas total, kandungan metana, karbon dioksida dengan gas analyzer, pH dan pengamatan mikroorganisme. Hasil pengamatan pada hari ke-7 menunjukkan bahwa sedimen danau Situ Lebakwangi dapat menghasilkan biogas sebesar 8 ml dari volume fermentor, yang terdiri atas kandungan metana 4,1% dan karbondioksida 7,5%. Hasil ini mengkonfirmasi Situ Lebakwangi selanjutnya dapat dikembangkan sebagai sumber inokulum penghasil biogas.

Kata kunci : Biogas, metana, sedimen, Situ Lebakwangi.

PENDAHULUAN

Situ Lebakwangi adalah salah satu danau di Parung, Bogor, Jawa Barat. Luas areal tahun 2006 sekitar 28 Ha dan tahun 2014 menjadi 23 Ha akibat pembangunan pemukiman. Luas Situ Lebakwangi sekitar 7 Ha. Situ Lebakwangi berfungsi sebagai sumber air dan dimanfaatkan untuk irigasi (kondisi baik) [1]. Situ Lebakwangi memiliki sedimentasi yang perlu diatasi dengan membuat bangunan penangkapan lumpur di *inlet* yang berpotensi memasukan sedimen ke dalam situ. Solusi untuk mengatasi masalah di Situ Lebakwangi

yaitu dengan memanfaatkan sedimentasi sebagai biogas. Salah satu sumber yang berpotensi sebagai penghasil biogas adalah danau terutama pada bagian sedimennya. Pengkayaan bahan organik dan nutrisi yang terkumpul pada dasar danau menyebabkan terjadi proses dekomposisi didalamnya. Proses dekomposisi yang dilakukan mikroorganisme anaerobik heterotrofik dapat merombak bahan organik tersebut menjadi metana dan karbon dioksida yang akan dimanfaatkan untuk biogas.

Biogas adalah gas campuran yang mudah terbakar. Komposisi biogas yang penting dan utama adalah gas metana (CH₄), karbon dioksida (CO₂) dan gas-gas yang lain (Tabel 1). Biogas dihasilkan dari dekomposisi senyawa organik oleh bakteri anaerobik (tanpa oksigen). Gas-gas yang terbentuk berasal dari bahan-bahan organik (limbah) oleh aktivitas mikroorganisme dekomposer dan komposisi gas tergantung substrat yang didegradasi [2]. Biogas dapat dihasilkan dari fermentasi feces (kotoran) ternak, limbah pertanian misalnya: sapi, kerbau, babi, kambing, ayam, daun, ranting, dan lain – lainnya yang di rendam dalam air dan disimpan dalam tempat tertutup atau kedap udara (anaerob), pada kondisi ini bakteri akan mencerna bahan organik yang menghasilkan gas metana.

Tabel 1. Komposisi biogas [2]

Komponen	%	Komponen	%
Metana (CH ₄)	55-70	Hidrogen (H ₂)	1-2
Karbon dioksida (CO ₂)	30-45	Nitrogen (N ₂)	Sedikit
Hidrogen sulfida (H ₂ S)	1-2	Oksigen (O ₂)	Sedikit
Amonia (NH ₃)	1-2	Karbon monoksida (CO)	Sedikit

Objek penelitian ini adalah Danau Situ Lebakwangi yang dijadikan sebagai tempat pemancingan, pertanian, perkebunan, tambak ikan, industri dan terdapat pula pemukiman. Adanya aktivitas tersebut, menghasilkan limbah khususnya limbah organik yang tertumpuk di sedimen danau sehingga mengakibatkan terjadinya sedimentasi. Adanya sedimentasi bahan organik akan berpotensi menghasilkan gas metana dan karbon dioksida oleh aktivitas mikroorganisme anaerobik. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa sedimen Danau Situ Lebakwangi berpotensi dalam memproduksi biogas. Penelitian yang dilakukan adalah pengujian sedimen dalam skala laboratorium.

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sedimen situ, air situ, alkohol 70%, aquadest, aluminium foil dan vaselin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei dengan teknik pengambilan secara komposit sampel (*Compousit samples*) dilakukan di tiga titik lokasi Situ Lebakwangi masing-masing untuk dibuat sampel komposit (dicampur) dan pemanfaatan dari aktivitas manusia maupun alami. Titik yang telah ditetapkan kemudian dilakukan *marking* menggunakan GPS untuk mengetahui titik koordinat.

2.2 Pencuplikan sampel

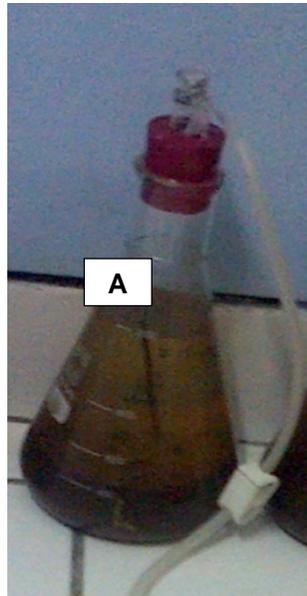
Pengambilan sampel di lokasi Danau Situ Lebakwangi yang memiliki sedimentasi tertinggi sebanyak 3 titik yaitu titik A (dekat tambak ikan), titik B (dekat perkebunan) dan titik C (industri) (Gambar 1). Pencuplikan sedimen dari dasar danau dengan menggunakan *Ekman Grab* atau sekop sedangkan sampel air menggunakan botol *winkler* di titik yang sama. Kemudian sedimen dan air danau dari ketiga titik tersebut dikompositkan (dicampur) dan disimpan di lemari pendingin.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel di Danau Situ Lebakwangi

2.3 Pengujian produksi gas skala laboratorium

Sampel sedimen sebanyak 500 g dan air danau sebanyak 500 ml yang telah dikompositkan kemudian dimasukkan ke dalam fermentor berupa Erlenmeyer 1000 ml. Fermentor ditutup dengan *probe* yang terhubung dengan selang plastik *syringe glass* (Gambar 2). Sampel dikondisikan dalam keadaan anaerobik dengan menyedot udara yang ada di dalam fermentor menggunakan *syringe glass*. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu ruang. Analisis yang dilakukan adalah pengukuran produksi gas total kandungan gas berupa gas metana dan karbon dioksida.



Keterangan:

A: Sampel Situ Lebakwangi yang dikompositkan dari titik A (dekat dengan keramba ikan, B (dekat dengan perkebunan) dan C (dekat dengan industri).

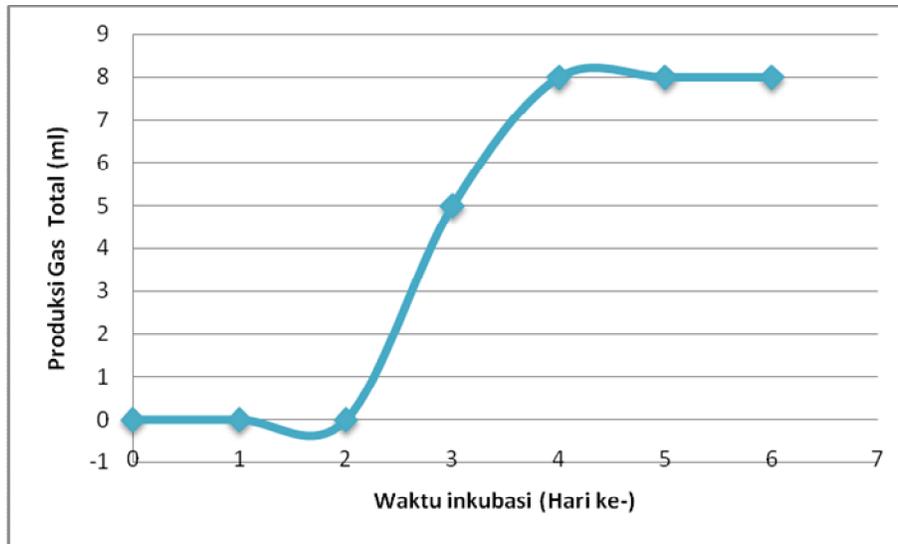
Gambar 2 Fermentor sederhana (*Sumber Foto: Pribadi*)

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Pengukuran Produksi Gas Total

Sampel Situ Lebakwangi yang telah dikompositkan dari titik A, B dan C dapat memproduksi gas total (Gambar 3). Volume gas yang dihasilkan dari sampel Situ Lebakwangi mengalami peningkatan selama 7 hari inkubasi. Menurut Indriawati [3] peningkatan ini karena substrat sedimen yang menyediakan sumber energi berupa bahan organik digunakan oleh mikroorganisme untuk tumbuh. Hasil produksi gas total hari ke-0 sampai hari ke-2 sebesar 0 ml. Hal ini diduga belum aktifnya mikroorganisme dalam mendegradasi bahan-bahan organik kompleks (karbohidrat, protein, lemak) menjadi organik sederhana seperti VFA, metana, karbon dioksida, H_2 , N_2 dan gas yang lainnya. Adanya kandungan gas dikarenakan adanya aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi senyawa organik sederhana seperti asam asetat, hidrogen dan karbon dioksida [2].

Produksi gas total meningkat mulai dari hari ke-3 sebesar 5 ml sampai hari ke-4 sebesar 8 ml. Hal ini dikarenakan proses biodegradasi bahan organik oleh mikroorganisme sehingga menghasilkan gas yang meningkat dan didukung oleh kondisi lingkungan yang optimal serta substrat untuk nutrisi. Produksi gas total mengalami fase stasioner dari hari ke-4 sampai hari ke-6 sebesar 8 ml selama inkubasi 7 hari. Hal ini diduga ketidakmampuan mikroorganisme khususnya bakteri metanogenik dalam mendegradasi senyawa organik. Jadi, aktivitas mikroorganisme khususnya bakteri salah satu faktor penting dalam proses terjadinya pembentukan biogas. Proses pembuatan biogas dari bahan organik dibutuhkan peranan bakteri yang mempengaruhi proses fermentasi [4].

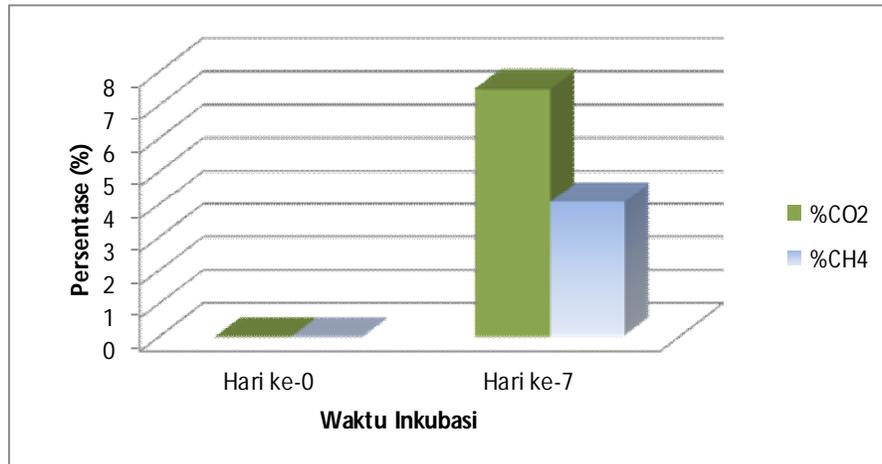


Gambar 3. Produksi gas total sedimen Situ Lebakwangi selama inkubasi 7 hari

3.2 Hasil Pengukuran Kandungan Gas CH₄ dan CO₂

Hasil kandungan gas metana (CH₄) dan karbon dioksida (CO₂) pada sampel sedimen Situ Lebakwangi mengalami peningkatan dari hari ke-0 sampai hari ke- 7 (Gambar 4). Peningkatan produksi biogas ini menunjukkan bahwa mikroorganismenya telah tumbuh dan berkembang dengan baik [5]. Kandungan gas metana dan karbon dioksida pada sampel Situ Lebakwangi selama 7 hari inkubasi diduga oleh adanya aktivitas mikroorganismenya seperti bakteri hidrolitik, asidogenik, asetogenik dan metanogenik dalam mendegradasi bahan-bahan organik kompleks menjadi makromolekul organik sederhana sehingga dapat terbentuk biogas. Bakteri yang terlibat dalam proses anaerobik ini yaitu bakteri hidrolitik yang memecah bahan organik menjadi gula dan asam amino, bakteri fermentatif akan mengubah gula dan asam amino menjadi asam organik, dan bakteri asidogenik mengubah asam organik menjadi hidrogen, karbondioksida dan asam asetat serta bakteri metanogenik yang menghasilkan metana dari asam asetat, hidrogen dan karbondioksida [6].

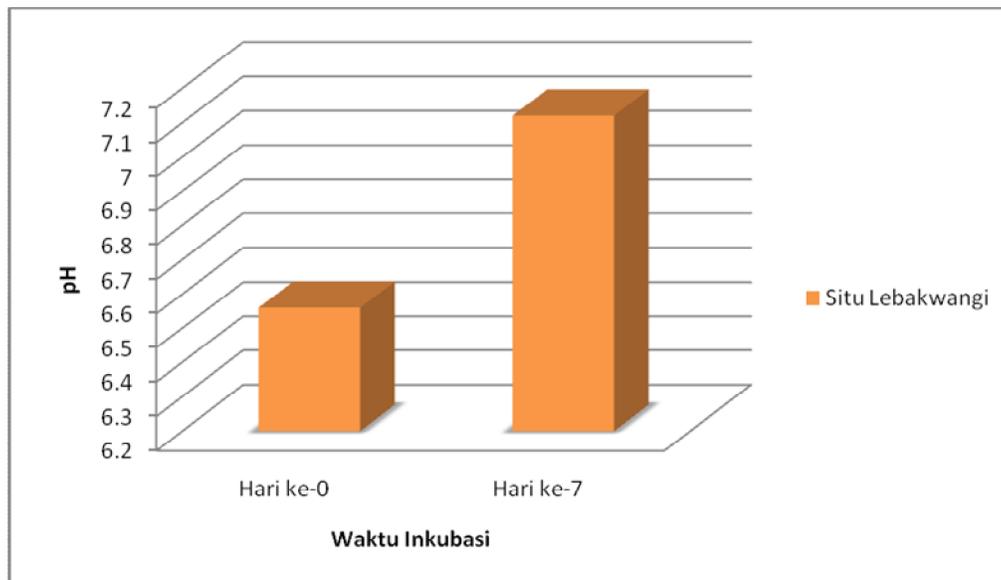
Sampel sedimen Situ Lebakwangi memproduksi gas CO₂ yang lebih besar dari CH₄ sebesar 7,5 %. Hal ini disebabkan pembentukan gas biogenik berupa CO₂ yang diproduksi dari tahapan proses pengasaman (*Acedogenesis*) dan pembentukan gas metana (*Methanogenesis*), sedangkan gas metana (CH₄) hanya diproduksi dari tahapan *methanogenesis* [7].



Gambar 4. Kandungan gas metana (CH₄) dan karbondioksida (CO₂) selama inkubasi 7 hari

3.3 Hasil Pengukuran pH

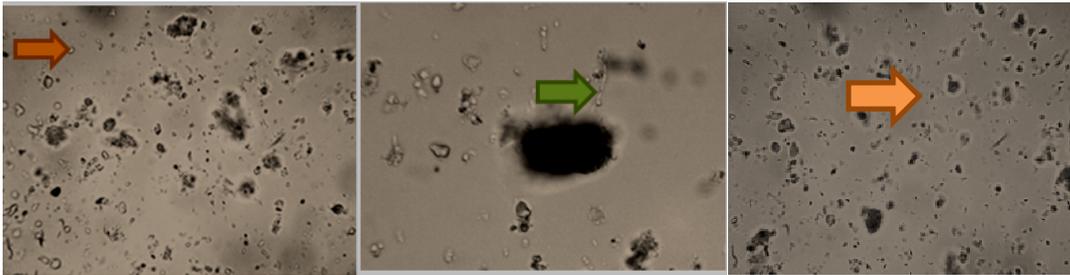
Hasil pengukuran pH hari ke-0 dan hari ke-7 pada sampel sedimen Situ Lebakwangi mengalami perubahan dari asam menjadi bersifat basa (Gambar 5). pH hari ke-0 dan hari ke-7 pada sampel sedimen Situ Lebakwangi meningkat dari 6,56 menjadi 7,12. Hal ini dikarenakan adanya degradasi substrat yang mengandung protein oleh mikroorganisme lebih cepat untuk membentuk senyawa ammonia yang bersifat basa. Mikroorganisme lebih banyak mendegradasi senyawa yang mengandung nitrogen seperti protein sehingga dihasilkan senyawa yang bersifat basa seperti ammonia (NH₃) [8].



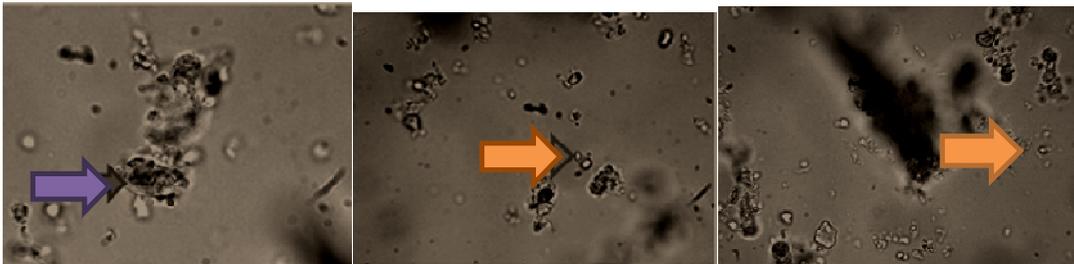
Gambar 5. Nilai pH sampel Situ Lebakwangi Hari ke-0 dan Hari ke-7

3.4 Hasil Pengamatan Mikroorganisme

Hasil pengamatan mikroorganisme secara mikroskopik ditemukan beberapa mikroorganisme seperti pada (Gambar 6) dan (Gambar 7). Foto mikroorganisme (Gambar 6) menunjukkan komunitas mikroorganisme sebelum inkubasi dan (Gambar 7) setelah inkubasi. Berdasarkan (Gambar 6) ditemukan mikroorganisme diduga seperti bakteri dan sisa hifa jamur. Berdasarkan (Gambar 7) yang menunjukkan keadaan komunitas mikroorganisme setelah diinkubasi selama 7 hari, teramati masih banyak ditemukan mikroorganisme seperti bakteri dan alga. Mikroorganisme secara umum memiliki peran yang sangat penting dalam proses degradasi yang dapat memproduksi biogas berupa gas metana (CH_4) dan karbon dioksida (CO_2). Parameter keberadaan mikroorganisme adalah salah satu faktor untuk keberhasilan suatu pembentukan biogas. Mikroorganisme seperti bakteri, alga dan hifa jamur yang telah ditemukan dalam penelitian ini saling berhubungan satu dengan yang lainnya untuk menghasilkan biogas. Hubungan yang seimbang terjadi antar mikroorganisme dan setiap mikroorganisme memiliki peran masing-masing di suatu ekosistem tergantung dari potensi genetik [9].



Gambar 6. Mikroorganisme sampel Situ Lebakwangi sebelum 7 hari inkubasi



Gambar 7. Mikroorganisme sampel Situ Lebakwangi setelah 7 hari inkubasi

Keterangan:  : Bakteri  : Sisa hifa jamur  : Alga

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas, sedimen danau Situ Lebakwangi berpotensi menghasilkan biogas berupa gas metana (CH_4) dan karbon dioksida (CO_2). Volume gas total yang dihasilkan sedimen Situ Lebakwangi sebesar 8 ml. Kandungan gas CH_4 sebesar 4,1% dan gas CO_2 sebesar 7,5% selama 7 hari inkubasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dinas Bina Marga dan Pengairan. 2008. Inventarisasi Situ-Situ. UPTD Teknik Pengairan Wilayah Parung, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat.
- [2] Jorgensen P.J. 2009. Biogas: *Green Energy* 2nd Edition. Faculty of Agricultural Sciences, Aarhus University, p. 4-34.
- [3] Indriawati. 2009. *Pengaruh Penggunaan Pupuk Organik Effective Microorganisms: EM-7 dan EM Komersial terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam Sidikalang (Pogostemon cablin Benth.)*. Bogor: Progam Studi Sarjana Biologi SITH IPB.
- [4] Hudha IM. 2007. *Pemanfaatan Limbah Organik sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas*. Institut Teknologi Nasional Malang.
- [5] Ahmad A. 2004. Studi Komparatif Sumber dan Proses Aklimatisasi Bakteri Anaerob pada Limbah Cair Yang Mengandung Karbohidrat, Protein, dan Minyak dan Lemak. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 3 (1): 1-10.
- [6] Haryati T. 2006. Biogas: Limbah Peternakan yang Menjadi Sumber Energi Alternatif. *Jurnal Wartazoa* 16 (3): 160-169.
- [7] Mara D. 2003. *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries*. Eartscan. London.
- [8] Seadi TA, D. Rutz, H. Prassl, M. Kottner, T. Finsterwalder, S. Volk, R. Janssen. 2008. *Biogas Handbook*. University of Southern Denmark Esbjerg, Denmark. p. 2-125.
- [9] Sugoro I. 2012. Biosolubilisasi batubara oleh fungi. *Disertasi*. Institut Teknilogi Bandung.

PENGARUH PEMBERIAN BIOKONTROL TERHADAP TINGKAT INFEKSI KAPANG PATOGEN *FOC* DAN KEANEKARAGAMAN MIKROORGANISME PERAKARAN DI PERKEBUNAN PISANG CUGENANG, CIANJUR

EFFECT OF BIOCONTROL APPLICATION TOWARDS *FOC*'S INFECTION AND RHIZOSPHERE MICROORGANISM'S DIVERSITY IN BANANA PLANTATION AT CUGENANG, CIANJUR

Nur Laili, Dwi Agustiyani, Sarjiya Antonius

Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong
lie_azzahra@yahoo.co.id
Jl. Raya Bogor-Jakarta Km. 46, Cibinong 16911, 021-8765067

ABSTRACT

A study of biocontrol agent's application was conducted in banana plants at Desa Cugenang, Cianjur. Biocontrol agents consist of rhizosphere and endophyt bacteria, fungi, organic fertilizer and mix. The aims of this study were to find out the efficacy from biocontrol agents in increasing rhizosphere microorganism's diversity and against *Foc* infection in banana plants. The results of this study showed that rhizosphere bacteria were able to increasing *Pseudomonas*, phosphate solubilization and proteolytic bacteria in banana plant's rhizosphere compared to control, while the highest *Bacillus* population account found on control treatment. Application of biocontrol agents could also increase plant resistant towards *Foc* infection. Rhizosphere bacteria as biocontrol showed a better ability towards *Foc* pathogen than other treatments, with living plant on first monitoring is 84%. The results of this research indicated that the ability of biocontrol agents to increase rhizosphere microorganism's diversity have correlation with their ability towards pathogen *Foc* infection in banana plants.

Keywords: biocontrol agent, Fusarium oxysporum f.sp. cubense (Foc), organic fertilizer, rhizosphere microorganism.

ABSTRAK

Pengujian pemberian beberapa formula agen biokontrol yang meliputi bakteri rizosfer, bakteri endofit, jamur, pupuk hayati serta campurannya telah dilakukan pada tanaman pisang Ambon lokal di Desa Cugenang, Cianjur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian agen biokontrol terhadap keanekaragaman mikroorganisme perakaran dan tingkat infeksi *Foc* pada tanaman pisang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian agen biokontrol bakteri rizosfer dapat meningkatkan populasi bakteri *Pseudomonas*, bakteri pelarut fosfat dan bakteri proteolitik di area perakaran tanaman pisang dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Populasi bakteri *Bacillus* pada perlakuan kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan biokontrol. Pemberian agen biokontrol juga berpengaruh terhadap penurunan persentase tanaman pisang yang terserang infeksi *Foc*. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian bakteri biokontrol rizosfer mampu menurunkan tingkat infeksi *Foc* lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Persentase tanaman pisang yang hidup dengan perlakuan bakteri biokontrol rizosfer pada tanaman pisang umur 5 bulan sebesar 84%. Peningkatan populasi dan keanekaragaman mikroorganisme perakaran pada perlakuan biokontrol diduga berkorelasi dengan kemampuannya dalam melawan infeksi patogen *Foc* pada tanaman pisang.

Kata kunci: agen biokontrol, pupuk hayati, Fusarium oxysporum f.sp. cubense (Foc), mikroorganisme perakaran.

PENDAHULUAN

Usaha perkebunan pisang telah berkembang pesat di wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia, namun kelangsungan produksi pisang di Indonesia dan dunia semakin terancam dengan berkembangnya penyakit pada tanaman pisang [1,2]. Salah satu penyakit yang menyerang tanaman pisang dan menyebabkan kerusakan yang cukup parah adalah penyakit layu *Fusarium* yang disebabkan oleh jamur patogen *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense* (*Foc*) atau lebih dikenal dengan *Panama disease* [2,3,4,5,6]. Penyakit tanaman yang disebabkan oleh *Foc* pada tanaman pisang ditandai dengan beberapa gejala, antara lain: daun menguning dan layu, batang layu, akar membusuk, dan pada akhirnya menyebabkan kematian [2,3,5,7].

Upaya pengendalian infeksi *Foc* dapat dilakukan dengan menggunakan biokontrol berupa mikroorganisme atau senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme [2]. Biokontrol dapat didefinisikan sebagai organisme alami, hasil rekayasa genetik, dan gen atau produk gen, yang digunakan untuk mengurangi efek penyakit pada organisme inang yang menguntungkan manusia, serta tidak berbahaya bagi lingkungan [8]. Mikroorganisme biokontrol tersebut digunakan sebagai alternatif pengganti peran fungisida dan dapat meminimalisir dampak negatif dari penggunaan fungisida. Salah satu mikroorganisme yang banyak digunakan sebagai agen biokontrol adalah bakteri karena memiliki beberapa keuntungan, antara lain mudah beradaptasi pada lingkungan di mana mereka diaplikasikan dan tidak menimbulkan pencemaran lingkungan [9]. Basha dan Ulaganathan (2002) serta de Vasconcellos dan Cardoso (2009) melaporkan bahwa bakteri rizosfer seperti *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Arthrobacter* dan *Streptomyces* merupakan bakteri agen biokontrol yang baik terhadap jamur patogen pada tanaman [10,11].

Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen biokontrol memiliki nilai yang penting terhadap sistem perakaran yang menjadi daerah penyerapan nutrisi oleh tanaman dan juga daerah yang rentan terhadap masuknya penyakit-penyakit tanaman yang berasal dari tanah [12]. Area perakaran juga merupakan daerah yang penting untuk mempertahankan kesuburan tanah karena komunitas mikroorganisme perakaran terlibat dalam siklus biogeokimia nutrisi, menghilangkan toksin dan menghasilkan fitohormon atau antibiotik [11]. Akhtar *et al.* (2008) menyebutkan bahwa beberapa mikroorganisme yang berasosiasi dengan akar tanaman pada area perakaran memberikan keuntungan bagi tanaman karena bisa berfungsi sebagai pemicu pertumbuhan tanaman [13]. Mikroorganisme perakaran memiliki beberapa mekanisme dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen, antara lain kompetisi dengan mikroba patogen, produksi antibiotik, sekresi enzim hidrolase (protease dan kitinase), pemicu induksi sistem resisten tanaman dan produksi *siderophore* [4,5,6,9,14,15,16,17,18].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian agen biokontrol terhadap keanekaragaman mikroorganisme yang terdapat di area perakaran tanaman pisang. Di mana dengan adanya tingkat keanekaragaman dan jumlah mikroorganisme yang tinggi di area perakaran tanaman pisang diasumsikan dapat meningkatkan ketahanan tanaman pisang terhadap infeksi *Foc*. Adanya komunitas mikroorganisme perakaran diketahui dapat mempengaruhi faktor keseimbangan nutrisi di tanah, memanipulasi biodiversitas dan aktivitas mikroba perakaran, meningkatkan ketahanan tanaman inang, penekanan dan pengendalian populasi dan maupun patogenitas jamur patogen secara langsung.

METODE PENELITIAN

1.1. Aplikasi agen biokontrol pada tanaman pisang

Isolat bakteri biokontrol ditumbuhkan pada media NA dan ISP2 dan diinkubasi selama 24-48 jam sampai mencapai konsentrasi 10^7 . Isolat jamur biokontrol ditumbuhkan pada media PDB selama 5 hari sampai mencapai kepadatan spora 10^7 . Formula mikroba agen biokontrol yang digunakan dalam uji lapangan untuk pengendalian penyakit layu Fusarium (Foc) pada tanaman pisang Ambon lokal di desa Cugenang, Cianjur adalah sebagai berikut:

- 1 Bakteri rhizosfer (*Bacillus* sp.140-B dan *Streptomyces* sp.L.3.1-DW).
- 2 Bakteri endofit (*Burkholderia* sp. K2.TR dan *Paenibacillus* sp. I1.TR).
- 3 Jamur endofit(*Aspergillus niger* I-41, *Trichoderma* sp. 40-9).
- 4 Pupuk Organik Hayati (POH Startmik).
- 5 Campuran/Mix(bakteri rhizosfer, bakteri endofit, jamur endofit, POH).
- 6 Kontrol (tanpa pemberian biokontrol maupun POH).

Pemberian agen biokontrol dilakukan dilakukan setiap satu bulan sekali. Kultur biokontrol yang telah dicampur diencerkan 100x kemudian disiramkan di sekitar area perakaran tanaman pisang.

1.2. Perhitungan populasi mikroba perakaran

Sampel tanah diambil dari perakaran tanaman pisang yang sehat dan yang terinfeksi *Foc* (tanaman sakit) sebanyak 10 gram, dimasukkan dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 90 ml aquades, digunakan sebagai sampel dasar, dan dilakukan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} .

1. Bakteri *Pseudomonas* sp.

Media yang digunakan untuk menghitung populasi bakteri adalah media Agar King B dan dinkubasi selama 2 hari. Cara perhitungan mikroba dengan pengenceran berseri yang digunakan adalah 10^{-5} dan 10^{-6} . Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian diamati dibawah sinar UV setelah 2 hari inkubasi, koloni yang berpendar (memperlihatkan adanya fluoresensi) dihitung.

2. Mikroba pelarut fosfat

Media yang digunakan untuk menghitung populasi mikroba pelarut fosfat adalah media Pikovskaya dan dinkubasi selama 2 hari. Cara perhitungan mikroba dengan pengenceran berseri yang digunakan adalah 10^{-4} dan 10^{-5} . Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian diamati terbentuknya zone bening di sekeliling koloni mikroba. Terbentuknya zona bening mengindikasikan terjadinya pelarutan fosfat. Koloni-koloni tersebut kemudian dihitung.

3. Mikroba perombak protein (proteolitik)

Media yang digunakan untuk menghitung populasi mikroba proteolitik adalah media susu skim agar dan dinkubasi selama 2 hari. Cara perhitungan mikroba dengan pengenceran berseri yang digunakan adalah 10^{-4} dan 10^{-5} . Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian diamati terbentuknya zone bening di sekeliling koloni mikroba. Terbentuknya zona bening mengindikasikan terjadinya perombakan protein. Koloni-koloni tersebut kemudian dihitung.

4. Bakteri *Bacillus* sp.

Sampel tanah terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 80-100°C selama 30 menit untuk membunuh mikroba yang tidak menghasilkan endospora. Media yang digunakan untuk menghitung populasi bakteri *Bacillus* adalah NA dan dinkubasi selama 2 hari. Cara perhitungan mikroba dengan pengenceran berseri yang digunakan adalah 10^{-4} dan 10^{-5} . Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan tanaman pisang dilakukan pada 5 bulan setelah tanam (Mei 2013) menunjukkan bahwa serangan penyakit layu *Fusarium* pada petak percobaan tanpa pemberian biokontrol (Kontrol) relatif tinggi, mencapai > 40%, demikian juga pada perlakuan biokontrol Jamur/Fungi (F) dan perlakuan campuran biokontrol dan pupuk organik (M). Persentase serangan penyakit layu *Fusarium* (Foc) relatif rendah (< 25%) pada perlakuan biokontrol Endofit dan Rhizosfer (Tabel 1). Apabila dilihat dari jumlah tanaman induk yang masih hidup sehat dapat dilihat bahwa perlakuan biokontrol rhizosfer, endofit dan POH relatif lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Persentase tingkat infeksi *Foc* pada tanaman pisang yang diberi agen biokontrol lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Mikroba biokontrol yang diaplikasikan ke tanaman akan cepat berkolonisasi dengan jaringan perakaran tanaman, kemudian masuk menuju pembuluh stele dan menginduksi sistem pertahanan untuk melawan patogen *Foc* [13,19].

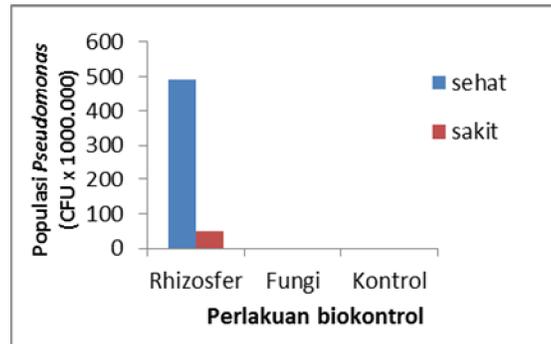
Tabel 1. Hasil pengamatan tanaman pisang pada umur 5 bulan.

Perlakuan	Jumlah tanaman	Jumlah tanaman hidup (%)	Jumlah tanaman sakit (%)	Jumlah tanaman mati (%)
Kontrol (K)	48	28 (58,3 %)	3 (6,2%)	17 (35,4 %)
Endofit (E)	50	40 (80 %)	7 (14%)	2 (4 %),
Rhizosfer (R)	50	42 (84 %)	5 (10%)	2 (4 %)
Fungi (F)	50	33 (66 %)	0 (0%)	17 (34 %)
POH (P)	51	38 (74 %)	2 (3,9%)	11 (21,5 %)
Campuran (M)	48	30 (62,5 %)	5 (10,4%)	12 (25 %)

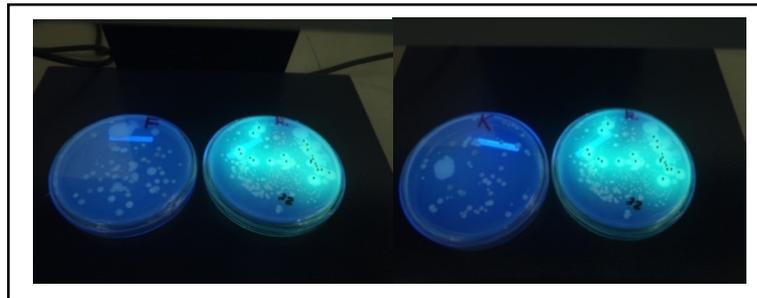
Keterangan: Tanaman hidup (tanaman sehat tidak menunjukkan gejala serangan *Foc*), Tanaman sakit (tanaman masih hidup dan menunjukkan gejala terserang *Foc*), Tanaman mati (Tanaman mati karena serangan *foc*).

Untuk mengetahui efek pemberian biokontrol pada populasi mikroba di perakaran telah dilakukan pengamatan terhadap 3 sampel tanah perakaran, yaitu : 1) tanah perakaran tanaman yang diaplikasi biokontrol Rhizosfer, 2) Fungi dan 3) Kontrol. Populasi mikroba yang diamati adalah mikroba yang secara umum sebagai mikroba perakaran bermanfaat (PGPR) yaitu bakteri *Bacillus*, dan *Pseudomonas*, serta bakteri pelarut fosfat, dan bakteri proteolitik. Hasil pengamatan populasi *Pseudomonas* pada tanah perakaran pisang yang diberi perlakuan biokontrol Rhizosfer nampak cukup tinggi, sedangkan pada tanah

perakaran tanaman Kontrol dan diberi perlakuan biokontrol Fungi tidak terdeteksi adanya bakteri *Pseudomonas* (Gambar 1 dan 2).



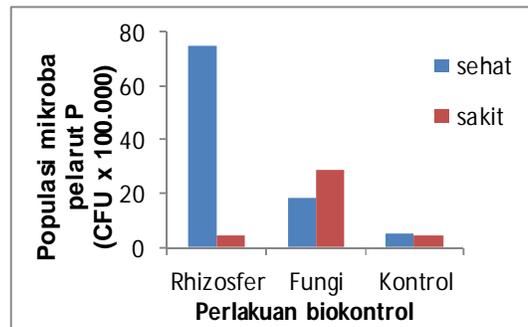
Gambar 1. Populasi *Pseudomonas* pada pada sampel tanah perakaran tanaman pisang yang sehat dan terinfeksi *Foc* (sakit) setelah inkubasi selama 2 hari di media King B agar.



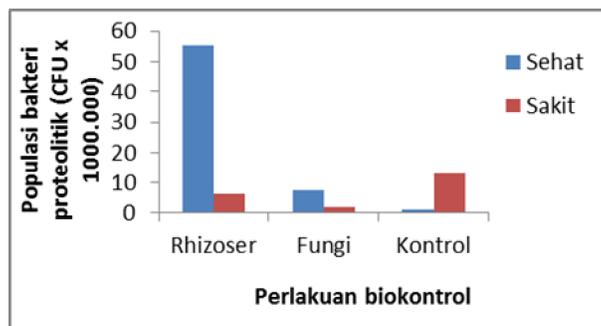
Gambar 2. Foto koloni *Pseudomonas* dibawah sinar UV (berpendar).
Keterangan: R (biokontrol Rhizosfer), F (biokontrol Fungi), K (Kontrol).

Bakteri *Pseudomonas* pada umumnya mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang cukup tinggi, seperti antibiotik, siderofor dan hasil metabolit lainnya seperti hidrogen sianida. Hasil metabolit ini sangat berpengaruh terhadap lingkungan, karena tidak hanya mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen, disamping itu juga berfungsi meningkatkan ketahanan tanaman serta bermanfaat dalam membantu ketersediaan nutrisi bagi tanaman. *Pseudomonas* efektif menghambat pertumbuhan patogen dan menekan diskolorisasi pada tanaman pisang yang disebabkan oleh patogen *Foc* [4].

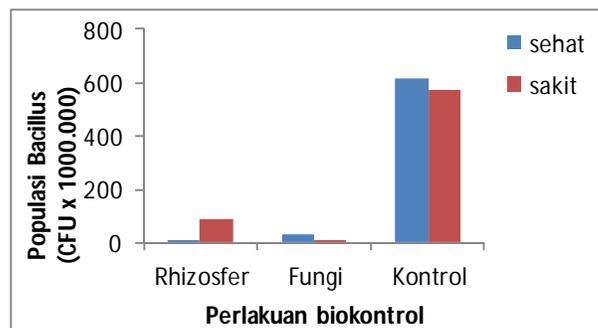
Populasi mikroba proteolitik dan pelarut pospat juga relatif tinggi pada tanah perakaran yang diberi perlakuan biokontrol Rhizosfer (Gambar 3 dan 4). Sebaliknya populasi *Bacillus* justru tinggi pada tanah perakaran Kontrol dibandingkan dengan tanah perakaran yang diberi perlakuan biokontrol Rhizosfer maupun Fungi (Gambar 5).



Gambar 3. Populasi mikroba pelarut fosfat pada sampel tanah perakaran tanaman pisang yang sehat dan terinfeksi *Foc* (sakit) setelah inkubasi selama 2 hari pada media Pikosvkaya.



Gambar 4. Populasi mikroba proteolitik pada pada sampel tanah perakaran tanaman pisang yang sehat dan terinfeksi *Foc* (sakit) setelah inkubasi selama 2 hari pada media susu skim agar.



Gambar 5. Populasi bakteri *Bacillus* pada pada sampel tanah perakaran tanaman pisang yang sehat dan terinfeksi *Foc* (sakit) setelah inkubasi selama 2 hari pada media NA.

Bakteri pelarut fosfat memiliki peranan yang penting karena dapat meningkatkan ketersediaan unsur fosfat dan besi untuk pertumbuhan tanaman [20,21,22]. Mikroba proteolitik mensintesis enzim protease ekstraseluler yang berperan penting dalam aktivitas degradasi dinding sel dan menghambat pertumbuhan jamur patogen dengan melisis dinding sel kapang patogen dan merusak miselinya [10].

Bacillus merupakan bakteri Gram-positif, berbentuk batang, bersifat motil, memiliki flagela, tersebar luas di alam dan mampu beradaptasi dengan baik di tanah maupun di lingkungan perairan, serta memiliki toleransi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim [23,24]. *Bacillus* mampu menghasilkan endospora yang berperan untuk absorpsi nutrisi dan sebagai pertahanan diri dari pengaruh kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti pH, suhu, kelembapan dan tekanan osmotik [10,24]. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa keberadaan *Bacillus* di area perakaran dapat mengendalikan patogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan biokontrol memiliki keanekaragaman mikroorganisme perakaran dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Diketahui bahwa bakteri *Pseudomonas*, bakteri pelarut fosfat, bakteri proteolitik dan *Bacillus* merupakan bakteri yang banyak terdapat di perakaran dan aktivitasnya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR) telah terbukti dapat juga menghambat tingkat serangan patogen tanaman. Kepadatan populasi bakteri tersebut di daerah perakaran tanaman memungkinkan untuk digunakan sebagai indikator awal yang menggambarkan kemampuan tanaman bertahan dari serangan penyakit. Kompleksitas ekosistem bakteri di perakaran meningkatkan kemampuan biokontrol dalam menghambat pertumbuhan patogen. Kolonisasi bakteri biokontrol yang juga berperan sebagai PGPR dengan perakaran tanaman memberikan dampak menguntungkan bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui beberapa mekanisme, antara lain kemampuan melarutkan mineral fosfat dan nutrisi lainnya; dan memacu tanaman dalam pengambilan nutrisi di lingkungan [20,25,26].

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi mikroba yang menguntungkan (*Pseudomonas*, proteolitik, pelarut P) di perakaran yang diberi perlakuan biokontrol rhizosfer lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Pemberian biokontrol rhizosfer juga berpengaruh terhadap penurunan persentase infeksi *Foc* pada tanaman pisang. Hal ini kemungkinan ada korelasi antara peningkatan jumlah dan keanekaragaman mikroba perakaran dengan tingkat ketahanan tanaman dalam melawan serangan patogen *Foc*. Dari data ini juga ditunjukkan bahwa keberhasilan pengendalian patogen *Foc* tidak hanya melalui penghambatan secara langsung terhadap jamur *Foc* namun juga melalui mekanisme peningkatan ketahanan tanaman pisang.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Perez-Vicente, L. 2004. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas: An updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. *XVI Reunion Internacional Acorbat*. Playa, Cuba: 1-15.
- [2] Ploetz, R.C. 2006. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *The American Phytopathological Society*, 96(6): 653-656.

- [3] Ploetz, R.C. 2000. Panama disease: A classic and destructive disease of banana. Online: *Plant Health Progress*, 10.1094/PHP-2000-1204-01-HM.
- [4] Saravanan, T., M. Muthusamy & T. Marimuthu. 2004a. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on *Fusarium* wilt pathogen in banana rhizosphere. *Journal of Biological Sciences*, 4(2): 192-198.
- [5] Saravanan, T., R. Bhaskaran & M. Muthusamy. 2004b. *Pseudomonas fluorescens* induced enzymological changes in banana roots (Cv. Rasthali) against *Fusarium* wilt disease. *Plant Pathology Journal*, 3(2): 72-80.
- [6] Saravanan, T. & M. Muthusamy. 2006. Influence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (E.F. Smith) Snyder and Hansen on 2,4-diacetylphloroglucinol production by *Pseudomonas fluorescens* migula in banana rhizosphere. *Journal of Plant Protection Research*, 46(3): 241-254.
- [7] Smith, I.M., S.A. Archer, J. Dunez, R.A. Lelliot & D.H. Phillips. 1988. *European handbook of plant diseases*. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 583 hlm.
- [8] Monte, E. & A. Llobell. 2003. *Trichoderma* in organic agriculture. *Proceedings V World Avocado Congress 2003*, 725-733.
- [9] Rodas-Junco, B.A., H.F. Magana-Sevilla, J.M. Tun-Suarez & A. Reyes-Ramirez. 2009. Antifungal activity in vitro of native *Bacillus* sp. strains against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Research Journal of Biological Sciences*, 4(9): 985-989.
- [10] Basha, S. & K. Ulaganathan. 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. *Current Science*, 82(12): 1457-1463.
- [11] de Vasconcellos, R.L.F. & E.J.B.N. Cardoso. 2009. Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *Biocontrol*, 54: 807-816.
- [12] Bacon, C. & D. Hinton. 2006. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. Dalam: Gnanamanickan, S.S. (ed). 2006. *Plant Associated Bacteria*. Springer, Netherlands:155-194.
- [13] Akhtar, M.S., U. Shakeel & Z.A. Siddiqui. 2008. Biocontrol of *Fusarium* wilt by *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas alcaligenes*, and *Rhizobium* sp. on lentil. *Turkey Journal Biology*, 34: 1-7.
- [14] Benyagoub, M., N. Benhamou & O. Carisse. 1998. Cytochemical investigation of the antagonistic interaction between a *Microsphaeropsis* sp. (isolate P130A) and *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 88: 605-613.
- [15] Gomes, R.C., L.T.A.S. Semedo, R.M.A. Soares, C.S. Alviano, L.F. Linhares & R.R.R. Coelho. 2000. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. *Letter Applied Microbiology*, 30: 146-150.
- [16] Stamford. T.L.M., N.P. Stamford, L.C.B.B. Coelho & J.M. Araujo. 2001. Production and characterization of a thermostable α -amylase from *Nocardia* sp. endophyte of yam bean. *Bioresource Technology*, 76: 137-141.
- [17] Getha, K. & S. Vikineswary. 2002. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* race 4: Indirect evidence for the role

- of antibiosis in the antagonistic process. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28: 303-310.
- [18] de Azeredo, L.A.I., D.M.G. Freire, R.M.A. Soares, S.G.F. Leite & R.R.R. Coelho. 2004. Production and partial characterization of thermophilic proteases from *Streptomyces* sp. isolated from Brazilian cerrado soil. *Enzyme Microbiology Technology*, 34: 354-358.
- [19] Benhamou, N., J.W. Kloepper, A. Qualdt-Hallman & S. Tuzun. 1996. Induction of defence-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiology*, 112: 919-926.
- [20] Ashrafuzzaman, M., F.A. Hossen, M.R. Ismail, M.A. Hoque, M.Z. Islam, S.M. Shahidullah & S. Meon. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, 8(7): 1247-1252.
- [21] Verma, S.C., J.K. Ladha & A.K. Tripathi. 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91: 127-141.
- [22] Joshi, P. & A.B. Bath. 2011. Diversity and function of plant growth-promoting rhizobacteria associated with wheat rhizosphere in North Himalaya Region. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(6): 1135-1143.
- [23] Kim, H.S., J. Park, S.W. Choi, K.H. Choi, G.P. Lee, S.J. Ban, C.H. Lee & C.S. Kim. 2003. Isolation and characterization of *Bacillus* strains for biological control. *The Journal of Microbiology*, 41(3): 196-201.
- [24] Earl, A.M., R. Losick & R. Kolter. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 16(6): 269-275.
- [25] Ahmad, F., I. Ahmad & M.S. Khan. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiology Research*, 36: 1-9.
- [26] Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*, 36: 184-189.

SAINS



ANALISIS FILOGENETIK SPESIES-SPESIES *RADOPHOLUS* (NEMATODA: RADOPHOLINAE) MENGGUNAKAN DATA MORFOLOGI

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF SPECIES OF *RADOPHOLUS* (NEMATODA: RADOPHOLINAE) USING MORPHOLOGICAL DATA

Abdul Gafur

Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lambung Mangkurat
Jalan Ahmad Yani Km 35.8, Banjarbaru, Kalimantan Selatan
agafur@unlam.ac.id

ABSTRACT

Radopholus has been considered one of the most important plant parasitic nematode genera. Among taxonomic problems regarding *Radopholus* is the disagreement on whether five species belong to this genus or the genus *Achlysiella*. A morphology-based phylogenetic study on species of *Radopholus* and *Achlysiella* has already been carried out to clarify the status of the five species. However, the study suffered from weaknesses relating to character selection and lack of reliability measurement. Therefore, the phylogeny of *Radopholus* is revisited using all currently available morphological data suitable for a phylogenetic analysis. Maximum Parsimony approach and bootstrap technique were applied. The series of analyses carried out produced majority consensus trees with better degrees of resolution than the previous study, with slightly different groupings. However, the bootstrap support were very low for all nodes. The results suggested that more morphological data should be sought out and that morphology alone might not be sufficient to reveal the true phylogeny of *Radopholus*.

Keywords: Radopholus, Achlysiella, phylogeny, morphology

ABSTRAK

Radopholus merupakan salah satu genus terpenting nematoda parasit tumbuhan. Di antara masalah taksonomik mengenai genus ini adalah komposisi spesies yang belum jelas karena adanya 5 spesies yang diperdebatkan apakah termasuk *Radopholus* atau *Achlysiella*. Studi filogenetik terhadap spesies-spesies *Radopholus* dan *Achlysiella* berdasarkan morfologi pernah dilakukan untuk mengklarifikasi status kelima spesies tersebut. Namun, kajian tersebut mempunyai kelemahan mendasar terkait pemilihan karakter dan tiadanya ukuran reliabilitas. Untuk mendapatkan kesimpulan yang lebih baik, reanalisis dilakukan dengan meninggalkan karakter yang tidak memenuhi asumsi independensi, ditambah beberapa karakter baru yang dianggap bernilai filogenetik. Selain itu, dilibatkan juga spesies-spesies baru yang ditemukan belakangan. Analisis filogenetik dilakukan dengan parsimoni, dan ukuran reliabilitas ditentukan dengan teknik bootstrap. Pohon konsensus mayoritas menunjukkan pengelompokan yang berbeda dengan analisis terdahulu, dengan resolusi yang lebih baik. Akan tetapi, dukungan bootstrap untuk semua nodus sangat rendah. Hasil ini mengisyaratkan perlunya digunakan lebih banyak lagi karakter morfologi, dan bahwa morfologi saja belum memadai untuk mengungkapkan filogeni spesies-spesies *Radopholus*.

Katakunci: Radopholus, Achlysiella, filogeni, morfologi

PENDAHULUAN

Radopholus Thorne, 1949 merupakan genus nematoda yang penting karena salah satu spesiesnya, *Radopholus similis*, tergolong nematoda yang paling merugikan secara ekonomi. Ada perbedaan pendapat mengenai jumlah spesies *Radopholus* [1-2]. Perbedaan tadi terutama karena ada lima spesies yang diperselisihkan apakah termasuk *Radopholus* atau *Achlysiella*. Kelima spesies tersebut adalah *Radopholus brevicaudatus*, *Radopholus capitatus*, *Radopholus magniglans*, *Radopholus trilineatus*, dan *Radopholus vacuus*.

Setelah Siddiqi [3] mendeskripsikan *Radopholus williamsi*, Hunt *et al.* [4] menemukan bahwa betina matang *R. williamsi* bertubuh gemuk seperti sosis, sedangkan betina yang belum matang langsing vermiform; ditemukan juga ciri khas biologis, seperti kantong telur bergelatin berisi telur besar, hewan pradewasa, serta jantan dan betina vermiform. Berdasarkan itu, Hunt *et al.* [4] mengusulkan genus baru *Achlysiella* dan memasukkan *Radopholus williamsi* ke dalam genus ini sebagai *Achlysiella williamsi*.

Hunt *et al.* [4] menduga *R. magniglans*, *R. trilineatus*, *R. brevicaudatus*, *R. capitatus*, dan *R. vacuus* juga termasuk *Achlysiella* karena semua spesimen betina yang ditemukan di tanah adalah betina yang belum matang. Namun, karena betina dewasa dan data biologis belum ditemukan, kelima spesies tersebut masih dimasukkan *Radopholus*. Adalah Ebsary [5] yang secara formal memindahkan kelima spesies tersebut ke *Achlysiella*. Keputusan itu disetujui oleh Siddiqi [2], tetapi ditolak oleh yang lain [1, 6].

Untuk memperjelas status kelima spesies tadi, Ryss [6] melakukan analisis filogenetik terhadap spesies-spesies *Radopholus* berdasarkan morfologi. Hasilnya tidak mendukung transfer kelima spesies tadi ke *Achlysiella*. Namun, analisisnya memiliki dua kelemahan mendasar. Pertama, sebagian karakter tidak independen terhadap karakter lain. Ini melanggar asumsi independensi karakter yang bersama heritabilitas merupakan prasyarat dasar setiap analisis filogenetik, [7]. Sebagai contoh, indeks b (nisbah panjang badan terhadap panjang esofagus) tidak independen terhadap panjang badan dan panjang esofagus yang juga dipakai sebagai karakter dalam analisis tersebut.

Kelemahan yang kedua adalah tidak adanya ukuran reliabilitas. Tanpa ukuran reliabilitas, hasil kajian filogenetik tidak banyak bermanfaat [8], cuma sekedar ikhtisar informasi mengenai distribusi wujud-karakter di antara takson-takson [9].

Melihat kelemahan analisis Ryss [6] tersebut, perlu dilakukan analisis serupa yang masih menggunakan data morfologi namun dengan meninggalkan karakter yang tidak memenuhi asumsi independensi. Tujuannya (i) mengungkapkan hubungan filogenetik spesies-spesies *Radopholus* berdasarkan morfologi, dan berdasarkan itu (ii) menentukan posisi kelima spesies yang diperdebatkan apakah termasuk *Radopholus* atau *Achlysiella*.

METODE PENELITIAN

2.1 Data Morfologi

Analisis dilakukan menggunakan data oleh Ryss [6]. Data tersebut terlebih dulu diperiksa berdasarkan publikasi asli tiap spesies, spesimen paratipe, dan spesimen yang baru. Modifikasi data asli dilakukan dalam hal berikut:

- 1 Karakter panjang stilet (12), panjang badan (13), dan panjang ekor (18) tidak dipakai agar data sesuai dengan asumsi independensi karakter.

- 2 Karakter bentuk sel sperma dalam spermateka (8) tidak dipakai karena bentuk sel sperma bisa tampak berbeda kalau diamati dari sudut pandang yang berbeda [10].
- 3 Kesalahan dalam penyandian beberapa karakter diperbaiki.
- 4 Tiga spesies baru (*R. duriophilus*, *R. arabocoffeae* dan *R. daklakensis*) dimasukkan.
- 5 *Zygradus nigeriensis* dimasukkan, karena ada kemungkinan berkerabat dekat dengan *Radopholus*, dan mulanya dideskripsikan sebagai *Radopholus nigeriensis*.
- 6 Jumlah kategori untuk karakter 14-20 dikurangi untuk lebih memperbesar kemungkinan pengelompokan.
- 7 Penambahan 10 karakter baru (karakter 24-33) untuk meningkatkan resolusi.

Matriks data disajikan pada Tabel 1. Penomoran karakter mengikuti Ryss [6] untuk karakter 1-33.

2.2 Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan dengan pendekatan Maximum Parsimony (MP) menggunakan program PAUP* [11]. Program menggunakan Swap=TBR dan MaxTrees=10000, dan untuk opsi yang lain dipilih *default* program. Bootstrap dilakukan dengan 1000 replikasi. *Pratylenchoides magnicauda* dipakai sebagai outgroup [6]. Kaidah mayoritas dipakai dalam membuat pohon konsensus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis filogenetik menghasilkan pohon konsensus kaidah-mayoritas dengan pengelompokan yang berbeda dari Ryss [6] (Gambar 1). *A. williamsi* berkerabat dekat dengan *R. brevicaudatus*, dan *R. vacuus* dekat dengan *Z. nigeriensis*. Kedua klad ini membentuk klad yang lebih tinggi bersama klad *R. inanis-R. intermedius*. Di lain pihak, *R. magniglans* paling dekat dengan *R. trilineatus*, disusul oleh *R. megadorus*, tetapi posisi klad ini tidak jelas terhadap klad yang lain. Begitu pula dengan *R. capitatus*. Dengan demikian, hasil analisis tidak mendukung pemindahan spesies-spesies yang dipermasalahkan ke *Achlysiella*, kecuali *R. brevicaudatus*.

Ketika dilakukan bootstrap, pohon konsensus (Gambar 2) memperlihatkan bahwa dukungan untuk setiap nodus sangat rendah. Hal ini berarti pohon filogenetik yang dihasilkan memiliki struktur dengan reliabilitas yang rendah.

Berdasarkan hasil analisis di atas dapat dikatakan bahwa data morfologi belum bisa menghasilkan kesimpulan yang handal mengenai filogeni spesies-spesies *Radopholus*. Dengan demikian, hasil penelitian ini mengoreksi kesimpulan yang ditarik oleh Ryss [6] mengenai filogeni spesies-spesies *Radopholus*.

Rendahnya dukungan bootstrap terhadap struktur yang ditampilkan oleh pohon filogenetik yang dihasilkan antara lain disebabkan oleh terbatasnya jumlah karakter yang digunakan relatif terhadap jumlah takson yang terlibat. Dalam penelitian ini digunakan 28 karakter untuk 32 takson. Angka ini jauh lebih kecil dari jumlah rata-rata karakter yang dipakai dalam kajian-kajian morfologi sebesar 1:3 [12]. Dapat diharapkan bahwa dengan jumlah karakter yang lebih besar akan dihasilkan resolusi yang lebih baik dengan reliabilitas yang lebih tinggi.

Tabel 1 Matriks data untuk analisis filogenetik spesies-spesies *Radopholus* berdasarkan morfologi

Spesies	Karakter																																
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	14	15	16	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33					
<i>P. magnicauda</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	3	?	1/2	3/4	3/4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	?	4	0	0	0					
<i>R. arabocoffeae</i>	2	0	0	2	0	0	0	0	1	1	2	0	1/2/3	2	2/3	0	?	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1					
<i>R. brevicaudatus</i>	3	0	0	2	1	1	0	0	2	2	1	0/1	4	1	?	0	1	1	?	0	?	?	?	?	5	0	0	?					
<i>R. bridgei</i>	2/3	0	0	2	1	0	0	0	0	1	1	0	1/2	2	3/4	0	1	1	0	0	1	1	1	0	4	0	0	1					
<i>R. capitatus</i>	4	0	0	0	1	1	0	0	0	1	2/3	1/2	3/4	4	?	0	1	1	?	0	?	?	?	?	5	0	0	?					
<i>R. citri</i>	1/2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	1	0/1	2/3	2/3	3/4	1	1	1	0	0	1	1	0	1	5	0	0	1					
<i>R. clarus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1/2	0/1	2/3	3	3	0	1	1	0	0	1	1	1	0	5	0	0	0					
<i>R. colbrani</i>	5	0	0	2	0	0	0	0	0	0/1	1/2	0	0	0	2	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	2					
<i>R. crenatus</i>	5	0	0	2	0	0	0	0	0	3	1/2	0/1	3	3/4	3/4	0	1	1	0	0	1	1	0	1	5	0	0	0					
<i>R. daklakensis</i>	1/2/3	0	0	2	0	0	0	0	2	1/2	1/2	0	0/1/2/3	0/1/2	3/4	1	?	1	0	0	1	1	1	1	4	0	0	1					
<i>R. duriophilus</i>	1/2	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0/1/2	0	0/1/2/3	0/1/2/3	2/3	0	?	1	0	0	1	1	1	0	4	0	0	1					
<i>R. ferax</i>	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2/3	0/1/2	1	3/4	3	2/3	0	1	1	0	0	0	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. inaequalis</i>	3	0	1/2	0	0	2	0	0	0	2	0/1/2	0/1	2/3	3/4	0/1/2	1	1	1	0	0	1	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. inanis</i>	3	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0/1	2/3	4	3/4	0	1	1	0	0	1	1	1	0	5	0	0	1					
<i>R. intermedius</i>	3	0	0	0	0	0	2	1	2	2	2/3	0/1	2/3	2/3	?	0	1	1	0	0	?	?	?	?	5	1	0	?					
<i>R. kahikateae</i>	1/2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0/1/2/3	0/1/2	1/2/3/4	2/3	1/2	0	1	1	0	0	1	0	0	1	4	0	0	0					
<i>R. magniglans</i>	3/4	0	0	2	1	2	0	1	0	2	2/3	0/1	3	3/4	?	0	1	1	1	0	1	1	1	1	5	1	0	0					
<i>R. megadorus</i>	5	0	0	2	1	0	0	0	0	2	1/2	1	3	3	3/4	0	1	1	0	0	1	1	0	0	5	1	0	0					
<i>R. musicola</i>	3/4	0	0	2	1	0	0	0	2	0/1	0/1	0	0/1/2	0/1/2/3	1/2/3/4	0	1	1	0	0	1	1	0	0	4	0	0	1					
<i>R. nativus</i>	1/2/3	0	0	2	0	0	0	0	0	1/2	0/1/2/3	0/1	2/3/4	3/4	0/1/2/3	0	1	1	0	0	1	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. nelsonensis</i>	0/1/2	0	0	2	0	0	0	0	0	3	1/2/3	2/3/4	4	4	1/2/3	0	1	1	0	0	1	1	0	1	5	0	1	0					

Tabel 2 (lanjutan)

Spesies	Karakter																																
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	14	15	16	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33					
<i>R. neosimilis</i>	2	0	0	0	0	0	2	0	1	2	1/2	0/1	3/4	3	1/2	0	1	1	0	0	1	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. rectus</i>	2/3	0	0	2	0	0	0	0	0	3	2	1	3/4	3	3/4	0	1	1	0	0	1	1	1	1	5	0	0	0					
<i>R. rotundisemenus</i>	3	0	1/2	1	0	1	0	0	0	2/3	1/2	1	2/3	3	?	0	1	1	0	0	?	?	?	?	5	?	?	?					
<i>R. serratus</i>	3	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1/2	0/1	2/3	3	?	0	1	1	0	0	1	1	1	0	4	0	0	0					
<i>R. similis</i>	0/1/2/3	0	0	2	0	1	0	0	1	0/1/2	3	0	0/1/2	3	1/2	0	1	1	0	0	1	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. trilineatus</i>	4	1	-	2	-	2	0	0	0	2	2	1	3/4	3	?	0	1	1	1	0	1	1	0	0	5	?	?	?					
<i>R. vacuus</i>	4	0	0	2	0	0	1	0	2	2/3	2/3	0/1	3	3	3/4	0	1	1	?	0	1	1	0	1	4	0	0	0					
<i>R. vangundyi</i>	3	0	0	0	0	2	0	0	0	1/2	1/2	0/1	3	0	3/4	0	1	1	0	0	1	1	1	1	4	1	0	0					
<i>R. vertexplanus</i>	3/4	0	0	2	0	0	2	0	0	1/2	2/3	0/1	2/3	1	?	0	1	1	0	0	?	?	?	?	4	?	?	?					
<i>A. williamsi</i>	2/3	0/1/2	0	2	0	0	1	0	2	2	2/3	0/1	3/4	1	2/3/4	0	1	1	1	1	1	1	0	1	5	0	0	1					
<i>Z. nigeriensis</i>	4	0	0/1	2	0	0	1	0	2	1/2	1/2/3	0/1	2/3	0/1/2/3	?	0	?	1	0	0	?	?	?	?	4	?	?	?					

Keterangan karakter:

- | | | | |
|--|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1. Jumlah annuli kepala | 9. Ukuran spermateka anterior | 20. Panjang spikula | 27. Dimorfisme seksual stilet |
| 2. Oligomerisasi garis sisi | 10. ujung ekor beranulasi/tidak | 21. Ukuran bonggol stilet | 28. Bonggol stilet pada jantan |
| 3. Polimerisasi garis sisi | 11. Bentuk ujung ekor | 22. Deirid ada/tidak | 29. Dimorfisme seksual ekor |
| 4. Garis sisi antara fasmid dan ujung ekor | 14. Indeks b | 23. Kelenjar esofagus | 30. Indeks V |
| 5. Lebar pita tengah garis sisi | 15. Indeks c | 24. Betina matang gemuk | 31. Gonad anterior vs posterior |
| 6. Kantung postrektum | 16. Indeks c' | 25. Kantung telur bergelatin | 32. Ovaria melekuk/terentang |
| 7. Bentuk kepala | 19. Nisbah panjang ekor/stilet | 26. Dimorfisme seksual kepala | 33. Bursa pada jantan |

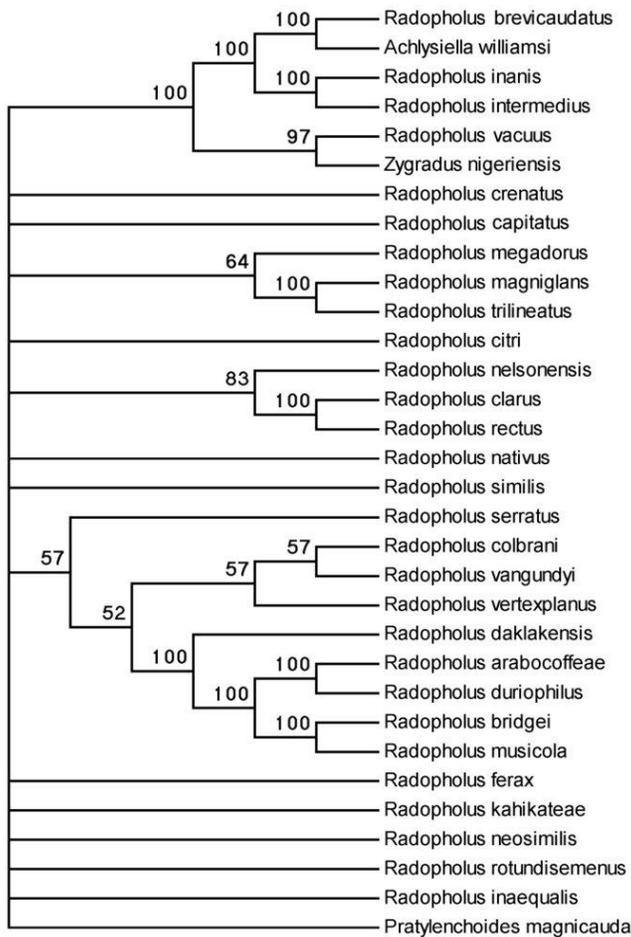
Karakter morfologi tambahan dapat diperoleh dari nisbah berbagai bagian tubuh yang diturunkan dari pengukuran morfometrik. Karakter yang potensial antara lain:

- 1 Nisbah antara panjang cabang anterior dan posterior gonad;
- 2 Nisbah panjang cabang anterior dan posterior gonad dan terhadap panjang badan;
- 3 Nisbah antara panjang bagian conus dan shaft stilet;
- 4 Nisbah panjang conus dan shaft stilet terhadap panjang total stilet;
- 5 Nisbah panjang kelenjar esofagus terhadap panjang badan;
- 6 Nisbah jarak kepala ke lubang ekskresi terhadap panjang badan.

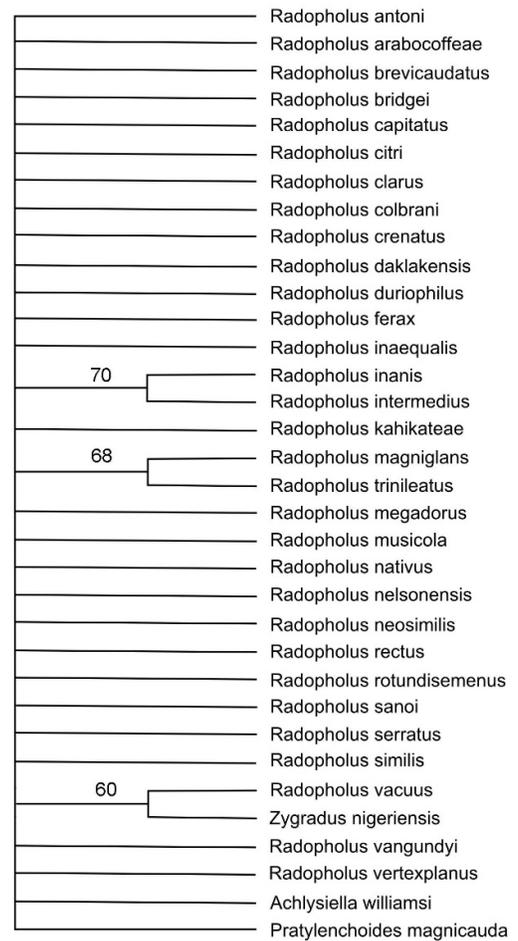
Bentuk suatu struktur juga dapat memberikan karakter tambahan. Dalam nematologi data morfometri biasanya berupa pengukuran linear panjang, lebar, serta kedalaman, tetapi sedikit sekali informasi mengenai bentuk. Bentuk suatu struktur biasanya dinyatakan dengan cara perbandingan dengan suatu objek yang banyak dikenal, seperti huruf dalam abjad atau ginjal. Padahal, jika dapat dilakukan analisis bentuk, maka akan diperoleh berbagai karakter bentuk, seperti bentuk kepala dan ekor. Metode morfometri geometri telah tersedia, yang memungkinkan bentuk dinyatakan secara kuantitatif dengan pengukuran menggunakan koordinat *landmark*. Selanjutnya, dua pendekatan bisa dipilih untuk menaksir filogeni dari data bentuk [13]. Pendekatan pertama adalah mereduksi peubah bentuk yang sinambung menjadi taksinambung, sehingga dihasilkan karakter tambahan untuk penaksiran filogeni menggunakan parsimoni. Yang kedua adalah menggunakan peubah bentuk yang sinambung itu secara langsung untuk inferensi filogenetik dengan pendekatan seperti Maximum-Likelihood, Squared-change parsimony, atau Neighbour-joining.

Selama ini karakter sinambung selalu dikategorikan ke dalam sejumlah kelompok taksinambung, baik secara arbitrer seperti yang dilakukan Ryss [6] atau dengan metode penyandian tertentu [14]. Dengan pendekatan ini untuk beberapa karakter dapat dihasilkan informasi filogenetik yang bermanfaat, tetapi untuk karakter yang lain informasinya justru menjadi kabur [15]. Karena itu, dikembangkan alternatif berupa penggunaan data karakter sinambung secara langsung tanpa kategorisasi. Karakter suatu takson terminal ditetapkan berupa kisaran dari rerata minus satu (atau dua) Galat Baku hingga rerata plus satu (atau dua) Galat Baku; dan dalam distribusi normal, takson-takson terminal yang kisarannya tidak tumpang tindih dianggap berbeda nyata [15]. Telah tersedia program komputer, misalnya TNT [16], yang mampu melakukan analisis seperti itu. Selain data sinambung dari pengukuran linear, data kuantitatif dari analisis bentuk juga bisa dimasukkan dalam matriks filogenetik untuk menambah jumlah karakter .

Dalam penelitian ini karakter-karakter tambahan tersebut belum bisa diperoleh. Karakter-karakter tersebut harus diamati pada spesimen yang masih dalam kondisi baik, sedangkan sebagian besar paratipe dan spesimen voucher yang tersedia sudah dalam kondisi yang membuat banyak karakter penting tidak bisa lagi diamati. Pencarian spesimen baru sudah diupayakan, tetapi hanya berhasil untuk sebagian kecil spesies. Sementara itu, di sebagian publikasi asli maupun lanjutan spesies-spesies *Radopholus* dan *Achlysiella* data morfometrik hanya diberikan dalam bentuk kisaran dan rerata, dan hanya sebagian yang ditambah dengan galat baku atau simpangan baku. Karena itu, analisis data sinambung tanpa kategorisasi tidak dapat dilakukan. Analisis bentuk terhadap data morfologi berdasarkan gambar dari publikasi juga tidak dimungkinkan karena gambar hanya mewakili satu spesimen.



Gambar 1. Pohon konsensus kaidah-mayoritas. Angka merupakan persentase frekuensi kelompok nodus dalam sampel 10000 pohon.



Gambar 2 Pohon konsensus bootstrap dengan 1000 replikasi. Angka merupakan dukungan bootstrap untuk nodus.

Mengingat nematoda, terutama yang parasit tumbuhan, memiliki rancangan tubuh yang relatif konservatif [17], dan sering terjadi evolusi konvergen [18], tidaklah mudah menemukan karakter morfologi yang secara filogenetis informatif. Oleh karena itu, untuk mengungkapkan filogeni spesies-spesies *Radopholus* perlu digali karakter-karakter selain morfologi. Karakter molekuler khususnya dapat diharapkan memberikan informasi filogenetik tambahan untuk memperjelas hubungan kekerabatan di antara spesies-spesies *Radopholus*, sebagaimana telah terbukti pada kelompok nematoda lain [19-20].

KESIMPULAN

Data morfologi konvensional dari karakter kualitatif ataupun kuantitatif berupa pengukuran linear berbagai bagian tubuh belum memadai untuk digunakan dalam analisis filogenetik spesies-spesies *Radopholus*. Pohon filogenetik yang dihasilkan tidak memiliki resolusi dan reliabilitas yang tinggi. Karena itu, perlu dicari karakter morfologi tambahan dengan menerapkan berbagai teknik dan metode lain untuk mendapatkan karakter morfologi yang mengandung informasi filogenetik. Selain itu, karakter molekuler tampaknya akan dapat memberikan kontribusi yang penting, dan saling mengecek serta saling melengkapi dengan karakter morfologi, dalam mengungkapkan hubungan filogenetik spesies-spesies *Radopholus*.

PUSTAKA

- [1] Ryss, AY and Wouts, WM. 1997. The genus *Radopholus* (Nematoda: Pratylenchidae) from native vegetation in New Zealand, with descriptions of two new species. *International Journal of Nematology*, 7(1): p. 1-17.
- [2] Siddiqi, MR. 2000. *Tylenchida. Parasites of Plants and Insects*. 2nd ed. New York: CABI Publishing. vii+833.
- [3] Siddiqi, R. 1964. *Radopholus williamsi* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae), a parasite of sugarcane roots at L'Etoile, Mauritius. *Indian Journal of Entomology*, 26((2)): p. 207-208.
- [4] Hunt, DJ, Bridge, J, and Machon, J. 1989. On *Achlysiella*, a new genus of obese Pratylenchidae (Nematoda: Tylenchoidea). *Revue de Nematologie*, 12: p. 401-407.
- [5] Ebsary, BA. 1991. *Catalog of the Order Tylenchida (Nematoda)*. Publication 1869/B. Ottawa, Canada: Agriculture Canada Research Branch.
- [6] Ryss, AY. 2003. Taxonomy, evolution and phylogeny of the genus *Radopholus* (didelphic species) according to morphological data, with a key to species (Nematoda: Tylenchida). *Zoosystematica Rossica*, 11: p. 243-256.
- [7] Hillis, DM and Wiens, JJ. 2000. Molecules Versus Morphology in Systematics, in *Phylogenetic Analysis of Morphological Data*, J.J. Wiens, (Editor). Smithsonian Institution Press: Washington and London. p. 1-19.
- [8] Sanderson, MJ. 1995. Objections to Bootstrapping Phylogenies: A Critique. *Systematic Biology*, 44(3): p. 299-320.

- [9] Farris, JS. 1979. The Information Content of the Phylogenetic System. *Systematic Zoology*, 28(4): p. 483-519.
- [10] Ryss, AY and Karnkowski, W. 2010. Observations on *Radopholus bridgei* Siddiqi & Hahn, 1995 intercepted in exotic aquarium plants imported to Poland. *Nematology*, 12(6): p. 827-833.
- [11] Swofford, DL. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using parsimony (*and other Methods). Version 4. . Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts.
- [12] Sanderson, MJ and Donoghue, MJ. 1989. Patterns of Variation in Levels of Homoplasy. *Evolution*, 43(8): p. 1781-1795.
- [13] Rohlf, FJ. 2002. Geometric Morphometrics and Phylogeny., in *Morphology, Shape and Phylogeny*, N. MacLeod and P.L. Forey, (Editors). Taylor & Francis: London. p. 175-193.
- [14] Garcia-Cruz, J and Sosa, V. 2006. Coding quantitative character data for phylogenetic analysis: A comparison of five methods. *Systematic Botany*, 31(2): p. 302-309.
- [15] Goloboff, PA, Mattoni, CI, and Quinteros, AS. 2006. Continuous characters analyzed as such. *Cladistics*, 22: p. 589-601.
- [16] Goloboff, PA, Farris, JS, and Nixon, K. 2003. T.N.T. Tree Analysis Using New Technology. Program and documentation.: <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/tnt>.
- [17] Decraemer, W and Hunt, DJ. 2006. Structure and Classification, in *Plant Nematology*, R.N. Perry and M. Moens, (Editors). CAB International: Wallingford, UK.
- [18] Baldwin, JG, Nadler, SA, and Adams, BJ. 2004. Evolution of Plant Parasitism among Nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 42: p. 83-105.
- [19] Subbotin, SA, Madani, M, Krall, E, Sturhan, D, and Moens, M. 2005. Molecular diagnostics, taxonomy, and phylogeny of the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* species complex based on the sequences of the Internal Transcribed Spacer-rDNA. *Phytopathology*, 95: p. 1308-1315.
- [20] Subbotin, SA, Ragsdale, EJ, Mullens, T, Roberts, PA, Mundo-Ocampo, M, and Baldwin, JG. 2008. A phylogenetic framework for root lesion nematodes of the genus *Pratylenchus* (Nematoda): Evidence from 18S and D2-D3 expansion segments of 28S ribosomal RNA genes and morphological characters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(2): p. 491-505.

ISOLASI DAN DETEKSI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN AZOTOBACTER SP.

ISOLATION AND DETECTION OF NITROGEN-FIXING BACTERIA AZOTOBACTER SP.

Ahmad Suryadi ¹, Annisa Dwiana ², Oktavia Damayanti ³, Achmad Alfiyan

Institut Pertanian Bogor, Bogor^{1*}
ahmadsuryadi246@gmail.com dan Jl. Raya Darmaga Kampus IPB Darmaga Bogor
(16680 ,+6285710708386)
Institut Pertanian Bogor, Bogor²
Institut Pertanian Bogor, Bogor³

ABSTRACT

Bacteria contribute in providing a variety of nutrients including nitrogen which is needed by the plants. There are living bacteria associated with plants, water, and sediment. However there is also a free-living nitrogen-fixing bacteria in the soil that *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, and *Beijerinckia*. Nitrogen-fixing bacteria have the nitrogenase enzyme to reduce nitrogen gas from the air into ammonia that can be utilized by bacteria and plant cells in nitrogen metabolism. The purpose of research is to isolate nitrogen-fixing bacterium *Azotobacter* sp. found around the roots of plants from Taman Wisata Alam Telaga Warna, Puncak, Bogor. The method used in this research starts with bacteria in a medium enriched Lacto Glucose Infused (LGI) which is a liquid medium for growth of *Azotobacter*, then performed serial dilutions up to 10⁻⁵ dilution rate. Nine soil samples were isolated four isolates suspected of *Azotobacter* sp. with characterize Gram negative and the shape diplococcus or diplobasilus. The ability of bacteria to produce enzyme nitrogenase analyzed by acetylene reduction method.

Keywords: Azotobacter, soil bacteria, nitrogenase, nitrogen-fixing.

ABSTRAK

Bakteri menyumbang peranan penting dalam menyediakan berbagai unsur hara termasuk nitrogen yang sangat dibutuhkan oleh tanaman. Bakteri ini ada yang hidup berasosiasi dengan tanaman, sistem perairan, dan sedimen. Namun, ada pula bakteri penambat nitrogen hidup bebas di tanah yaitu *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, dan *Beijerinckia*. Bakteri penambat nitrogen memiliki enzim nitrogenase yang berperan mereduksi gas N₂ dari udara menjadi amoniak yang dapat dimanfaatkan oleh sel bakteri dan tumbuhan dalam metabolisme nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penambat nitrogen *Azotobacter* sp. yang terdapat di sekitar perakaran tanaman yang berasal dari Taman Wisata Alam Telaga Warna, Puncak, Bogor. Metode yang digunakan pada penelitian ini dimulai dengan memperkaya bakteri dalam media *Lacto Glucose Infused* (LGI) cair yang merupakan media untuk pertumbuhan *Azotobacter*, kemudian dilakukan pengenceran serial hingga tingkat pengenceran 10⁻⁵. Dari sembilan sampel tanah berhasil diisolasi empat isolat yang diduga *Azotobacter* sp. dengan ciri Gram negatif dengan bentuk dan penataan diplokokus atau diplobasilus. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim nitrogenase dianalisis dengan metode reduksi asetilen.

Katakunci: *Azotobacter*, bakteri tanah, nitrogenase, penambat nitrogen.

PENDAHULUAN

Cagar Alam (CA) dan TWA Telaga warna terletak di Kecamatan Cisarua, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat, Indonesia. Topografi kawasan CA dan TWA Telaga Warna berupa daerah pegunungan tinggi dengan ketinggian 1400 mdpl. Keadaan lapang yang ada umumnya bukit dan bergelombang. Batuan penyusun permukaan tanah CA dan TWA telaga warna sangat dipengaruhi oleh letusan Gunung Gede Pangrango, jenis batumannya terdiri atas batuan beku vulkanik, andesit, dan basal. Tipe vegetasi TWA Telaga Warna berupa Hutan Hujan Tropis pegunungan dengan tegakan pohon yang beraneka ragam [11].

Bakteri menyumbang peranan penting dalam menyediakan berbagai unsur hara termasuk nitrogen yang sangat dibutuhkan oleh tanaman. Bakteri ini biasanya berasosiasi dengan tanaman, sistem perairan, dan sedimen. Namun, ada bakteri penambat nitrogen hidup bebas di dalam tanah yaitu bakteri fotosintetik (*Rhodospirillum*), bakteri aerobik Gram negatif (*Azotobacter*, *Azospirillum*), bakteri anaerobik fakultatif Gram negatif (*Enterobacter*), bakteri pembentuk spora (*Bacillus*), bakteri analog *Actinomyces* (*Mycobacterium*), *Klebsiella*, *Beijerinckia* [10]. Genus dari *Azotobacter* dan *Azospirillum* biasanya hidup pada tanah daerah rhizosfer [7].

Genera bakteri tersebut mengikat molekul nitrogen antara lain sebagai agen pembentuk protein. Genus dari *Azotobacter*, dan *Azospirillum* mempunyai mekanisme untuk melindungi enzim nitrogenase dari pengaruh oksigen, meskipun oksigen diperlukan untuk respirasi dan pembentukan ATP. Mekanisme ini dikenal dengan istilah perlindungan respirasi (*respiratory protection*). *Azospirillum* termasuk aerobik diazotrof, bersifat mikroaerofilik yaitu menambat nitrogen pada kondisi tekanan oksigen sangat rendah (0,007 atm atau 0,7 KPa). Sedangkan, sistem perlindungan respirasi pada *Azotobacter* memerlukan banyak substrat karbon untuk memenuhi kebutuhan oksigen dan pertumbuhannya. Beberapa spesies *Azotobacter* menghasilkan protein untuk mengikat nitrogenase dan melindunginya dari kerusakan oleh oksigen. Selain itu, beberapa bakteri aerobik diazotrof menghasilkan koloni besar dan polisakarida ekstraselular pada media agar-agar bebas nitrogen yang berfungsi sebagai penghalang, sehingga bagian dalam koloni terbebas dari oksigen [4]. Tujuan dari penelitian ini untuk mengisolasi bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas di tanah dan sekitar perakaran tanaman Taman Wisata Alam Telaga Warna.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dilakukan di Taman Wisata Alam (TWA) Telaga Warna dan di sekitar perkebunan teh PT Ciliwung. Tanah diambil pada daerah rhizosfer atau pada kedalaman 15-20 cm dari permukaan tanah yang dekat dengan perakaran. Pengambilan tanah dilakukan secara acak dan pada permukaan tanah yang unik.

Sembilan sampel tanah sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam 50 mL media *Lacto Glucose Infused* (LGI) cair (tanpa agar dan BTB). Komposisi media LGI untuk 1000 mL media yaitu sukrosa 20 g; K_2HPO_4 0,015 g; KH_2PO_4 0,015 g; $CaCl_2$ 0,019 g; $MgSO_4$ 0,209 g; Na_2MoO_4 0,002 g; $FeCl_2$ 0,019 g; $CaCO_3$ 1 g; agar 15 g; Bromtimol Biru (BTB) 2 mL [9]. Tujuan dimasukkannya tanah ke dalam media LGI cair adalah untuk memperkaya bakteri penambat nitrogen bebas yang terdapat di dalam tanah. Kultur diinkubasi pada inkubator goyang pada suhu kamar ($\pm 25^\circ C$) selama tiga hari untuk mengoptimalkan

pertumbuhannya. Kultur pengayaan dilakukan pengenceran sebanyak dua kali hingga 10^{-2} sebelum dicawakan untuk penghitungan bakteri dengan metode *Total Plate Count* atau hitungan cawan. Satu sampel tanah tidak diberi perlakuan pengayaan bakteri, tetapi dilakukan pengenceran langsung untuk penghitungan bakteri. Sebanyak 1 g tanah langsung dimasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis untuk pengenceran sebanyak 5 kali hingga 10^{-5} . Sebanyak 0.1 ml kultur dari setiap pengenceran serial disebar di atas media LGI padat. Biakan cawan ditumbuhkan selama tiga hari. Isolat yang tumbuh dan memiliki bentuk morfologi koloni yang berbeda diambil dan dimurnikan kembali dengan metode gores kuadran sampai diperoleh biakan murni [3].

Biakan murni diamati bentuk morfologi selnya melalui pewarnaan Gram. Kaca preparat ditetesi dengan akuades. Kemudian, sel bakteri dioleskan pada kaca preparat dan difiksasi di atas api. Sel bakteri di tetesi dengan ungu kristal selama satu menit, lalu dibilas dengan akuades. Setelah itu sel bakteri di tetesi dengan iodine selama dua menit, dibilas dengan akuades. Sel bakteri di tetesi kembali dengan alkohol dan secara cepat dibilas dengan akuades. Tahapan terakhir pewarnaan yaitu dengan penggunaan safranin yang ditetaskan pada sel bakteri selama 30 detik lalu dibilas dengan akuades. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 1000x dengan tambahan minyak imersi. Sel bakteri digoreskan ke media LGI padat miring untuk disimpan sebagai koleksi. Biakan setiap bakteri dilakukan secara duplo atau dua kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koloni bakteri di media LGI yang cukup banyak, terlihat perubahan pada warna media dalam waktu 24 jam dengan suhu yang cocok untuk pertumbuhan bakteri sekitar 30°C [2]. Media berubah warna dari hijau kebiruan menjadi kuning disebabkan bakteri penambat nitrogen menghasilkan asam organik yang merubah indikator bromtimol biru (BTB) dari warna biru menjadi warna kuning [1].

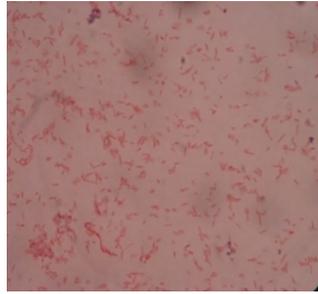
Beberapa komposisi media LGI memiliki peranan penting untuk kelangsungan hidup bakteri penambat nitrogen bebas. Senyawa Na_2MoO_4 pada media LGI berfungsi sebagai sumber Molibdenum yang merupakan kofaktor enzim nitrogenase [6]. Senyawa lainnya ialah CaCO_3 yang berfungsi sebagai penyangga media LGI dengan sifat yang tidak dapat larut [5]. Komposisi media LGI lengkap bagi pertumbuhan *Azotobacter* yang dapat hidup dengan nitrogen bebas.

Spesies *Azotobacter* yang tumbuh pada media LGI memiliki sistem perlindungan respirasi dari oksigen yang terdapat di udara. Beberapa spesies *Azotobacter* menghasilkan protein untuk mengikat nitrogenase dan melindunginya dari kerusakan oleh oksigen. Selain itu, beberapa bakteri aerobik diazotrof menghasilkan koloni besar dan *gummy* (ekstraselular polisakarida) pada media agar bebas nitrogen yang berfungsi sebagai penghalang, sehingga bagian dalam koloni terbebas dari oksigen [9].

Sebanyak 21 isolat bakteri berhasil dimurnikan dan tumbuh dengan baik pada media LGI. Isolat-isolat yang memiliki ciri-ciri Gram negatif sebanyak 11 isolat, sedangkan Gram positif sebanyak 10 isolat. Semua isolat yang didapatkan dipindahkan pada media LGI agar-agar miring setelah diperoleh biakan murni dari media cawan.

Isolat yang diduga sebagai *Azotobacter* ialah isolat 1022, 1031, dan 1044. Isolat ini menunjukkan bentuk batang, memiliki penataan diplobasilus dan Gram negatif. Morfologi sel dari *Azotobacter* dengan penggunaan mikroskop elektron memiliki bentuk batang dan produksi alginat atau lendir membentuk mikrokoloni [8]. Bentuk sel

Azotobacter selain batang ialah diplokokus seperti pada isolat 1034. Spesies *Azotobacter chroococcum* memiliki yang bentuk sel diplokokus.



Gambar 1 Isolat bakteri 1031 yang diduga *Azotobacter*. Pengamatan pada perbesaran mikroskop 1000x.

Tabel 1 Isolat-isolat bakteri yang berhasil dimurnikan dan karakteristiknya

No	Isolat	Gram	Bentuk Sel	Penataan Sel
1	1011	Positif	Batang	Diplobasilus
2	1012	Negatif	Kokobasil	Tunggal
3	1014	Positif	Batang	Diplobasilus
4	1015	Negatif	Kokobasil	Tunggal
5	1021	Negatif	Batang	Tunggal
6	1022	Negatif	Batang	Diplobasilus
7	1023	Positif	Batang	Tunggal
8	1024	Positif	Batang	Diplobasilus
9	1026	Negatif	Batang	Tunggal
10	1031	Negatif	Batang	Diplobasilus
11	1032	Positif	Batang	Tunggal
12	1033	Positif	Batang	Tunggal
13	1034	Negatif	Kokus	Diplokokus
14	1035	Positif	Batang	Tunggal
15	1036	Negatif	Batang	Tunggal
16	1041	Negatif	Batang	Tunggal
17	1042	Positif	Batang	Diplobasilus
18	1043	Positif	Batang	Diplobasilus
19	1044	Negatif	Batang	Diplobasilus
20	1045	Positif	Kokus	Tunggal
21	1046	Negatif	Kokus	Tunggal

Isolat lainnya yang tumbuh pada media LGI diduga dapat menambat gas nitrogen dari udara, karena media LGI tidak mengandung senyawa sebagai sumber N. Pengamatan lebih lanjut perlu dilakukan seperti ciri-ciri fisiologis dan pengujian molekuler untuk menentukan jenis-jenis *Azotobacter* yang diisolasi.

Tabel 2 Hasil Reduksi asetilen

Isolat	Ppm/Jam
1031	Tidak terdeteksi
1034	0,107

Reduksi asetilen menggunakan media semi padat LGI. Hasil dari reduksi asetilen yang belum teridentifikasi memungkinkan karena isolat tersebut terlalu lama dalam media selama 10 hari dan media menjadi asam dan kemungkinan bakteri dalam media mati. Hasil yang ditunjukkan dengan sejumlah etilen yang merupakan hasil reduksi dari asetilen dapat disetarakan secara pasti dengan reduksi nitrogen pada proses fiksasi nitrogen. metode reduksi asetilen ini cenderung lebih murah dan dapat dilakukan secara berkala atau dengan waktu periode pengukuran yang ditentukan.

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Sebanyak 21 isolat bakteri dari sampel tanah yang diambil di TWA Telaga Warna yang dapat tumbuh pada media LGI. Isolat bakteri tersebut diduga merupakan *Azotobacter* yang merupakan bakteri penambat nitrogen bebas. Berjumlah empat isolat, yaitu 1022, 1031, 1034, dan 1044. Isolat-Isolat yang didapat dapat diuji dan digunakan untuk membantu penambatan nitrogen yang berguna untuk tanaman dan mengurangi penggunaan pupuk N kimia.

PUSTAKA

- [1] Aquilanti L, Favilli F, Clementi F. 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biology & Biochemistry* 36:1475–1483.
- [2] Glick BR. 1999. *Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria*. London (UK): Imperial College Press.
- [3] Hadietomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta (ID): Gramedia.
- [4] Hastuti R.D. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor (ID): Balitbangtan.
- [5] Madigan MT *et al.*2012. *Brock Biology of Microorganisms*. San Francisco (US): Benjamin Cummings.

- [6] Maynard RH *et al.*1994. Mo-Independent Nitrogenase 3 Is Advantageous for Diazotrophic Growth of *Azotobacter vinelandii* on Solid Medium Containing Molybdenum. *Journal of Bacteriology* vol 176 no.17: 5583-5586.
- [7] Metasari K.2012. Eksplorasi bakteri penambat nitrogen non simbiosis dari tanah kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya [skripsi]. Surabaya (ID): Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- [8] Prompaphagorn A. 2008. Alginate production by *Azotobacter* sp. and its application in Enzyme Immobilization [thesis]. Nakhon Ratchasima (TH): Postgraduate Programme in Biotechnology, Suranaree University of Technology.
- [9] Saraswati R, Husen E, Simanungkalit RDM. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: (ID):Balitbang.
- [10] Simanungkalit et al. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Bogor (ID):Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- [11] Wardiatno Y., I. Anggraeni, R. Ubaidillah, I. Maryanto. 2003. Profil dan permasalahan perairan tergenang (situ, rawa, danau). Didalam: Ubaidillah R., Maryanto I., penyunting. *Manajemen Bioregional Jabodetabek: Profil dan Strategi Pengelolaan Situ, Rawa, Danau*. Bogor (ID): LIPI. Hlm. 101-105.

POLIMORFISME GEN Mx PADA BURUNG-BURUNG AIR LIAR DI CAGAR ALAM PULAU DUA PROPINSI BANTEN

POLYMORPHISM of Mx GENE on WILD WATERBIRDS at PULAU DUA NATURE REVERSE

Dewi Elfidasari¹, Retno D. Soejoedono², Sri Murtini², Dedy D. Solihin³

¹Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia
Jl. Sisingamangaraja Kebayoran Baru Jakarta 12110

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Jl. Agathis Kampus Darmaga Institut Pertanian Bogor

³Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agathis Kampus Darmaga Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

The role of Mx gene that influence the mechanisms of resistance to certain viruses have been widely studied in a variety of vertebrates. Some researchers have proved the existence of gen Mx in animals infected with the AI viruses subtype H5N1 such as chickens and ducks. This gene is activated in the event of an infection AI virus. The chicken Mx gene was located on a chromosome 1 in 20.767 bp, consisting of 13 exon. Resistance Mx genes against the AI virus found in exon 13 that have single mutation. In wild waterbirds there is no information about mechanism of Mx gene. This research aims to analyze the polymorphism of Mx gene on wild waterbirds. The methods used in this research was PCR-RFLP with universal primer pair of F2 and NE-NE-R2/R, and followed by restriction using enzyme RsaI. The results showed that the Mx genes was detected on 8 wild waterbirds that lived in the Pulau Dua Nature Reserve (CAPD), there were no Mx gene polymorphism in wildwaterbirds. This proves that the existence of Mx genes on wild waterbirds in influencing mechanism of resistance to exposure AI viruses subtype H5N1 were different with chicken Mx gene.

Keywords : polymorphism of Mx gene, wild waterbirds, AI virus subtype H5N1, two island nature reserve

ABSTRAK

Peran gen Mx sebagai gen pengatur mekanisme resistensi terhadap virus tertentu telah banyak dipelajari. Gen Mx sebagai pengendali sistem pertahanan tubuh organisme bersifat antiviral terhadap beberapa jenis virus termasuk virus AI subtype H5N1. Sejumlah peneliti telah membuktikan keberadaan gen Mx pada hewan-hewan yang terinfeksi virus AI subtype H5N1 seperti ayam dan bebek. Gen tersebut teraktivasi pada saat terjadi infeksi virus AI. Sifat resistensi gen Mx pada ayam terhadap virus AI ditemukan pada exon 13 nukleotida nomor 1.892 yang mengalami mutasi basa transisi (*single mutation*). Pada burung air liar belum diperoleh informasi mekanisme resistensi oleh gen Mx tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa polimorfisme gen Mx pada burung air liar. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah PCR-RFLP dengan sepasang primer universal NE-F2 dan NE-R2/R, yang dilanjutkan dengan pemotongan produk PCR menggunakan enzim RsaI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen Mx pada 8 jenis burung air liar penghuni Cagar Alam Pulau Dua (CAPD) burung air liar tidak menunjukkan adanya polimorfisme gen Mx yang dijumpai pada ayam. Hal ini membuktikan bahwa keberadaan gen Mx pada burung air liar dalam mempengaruhi mekanisme resistensi terhadap paparan virus AI subtype H5N1 berbeda dengan yang terdapat pada ayam.

Kata kunci: polimorfisme gen Mx, burung air liar, virus AI subtype H5N1, Cagar Alam Pulau Dua

PENDAHULUAN

Mekanisme resisten suatu organisme melibatkan peran protein tertentu yang berfungsi sebagai pengendali sistem ketahanan tubuh organisme. Salah satu protein yang memiliki peran tersebut adalah protein Mx. Protein Mx merupakan bagian dari *innate immune system* yang diketahui memiliki kemampuan menghambat replikasi berbagai macam virus. Fungsi khusus protein Mx sebagai pertahanan terhadap virus terjadi dari hasil interaksi langsung antar bagian terminus karboksil protein Mx yang dimiliki organisme dengan virus patogen yang spesifik spesies [1] [2].

Gen Mx akan membentuk Protein Mx yang bersifat sebagai anti viral khususnya influenza pada sejumlah hewan. Gen tersebut merupakan satu-satunya gen yang mengatur resistensi terhadap myovirus [3]. Gen Mx pada beberapa organisme berperan dalam mengendalikan kemampuan hewan tersebut dalam membentuk mekanisme pertahanan terhadap virus AI. Keberadaan gen ini juga akan menentukan sifat resisten atau rentan pada organisme yang mengalami invasi virus karena terdapat elemen-elemen yang berperan membentuk antivirus dan secara langsung akan memberi respon terhadap masuknya virus AI ke dalam tubuh [4] [5] [6] [7].

Sejumlah peneliti juga telah melakukan eksplorasi untuk memperoleh informasi peran dan fungsi gen Mx pada berbagai jenis hewan dan jenis virus yang dihadapinya. Gen Mx1 pada mencit dikontrol oleh dua alel yaitu Mx1⁺ dan Mx1⁻. Alel Mx1⁺ sangat resisten terhadap influenza dan ditemukan umumnya pada mencit liar, sebaliknya alel Mx1⁻ (sangat rentan terhadap virus influenza) umum dijumpai pada mencit laboratorium. Alel Mx1⁺ memberi kode kepada interferon (IFN)-alpha dan beta untuk mengaktivasi gen Mx1 yang berfungsi memblokir replikasi virus di dalam inti sel [8].

Gen Mx pada unggas pertama kali diketahui sejak tahun 1980. Pada ayam Gen Mx tersebut terletak pada kromosom 1 dengan panjang fragmen 20.767 bp, terdiri dari 13 exon, dengan *coding region* sebanyak 2.115 bp dan sisanya 705 asam amino [9].

Sifat resistensi terhadap virus AI ditemukan pada exon 13 nukleotida nomor 1.892 yang mengalami mutasi basa transisi (*single mutation*) [4] [10]. Mutasi titik tersebut mutasi substitusi yang bersifat transisi, terjadi dari basa nukleotida purin Adenin (A) menjadi basa nukleotida purin Guanin (G). Mutasi pada gen Mx tersebut menyebabkan perubahan triple kodon ke-631 yaitu menyandi asam amino asparagin (AAT) menjadi serin (AGT). Adanya asam amino asparagin pada nukleotida ke-1.892 tersebut menunjukkan sifat resistensi (daya tahan) ayam terhadap AI yang ditandai dengan gen Mx⁺. Mutasi asam amino dari asparagin menjadi serin akan menyebabkan ayam bersifat rentan terhadap serangan virus AI, ditandai dengan gen Mx [4] [8] [11]. Ini yang menyebabkan adanya polimorfisme panjang fragmen pada gen Mx ayam terhadap serangan virus AI sub tipe H5N1.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa polimorfisme gen Mx akibat paparan virus AI pada burung-burung air liar di kawasan Cagar Alam Pulau Dua.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi dan Purifikasi DNA total dari Sampel Darah

Ekstraksi DNA dari sampel darah burung air dilakukan dengan modifikasi metode ekstraksi fenol [12]. Sampel darah segar sebanyak 250-500 µl ditempatkan pada tabung 1,5 ml. Larutan penyangga pelisis A (0,32 sukrosa, 1% v/v Triton X-100, 5 mM MgCl₂ dan

10 mM Tris HCl) ditambahkan pada sampel dengan volume yang sama dan disentrifugasi satu menit dengan kecepatan 6500 rpm. Supernatan dibuang dan endapan ditambah dengan 200 µl larutan penyangga pencuci B atau Rinse Buffer (75 mM NaCl, 50 mM EDTA) dan dikocok sampai endapan larut. Larutan penyangga C atau Digestion Buffer (200mM NaCl, 50 mM Tris HCl, 100 mM EDTA, 1% SDS) ditambahkan sebanyak 500 µl, 15 µl Proteinase K (10 mg/ml), dan 5 µl RNAse (10 mg/ml). Inkubasi dilakukan pada suhu 55°C selama 1 malam (16 Jam).

Sampel diambil dari inkubator, ditambahkan fenol 500 µl dan dikocok 30 menit sehingga tercampur semua. Sentrifugasi dilakukan 2 menit dengan kecepatan 13.000 rpm, sehingga larutan terpisah menjadi dua. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke tabung 1,5 ml yang baru. Fenol dan kloroform ditambahkan pada volume sama ke dalam supernatant, dikocok 30 menit dan disentrifugasi pada 13.000 rpm (2 menit). Supernatan diambil dan dipindahkan ke tabung 1,5 ml yang baru dan ditambahkan Chloroform Iso Amil Alkohol 500 µl, dikocok 30 menit. Sentrifugasi dilakukan 2 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Supernatan diambil dan ditambahkan Etanol absolut 2 kali volumenya. Agar larutan tercampur merata dilakukan homogenisasi dengan cara membolakbalikan tabung (10 menit) atau sampai gumpalan putih berupa benang-benang DNA terbentuk dan disimpan dalam *freezer* (30 menit).

Langkah berikutnya adalah sentrifugasi pada 13.000 rpm (2 menit). Larutan etanol absolute dibuang dan diganti etanol 70% (600 µl), disentrifugasi pada 13.000 rpm (2 menit). Selanjutnya larutan etanol 70% dibuang dengan menggunakan pipet, pellet dikeringanginkan selama 30 menit. Larutan D atau TE (10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA dan 0,02 mg/ml RNAse) ditambahkan sebanyak 50 µl, dilakukan homogenisasi sebentar, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.

Elektroforesis DNA

Pengecekan hasil isolasi dilakukan dengan elektroforesis DNA pada gel agarose 2%. Gel dilarutkan dalam buffer TBE, ditambah ethidium bromide 0,4 µg/ml, kemudian dicetak pada gel plat yang terdapat *comb*. Gel selanjutnya diletakkan pada *chamber* elektroforesis dan dituangi bufer TBE. Sampel DNA produk PCR sebanyak 5 µl ditambah 2 µl *loading dye*, dimasukkan ke dalam sumur gel. Perangkat elektroforesis dinyalakan dengan kekuatan 100 V 50 mA selama 50 menit. Gel dibaca pada UV *transluminator* dan hasilnya didokumentasikan. Sampel DNA yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C (Sambrook *et al.* 1989). Pengecekan DNA juga dilakukan dengan menggunakan 12% *Polyacrylamide Gel Electroforesis* (PAGE) vertikal selama 4 jam dengan tegangan listrik 160 V dan visualisasi dilakukan dengan *silver staining* [13].

Analisis PCR-RFLP

Amplifikasi untuk mendeteksi *single nucleotide polymorphisme* (SNP) pada posisi nukleotida ke 1892 dari sekuen DNA gen Mx yang berada pada exon ke 13 (substitusi asam amino pada posisi 631 protein Mx) dilakukan dengan menggunakan metoda PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphysme*) yang dikembangkan oleh Seyama *et al.* (2006). Primer yang digunakan adalah *forward primer* NE-F2 dan *reverse primer* NE-R2/R menurut [14]. Amplifikasi pada kondisi predenaturasi 94°C (5 menit), denaturasi 94°C (1 menit), penempelan primer pada suhu 61°C (1 menit), *elongasi* pada 72°C (1 menit) siklus amplifikasi dilakukan selama 35 kali, dan final ekstensi 72°C (5 menit) [15].

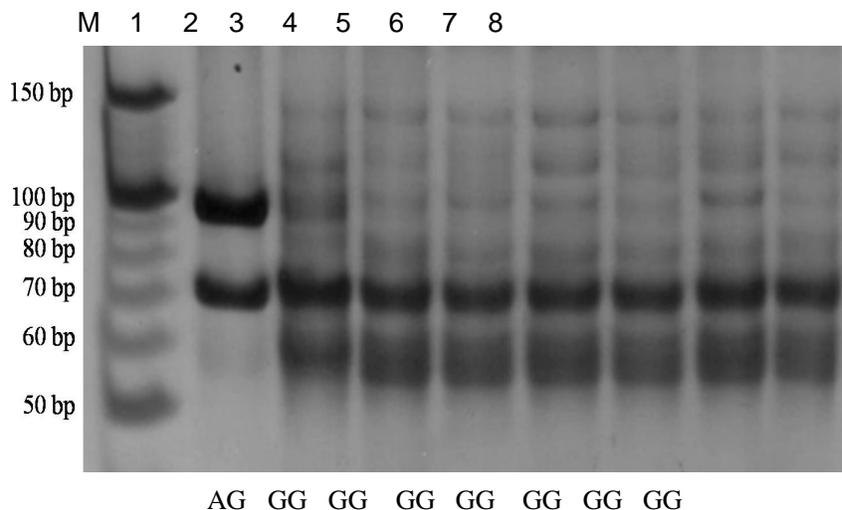
Komposisi campuran reaksi PCR dibuat dalam 30 μ l terdiri dari : 1 μ l sampel DNA; 1 μ l *forward primer*; 1 μ l *reverse primer*; 4 μ l $MgCl_2$; 0,6 μ l dNTP; 3 μ l 10x bufer PCR; dan 0,25 μ l Taq-Polimerase.

Fragmen DNA yang berhasil diamplifikasi dipotong dengan enzim restriksi RsaI, yaitu enzim yang memotong molekul DNA pada tempat yang spesifik yang bersusunan basa GT↓AC. Pengecekan hasil pemotongan produk PCR-RFLP dilakukan dengan menggunakan 12% *Polyacrylamide Gel Electroforesis* (PAGE) vertikal selama 4 jam dengan tegangan listrik 160 V dan visualisasi dilakukan dengan *silver staining* [13].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil PCR-RFLP yang dilakukan terhadap DNA entok, bebek dan delapan spesies burung air liar penetap di CAPD dengan menggunakan enzim RsaI menunjukkan satu pita pemotongan sebesar 73bp (hanya bergenotip GG) (Gambar 1). Hasil ini memberikan informasi bahwa pada burung air liar dan unggas air domestik (entok & bebek) di sekitar CAPD tidak terjadi polimorfisme karena semua fragmen terpotong hanya menghasilkan satu pita sebesar 73 bp. Pada ayam, pemotongan fragmen 73bp dengan genotip GG menunjukkan aktivitas antivirus yang rendah karena memiliki gen Mx yang sensitif (Mx^s) dan rentan terhadap serangan virus AI subtipe H5N1 [7] [14] [15]. Hal ini tidak terjadi pada bebek, entok dan burung air liar, meskipun hanya memiliki satu potongan pita yang sama (alel Mx^r) namun tidak menyebabkan kematian atau gejala klinis akibat paparan virus AI subtipe H5N1 tersebut pada burung-burung kawasan CAPD.

Protein Mx pada bebek hanya mengandung serin (AGC) yang terletak pada asam amino kodon ke-631 sehingga protein Mx pada bebek diduga “bersifat inaktif” terhadap serangan virus dan tidak memiliki peran dalam menghambat aktivitas virus [16] [17]. Hal ini disebabkan karena protein Mx tidak langsung memberi respon aktivitas antivirus pada saat masuknya virus ke dalam tubuh.



Gambar 1 Hasil PCR-RFLP dengan primer NE-F2, NE-R2/R dan enzim RsaI
Keterangan: 1=ayam, 2=entok, 3= Ca, 4= Ei, 5=Eg, 6=Bi, 7=Nn, 8=bebek; AG=Heterozigot (sensitif), GG=homozigot (rentan)

Hasil berbeda ditunjukkan pada sampel DNA ayam asal sekitar CAPD yang menjadi kontrol positif. Pada ayam dijumpai adanya dua pita pemotongan pada fragmen 100 bp dan 73bp atau genotip AG (Gambar 1). Pada ayam adanya variasi aktivitas antivirus dalam melawan virus influenza terlihat pada polimorfisme gen Mx akibat paparan atau infeksi virus AI subtipe H5N1. Sampel ayam asal CAPD yang menunjukkan dua lokasi pemotongan menerangkan bahwa ayam tersebut memiliki gen Mx resisten/sensitif terhadap serangan virus AI subtipe H5N1 karena memiliki genotip AG atau alel R. Dalam kondisi seperti ini umumnya ayam-ayam akan mampu bertahan hidup dari serangan virus AI subtipe H5N1 karena secara alamiah memiliki pertahanan tubuh terhadap virus AI [13].

Protein Mx pada bebek hanya mengandung serin (AGC) yang terletak pada asam amino kodon ke-631 [8]. Pada ayam kondisi ini akan membawa sifat sensitif akibat serangan virus AI karena memiliki gen Mx^r. Umumnya ayam dengan gen tersebut akan rentan terhadap serangan virus AI subtipe H5N1 dan akan menyebabkan kematian bagi ayam. Hal ini tidak terjadi pada bebek dan burung air liar karena protein Mx yang dimiliki tidak menunjukkan perbedaan atau meningkatkan aktivitas antiviral akibat masuknya virus. Tidak adanya peningkatan aktivitas antivirus dapat menyebabkan tidak adanya polimorfisme panjang fragmen yang menyebabkan variasi seperti yang dimiliki ayam. Protein Mx pada bebek diduga bersifat inaktif terhadap serangan virus dan tidak berperan dalam menghambat aktivitas virus karena tidak secara langsung memberikan respon aktivitas antivirus pada saat masuknya virus ke dalam tubuh [16] [17].

Protein Mx pada bebek dan burung liar memiliki peran yang sama dengan protein Mx ayam dalam mengatur respon imun bawaan, meskipun melalui mekanisme yang berbeda [18]. Mekanisme yang dilakukan pada protein Mx ayam dan bebek adalah melalui keragaman nukleotida pada lokasi tertentu. Hasil penelitian terhadap keragaman gen Mx dari lima spesies bebek di Alaska menunjukkan adanya keragaman nukleotida yang cukup tinggi pada gen Mx asal *Anas crecca carolinensis*, *A. americana*, *A. platyrhynchos*, *A. Acuta*, dan *A. Clypeata*. Secara keseluruhan terdapat 16 urutan asam amino yang berbeda pada gen Mx asal lima spesies bebek tersebut. Urutan asam amino yang unik satu sama lain dan keragaman nukleotida pada lokus Mx yang dipertahankan pada tingkat yang berbeda inilah yang diduga berpengaruh terhadap respon imun spesifik spesies, sehingga bebek memiliki kemampuan imunitas alamiah yang lebih tinggi dibandingkan ayam. Seperti telah diketahui sebelumnya bahwa aktivitas antivirus yang dilakukan protein Mx memiliki variasi antar organisme [2] [19] [20] [21]. Selain itu, protein Mx pada bebek juga berperan aktif dalam melawan virus influenza meskipun memiliki mekanisme yang berbeda dengan protein Mx pada ayam [23]. Mekanisme imun bawaan yang dilakukan gen Mx pada bebek dan burung air liar memiliki peran penting dalam membatasi infeksi virus AI subtipe H5N1 meskipun melalui aktivitas antivirus yang berbeda dengan spesies lain [4] [5] [23].

Mekanisme resistensi atau kerentanan suatu spesies terhadap penyakit dipengaruhi oleh banyak faktor dan karakteristik yang terdapat pada masing-masing inang dan virus-nya. Meski telah dilakukan sejumlah penelitian terhadap gen-gen yang mempengaruhi respon imun bawaan dan perannya dalam melawan infeksi virus AI, akan tetapi lebih banyak faktor kemungkinan lain yang mempengaruhi organisme sehingga memiliki kemampuan untuk melawan paparan dan infeksi virus [23].

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa tidak ditemukan adanya polimorfisme Gen Mx pada burung air liar penetap di CAPD akibat paparan virus AI subtipe H5N1.

PUSTAKA

- [1] Haller O, Freese M, Rost D, Nuttali PA, Kochs G. 1995. Tick-borne thogot virus infection in mice is inhibited by the orthomyxovirus resistance gene product Mx1. *J. virol* 69: 2596-2601
- [2] Lee SH, Vidal SM. 2002. Functional diversity of Mx protein: variations on a theme of host resistance to infection. *Genome Res* 12:527-530
- [3] Ding ZZ, Miao XY, Sun SD. 2006. The Advance of study on anti-avian influenza in transgenic chicken. *China Anim. Husbandry Vet. Med* 33:41043
- [4] Haller O, Freese M, Kochs G. 1998. Mx Proteins: mediators of innate resistance to RNA viruses. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 17: 220-230
- [5] Ko JH, Jin HK, Asano A, Takada A, Ninomiya A, Kida H, Hokiyaama H, Ohara M, Tsuzuki M, Masahide N, Mizutani M, Watanabe T. 2002. Polymorphisms and the differential antiviral activity of the chicken Mx gene. *Genome Res* 12:595-601
- [6] Haller O, Kochs G. 2002. Interferon-Induced Mx Proteins: Dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic* 2002: 710-717
- [7] Sartika T, Sulandari S, Zein MSA. 2011. Selection of Mx gene genotype as genetic marker for Avian Influenza resistance in Indonesian native chicken. BMS Proceeding International Symposium on Animal Genomics for Animal Health (AGAH 2010) Paris, France. 31 May – 2 June 2010. BMC Proceedings 2011, 5(Suppl 4):S37. <http://www.biomedcentral.com/1753-6561/5/S4/S37> [10 Maret 2010)
- [8] Li G, Lu L. 2011. Structural homologies of major immune-related genes between duck and chicken: Implications on differential avian resistance against influenza virus. Review. *Brazilian J. of Poultry Sci.* 13:1-8
- [9] Haller O, Amheiter H, Lindenmann J, Greaser I. 1980. Host gene influences sensitivity to interferon action selectively for influenza virus. *Nature* 283: 660-662
- [10] Livant EJ, Avendano S, McLeod S, Ye X, Lamont SJ, Dekkers JC, Ewald SJ. 2007. Mx1 exon 13 polymorphisms in broiler breeder chickens and associations with commercial traits. *Anim. Gene.* 38:177-179
- [11] Li XY, Qu LJ, Hou ZC, Yao JF, Xu GY, Yang N. 2007. Genomic structure and diversity of the chicken Mx gene. *Poult Sci* 86:786-789.
- [12] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- [13] Zein MSA, Sulandari S. 2008. Distribusi G/A Snp pada posisi nukleotida ke 1892 dari sekuen DNA Gen Mx ayam hutan Indonesia. *Med Ked Hew.* 24:132-238
- [14] Seyama T, Ko JH, Ohe M, Sasaoka N, Okada A, Gomi H, Yoneda A, Ueda J, Nishibori M, Okamoto S, Maeda Y, Watanabe T. 2006. Population research of genetic polymorphism at amino acid position 631 in chicken Mx protein with differential antiviral activity. *Biochem Genet* 44:437-448.

- [15] Sulandari S, Zein MSA, Astuti D, Sartika T. 2009. Genetic Polymorphism of the Chicken Antiviral Mx Gene in A Variety of Indonesian Indigenous Chicken Breeds. *J. Veteriner* 10:50-56
- [16] Kida H, Yanagawa R, Matsuoka Y. 1990. Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response. *Infec. and Imm.* 30:547-553
- [17] Suarez DL, Schultz-Cherry S. 2000. Immunology of avian influenza virus : a review. *Develop & Comp. Immun.* 24:269-283
- [18] Dillon D, Runstadler J. 2010. Mx gene diversity and influenza association among five wild dabbling duck species (*Anas* spp.) in Alaska. *Infect. Genet. Evol* 10:1085-1093
- [19] Kim CH, Johnson MC, Drennan JD, Simon BE, Thomann E, Leong JC. 2000. DNA vaccines encoding viral glycoproteins induce nonspecific immunity and Mx protein synthesis in fish. *J. of Virol.* 74: 7048-7054
- [20] Asano A, Ko JH, Morozumi T, Hamashima N, Watanabe T. 2002. Polymorphisms and the antiviral property of porcine Mx1 protein. *J. Vet. Med. Sci* 64:1085-1089
- [21] Nakamura T, Asano A, Okano S, Ko JH, Kon Y, Watanabe T, Agui T. 2005. Intracellular localization and antiviral property of canine proteins. *J. of Interferon & Cytokine Res.* 25:169-173
- [22] Bazzigher L, Schwarz A, Staeheli P. 1993. No enhanced influenza virus resistance of murine and avian cells expressing cloned duck Mx protein. *Virology* 195:100-112
- [23] Haller O, Staeheli P, Kochs G. 2008. Protective role of interferon-induced Mx GTPases against influenza viruses. *Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.* 28: 219-231

KAJIAN MORFOLOGI DARI *PUNTIUS BINOTATUS* (VALENCIENNES, 1842) DI SUMATERA BARAT

(MORPHOLOGICAL STUDY OF *PUNTIUS BINOTATUS* (VALENCIENNES, 1842) IN WEST SUMATRA)

Dewi Imelda Roesma, Dwindi Kurniasih Vitri, Syaifullah

Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang
dewi_roesma@yahoo.com

ABSTRACT

Study on freshwater fish variation is closely related with the habitat condition that also influenced by its geography condition. As one of freshwater fish species that has wide distribution, *Puntius binotatus* (Valenciennes, 1842) (Cyprinidae) was interesting to be study. In order to know whether the existence of Bukit Barisan mountain range in West Sumatra region plays a role in morphological variation of *P. binotatus*, the PCA analysis on its morphological characters was conducted. The result showed that the existence of Bukit Barisan mountain range in West Sumatra was not completely act as barrier, the Bukit Barisan mountain range has gave an effect on *P. binotatus* morphology related to the differences of its habitat geography.

Keywords: Freshwater fish, morphological variation, genetic variation

ABSTRAK

Kajian mengenai variasi ikan air tawar sangat erat kaitannya dengan kondisi habitat yang sekaligus dipengaruhi oleh kondisi geografinya. Sebagai salah satu jenis ikan air tawar yang mempunyai distribusi yang luas, *Puntius binotatus* (Valenciennes, 1842) (Cyprinidae) menarik untuk dipelajari. Untuk mengetahui apakah keberadaan pegunungan Bukit Barisan di wilayah Sumatera Barat berperan dalam variasi morfologi *P. binotatus* maka dilakukan analisis PCA pada karakter morfologinya. Diperoleh kesimpulan bahwa keberadaan pegunungan Bukit Barisan di wilayah Sumatera Barat tidak berperan penuh sebagai barier yang menyebabkan adanya variasi antar populasi di bagian barat dan timurnya, tetapi pegunungan Bukit Barisan telah memberikan efek terhadap morfologi *P. binotatus* yang berhubungan dengan perbedaan geografi habitat dimana ikan ini berada.

Kata kunci: Ikan air tawar, variasi morfologi, variasi genetic

PENDAHULUAN

Dewasa ini, pulau Sumatera merupakan salah satu tujuan utama dari para peneliti dengan berbagai bidang kajian khususnya mengenai keanekaragaman flora dan faunanya baik di daratan maupun di perairan. Hal ini disebabkan karena kekhasan kondisi geografi dari pulau Sumatera. Sebagaimana diketahui, di pulau Sumatera terdapat gugusan Bukit Barisan yang membujur dari utara pulau Sumatera hingga ke selatan, terbentuk sejak 50 juta tahun yang lalu hingga 2.5 juta tahun yang lalu [1] yang mengakibatkan pulau Sumatera terbagi menjadi dua sisi barat dan timur. Selain itu, sebagai wilayah yang aktif, pegunungan Bukit Barisan selalu mengalami dinamika

tektonik-vulkanik [2]. Salah satu fauna air tawar yang merupakan objek menarik untuk dikaji adalah ikan *Puntius binotatus* Valenciennes (1842).

Ikan *P. binotatus* merupakan salah satu jenis ikan yang habitatnya lebih dominan di bagian hulu sungai dan danau dengan karakter perairan yang jernih, aliran deras, substrat berbatu atau berpasir dan berlumpur [3] [4]. Karakter *P. binotatus* antara lain mempunyai empat sungut, memiliki tubuh yang licin dengan gurat sisi yang sempurna, antara gurat sisi dan awal sirip dorsal terdapat 4½ sisik, terdapat bintik hitam pada bagian depan sirip dorsal dan bagian tengah batang ekor, ikan muda dan dewasa memiliki 2-4 titik atau lonjong di tengah badan, jari-jari terakhir sirip dorsal mengeras dan bergerigi [5].

Berdasarkan hasil analisis molekuler dengan menggunakan gen sitokrom b, disimpulkan bahwa bahwa *P. binotatus* yang diperoleh dari beberapa lokasi di Sumatera Barat memperlihatkan adanya variasi genetik dengan perbedaan sekuen DNA antara sampai 7.8% [6]. Rata-rata jarak genetik diantara jenis ikan dalam famili Cyprinidae adalah 10.9% [7]. Selain itu, dilaporkan pula bahwa *P. binotatus* merupakan spesies yang karakternya sangat bervariasi [5] [8].

Variasi genetik maupun fenotip antar spesies dapat saja terjadi karena adanya perbedaan lingkungan dimana spesies tersebut berada. Sehubungan dengan fenotip, dinyatakan bahwa pada spesies yang memiliki daerah distribusi yang luas, variasi dapat muncul karena adanya perbedaan geografi. Dengan semakin jauhnya jarak antar populasi maka pada umumnya perbedaan fenotipnya akan semakin besar [9]. Perbedaan fenotip ini dapat diamati dengan melakukan pengamatan pada karakter morfologinya.

Dalam laporan mengenai analisis morfologi ikan *P. binotatus* dari beberapa lokasi di Sumatera Barat, disimpulkan bahwa dari 32 karakter morfologi yang dianalisis, terdapat 28 karakter yang bervariasi secara signifikan yaitu 19 karakter morfometri dan sembilan karakter meristik. Lokasi-lokasi asal sampel tersebut adalah Salibutan, Batang Kuranji, Sungai Asam, Danau Maninjau, Batang Gumanti dan Batang Sinamar dengan tingkat disimilaritas karakter sampel antar lokasi nya 9.38% hingga 68.75% [10].

Dengan mengelompokkan enam lokasi asal sampel ke dalam wilayah barat dan timur pegunungan Bukit Barisan, maka dilakukan analisis UPGMA dan PCA terhadap karakter-karakter morfologi ikan *P. binotatus*. Hasil pengujian ini dapat digunakan untuk menjelaskan variasi morfologi serta peran pegunungan Bukit Barisan pada spesies ini khususnya dan ikan air tawar di Sumatera Barat pada umumnya.

METODE PENELITIAN

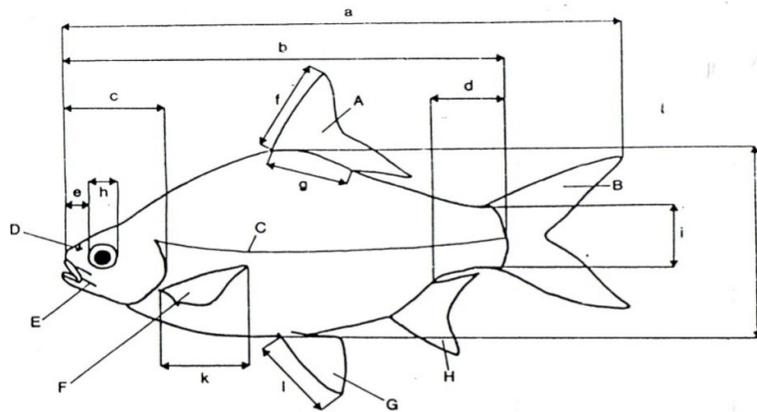
Sampel yang digunakan adalah sampel yang telah dikoleksi sebelumnya di Sumatera Barat [6], [10]. Lokasi asal sampel adalah Sungai Salibutan, Batang Kuranji, Sungai Asam, Danau Maninjau, Batang Gumanti dan Batang Sinamar. Daerah dari pengambilan sampel sudah mewakili wilayah barat dan timur Sumatera Barat.

Tabel 1. Lokasi pengkoleksian sampel *Puntius binotatus* pada beberapa daerah di Sumatera Barat

No	Lokasi	Posisi Geografis	Ketinggian
1	Salibutan, Sikabur	00°47'00,0"S, 100°21'00,0"E	250 m dpl
2	Batang Kuranji, Pauh	00°55'37,5"S, 100°25'47,5"E	120 m dpl
3	Lubuk Sao, Maninjau	00°18'34,8"S, 100°07'03"E	247 m dpl
4	Sungai Asam, Sicincin	00°34'42,1"S, 100°16'50,3"E	76 m dpl
5	Batang Gumanti,	01°04'28,0"S, 100°46'47,4"E	1513m dpl
6	Batang Sinamar	01°39'00,3"S, 100°38'00,8"E	510 m dpl

Pengumpulan sampel dilakukan dengan berbagai alat tangkap sesuai dengan kondisi perairan [12]. Pengukuran sampel dilakukan di Laboratorium Genetika dan Sitologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang. Pengukuran dan penghitungan karakter morfologi dilakukan terhadap sampel yang telah diawetkan dalam larutan alkohol 70% [12],[13] dan [14]. Pengukuran morfometrik dan penghitungan meristik dilakukan pada salah satu sisi ikan dengan menggunakan kaliper digital sesuai dengan prosedur dan dalam ketelitian 0.01 mm [13], [12] dan [15].

Identifikasi karakter-karakter yang memperlihatkan diferensiasi yang signifikan dari semua populasi yang diperbandingkan dilakukan dengan Uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U [16]. Untuk memperoleh pohon pengelompokan secara fenetik di analisis dengan metode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) menggunakan program NTSYS Ver.2.02i [17]. Analisis PCA (Principle Component Analysis) diolah dengan program MVSP 3.1.



Gambar 1 Bagian-bagian morfologi utama yang digunakan dalam identifikasi. Keterangan: (A) Sirip dorsal, (B) Sirip ekor, (C) Gurat sisi, (D) Nostril, (E) Sungut, (F) Sirip dada, (G) Sirip perut, (H) Sirip anal, (a) Panjang total, (b) Panjang standar, (c) Panjang kepala, (d) Panjang batang ekor, (e) panjang moncong, (f) Tinggi sirip dorsal, (g) Panjang pangkal sirip dorsal, (h) Diameter mata, (i) Tinggi batang ekor, (j) Tinggi badan, (k) panjang sirip dada, (l) Panjang sirip perut [5]

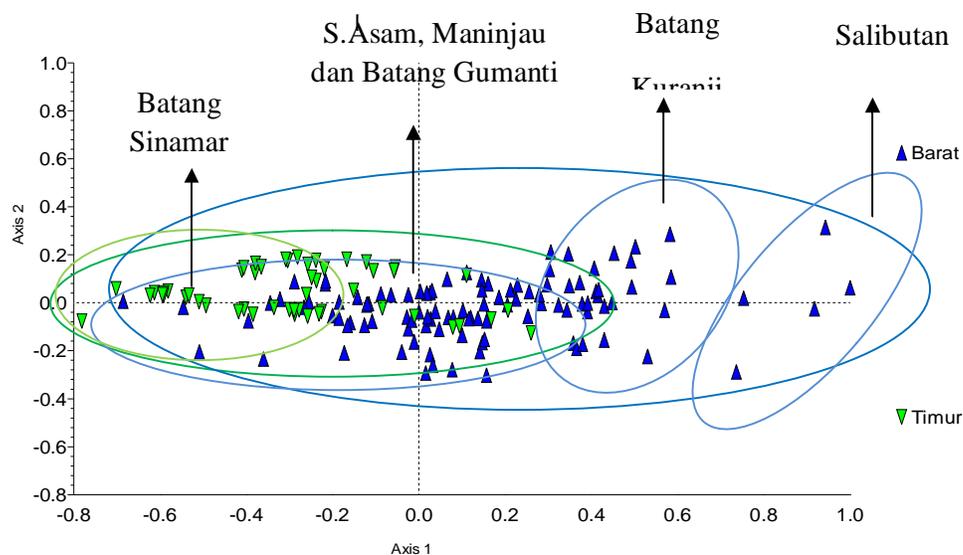
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam analisis data, lokasi asal sampel dibagi menjadi kelompok geografis bagian Barat dan Timur pegunungan Bukit Barisan. Kelompok lokasi tersebut adalah Salibutan, Batang Kuranji, S.Asam dan Maninjau (barat), Batang Gumanti dan Sinamar (timur). Diperoleh hasil uji Mann-Whitney *U* yang memperlihatkan adanya variasi pada 17 karakter morfologi *Puntius binotatus*. Dari 17 karakter morfologi yang bervariasi tersebut, terdapat delapan karakter morfometri dan sembilan karakter meristik. Delapan karakter morfometri yaitu panjang standar (PS), panjang kepala (PK), panjang sebelum sirip pelvik

(PsSPe), tinggi batang ekor (TBE), diameter mata (DM), panjang sirip ekor bagian tengah (PSEBT), panjang sungut rahang atas (PSuRA) dan panjang sungut moncong (PSuM). Sembilan karakter meristik terdiri dari jumlah sisik sebelum sirip dorsal (PreD), jumlah sisik sepanjang gurat sisi (LR), jumlah sisik awal sirip dorsal (AD), jumlah sisik awal sirip pelvik (APe), jumlah sisik melingkar pada batang ekor (BTE), jumlah jari-jari bercabang pada sirip dorsal (D), jumlah jari-jari bercabang pada sirip pelvik (Pe), jumlah jari-jari bercabang pada sirip pektoral (P) dan jumlah jari-jari bercabang pada sirip anal (A).

Dari hasil analisis PCA diketahui adanya variasi ukuran dan bentuk ikan *P. binotatus* yang menimbulkan adanya variasi karakter morfologi. Karakter-karakter yang memperlihatkan adanya variasi morfologi ikan *P. binotatus* terdiri dari sembilan karakter morfologi. Diantaranya terdiri dari satu karakter morfometri dan delapan karakter meristik. Karakter morfometri yaitu panjang standar (PS), delapan karakter meristik yaitu jumlah sisik sepanjang gurat sisi (LR), jumlah sisik awal sirip dorsal (AD), jumlah sisik awal sirip pelvik (APe), jumlah sisik melingkar pada batang ekor (BTE), jumlah jari-jari bercabang sirip dorsal (D), jumlah jari-jari bercabang sirip pelvik (Pe), jumlah jari-jari bercabang sirip pektoral (P) dan jumlah jari-jari bercabang sirip anal (A).

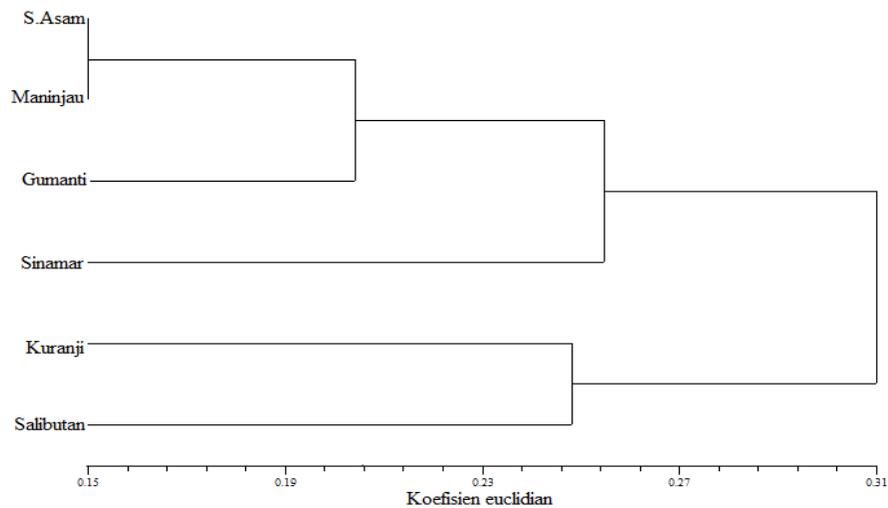
Plot PCA (Gambar 2) memperlihatkan bahwa ada kecenderungan pengelompokan meskipun juga terdapat kesetangkupan antara beberapa populasi barat dan timur Bukit Barisan yaitu populasi S.Asam, Maninjau (barat) dan Batang Gumanti (timur). Sebaliknya, terdapat pula populasi yang terpisah jauh seperti antar populasi-populasi Batang Sinamar (timur) dengan Salibutan dan Batang Kuranji (barat). Hasil ini sekaligus menggambarkan bahwa untuk ikan *P. binotatus* di Sumatera Barat, variasi antar populasi di bagian barat dan timur pegunungan Bukit Barisan tidak sepenuhnya karena kehadiran pegunungan Bukit Barisan sebagai barrier akan tetapi yang menyebabkan adanya variasi morfologi ini adalah adanya efek dari perbedaan geografi antar lokasi asal sampel yang berada pada lokasi dengan variasi ketinggian antara 76 mdpl hingga 1513 mdpl (Tabel.1.).



Gambar 2. Plot *Principle Component Analysis* (PCA) populasi *Puntius binotatus* berdasarkan barat dan timur Bukit Barisan.

Jarak geografis dan faktor ekologis seperti ketinggian, suhu dan kemiringan memegang peranan penting pada proses variasi dari suatu individu. Jarak geografis yang terpisah cukup jauh dan memiliki perbedaan ekologis yang ekstrim akan menimbulkan perbedaan karakter yang tinggi pada suatu individu. Tekanan lingkungan sangat mempengaruhi ekspresi gen sehingga memunculkan fenotip yang berbeda, jika proses ini terjadi dalam waktu yang lama memungkinkan terjadinya perubahan genetik ke arah spesiasi [18].

Informasi hubungan kekerabatan genetik pada semua populasi *Puntius binotatus* di Sumatera Barat dianalisis dengan UPGMA hingga menghasilkan dendogram (Gambar 3).



Gambar 3. Dendogram semua populasi *Puntius binotatus* di Sumatera Barat.

Gambar 3. menampilkan hasil analisis fenetik enam populasi *Puntius binotatus* di Sumatera Barat. Dapat diperhatikan adanya dua kluster utama, kluster pertama terdiri atas sampel yang berasal dari lokasi S.Asam, Maninjau, Batang Gumanti dan Batang Sinamar. Kluster kedua terdiri atas sampel yang berasal dari lokasi Batang Kuranji dan Salibutan. Dapat dilihat bahwa populasi S.Asam dengan populasi Maninjau memiliki kekerabatan fenetik yang sangat dekat. Hasil ini juga didukung oleh hasil uji Mann-Whitney U [10] yang menyatakan bahwa nilai disimilaritas antara populasi S.Asam dan populasi Maninjau merupakan nilai yang terendah, hanya ada tiga karakter (9,38%) yang berbeda secara signifikan. Gambar 3. secara tegas juga menyatakan bahwa pemisahan kluster tidaklah berdasarkan perbedaan lokasi barat dan timur pegunungan Bukit Barisan, melainkan lebih kepada posisi geografinya yang pada akhirnya akan sangat menentukan faktor ekologis.

Hasil uji Mann-Whitney U antar populasi *P. binotatus*, analisis PCA dan UPGMA membuktikan bahwa terdapat perbedaan karakter morfologi antara daerah dataran tinggi, menengah dan rendah. Secara keseluruhan dapat dijelaskan bahwa sampel dari daerah dataran menengah dan tinggi (Batang Sinamar dan Batang Gumanti) memiliki ukuran tubuh yang lebih ramping dan kecil dari daerah dataran rendah (Salibutan, Batang Kuranji, S.Asam dan Maninjau) (Tabel 3 dan Tabel 4). Karakter-karakter morfologi yang memperlihatkan ukuran tubuh *Puntius binotatus* lebih ramping dan kecil adalah panjang

standar (PS), tinggi badan (TB), tinggi batang ekor (TBE), panjang batang ekor (PBE), lebar badan (LB), panjang dasar sirip dorsal (PDS), panjang sirip ekor bagian atas (PSEBA) dan panjang sirip ekor bagian bawah (PSEBB).

Tabel 3. Nilai rata-rata, standar deviasi, maksimum, minimum dan hasil analisis uji Kruskal-Wallis karakter morfologi *Puntius binotatus*.

Morfometri	Karakter/ Populasi						Uji Kruskal-Wallis
	Salibutan	Kuranji	S.Asam	Maninjau	Gumanti	Sinamar	
	N = 30	N = 30	N = 25	N = 23	N = 20	N = 30	
PT	1,3±0,06 1,39-1,07	1,3±0,03 1,36-1,24	1,32±0,03 1,37-1,25	1,31±0,02 1,36-1,26	1,29±0,02 1,33-1,24	1,31±0,03 1,38-1,19	X ² =9,704 P=0,084ns
PS	75,9±9,42 99,3-63,5	69±8,11 86,7-51,9	63,26±8,35 77,58-50,98	63,86±11,10 86,02-41,62	58,46±7,97 71,72-40,11	52,71±8,70 75,72	X ² =52,274 P=0,000*
PK	0,27±0,02 0,31-0,21	0,26±0,02 0,31-0,22	0,27±0,01 0,30-0,25	0,27±0,01 0,30-0,24	0,27±0,01 0,31-0,24	0,28±0,01 0,31-0,25	X ² =14,794 P=0,011*
PsSD	0,56±0,03 0,6-0,45	0,54±0,02 0,6-0,5	0,57±0,02 0,61-0,54	0,55±0,02 0,61-0,47	0,54±0,02 0,58-0,51	0,56±0,02 0,60-0,52	X ² =22,331 P=0,000*
PsSPe	00,51±0,06 0,76-0,38	0,51±0,03 0,62-0,46	0,50±0,01 0,53-0,47	0,51±0,01 0,54-0,48	0,51±0,02 0,54-0,44	0,52±0,01 0,56-0,48	X ² =15,328 P=0,009*
PsSA	0,69±0,12 0,77-0,07	0,72±0,03 0,83-0,68	0,72±0,01 0,75-0,69	0,72±0,01 0,76-0,69	0,71±0,02 0,78-0,66	0,73±0,02 0,77-0,67	X ² =16,875 P=0,005*
TK	0,21±0,02 0,24-0,15	0,19±0,01 0,23-0,15	0,20±0,01 0,23-0,18	0,19±0,01 0,22-0,15	0,20±0,01 0,23-0,17	0,20±0,01 0,22-0,17	X ² =8,140 P=0,149ns
TB	0,34±0,04 0,38-0,24	0,32±0,01 0,36-0,29	0,35±0,01 0,37-0,33	0,34±0,01 0,38-0,31	0,29±0,01 0,32-0,26	0,35±0,01 0,38-0,33	X ² =61,014 P=0,000*
TBE	0,14±0,01 0,17-0,09	0,14±0,01 0,20-0,11	0,15±0,01 0,16-0,14	0,14±0,01 0,16-0,12	0,14±0,01 0,16-0,13	0,15±0,01 0,17-0,13	X ² =23,736 P=0,000*
PBE	0,16±0,02 0,2-0,13	0,16±0,02 0,20-0,11	0,16±0,02 0,22-0,12	0,14±0,01 0,19-0,09	0,16±0,02 0,21-0,12	0,13±0,01 0,17-0,10	X ² =13,381 P=0,020*
PM	0,09±0,01 0,14-0,07	0,08±0,01 0,11-0,04	0,09±0,01 0,11-0,08	0,09±0,01 0,10-0,07	0,08±0,01 0,11-0,07	0,09±0,01 0,10-0,06	X ² =10,327 P=0,066ns
LB	0,34±0,04 0,38-0,24	0,16±0,03 0,34-0,11	0,17±0,01 0,19-0,15	0,15±0,03 0,21-0,09	0,15±0,03 0,19-0,08	0,16±0,01 0,20-0,12	X ² =53,259 P=0,000*
DM	0,07±0,01 0,09-0,05	0,08±0,01 0,11-0,06	0,08±0,01 0,12-0,06	0,07±0,01 0,09-0,06	0,07±0,01 0,10-0,05	0,07±0,01 0,85-0,06	X ² =29,40 P=0,000*
JDM	0,11±0,01 0,12-0,09	0,11±0,01 0,13-0,08	0,11±0,01 0,16-0,10	0,10±0,01 0,12-0,09	0,11±0,01 0,14-0,10	0,10±0,01 0,15-0,08	X ² =12,393 P=0,030*
PDS	0,16±0,02 0,19-0,12	0,15±0,01 0,19-0,09	0,16±0,01 0,18-0,11	0,15±0,01 0,19-0,12	0,13±0,01 0,17-0,10	0,15±0,01 0,18-0,11	X ² =9,833 P=0,080ns
PDSA	0,1±0,01 0,12-0,08	0,09±0,02 0,14-0,04	0,11±0,01 0,13-0,09	0,10±0,01 0,13-0,07	0,09±0,01 0,12-0,08	0,10±0,01 0,12-0,09	X ² =13,721 P=0,017*

Keterangan: (p signifikan ≤ 0,05; n: jumlah populasi; ns: non signifikan pada uji Kruskal-Wallis; *: signifikan hasil uji).

Dari analisis karakter *P. bimaculatus* di Sri Lanka yang ditemukan di sungai daerah perbukitan dengan arus yang deras dan teraerasi dengan baik diketahui bahwa ikannya mempunyai bentuk tubuh yang memanjang dengan sirip ekor yang lebih panjang dan kepala yang lebih pendek. Sirip ekor yang lebih panjang mengakibatkan tubuhnya menjadi lebih fusiform dan ikan-ikan tersebut dapat bertahan di air yang deras [19]. Dilaporkan pula bahwa faktor-faktor lingkungan yang lain juga mendasari perubahan morfologi seperti kejernihan air, arus dan kedalaman air, ketersediaan makanan dan kompleksitas fisik [20] [21]. Disimpulkan bahwa ikan *P. binotatus* dengan bentuk tubuh yang ramping dan kecil merupakan ikan di air yang berarus deras. Perbedaan yang mendasar baik secara morfologi maupun genetik merupakan suatu mekanisme yang

dapat diinduksi oleh adanya faktor eksternal seperti isolasi geografis, perbedaan faktor lingkungan selama ontogeni, keberadaan predator dan keterbatasan makanan [22].

Tabel 4. Nilai rata-rata, standar deviasi, maksimum, minimum dan hasil analisis uji Kruskal-Wallis karakter morfologi *P. binotatus*. (p signifikan $\leq 0,05$; n: jumlah populasi; ns: non signifikan pada uji Kruskal-Wallis; *: signifikan hasil uji).

	Karakter/ Populasi						Uji Kruskal-Wallis
	Salibutan	Kuranji	S.Asam	Maninjau	Gumanti	Sinamar	
	N = 30	N = 30	N = 25	N = 23	N = 20	N = 30	
Morfometri							
PSP	0,21±0,02 0,25-0,17	0,22±0,01 0,27-0,19	63,26±8,35 77,58-50,98	0,21±0,11 0,23-0,19	0,21±0,01 0,23-0,18	0,23±0,02 0,33-0,19	$X^2=18,616$ P=0,002*
PSEBA	0,3±0,03 0,37-0,24	0,3±0,04 0,35-0,14	0,31±0,02 0,36-0,27	0,31±0,02 0,35-0,25	0,29±0,02 0,33-0,23	0,3±0,06 0,35-0	$X^2=13,854$ P=0,017*
PSEBT	0,16±0,02 0,21-0,13	0,16±0,02 0,27-0,12	0,17±0,01 0,20-0,13	0,16±0,02 0,21-0,12	0,15±0,05 0,21-0	0,18±0,01 0,21-0,13	$X^2=16,0,98$ P=0,007*
PSEBB	0,3±0,03 0,35-0,24	0,32±0,04 0,36-0,10	0,31±0,01 0,34-0,28	0,32±0,02 0,36-0,27	0,27±0,06 0,34-0	0,31±0,02 0,37-0,26	$X^2=13,202$ P=0,022*
PSuRA	0,11±0,01 0,14-0,09	0,11±0,02 0,16-0,07	0,11±0,01 0,12-0,08	0,1±0,02 0,15-0,04	0,1±0,01 0,13-0,07	0,08±0,01 0,1-0,05	$X^2=63,224$ P=0,000*
PSuM	0,13±0,02 0,18-0,1	0,12±0,03 0,17-0	0,13±0,01 0,15-0,11	0,1±0,03 0,16-0	0,12±0,01 0,15-0,1	0,1±0,01 0,13-0,06	$X^2=31,980$ P=0,000*
Meristik							
PreD	1,7±8,4 10-0	0,6±8,4 9-7	0,4±8,7 9-8	0,4±8,1 9-7	0,4±8,2 9-8	0,5±8,5 9-8	$X^2=44,318$ P=0,000*
LR	1,1±23,1 25-21	1,1±22,1 24-20	0,6±21,28 23-21	1,1±22,1 24-20	0,5±22,7 23-21	0,8±22,1 23-21	$X^2=33,159$ P=0,000*
AD	0,6±8,7 10-8	0,6±8,4 9-7	0,4±8,7 9-8	0,4±8,1 9-7	0,4±8,2 9-8	0,5±8,5 9-8	$X^2=48,726$ P=0,000*
APe	1,1±9,8 12-7	0,7±7,9 10-7	0,7±9,1 10-8	0,9±8,7 11-8	0,4±8,1 9-7	1,4±9,6 11-8	$X^2=45,047$ P=0,000*
BTE	1,2±11,5 14-9	0,8±11,4 13-10	0,3±11,8 12-11	1,1±11,5 13-8	0,8±10,3 12-9	0,6±10,8 12-10	$X^2=35,114$ P=0,000*
D	1,5±8,1 14-7	0,5±7,8 9-7	0,5±7,7 9-7	0,7±7,6 9-5	0,3±6,9 7-6	0,6±6,9 8-6	$X^2=23,056$ P=0,000*
Pe	1,4±7,7 11-5	0,8±6,9 8-5	0,4±7,2 8-7	0,7±7,3 8-6	0,2±7,1 8-7	0,7±6,7 8-6	$X^2=33,759$ P=0,000*
P	2,7±11,9 16-6	0,9±9,8 11-8	0,9±11,3 12-10	1,1±12 14-10	1,2±10,1 14-8	0,3±11,9 12-10	$X^2=48,907$ P=0,000*
A	0,7±5,5 7-4	0,6±4,9 6-4	0,5±5,4 6-5	0,8±5,3 6-4	0,3±5,1 6-5	0,1±5,1 6-5	$X^2=30,016$ P=0,000*

Keterangan: (p signifikan $\leq 0,05$; n: jumlah populasi; ns: non signifikan pada uji Kruskal-Wallis; *: signifikan hasil uji).

Dari hasil semua analisis yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa keberadaan pegunungan Bukit Barisan di wilayah Sumatera Barat tidak sepenuhnya berperan langsung sebagai barrier pemisah antara populasi di bagian barat dan timur pegunungan Bukit Barisan yang menyebabkan adanya variasi antar populasi di bagian barat dan timurnya. Pegunungan Bukit Barisan telah memberikan efek terhadap morfologi *P. binotatus* yang berhubungan dengan perbedaan geografi habitat dimana ikan ini berada.

PUSTAKA

- [1] Whitten, A. J. S. J. Damanik, J. Anwar, and N. Hisyam. 1987. *Ecology of Sumatera*. Penerbit UGM.
- [2] Katili, J. A. 1998. Geotectonics of Indonesia: A Modern View. The Directorate Generale of Mines, Jakarta. P. 200–224.
- [3] Muchlisin, Z. A and M. N. Azizah. 2009. Diversity and distribution of freshwater fishes in Aceh water, Northern-Sumatera, Indonesia. *Biol. J. Zool* 5(2): 62-79.
- [4] Rahmatika. 2004. Tumpang tindih "niche" ikan di muara Ci Siih dan Ci Jaralang. Selat Sunda, Jawa Barat. *Berita-Biologi* 3(3): 77-83.
- [5] Kottelat, M., A. J. Whitten, S. N. Kartikasari & S. Wirjoatmodjo. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Eds. (HK) Ltd. and EMDI: Indonesia, Singapore
- [6] Roesma, D. I. 2011. *Diversitas spesies dan kekerabatan genetik ikan-ikan Cyprinidae di danau-danau dan sungai-sungai di sekitarnya di kawasan Sumatera Barat*. Disertasi Pasca Sarjana. Jurusan Biologi Universitas Andalas: Padang
- [7] Johns G. C. & J. C. Avise. 1998. A comparative summary of genetic distance in vertebrates from mitochondrial cytochrome b gene. *Mol. Biol. Evol.* 15:1481–1490.
- [8] Weber, M. G. and L. F. de Beaufort, 1916. *Fishes of the Indo-Australian Archipelago*. E. J. Brill, Leiden. Vol. III.
- [9] Futuyma, D. J. 1986. *Evolutionary Biology*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, Inc. Itaca
- [10] Vitri, D.K., D.I. Roesma dan Syaifullah. 2012. Analisis Morfologi Ikan *Puntius binotatus* Valenciennes 1842 (Pisces: Cyprinidae) dari beberapa Lokasi di Sumatera Barat. *J. Bio. UA*. 1(2 : 139-143
- [11] Cailliet, G. M., M. S. Love & A. W. Ebeling. 1986. *Fishes. A Field and Laboratory Manual on Their Structure, Identification and Natural History*. Waveland Press, Inc.
- [12] Costa, J. L., P. R. de Almeida & M. J. Costa (2003) A morphometric and meristic investigation of Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus* (Bloch and Schneider, 1801): Evidence of population fragmentation on Portuguese Coast. *Sci. Mar.* 67:219–231.
- [13] Nakamura, T. 2003. Meristic and morphometric variations in fluvial Japanese charr between river systems and among tributaries of a river system. *Env. Biol. Fishes* 66:133–141.
- [14] Strauss, R. E. and F. L. Bookstein. 1982. The Truss: Body form reconstruction in morphometrics. *Syt. Zool.* 31:113–135.
- [15] Sprent, P. 1989. *Applied Nonparametric Statistical Methods*. Chapman and Hall. New York.

- [16] Rohlf, F. J. (2001) NTSyst. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0.2*. Applied Biostatistic Inc. New York.
- [17] Mendez, M. A., Soto, E. R., Correa, C., Veloso, A., Vergara, E., Sallaberry, M. and Iturra, P. 2004. Morphological and genetical differentiation among Chilean populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae). *Rev Chilena Historia Natural* 75: 559-567.
- [18] De Silva, M. P. K. S. K., N. P. P. Liyanage & S. Hettiarachi. 2006. Intra-specific morphological plasticity in three *Puntius* species in Sri Lanka. *Ruhuna J. Sci.* 1:82–95
- [19] Samaee, S. M., B. Mojazi-Amiri, S. H. Hosseini-Nazinami. 2006. Comparison of *Capotea capotea gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) Populations in The South Caspian Sea River Basin Using Morphometric Ration and Genetic Markers. *Folia Zool.* 55:323–335
- [20] Krabbenhoft, T. J., M. L. Collyer & J. M. Quattro. 2009. Differing evolutionary patterns underlie convergence on elongate morphology in endemic fishes of lake Waccamaw, North Carolina. *Biol. J. Linn. Soc.* 98:636–645.
- [21] Stiassny, M. L. J., A. Meyer. 1999. *Cichlids of the Rift Lakes: The Extraordinary Diversity of Cichlid Fishes challenges Entrenched Ideas of How Quickly New Speceis Can Arise*. Scientific Amerikan Publishers.

EFEK PENAMBAHAN SENYAWA ASAM AMINO SULFONAT TAURIN PADA PAKAN KOMERSIL TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KELULUS HIDUPAN IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy* Lac.) JUVENILE

THE EFFECT OF FOOD ADDITION OF SULFONIC AMINO ACID TAURINE ON THE GROWTH AND SURVIVAL RATE OF JUVENILE GOURAMY (*Osphronemus gouramy* Lac.)

Elisa N. Fitriana^{*}, E.L.Widiastuti, N.Nurcahyani, M.Kanedi

Jurusan Biologi – FMIPA Universitas Lampung – Bandar Lampung
Jl. Prof. DR Sumantribrojonegoro No. 1. Bandar Lampung 35145

* email: els.els0770@gmail.com

ABSTRACT

Taurine in a form of sulfonic amino acid has known to improve the growth and survival rate of marine fishes, such as groupers and cobia. Yet, its function in juvenile freshwater fishes is still unknown. Therefore, this study was conducted to determine taurine effect on juvenile Gourami's growth and survival rate. The study was carried out in Desa Way Linti – Pesawaran regency - Lampung Province from December 2013 – February 2014. Complete randomly design was assigned with four treatment groups, each groups receiving taurine in their diet as followed 0, 1.5, 2, 2.5 g/1 kg dry fish food. Sixty-four juvenile gouramy were used in this study with average weight of 100 grams. Fishes were fed twice a day. Data was collected every week with parameters of body weight change, cardiosomatic index (CSI), hepatosomatic index (HSI), vicerosomatic index (VSI), muscle ratio (MR) and water quality (was observed for additional information). Data were analyzed using ANOVA (at $\alpha \leq 5\%$) followed by Tukey pairwise comparison. The results showed that taurine (2.5g/1kg) significantly increased juvenile gourami's body weight with body weight changes of 4-10 g/week. These body weight changes contributed to the CSI, HSI, VSI, and MR. Yet, the survival rate of all treatment groups did not show any differences.

Keywords : Taurine, Gouramy juvenile, growth, and survival rate

ABSTRAK

Taurine dalam bentuk asam amino sulfonat diketahui mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup pada berbagai larva dan juvenil ikan perairan laut, seperti kerapu dan cobia. Namun demikian, peran taurine terhadap juvenil ikan perairan tawar, contohnya ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) belum diketahui. Dengan demikian penelitian ini dilakukan untuk menentukan peran taurine terhadap pertumbuhan dan kelulushidupan juvenil ikan gurami. Penelitian dilakukan di Desa Way Linti – Kabupaten Pesawaran – Provinsi Lampung dari Bulan Desember 2013 – Februari 2014. Rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan digunakan dalam penelitian ini, perlakuan adalah sebagai berikut 0, 1,5, 2, dan 2,5 g taurine/1 kg pakan kering. Enam puluh empat juvenil dengan berat tubuh rerata 100g digunakan dalam penelitian ini. Ikan diberi makan 2 kali/hari. Data dikoleksi setiap minggu dengan parameter penambahan berat tubuh, cardiosomatic index (CSI), hepatosomatic index (HSI), visceralomatic index (VSI), muscle ratio (MR), dan kualitas air (sebagai data penunjang). Data dianalisis menggunakan ANOVA dan Tukey's (pada $\alpha \leq 5\%$). Hasil menunjukkan bahwa perlakuan III (2,5 g/1 kg pakan) meningkatkan pertumbuhan juvenil gurame yang paling baik dengan penambahan sekitar 4-10 g/minggu. Pertambahan berat tubuh ini berkontribusi terhadap CSI, HSI, VSI, dan MR. Namun demikian, kelulushidupan antar perlakuan tidak menunjukkan perbedaan.

Kata kunci : *Taurin, Gurami juvenil, Pertumbuhan, dan Kelulushidupan*

PENDAHULUAN

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) merupakan ikan air tawar yang populer dan disukai oleh masyarakat Indonesia. Namun pertumbuhan ikan gurami yang lambat dan tingkat mortalitasnya yang tinggi saat juvenile dibandingkan ikan tawar-ikan tawar lainnya, menimbulkan kesulitan dalam pembudidayaannya. Taurin mempunyai banyak fungsi terutama berperan penting dalam proses fisiologis tubuh, stabilitas membran, mengatur keseimbangan ion Ca dan Na pada sel, menstimulasi glikolisis dan glikogenesis, memacu pertumbuhan, osmoregulasi, dan penglihatan [1]

METODE PENELITIAN

2.1 Metode Percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol (tanpa penambahan senyawa taurin). Masing-masing perlakuan menggunakan 8 kali pengulangan. Perlakuan tersebut adalah :

- 1 Perlakuan I : Pakan komersil 1 kg dengan penambahan taurin 1,5 g
- 2 Perlakuan II : Pakan komersil 1 kg dengan penambahan taurin 2 g.
- 3 Perlakuan III : Pakan komersil 1 kg dengan penambahan taurin 2,5 g.

2.2 Parameter Penelitian

Parameter-parameter penelitian yang diamati adalah penambahan berat, rasio pertumbuhan spesifik (SGR), rasio konversi pakan (FCR), indeks hepato-somatik (HSI), indeks cardio-somatik (CSI), indeks visceral-somatik (VSI), rasio otot (MR), dan kelulushidupan (SR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pertambahan Berat Tubuh

Tabel 1. Rerata pemberian pakan yang berbeda terhadap pertambahan berat tubuh ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) selama 8 minggu

Perlakuan	N	Rerata Pertambahan Berat Tubuh ($X \pm SEM$) (gram)
(A) Taurin 0 g	88	4.73 \pm 0,55
(B) Taurin 1,5 g	62	6.81 \pm 0,84
(C) Taurin 2 g	81	7.30 \pm 1,08
(D) Taurin 2,5 g	75	7.83 \pm 1,08

Keterangan : $X \pm SEM$ merupakan nilai rerata kelompok pertambahan berat tubuh \pm galat baku dalam gram.

Tabel 1 dari hasil analisis Tukey HSD $\alpha \leq 0,05$ menunjukkan pertambahan berat tubuh ikan gurami pada empat perlakuan ini menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

Kelompok perlakuan III (taurin 2,5 gram) merupakan kelompok dengan penambahan berat rerata yang paling tinggi. Yang memiliki rerata penambahan berat terendah adalah kelompok ikan kontrol. Dari rerata penambahan berat ini terlihat bahwa taurin memberikan pengaruh pada penambahan berat. Menurut Garcia-Ortega, 2009; Li *et al*, 2009; FEEDAP, 2012, diduga bahwa penambahan taurin mampu meningkatkan pertumbuhan, misalnya dengan meningkatkan nafsu makan maupun dengan meningkatkan pertumbuhan organ yang membantu dalam proses pertumbuhan seperti organ yang berperan dalam proses pencernaan, penglihatan, hingga peningkatan sistem imun.

3.2 Specific Growth Rate (Laju Pertumbuhan Spesifik / SGR)

Tabel 2. Tabel hasil perhitungan laju pertumbuhan spesifik

Minggu ke-	Kontrol (gram)	Perlakuan I (gram)	Perlakuan II (gram)	Perlakuan III (gram)
1	0,75	0,87	2,03	1,75
2	0,80	0,66	0,88	0,67
3	1,07	0,59	0,41	0,51
4	0,13	0,24	0,23	0,06
5	0,15	0,28	0,08	0,10
6	0,28	0,52	0,28	0,43
7	0,44	-	0,05	0,50
8	0,32	-	-	-
Rerata	0,49	0,53	0,56	0,57

Dari tabel 2 terlihat bahwa perlakuan III (taurin 2,5 gram) yang rerata laju pertumbuhan spesifik yang paling tinggi yaitu sebesar 0,57 gram. Dan laju pertumbuhan spesifik yang paling rendah adalah laju pertumbuhan spesifik pada kelompok ikan kontrol. Laju spesifik yang tinggi menunjukkan bahwa ikan pada kolam perlakuan III mempunyai pertumbuhan yang paling banyak tiap harinya dibandingkan ikan pada kolam perlakuan yang lainnya.

3.3 Food Conversion Ratio (Rasio Konversi Pakan/ FCR)

Tabel 3. Food Conversion Ratio (Rasio Konversi Pakan / FCR) ikan gurami (*Osphronemus gouramy Lac.*) selama 8 minggu perlakuan

Perlakuan	Minggu ke-								Rerata (g)
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Kontrol	0,71	0,73	0,52	4,56	3,74	1,99	1,15	1,61	1,88
I	0,64	0,84	0,89	2,24	2,00	1,11	(-)	(-)	1,29
II	0,26	0,64	1,43	2,43	7,32	2,12	11,39	(-)	3,66
III	0,31	0,80	1,04	9,97	5,45	1,30	0,96	(-)	2,83

Tabel 3 menunjukkan rerata nilai FCR tertinggi ada pada perlakuan II dengan nilai 3,66 yang berarti bahwa ikan gurami pada perlakuan II membutuhkan 3,66 gram pakan untuk menaikkan 1 gram berat tubuhnya. Dan yang mempunyai nilai FCR terendah adalah

ikan pada kelompok perlakuan I yaitu hanya dengan 1,29 gram pakan untuk menaikkan 1 gram berat tubuhnya. Hal ini berarti bahwa taurin pada perlakuan I yang mempunyai nilai lebih optimum dalam menaikkan berat gurami. Hal ini sesuai dengan pendapat Lunger et. al. (2007), taurin dapat meningkatkan berat tubuh dan meningkatkan efisiensi pakan, sehingga hanya sedikit pakan yang dibutuhkan untuk meningkatkan berat tubuhnya

3.4 Hepato-Somatic Index (Indeks Hepato-Somatik/HSI)

Tabel 4. *Hepato-Somatic Index* (Indeks hepato-somatik/HSI)

Perlakuan	N	Indeks Hepato-Somatik ($X \pm SEM$) gram
(A) Taurin 0 g	16	2,29 \pm 0,21
(B) Taurin 1,5 g	12	2,75 \pm 0,22
(C) Taurin 2 g	14	1,90 \pm 0,16
(D) Taurin 2,5 g	14	1,64 \pm 0,18

Keterangan : $X \pm SEM$ merupakan nilai rerata indeks hepato-somatik \pm galat baku dalam gram.

Tabel 4 menunjukkan kelompok perlakuan I (taurin 1,5 gram) mempunyai rerata indeks hepato-somatik yang paling tinggi dengan nilai rerata 2,75 gram. Dan yang paling rendah ada pada kelompok perlakuan III (taurin 2,5 gram) yang mempunyai nilai rerata indeks hepato somatiknya 1,64 gram. Dari hasil analisis lanjutan dengan menggunakan analisis Tukey HSD $\alpha \leq 0,05$ diperoleh kelompok kontrol (tanpa penambahan taurin) tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Sedangkan kelompok perlakuan I (taurin 1,5 gram) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III. Kelompok perlakuan II (taurin 2 gram) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan I dan tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan III. Kelompok perlakuan III (taurin 2,5) nilai indeks hepato-somatiknya berbeda nyata dengan kelompok perlakuan I namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II.

3.5 Cardio-Somatic Index (Indeks cardio-somatik/CSI)

Tabel 5. *Cardio-Somatic Index* (Indeks cardio-somatik/CSI)

Perlakuan	N	Indeks Cardio-Somatik ($X \pm SEM$) gram
(A) Taurin 0 g	16	0,23 \pm 0,21
(B) Taurin 1,5 g	12	0,28 \pm 0,22
(C) Taurin 2 g	14	0,18 \pm 0,16
(D) Taurin 2,5 g	14	0,25 \pm 0,18

Keterangan : $X \pm SEM$ merupakan nilai rerata indeks cardio-somatik \pm galat baku dalam gram.

Tabel 5 menunjukkan nilai indeks cardio-somatik ikan gurami pada empat perlakuan/ Setelah dianalisis Tukey's HSD dengan $\alpha \leq 0,05$ ini menunjukkan tidak adanya

perbedaan yang nyata. Kelompok perlakuan I (taurin 1,5 gram) mempunyai rerata indeks cardio-somatik yang paling tinggi dengan nilai rerata 0,28 gram. Dan yang paling rendah ada pada kelompok perlakuan II (taurin 2 gram) yang mempunyai nilai rerata indeks hepato somatiknya 0,18 gram.

3.6 *Visceral-Somatic Index (Indeks visceral-somatik/VSI)*

Tabel 6. *Visceral-Somatic Index* (Indeks visceral-somatik/VSI)

Perlakuan	N	Indeks Visceral-Somatik ($X \pm SEM$) gram
(A) Taurin 0 g	16	9,61 \pm 0,58
(B) Taurin 1,5 g	12	11,09 \pm 0,45
(C) Taurin 2 g	14	7,32 \pm 0,41
(D) Taurin 2,5 g	14	7,43 \pm 0,56

Keterangan : $X \pm SEM$ merupakan nilai rerata indeks visceral-somatik \pm galat baku dalam gram.

Tabel 6 menunjukkan kelompok perlakuan I (taurin 1,5 gram) mempunyai rerata indeks visceral-somatik yang paling tinggi dengan nilai rerata 11,09 gram. Dan yang paling rendah ada pada kelompok perlakuan II (taurin 2 gram) yang mempunyai nilai rerata indeks visceral somatiknya 7,32 gram. Dari hasil analisis lanjutan dengan menggunakan analisis Tukey HSD dengan taraf signifikansi $\alpha \leq 0,05$ diperoleh hasil yang berbeda-beda. Kelompok kontrol mempunyai beda yang nyata dengan perlakuan II dan III. Sedangkan kelompok perlakuan I (taurin 1,5 gram) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III dan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan II (taurin 2 gram) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan I dan kontrol tapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan III. Kelompok perlakuan III (taurin 2,5 gram) nilai indeks visceral-somatiknya berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan.

3.7 *Muscle Ratio (Rasio Otot/MR)*

Tabel 7. *Muscle Ratio* (Rasio Otot/MR)

Perlakuan	N	Rasio Otot ($X \pm SEM$) gram
(A) Taurin 0 g	16	37,27 \pm 1,17
(B) Taurin 1,5 g	12	37,75 \pm 0,71
(C) Taurin 2 g	14	36,12 \pm 0,68
(D) Taurin 2,5 g	14	37,99 \pm 0,97

Keterangan : $X \pm SEM$ merupakan nilai rerata rasio otot \pm galat baku dalam gram.

Tabel 7 menunjukkan kelompok perlakuan III (taurin 2,5 gram) mempunyai rerata rasio otot yang paling tinggi dengan nilai rerata 38 gram. Dan yang paling rendah ada pada kelompok perlakuan II (taurin 2,5 gram) yang mempunyai nilai rerata rasio otot 36,12 gram. Dari hasil analisis lanjutan dengan menggunakan analisis Tukey HSD

dengan $\alpha \leq 0,05$ diperoleh seluruh kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tidak mempunyai perbedaan yang nyata.

3.8 Survival Rate (Kelulushidupan/SR)

Tabel 8. Persentase *Survival Rate* (Kelulushidupan/SR) per minggu

Minggu ke-	Kontrol	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
1	100	87,50	100	100
2	100	100	92,86	92,86
3	100	83,33	100	91,67
4	100	100	100	100
5	100	100	100	100
6	100	100	100	100
7	100	-	100	100
8	100	-	-	-
Rerata	100	95	99	98

Tabel 8 menunjukkan nilai kelulushidupan ikan gurami selama 8 minggu penelitian yang jumlahnya dihitung setiap minggu. Dapat terlihat dari tabel diatas 3 minggu pertama perlakuan, persentase kelulushidupannya tidak mencapai 100%. Minggu pertama, 2 ikan dari kolam perlakuan I hilang dan masuk kedalam kolam besar, di minggu kedua ikan di kolam perlakuan II satu ekor ikan mati. Dan pada minggu ketiga dua ekor ikan di kolam perlakuan I dan satu ekor ikan di kolam perlakuan II masuk kedalam kolam. Kelulushidupan dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Keadaan fisik dan kimia lingkungan air merupakan faktor abiotik yang mempengaruhi tingkat kelulushidupan ikan. Ikan gurami dari penelitian ini banyak yang terserang penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme dan jamur. Dapat dilihat dari gambar 1 penyakit yang menyerang ikan gurami.



Gambar 1. Ikan gurami yang terserang penyakit

Penyakit yang menyerang ini diduga merupakan vibriosis. Pendarahan diawali dengan kemerahan dan lapisan darah yang ada terbentuk dibawah kulit (sisik) ikan dan akan menjadi titik-titik merah yang terbentuk di area ventral dan lateral ikan. Luka gelap yang membengkak akan terbentuk, yang kemudian akan berubah menjadi borok dan mengeluarkan nanah bercampur darah. Dapat juga menyebabkan mata yang keruh , yang dapat berakibat matanya keluar dan matanya hilang [2].

Ikan yang terkena penyakit ini kebanyakan ikan dari kolam kontrol, perlakuan II, dan pada perlakuan III, kolam I juga terserang penyakit vibriosis ini tapi tidak ada yang ikan yang mati dan tidak separah dibandingkan ikan yang terkena vibriosis ini di kolam perlakuan yang lainnya, namun walaupun banyak terserang penyakit vibriosis ini, ikan pada kolam perlakuan III dengan dosis taurin yang paling tinggi, pada akhir penelitian penyakit vibriosisnya sudah sembuh. Padahal semua kolam diberikan pengobatan yang sama yaitu dengan diberikan methylen blue saat pengambilan data tiap minggunya.

3.9 Kualitas Air

Tabel 9. Data pengukuran kualitas air

Parameter	Minggu ke								Standar kualitas air gurami
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
Suhu (°C)	26	27	26	26	27	26	27	26	24-29 (°C)
pH	7	7	7	7	7	7	7	7	6-8
DO	1,3	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	1,9	1,9	3-5 mg/L
Nitrat	r	r	r	r	r	r	r	r	Rendah (r)

Selain dipengaruhi oleh nutrisi yang diperoleh dari makanannya, pertumbuhan ikan gurami juga sangat dipengaruhi oleh kualitas lingkungan air yang baik agar pertumbuhannya optimal. parameter yang digunakan untuk pengukuran kualitas air adalah suhu, pH, DO (*dissolve oxygen*/oksigen terlarut), dan kandungan nitrat. Parameter-parameter ini diambil setiap minggunya. Pengukuran kualitas air ini kemudian dapat digunakan untuk melihat bagaimana keadaan lingkungan air saat gurami tumbuh optimal ataupun saat ikan gurami tersebut tidak tumbuh dengan optimal. hasil pengukuran kualitas air dapat dilihat pada Tabel 9.

Dari hasil pengukuran kualitas air selama penelitian, data yang diperoleh masih kurang baik dengan oksigen terlarut hanya 1,5-2 ppm. Untuk pertumbuhan ikan gurami yang optimum [3], suhu yang ideal untuk pertumbuhan gurami antara 24-29°C, derajat keasaman (pH) 6,5-8, dan kandungan oksigen terlarutnya 3-5 ppm. Salah satu faktor penentu dalam pertumbuhan suatu budidaya ikan yaitu lingkungan yang stabil seperti kualitas fisika-kimia air yang baik di setiap tempat pemeliharaan [4].

Penelitian ini menyimpulkan bahwa:

- 1 Perlakuan III dengan penambahan dosis taurin 2,5 gram memberikan efek pertumbuhan yang paling baik.
- 2 Penambahan taurin tidak terlalu mempengaruhi tingkat kelulushidupan ikan gurami, tetapi memberikan pengaruh pada kesehatan dan kelulushidupan juvenil ikan gurami.

PUSTAKA

- [1] Redmont, Stapleton, Neary, dan David (1983) judulnya tidak ada
- [2] Animal-world.com. 2012. *Aquarium Fish Disease and Treatments*. <http://animal-world.com/encyclo/fresh/informat/Diseases.htm#VibVibrio>. Diakses pada tanggal 20 Maret 2014 pukul 19.00.
- [3] Djarijah, A.S & H. Puspowardoyo. (1992). *Membudidayakan Gurami secara Intensif*. Yogyakarta. Kanisius.
- [4] EFSA Panel on Additive and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). 2012. Scientific Opinion on the safety and efficacy of taurine as a feed additive for all animal species. *EFSA Journal*: 10(6):2736. [17 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2736.
- [5] Garcia-Ortega, A. 2009. Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiol Biochem*. 35 (1):69-80. Doi: 10.1007/s10695-0089226-1.
- [6] Li P, Mai K, Trushenski J, Wu G. 2009. New development in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids* 37(1):43-53. doi: 10.1007/s00726-008-0171.
- [7] Redmont H., P. Stapleton, Neary, dan David. 1983. Immunistration. *The ple of Taurine Nutrition* 14. 559-604.
- [8] Wardoyo. S. T. 1981. *Kriteria Kualitas Air Untuk Perikanan Dalam Analisa Dampak Lingkungan*. PLN-PUDSI. IPB. Bogor

VIABILITAS REPRODUKSI RAINBOW BOESEMANI (*Melanotaenia boesemani*)

VIABILITY REPRODUCTION OF BOESEMANI RAINBOWFISH (*Melanotaenia boesemani*)

Frenzysca Yuliani ¹, Siti Zuhriyyah Musthofa ², Tutik Kadarini ³, Dewi Elfidasari ³

^{1,3} Universitas Al Azhar Indonesia, Jakarta

² Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BPPBIH), Depok

ABSTRACT

Rainbowfish's existence is getting scarce and it is feared that it will extinct in near future. Information about the viability of rainbowfish reproduction can be used to improve the rainbowfish farming. This research aims to explain in the viability of boesemani rainbowfish (*Melanotaenia boesemani*) reproduction conducted at the Research Institute for Aquaculture and Ornamental Fish Development (BPPBIH). Steps in this research were measure the diameter of the eggs, fecundity, fertilization rate (FR), and Hatching Rate (HR). Results show that the boesemani rainbowfish females have an average body weight of 3.70 ± 0.348 g had fecundity ranged between 227-506 grains. Diameter boesemani rainbowfish eggs in the gonads have different sizes, while the diameter of the eggs are expelled when spawning ranged from 1.05-1.14 mm. FR value boesemani rainbowfish on average 100 % and the value of HR ranged between 70-90%.

Keywords: Ornamental Fish, Reproduction, Viability, Fecundity

ABSTRAK

Keberadaan ikan *rainbow* boesemani sudah mulai langka dan dikhawatirkan punah di habitatnya dalam waktu dekat ini. Informasi tentang viabilitas reproduksi ikan *rainbow* dapat digunakan untuk meningkatkan proses budidaya ikan *rainbow*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengukur viabilitas reproduksi ikan *rainbow* boesemani (*Melanotaenia boesemani*) yang dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BPPBIH). Metode yang digunakan adalah mengukur diameter telur, fekunditas, Fertilization Rate (FR), dan Hatching Rate (HR). Hasil dari penelitian ini diperoleh bahwa ikan *rainbow* boesemani betina yang memiliki bobot badan rata-rata 3.70 ± 0.348 g memiliki fekunditas berkisar antara 227-506 butir. Diameter telur ikan *rainbow* boesemani di dalam gonad memiliki ukuran yang berbeda-beda, sedangkan diameter telur yang dikeluarkan saat pemijahan berkisar antara 1.05-1.14 mm. Nilai FR ikan *rainbow* boesemani rata-rata 100% dan nilai HR berkisar antara 70-90%.

Kata kunci: Ikan Hias, Reproduksi, *Viability*, Fekunditas

PENDAHULUAN

Eksplorasi ikan *rainbow* tanpa adanya pelestarian terhadap ikan *rainbow* akan menyebabkan terjadinya kepunahan [1]. Ikan *rainbow* boesemani telah masuk ke dalam status langka atau beresiko tinggi mengalami kepunahan di alam liar dalam waktu dekat ini [2]. Menurut Nur [3] usaha untuk menjaga kelestarian ikan *rainbow* di habitat alaminya telah dilakukan sejak tahun 2007. Sejumlah peneliti ekspedisi *rainbow fish* dari BRBIH-BRKP, APSOR-BPSDMKP, dan IRD tercatat telah melakukan kegiatan pelestarian ikan

rainbow. Teknik budidaya ikan *rainbow* yang baik diharapkan dapat membantu mencegah eksplorasi ikan *rainbow* di habitatnya. Menurut Subandiyah *et al.* [4] para petani masih membutuhkan banyak informasi tentang teknik budidaya ikan seperti cara pemijahan, jumlah telur, daya tetas, jumlah larva, dan cara pemeliharaannya.

Informasi yang terbatas tentang viabilitas reproduksi ikan *rainbow* membuat petani ikan kesulitan dalam meningkatkan produksi ikan *rainbow*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian yang mampu menjelaskan secara lengkap viabilitas reproduksi ikan *rainbow*, sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan proses budidaya ikan *rainbow*. Budidaya ikan *rainbow* yang dapat berjalan dengan baik akan membantu petani untuk memenuhi permintaan ikan *rainbow* tanpa harus merusak habitat alamnya.

Informasi tentang viabilitas reproduksi ikan *rainbow* dapat digunakan untuk meningkatkan proses budidaya ikan *rainbow*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengukur viabilitas reproduksi ikan *rainbow* boesemani (*Melanotaenia boesemani*) yang dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BPPBIH). Hasil penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi bagi masyarakat khususnya para petani ikan hias untuk meningkatkan produksi ikan hias *rainbow* boesemani.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BP2BIH) di Jalan Perikanan No 13 RT 01 RW 02 Kecamatan Pancoran Mas, Depok Jawa Barat. Waktu penelitian tanggal Oktober hingga November 2013. Objek penelitian adalah induk betina ikan *rainbow* boesemani sebanyak 3 ekor dan telur ikan *rainbow* boesemani. Metode yang digunakan adalah mengukur diameter telur, fekunditas, Fertilization Rate (FR), dan Hatching Rate (HR). Pengukuran diameter telur yang sudah dibuahi menggunakan mikrometer okuler pada mikroskop binokuler Olympus SZX9, sedangkan untuk diameter telur di dalam gonad diukur menggunakan mikroskop binokuler Olympus BX41 yang dilengkapi dengan kamera digital Panasonic WF-CP24EX. Hasil foto dari mikroskop dianalisa menggunakan software "ImageJ®".

Fekunditas merupakan jumlah telur yang terdapat dalam ovarium sebelum dikeluarkan pada waktu akan memijah dan telah mencapai Tingkat Kematangan Gonad (TKG) III dan IV [5]. Fekunditas ikan *rainbow* boesemani dilakukan menggunakan metode gravimetrik dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Fekunditas} = \frac{\text{Bobot Gonad Total}}{\text{Bobot Gonad Sebagian}} \times \sum \text{Telur Pada Gonad Sebagian}$$

Ikan betina yang akan dihitung fekunditasnya dibius dengan menggunakan *Phenoxy Ethanol* dengan konsentrasi 10%. Perhitungan fekunditas dilakukan dengan cara mengambil seluruh gonad di dalam perut ikan betina lalu ditimbang menggunakan neraca digital. Gonad diambil sebagian ditimbang dan dihitung jumlah telurnya [5]. *Fertilization Rate* (FR) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut [6] :

$$\text{Fertilization Rate (FR)} = \frac{\sum \text{Telur yang Dibuahi}}{\sum \text{Telur yang Dikeluarkan}} \times 100\%$$

Menurut Nugraha [6] perhitungan *Hatching Rate* (HR) menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Hatching Rate (HR)} = \frac{\text{Total Telur yang Menetas}}{\text{Total Telur yang Dibuahi}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ikan *rainbow* boesemani betina yang memiliki bobot badan rata-rata 3.70 ± 0.348 g memiliki fekunditas berkisar antara 227-506 butir. Menurut Chumaidi *et al.* [7] ikan *rainbow* asal Sungai Gelap memiliki fekunditas rata-rata 342 telur/induk. Fekunditas dapat dipengaruhi oleh panjang dan bobot badan ikan [5]. Diameter telur ikan *rainbow* boesemani dalam gonad rata-rata sebesar 0.472 ± 0.235 mm (Tabel 1). Diameter telur dalam gonad yang berukuran kecil membuktikan bahwa gonad dari ikan *rainbow* boesemani belum matang.

Tabel 1 Data gonad ikan *rainbow* boesemani betina

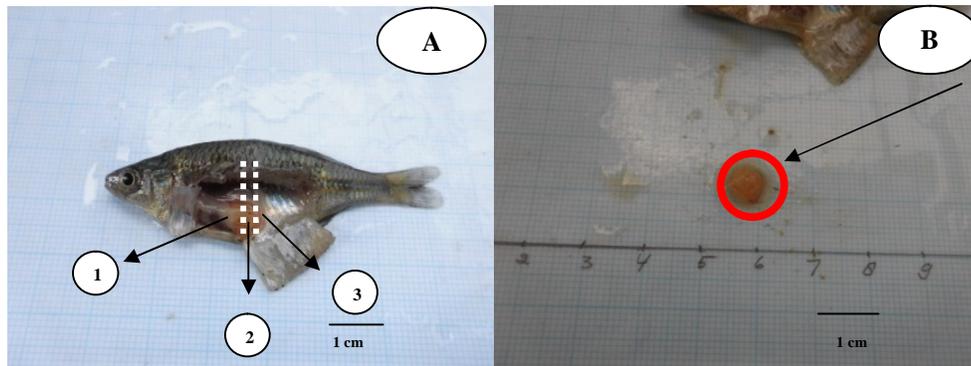
No	Ukuran Induk Betina			Fekunditas (Butir)	Diameter Telur Dalam Gonad (mm)
	BB (g)	PT (cm)	PS (cm)		
1	3.53	6.4	5.5	506	0.509
2	4.10	6.3	5.3	227	0.458
3	3.47	6.1	5.2	444	0.450
Rata-rata	3.70	6.3	5.3	392	0.472
Std Dev	0.348	0.153	0.153	146.5	0.032

Keterangan : BB = Bobot Badan; PT = Panjang Total; PS = Panjang Standar

Gonad ikan *rainbow* boesemani dapat diketahui dengan melakukan *section* (Gambar 1A). Telur ikan *rainbow* boesemani di dalam gonad terlihat mengumpal (Gambar 1B). Menurut Kusriani *et al.* [8] telur di dalam tubuh induk betina lengket dan mengumpal serta memiliki diameter yang berbeda-beda. Diameter telur yang berada di dekat kloaka memiliki ukuran rata-rata 0.616 ± 0.318 mm karena siap untuk digunakan dalam pemijahan (Gambar 1A.2). Telur yang berada lebih jauh dari kloaka rata-rata berukuran 0.360-0.444 mm (Gambar 1A.1 dan 3). Perbedaan diameter telur ikan *rainbow* menyebabkan pemijahan terjadi secara bertahap, sehingga tidak dapat dilakukan *stripping* (memijat perut) [9].

Kematangan gonad dapat dirangsang oleh lingkungan, pakan dan hormon [10]. Faktor lingkungan yang dapat merangsang kematangan gonad meliputi suhu, periode cahaya, dan curah hujan. Kandungan protein dan lemak di dalam pakan mempengaruhi kematangan gonad ikan. Hormon yang dapat digunakan untuk pematangan gonad yaitu LHRH, 17α metil testosteron, antidopamin, HCG, PMSG, ekstrak hipofisa, ovaprin, dan

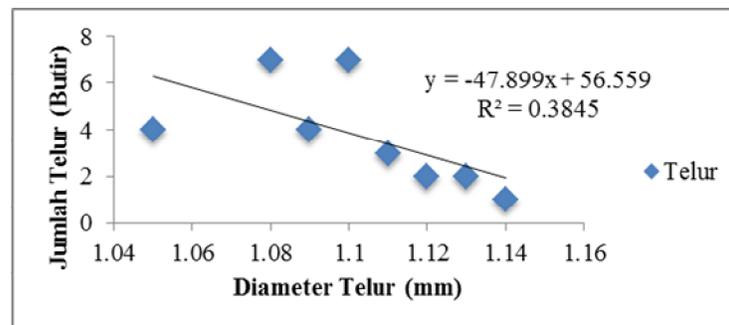
estradiol 17β . Hipofisa ikan yang telah terangsang akan menghasilkan GTH sehingga terjadi kematangan gonad.



Gambar 1 Ikan *rainbow boesemani* betina : (A) Area gonad ikan yang sudah *disectio*: 1. Dekat dengan lambung, 2. Dekat dengan kloaka, 3. Dekat dengan saluran ureter; (B) Gonad

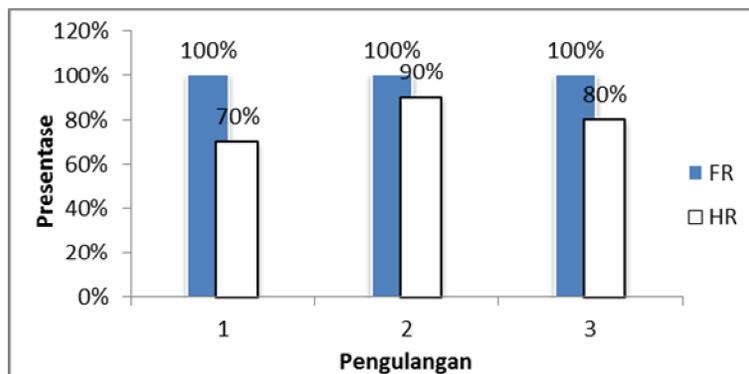
Proses pemijahan dapat dipicu oleh kematangan gonad pada sejumlah hewan perairan. Induk yang siap memijah terlihat berenang bersamaan melintasi *shelter*. Induk betina mengeluarkan telur di dekat *shelter*, sehingga akan menempel pada *shelter* tersebut. Jantan akan mengeluarkan sperma untuk membuahi telur-telur tersebut. Pemijahan ikan *rainbow* berlangsung malam hari menjelang pagi hari sekitar pukul 04.00-06.00 WIB [11].

Diameter telur ikan *rainbow* dilakukan pengukuran terhadap 30 butir telur yang sudah dibuahi oleh sperma. Telur ikan *rainbow* diambil dari satu pasang induk untuk mencegah adanya pengaruh dari faktor genetik. Diameter telur dari setiap sampel memiliki ukuran normal sebesar 1.05-1.14 mm (Gambar 2). Ukuran yang diperoleh sama seperti yang diperoleh pada spesies *Glossolepis incisus* rata-rata sebesar 1.028 mm [6]. Perbedaan diameter telur yang dikeluarkan induk betina saat memijah dapat dipengaruhi oleh faktor internal (genetik dan non genetik) dan eksternal. Faktor internal non genetik yang mempengaruhi diameter telur yaitu usia dan ukuran tubuh induk. Faktor eksternal yang mempengaruhi ukuran telur meliputi kualitas pakan, suhu, dan salinitas [10].



Gambar 2 Diameter telur ikan *rainbow* pada suhu 27-28°C

Ikan *rainbow* boesemani jantan tidak memiliki masalah dengan kualitas spermanya karena seluruh telur dapat dibuahi, hal ini terlihat dari nilai FR yang mencapai 100% (Gambar 3). Penelitian Nur *et al.*[12] memberikan informasi nilai FR pada ikan *rainbow* mungil (*Melanotaenia praecox*) dengan perbandingan induk 1:1 mencapai 99.32%. Nilai FR tidak mencapai 100% dapat disebabkan oleh kualitas sperma yang kurang baik sehingga tidak semua telur mampu dibuahi.



Gambar 3 Nilai FR dan HR ikan *rainbow* boesemani

Telur ikan *rainbow* akan menetas pada usia 1 minggu namun tidak semua telur dapat menetas. Faktor yang mempengaruhi daya tetas telur yaitu kandungan asam amino dan asam lemak di dalam telur [7]. Telur yang tidak dibuahi atau terjadi kematian embrio terlihat berwarna putih susu. Menurut Kadarini *et al.* [9] telur yang tidak menetas berwarna putih susu sedangkan telur yang akan menetas terlihat berwarna putih bening. Penetasan terjadi karena fetus dalam telur memiliki ukuran tubuh yang membesar sehingga cangkang telur pecah. Penetasan telur dipengaruhi suhu, oksigen terlarut, dan kadar ammonia dalam air [13]. Suhu optimal untuk penetasan telur ikan *rainbow* 24-27° C.

Nilai HR dari pemijahan ikan *rainbow* boesemani berkisar antara 70-90% (Gambar 3). Menurut Kadarini *et al.* [9] telur ikan *rainbow* boesemani memiliki HR mencapai 95%, sedangkan pada ikan *rainbow* mungil (*Melanotaenia praecox*) mencapai 93.85% [12]. Nilai HR yang tidak mencapai 95% disebabkan faktor lingkungan, penyakit di dalam air, dan kesalahan manusia. Kesalahan manusia yang sering terjadi yaitu pada saat pengambilan telur untuk proses perhitungan. Menurut Subandiyah *et al.* [14] jumlah penetasan telur dipengaruhi luas permukaan *shelter*, kualitas telur dan air media inkubasi telur. Telur dengan mutu baik dapat menghasilkan zigot dan mempertahankan kehidupan embrio di dalam telur, sehingga memiliki nilai FR dan HR yang tinggi [10].

Dari hasil penelitian ini bisa disimpulkan bahwa ikan *rainbow* boesemani betina yang memiliki bobot badan rata-rata 3.70 ± 0.348 g memiliki fekunditas berkisar antara 227-506 butir. Selain itu, diameter telur ikan *rainbow* boesemani di dalam gonad memiliki ukuran yang berbeda-beda, sedangkan diameter telur yang dikeluarkan saat pemijahan berkisar antara 1.05-1.14 mm; nilai FR ikan *rainbow* boesemani rata-rata 100% dan nilai HR berkisar antara 70-90%.

PUSTAKA

- [1] Saskia Y. 2012. Pembenihan ikan rainbow (*Melanotaenia boesemani*) di Balai Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar (BRBIH) Depok. Usulan Praktik Umum Universitas Lampung. Lampung.
- [2] IUCN. 2014. Status *Melanotaenia boesemani*. <http://www.iucnredlist.org/details/13058/0>. [02 Januari 2014].
- [3] Nur B. 2011. Studi domestikasi dan pemijahan ikan pelangi kurumoi (*Melanotaenia parva*) sebagai tahap awal upaya konservasi ex-situ. Prosiding Forum Nasional Pemacuan Sumber Daya Ikan III; Bandung, 18 Oktober 2011. Bandung: Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- [4] Subandiyah S, Hirnawati R, Rohmy S, Atmaja. 2010. Pemeliharaan larva ikan hias pelangi asal Danau Kurumoi umur 7 hari dengan pakan alami. Seminar Nasional Biologi; Yogyakarta, 24-25 September 2010. Yogyakarta: UGM.
- [5] Unus F, Omar SBA. 2010. Analisis fekunditas dan diameter telur ikan malalugis biru (*Decapterus macarellus* Cuvier, 1833) di perairan Kabupaten Banggai Kepulauan, Propinsi Sulawesi Tengah. *J. Torani (Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan)* 20 (1):37-43.
- [6] Nugraha F. 2004. Embriogenesis dan perkembangan larva ikan rainbow (*Glossolepis incises*) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [7] Chumaidi, Nur B, Sudarto, Pouyaud L, Slembrouck J. 2009. Pemijahan dan perkembangan embrio ikan pelangi *Melanotaenia* spp. asal Papua. *J. Perikanan*. 11 (2):131-137.
- [8] Kusrini E, Priyadi A, Wibawa GS, Insan I. 2010. Pengaruh pH terhadap perkembangan gonad ikan rainbow sawiat (*Melanotaenia* sp.). Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur; Bandar Lampung, 20-23 April 2010. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya-Badan Penelitian dan Pengembangan Kelautan dan Perikanan.
- [9] Kadarini T, Mertayasa A, Kusrini E. 2011. Dukungan pembenihan ikan rainbow boesemani (*Melanotaenia boesemani*) terhadap sumber daya ikan di Depok. Prosiding Forum Nasional Pemacuan Sumber Daya Ikan III; Bandung, 18 Oktober 2011. Bandung: Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- [10] Tang UM, R Affandi. 2000. Biologi Reproduksi Ikan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [11] Utami AD. 2012. Pembenihan ikan rainbow merah *Glosslepir incises* di Balai Riset Budidaya Ikan Hias Depok, Jawa Barat. Laporan Praktik Lapangan Akuakultur Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [12] Nur B, Kadarini T, Hirnawati R. 2012. Pola reproduksi ikan pelangi mungil, *Melanotaenia praecox* pada rasio kelamin yang berbeda. Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan. 14 Juli 2012. Yogyakarta: UGM.

- [13] Dardiani, Sary IR. 2010. Mata Diklat 4 Manajemen Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva. Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidik dan Tenaga Kependidikan Pertanian. Ciganjur.
- [14] Subandiyah S, Hirnawati R, Rohmy S. 2010. Pemijahan ikan rainbow asal Papua dengan menggunakan shelter yang berbeda. Seminar Nasional Biologi; Yogyakarta, 24-25 September 2010. Yogyakarta: UGM.

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona uricata L.*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI ORGAN HATI TIKUS (*Rattus norvegicus L.*)

EFFECT OF ETHANOL EKTRACT LEAVES OF THE SOURSOP (*Annona muricata L.*) HISTOLOGY ON RAT LIVER ORGAN (*Rattus norvegicus L.*)

Endang Sulistyarini Gultom, Martina Restuati, Elen Elizabeth Panggabean

Universitas Negeri Medan, Medan

ABSTRACT

This study aimed to the effect of ethanol extract of leaves of soursop on liver tissue in mice. This study used rats (*Rattus norvegicus L.*) males, and soursop leaves. Preparation of histological preparations made by the process of dehydration, clearing, infiltration, embedding, sectioning and staining. Results obtained from the research conducted that the average body weight of rats for 30 days in the control treatment was obtained 194.167 grams, the soursop extract treatment 220, 161 grams, the extract treatment soursop + SRBC 225, 86 grams and the treatment of SRBC 228.495 grams. The observation of liver histology showed that the ethanol extract of leaves of soursop 0.2 ml in white rats, gave rise to changes in liver histology white rats, whereas injection of SRBC treated suffered significant damage, because the antigens that enter very big influence on histological structure of the liver. While treatment soursop extract + SRBC changed but better than the outcome of the SRBC.

Keywords : *Plectranthus amboinicus L.* , hematology , spleen

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak terhadap jaringan hati pada tikus putih. Dalam penelitian ini digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) jantan, dan daun sirsak. Pembuatan sediaan histologi dilakukan dengan proses dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, sectioning dan staining. Hasil yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan bahwa berat badan tikus rata rata selama 30 hari perlakuan adalah pada kontrol diperoleh 194,167gram, pada perlakuan ekstrak sirsak 220, 161 gram, pada perlakuan ekstrak sirsak + SRBC 225, 86 gram dan pada perlakuan SRBC 228,495 gram. Hasil pengamatan gambaran histologi hati menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak 0,2 ml pada tikus putih, menimbulkan adanya perubahan yang terjadi pada histologi hati tikus putih, sedangkan yang diberi perlakuan suntikan SRBC mengalami kerusakan yang nyata, dikarenakan antigen yang masuk sangat berpengaruh besar terhadap struktur histologi hati. Sedangkan perlakuan ekstrak sirsak + SRBC mengalami perubahan tetapi lebih baik dibandingkan dengan hasil pemberian SRBC.

Kata Kunci : *Annona muricata*, Tikus putih, SRBC, histology, hati

PENDAHULUAN

Penyembuhan penyakit dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat tradisional sampai saat ini masih belum maksimal dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia, hanya di daerah pedesaan yang kaya dengan keanekaragaman tumbuhannya yang sudah menggunakannya [1]. Selain mudah didapat, obat tradisional yang berasal dari tumbuhan tidak memiliki efek samping dan harganya lebih murah dibandingkan obat-obatan kimia serta obat yang berasal dari tumbuhan masih banyak yang belum diteliti [2]. Penelitian tentang tanaman obat tradisional yang bermanfaat terhadap kesehatan terus-menerus mengalami perkembangan. Sebagian besar tanaman-tanaman tersebut mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh terhadap serangan berbagai virus atau antigen spesifik lainnya [3].

Salah satu tumbuhan yang dapat dibuat sebagai obat tradisional adalah daun sirsak. Daun sirsak memiliki bau tajam menyengat dengan tangkai daun pendek sekitar 3-10 mm [4]. Para peneliti sudah banyak melakukan penelitian terkait khasiat daun sirsak. Perasan daun sirsak mulai dari konsentrasi 25% sampai 100% bisa menghambat pertumbuhan bakteri *E coli* [5] dan juga bisa meningkatkan jumlah total leukosit, eutrofil dan berat badan tikus putih [6]. Selain itu, biji sirsak mengandung senyawa annonain yang dapat membunuh serangga kutu beras [7]. Daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti acetogenin yang bermanfaat mengobati berbagai penyakit. Acetogenin berperan melindungi sistem kekebalan tubuh serta mencegah dari infeksi yang mematikan. Acetogenin memiliki sitotoksitas terhadap sel kanker sebagai antigen dalam tubuh [8]. Aktivitas tersebut dapat diamati melalui gambaran histologi organ-organ yang berperan dalam modulator antibodi dan pembuangan racun dalam tubuh seperti hati.

Sebagai tanaman obat yang bermanfaat mengobati berbagai penyakit terkait sistem kekebalan tubuh, maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak etanol daun sirsak. *Sheep Red Blood Cell* (SRBC) merupakan antigen yang digunakan pada penelitian ini. Masuknya antigen ke dalam tubuh direspon secara langsung oleh tubuh termasuk organ hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sirsak terhadap gambaran histologi organ hati tikus (*Rattus norvegicus*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan sebagai tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, Laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara sebagai tempat pembuatan ekstrak daun sirsak dan preparat histologi. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar berumur tiga bulan dengan berat badan 140-180 g. Tikus diperoleh dari laboratorium fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara dan dikembangbiakkan di kandang hewan laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan. Pakan tikus berupa pelet komersial diperoleh dari toko pakan ternak. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) ditanam sendiri di lahan sekitar kandang hewan percobaan. Sel darah merah domba (SRBC) sebagai antigen diperoleh dari Laboratorium Veteriner Medan Sumatera Utara. etanol 96%, K₂HPO₄, KH₂PO₄, NaCl, akuades untuk membuat PBS.

2.1. Aklimasi Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus jantan galur Wistar berumur tiga bulan dengan berat badan 140-180 g. Tikus ditempatkan dalam kandang bahan plastik berukuran 40 x 25 x 20 cm, di bagian atas kandang dilengkapi dengan kawat penutup. Setiap kandang diisi dengan sekam sebagai alas lalu ditempatkan tiga ekor tikus setiap kandang. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*, aklimasi dilakukan selama 7 hari.

2.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Daun Sirsak yang digunakan adalah daun ke- 4 atau ke- 6 dari pucuk (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua), dipetik dari ujung tanaman tersebut. Sebanyak 4 kg daun segar dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40^o sampai kering betul atau rapuh seperti kerupuk. 1kg daun kering dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk. Serbuk ditempatkan dalam 5 wadah masing-masing 200 gram dan ditambahkan etanol 96% yang telah dimurnikan dengan menggunakan *Rotary evaporator*. Kemudian hasil ekstrak kental dimasukkan ke dalam botol kaca berwarna bening, dan disimpan di dalam lemari es.

2.3. Pembuatan Antigen SRBC

Pembuatan antigen dilakukan di Dinas Peternakan Medan. Darah domba diambil sebanyak 5 ml lalu ditambah dengan alceper dengan perbandingan 1:1, fungsi alceper sebagai reseptor, supaya mengikat dengan sel-sel lain dan pengawet. Darah dicuci dengan larutan koliner diluent dengan PH 7.4 lalu disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit [3]. Hasil dari sentrifus di buang bagian atasnya lalu diisi lagi dengan koliner diluent sampai 40 ml, setelah itu di sentrifus lagi dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Proses pencucian dengan sentrifus ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil dari sentrifus di simpan dalam kulkas -4°C.

2.4. Penentuan Dosis Ekstrak Etanol Sirsak pada Hewan Coba

Dosis ekstrak etanol sirsak untuk tikus yaitu 500 mg /kg BB [5, 7]. Ekstrak etanol daun sirsak dilarutkan dalam CMC 1% [7]. Larutan yang dibuat adalah larutan 10%. Pemberian ekstrak sirsak diberikan peroral setiap hari dengan cara mencekok, diberikan selama 30 hari.

2.5. Rancangan Penelitian

Penelitian bersifat eksperimental, Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan empat perlakuan, masing-masing diberi enam ulangan. Hewan coba digunakan 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) umur 3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 gram dan diadaptasi selama 7 hari. Setiap kelompok dipelihara dan diberi makan dan minum *ad libitum*. Masa pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilaksanakan selama 30 hari dengan empat perlakuan yaitu A₀ sebagai kontrol dengan pemberian akuades, A₁ dengan pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata* L, A₂ dengan pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata* L. dan *Sheep Red Blood Cells* (SRBC) dan A₃ dengan pemberian SRBC saja. SRBC diberikan pada hari ke-8 dan ke 15 perlakuan.

2.6. Pembuatan Preparat Histologi Hati

Pemanenan hati dilakukan pada hari ke- 31 perlakuan dengan mematikan tikus. Untuk pengambilan sampel organ hati dilakukan pada empat perlakuan. Organ yang telah diambil, kemudian dipotong tipis dengan ketebalan 0,5 cm dan dimasukkan ke dalam larutan NaCL 10 % untuk dicuci lalu dimasukkan kedalam larutan Formalin 10% [9].

2.7 Pengamatan Hematologi

Pembuatan sediaan histotologi dilakukan proses *dehidrasi*, *clearing*, *infiltrasi*, *embedding*, *sectioning* dan *staining*. *Dehidrasi* merupakan proses penarikan air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengerutan terhadap sampel. Sampel jaringan didehidrasi di dalam alkohol bertingkat (alkohol 70, 80, 90, 95%, dan alkohol absolut), xylol I, xylol II, serta paraffin I dan II dengan menggunakan alat *automatic tissue processor* selama 2 jam. *Clearing* atau penjernihan adalah proses intermedier antara proses dehidrasi dengan proses *embedding* dengan paraffin. Xylol biasanya digunakan sebagai zat dalam proses *clearing*, karena xylol dapat bercampur dengan air. Selanjutnya dilakukan tahap *embedding* atau pembuatan blok paraffin.

Tahap berikutnya adalah *sectioning*, yaitu pemotongan jaringan menggunakan mikrotom yang terdiri dari tiga tahap: tahap pemotongan kasar, tahap pemotongan halus dan tahap pengembangan lembaran potongan dalam air hangat (40-45' C). Blok paraffin yang telah dipotong diletakkan pada gelas objek dan disimpan dalam inkubator (37 °C) selama 24 jam hingga jaringan melekat sempurna. Untuk mempermudah penglihatan dan pengenalan dalam mikroskop, maka dilakukan *staining* (pewarnaan jaringan).

Sebelum melakukan proses pewarnaan dilakukan deparaffinisasi dalam larutan xylol I dan II. Selanjutnya dilakukan dehidrasi secara bertahap ke dalam larutan alkohol absolut (2 menit), alkohol 95% (1 menit) dan alkohol 80% (1 menit). Sediaan kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Proses pewarnaan dimulai dengan perendaman sediaan dalam pewarna Mayer's hematoksin (8 menit), lalu dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Sediaan lalu dicelupkan ke dalam larutan Lithium Karbonat (10-15 menit) lalu direndam dalam air kran selama 2 menit. Sediaan kemudian dicelup ke dalam pewarna eosin (2-3 menit) dan dicuci kembali dengan air kran (30-60 detik) untuk menghilangkan kelebihan zat warna. Selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan larutan alkohol 95% sebanyak 10 celupan, alkohol absolut I sebanyak 10 celupan, alkohol absolut II (2 menit), xylol I (1 menit), dan xylol II (2 menit). Kemudian sediaan dikeringkan dan ditutup dengan cover glass menggunakan bahan perekat *permount* [9].

2.8. Pengamatan Sediaan Histopatologi Hati

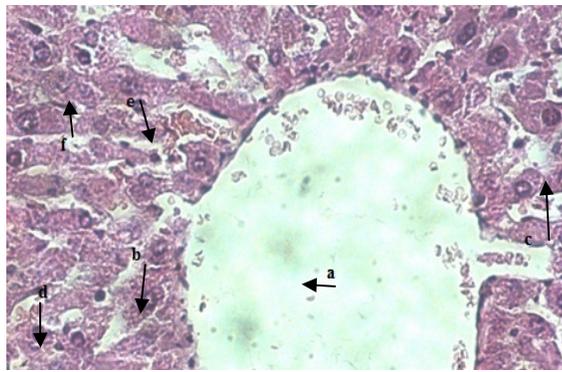
Pengamatan pada histopatologi hati berdasarkan perubahan yang terjadi pada sel hati, sinusoid, dan daerah porta [10] [11].

HASIL

Irisan hati yang digunakan untuk pembuatan preparat diambil dari lobus sebelah kanan. Hal ini bertujuan untuk memperoleh gambaran struktur histologi yang relatif seragam. Gambaran histologi hati masing - masing kelompok percobaan kemudian diamati di daerah sekitar vena sentralis dengan perbesaran 40 x 10 di bawah mikroskop.

1 Kelompok Perlakuan Kontrol (A_0)

Berdasarkan hasil pengamatan histologi organ hati, diperoleh bahwa sinusoid terlihat agak sempit dengan beberapa sel kupffer. Selain itu, hepatosit tersusun radier dari vena sentralis hingga ke tepi lobulus. Nukleus berada di tengah sel dan berwarna lebih gelap, sedangkan sitoplasma terpusat merah.

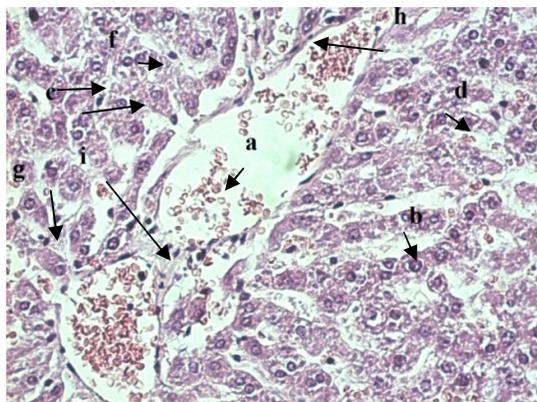


Gambar 1. Gambaran histologi hati perlakuan A_0

Keterangan: a. vena sentralis, b. hepatosit normal, c. inti hepatosit d. hepatosit binukleat, e. sinusoid, dan f. sel Kupffer

2 Kelompok Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (A_1)

Pada perlakuan A_1 , hati tampak mengalami perubahan pada struktur mikroanatominya. Susunan hepatosit terlihat tidak teratur dan terpisah-pisah oleh sinusoid yang mengalami dilatasi.

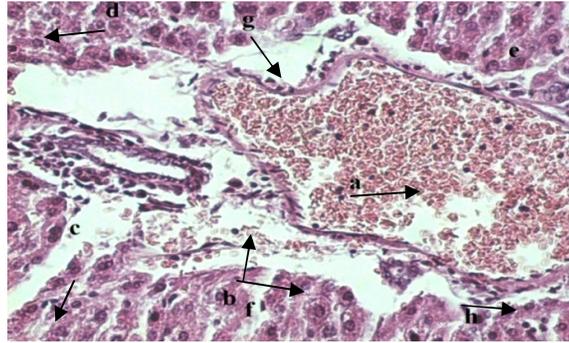


Gambar 2. Struktur mikroanatomi Kelompok A_1

Keterangan: a. vena sentralis, b. hepatosit normal, c. inti hepatosit, d. Hepatosit binukleat, e. sinusoid, f. sel Kupffer, g. Sel hepatosit, h. vakuola lemak, i. inti piknotik

3 Kelompok Perlakuan Pemberian Ekstrak Etanol dan Penyuntikan SRBC (A₂)

Gambaran struktur mikroanatomi menunjukkan hati masih mengalami kerusakan akibat disuntikkan dengan antigen SRBC. Selain itu, susunan hepatosit terlihat tidak teratur dan terpisah-pisah oleh sinusoid yang mengalami dilatasi yang besar terutama dibagian permukaan vena.

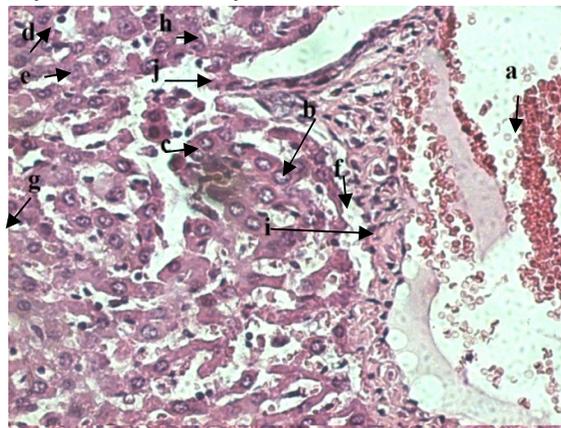


Gambar 3. Struktur mikroanatomi Kelompok A₂

Keterangan. a. vena sentralis, b. hepatosit normal, c. inti hepatosit, d. Hepatosit binukleat, e. sinusoid, g. degenerasi hidropik, h. vakuola lemak, i. inti piknotik, j. karyoreksis, k. Karyolisis

4 Kelompok Perlakuan penyuntikan SRBC (A₃)

Berdasarkan gambaran struktur mikroanatomi hati pada kelompok perlakuan A₃, diketahui kerusakan yang masih terdapat pada hepatosit adalah degenerasi lemak, degenerasi hidropik, karyoreksis dan karyolisis.



Gambar 4. Struktur mikroanatomi Kelompok A₃ pada perbesaran: 400 x.

Keterangan: a. vena sentralis, b. hepatosit normal, c. inti hepatosit, d. Hepatosit binukleat
f. sel kupffer, g. degenerasi hidropik, h. karyoreksis, i. Karyolisis

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan gambaran histologi hati menunjukkan bahwa perlakuan A₁ menimbulkan adanya perubahan yang terjadi pada histologi hati tikus putih, sedangkan yang diberi perlakuan A₃ mengalami kerusakan yang nyata, dikarenakan antigen yang masuk sangat berpengaruh besar terhadap struktur histologi hati. Sedangkan perlakuan A₂ mengalami perubahan tetapi lebih baik dibandingkan dengan hasil perlakuan A₃.

Perlakuan A₂ tidak berpengaruh besar terhadap kerusakan jaringan hati tikus putih. Pada pengamatan histologi, terlihat bahwa susunan hepatosit terlihat tidak teratur dan terpisah-pisah oleh sinusoid yang mengalami dilatasi (Gambar 2). Pelebaran sinusoid dapat terjadi karena terjadinya degenerasi lemak yang parah sehingga terbentuk vakuola lemak secara merata. Vakuola lemak ini menimbulkan banyak ruang kosong, sehingga jarak antar sinusoid menjadi lebih lebar (dilatasi) dibandingkan sinusoid pada kelompok kontrol (normal) [12].

Pada perlakuan A₃ mengalami kerusakan yang nyata. SRBC sebagai antigen menyebabkan kerusakan yang berpengaruh pada hepatosit seperti degenerasi lemak, degenerasi hidropik, karyoreksis dan karyolisis. Degenerasi yang terus berlanjut akan menyebabkan kematian sel. Kematian sel hati menyebabkan hepatosit tidak dapat kembali ke bentuk normal (*irreversible*). Kematian sel dapat terjadi melalui proses apoptosis dan nekrosa [12].

Kerusakan jaringan sel hepatosit sebagian besar disebabkan oleh adanya antigen (sel darah merah domba) yang sangat berpengaruh terhadap kerusakan jaringan histologi hati. Gambaran struktur mikroanatomi pada perlakuan A₃ menunjukkan persentase kerusakan lebih besar dari pada perlakuan A₂.

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 0,2 g/kg BB selama 30 hari tidak terlalu berpengaruh terhadap kerusakan histologi hati tikus putih. Ekstrak etanol daun sirsak yang ditambah dengan SRBC mengalami perubahan yang lebih baik dibandingkan dengan hanya SRBC saja.

PUSTAKA

- [1] Wayan, I. 2004. Pemanfaatan obat penurun panas oleh masyarakat Angkah, Tabanan Bali, dalam Prosiding Seminar Nasional XXV Tumbuhan Obat Indonesia. Tawangmangu: Pokjanas
- [2] Azwar, A. 1992. Antropologi Kesehatan Indonesia Jilid I Pengobatan Tradisional. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- [3] Sirait Firdaus. 2013. Efek Ekstrak Etanol Daun Bangunbangun (*Coleus amboinicus* L.) Terhadap Gambaran Histologi Hati Dan Leukosit Tikus Putih (*Rattus novvergivus* L.) Yang Diberi DPT, Skripsi, Universitas Negeri Medan ; Medan.
- [4] Radi J. 2001. Sirsak-Budidaya dan Pemanfaatannya. Kanisisus : Yogyakarta

- [5] Permatasari G.A.A.A, Besung I.N.K, Mahatmi H, (2013), Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*, Universitas Udayana, *Indonesia Medicus Veterinus* 2(2), 162 – 169.
- [6] Sinaga, Epipania. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Jumlah Leukosit dan Hitung Jenis Leukosit Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), Skripsi, Universitas Negeri Medan ; Medan.
- [7] Tambunan, Krista Dame. 2008. Uji Toksisitas Tepung Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Hama Gudang Kumbang Beras (*Stiophilus oryzae* L.), Skripsi, Universitas Negeri Medan; Medan.
- [8] Erlinger Thomas P. 2004. WBC Count and the Risk of Cancer Mortality in a National Sample of U.S. Adults: Results from the Second National Health and Nutrition Examination Survey Mortality Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 13: 1052.
- [9] Rahmi, Anifah. 2009. Studi Hematologis dan Histopatologis Organ Pada Tikus yang Diinduksi Kuinin Sebagai Uji Potensi Metabolik Angkak, Skripsi, Bogor, IPB.
- [10] Mardiasuti, Endah. 2002. Gambaran Histopatologi Organ Hati dan Ginjal Tikus Diabetes Mellitus yang Diberi Infus Batang Brotowali (*Tinospora tuberculata* L.) Sebagai Bahan Antidiabetik, Sripsi, Bogor, IPB.
- [11] Fawcett, Don W,. 2001. Buku Ajar Histologi (A Textbook of Histology), Diterjemahkan oleh dr. Huriawati Hartanto dan dr. Jan Tambayong, Penerbit EGC, Jakarta
- [12] Wulandari, Tri. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar Dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Terpapar Diazinon, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

KAJIAN PERBANDINGAN CARBON POOL PADA EMPAT JENIS TUMBUHAN PIONIR DAN NON PIONIR DI KAWASAN HUTAN HUJAN TROPIS PINANG-PINANG SUMATERA BARAT

COMPARATIVE STUDY OF CARBON POOLS ON FOUR PIONEER AND NON PIONEER TREE SPECIES IN A TROPICAL RAINS FOREST PINANG-PINANG WEST SUMATRA

Rafdinal¹, Erizal Mukhtar², Syamsuardi³ dan Hermansyah⁴

¹Program Pascasarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang
Email: rafdinal.mipa@gmail.com

²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura Pontianak

³Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang

⁴Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang

ABSTRACT

Forest dynamics will affect the species composition and carbon stocks in forest ecosystems. research on the potential carbon pool on the four pioneer (*Macaranga hulletii* and *Mallotus subpeltatus*) and non-pioneer (*Hopea dryobalanoides* and *Mastixia trichotoma*) in permanent plots Pinang-Pinang after 32 years of observation has been conducted. biomass and carbon were estimated using allometric equation. average biomass on the four pioneer and non-pioneer ranged 0.107-1.046 Mg / ha, and total carbon in tree components (stems, leaves, branches and roots) ranged from 0.107 to 7.326 Mg C / ha. significant difference between the amount of carbon on the four pioneer and non-pioneer tree species (ANOVA, $F_{3,46} = 10.924$, $F < 0.05$). percentage of carbon in stems (54-55%) higher than the roots, branches and leaves. respectively 27 %, 16-21% and 0.8-1.2%.

Keyword: Carbon pool, pioneer and non pioneer tree species, biomass, stocks carbon, tropical rain forests Pinang-Pinang, West Sumatra

ABSTRAK

Dinamika hutan sangat mempengaruhi komposisi jenis dan simpanan karbon dalam ekosistem hutan. Penelitian tentang potensi carbon pool pada empat jenis pionir (*Macaranga hulletii* dan *Mallotus subpeltatus*) dan non pionir (*Hopea dryobalanoides* dan *Mastixia trichotoma*) di plot permanen Pinang-Pinang setelah 32 tahun pengamatan telah dilakukan. Biomasa dan carbon pada keempat jenis tumbuhan dianalisis menggunakan persamaan allometrik. Biomasa rata-rata keempat jenis pionir dan non pionir berkisar antara 0.107-1.046 Mg/ha. Total carbon pada bagian tumbuhan (batang, cabang, daun dan akar) berkisar antara 0.107-7.326 Mg C/ha. Ada perbedaan significant antara total carbon antar jenis pionir dan non pionir (Anova, $F_{3,46}=10.924$, $F<0.05$). Prosentase carbon pool terbesar pada jenis pionir dan non pionir terdistribusi pada batang tumbuhan sebesar 54-55 %, kemudian diikuti oleh akar sebesar 27 %, cabang 16-21 % dan daun 0.8-1.2 %.

Kata Kunci: Kantung carbon, spesies pionir dan non pionir, biomasa, stok carbon, hutan hujan tropis Pinang-Pinang Sumatera Barat.

PENDAHULUAN

Hutan tropis merupakan reservoir utama dalam siklus carbon global. Simpanan carbon di hutan tropis telah menjadi isu sentral dalam pengurangan emisi carbon. Potensi carbon pada ekosistem hutan tropis sangat tergantung pada praktek pengelolaan hutan, gangguan, komposisi dan umur suatu tegakan dalam skala bentang alam. Disamping itu heterogenitas ruang dalam penggunaan lahan dan tipe penggunaan serta iklim juga mempengaruhi simpanan carbon [1].

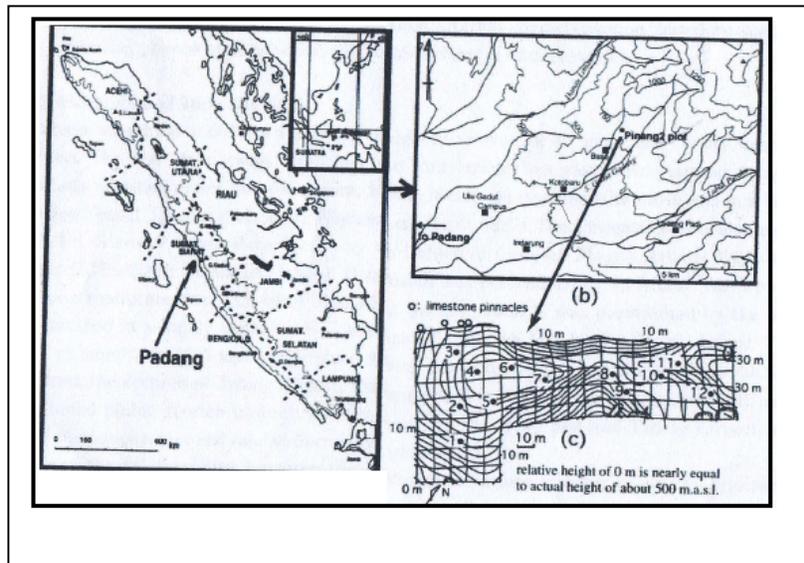
Deforestasi merupakan isu penting dalam perkembangan hutan tropis dalam beberapa dekade. Berdasarkan data yang dikeluarkan FAO (2001) melaporkan bahwa secara global laju deforestasi hutan meningkat dalam beberapa tahun terakhir yaitu sebesar 0,23 % pertahun atau sekitar 9 juta hektar pertahun.[2] Indonesia merupakan salah satu negara yang tingkat laju deforestasi hutan cukup besar di dunia. Faktor penyebabnya antara lain terkait dengan permintaan produk hutan yang cukup tinggi, seperti pada tahun 2004 mengespor kayu log 30 juta kubik dan 6,4 juta kubik kayu polywood. Disamping faktor permintaan pasar, semakin luasnya kehilangan hutan Indonesia dalam dua dekade belakangan ini antara lain disebabkan adanya kebakaran hutan, Illegal logging, konversi hutan, ekspansi perkebunan, reformasi politik dan gab social.[3,4]

Kawasan hutan Pinang-Pinang merupakan salah satu bagian kawasan hutan tropis Indonesia yang terdapat di Sumatra Barat. Kawasan tersebut memiliki fungsi ekologis yang sangat penting diantaranya adalah menjaga keseimbangan ekosistem. Beberapa penelitian tentang bioekologi serta fitososiologi hutan telah banyak dilakukan di kawasan ini, baik dari peneliti luar maupun lokal, diantaranya adalah dinamika above-ground pohon besar dan variasi struktur horizontal tegakan [5,6], produksi serasah [7], regenerasi spesies klimaks [8], dan pola distribusi spesies [9]. Namun penelitian terkait dengan potensi kawasan Pinang-Pinang sebagai carbon pool khususnya untuk jenis pionir dan non pionir belum didapatkan informasinya. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi kawasan sebagai carbon pool untuk melengkapi data potensi carbon Sumatra Barat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui carbon pool pada beberapa jenis pionir dan non pioner

METODE PENELITIAN

2.1. Deskripsi Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada plot permanen Pinang-Pinang di kawasan hutan Ulu Gadut, yang terletak di Bukit Barisan ± 17 km ke arah Timur dari kota Padang, Sumatera Barat, Indonesia (0° 55' S, 100° 30'E) (Gambar 1). Plot permanen Pinang-Pinang dibuat berdasarkan kerjasama Universitas Andalas dengan Japan International Cooperation Agency (JICA) yang tergabung dalam suatu kegiatan *Sumatera Nature Study* (SNS : Botany) tahun 1981, dengan luas 1,0041 ha dan terdiri dari 115 subplot.



Gambar 1. Peta lokasi penelitian a. Pulau Sumatra, b. Topografi Gunung Gadut. c. Plot Pinang-Pinang.[7]

Secara umum kawasan ini termasuk kedalam kawasan dengan tipe iklim tropis basah. Curah hujan tahunan relatif tinggi. Berdasarkan pencatatan BMKG (2012) Padang tercatat bahwa curah hujan tertinggi pada tahun 2011 jatuh pada bulan November yaitu 826 mm dan terendah sebesar 118 mm pada bulan Mei. Rata-rata temperatur bulanan sebesar 24.8-27.3°C, dan tidak ada ditemukan musim kering. Kondisi tanah umumnya sangat heterogen, dengan pH H₂O tanah pada horizon A berkisar antara 3,69-5,55

Kepadatan total dan basal area pohon di atas *dbh* 10 cm telah dihitung pada tahun 1981 yaitu masing-masingnya 564 pohon/ha dan 33,8 m²/ha. Tinggi pohon emergent berkisar dari 50-60 m, dimana canopy utamanya bisa mencapai tinggi 25-35 m dari permukaan tanah. Lebih kurang 83 % total pohon dengan *dbh* di atas 10 cm telah diidentifikasi dan terdiri dari 39 famili, 67 genera dan 65 spesies. *Swintonia schwenchii* merupakan kelompok pohon emergent yang mendominasi kawasan plot Pinang-Pinang. Komposisi spesies lapisan kanopi cukup bervariasi dan terdiri dari beberapa famili seperti Fagaceae, Burceraceae, Myrtaceae, Sapindaceae, Bombacaceae dan lainnya (SNS, 1986). Sensus diameter pohon hidup telah diulang lima kali dalam periode waktu 1981-1985 (SNS, 1986). Data pengukuran tentang kondisi pohon telah direkap dan dijadikan referensi bagi penelitian lanjutan.

2.2. Penentuan Plot Pengamatan dan Pengukuran Pohon Pionir dan Non Pionir

Penentuan plot pengamatan ditentukan berdasarkan pendekatan konseptual dengan melihat persebaran jenis target di plot Pinang-pinang dalam dimensi spasial yaitu menggunakan metode *porposive sampling*. Inventarisasi sensus data pengukuran dibatasi pada 4 spesies yang mewakili jenis pionir dan non pionir. Ke-empat spesies tersebut adalah *Hopea dryobalanoides*, *Mastixia trichotoma* (non pionir) dan *Macaranga hulettii*, *Mallotus subpetaltus* (pionir) dengan diameter batang (*dbh* = *diameter at breast*

height) ➤ 8. Tahapan penelitian meliputi pengukuran diameter batang, tinggi pohon, pengukuran biomasa dan cadangan carbon. Karakter dinamika populasi seperti pertumbuhan relatif dan tingkat kebertahanan hidup spesies target dihitung dengan mengkombinasikan data pengamatan dengan data *Diversity and dynamics of plant life in Sumatra*. [10].

2.3. Pendugaan Biomasa dan Karbon Tersimpan

Pendugaan biomasa pohon dilakukan dengan metode non destruktif yaitu menggunakan persamaan allometrik untuk hutan tropis oleh Tsutsumi et al., (1983) yang merupakan fungsi diameter dan tinggi tegakan. Biomasa atas permukaan (*Aboveground biomass*) merupakan jumlah dari biomasa batang, cabang dan daun. Persamaan allometrik pendugaan aboveground biomass sebagai berikut : [11]

$$\text{Biomasa batang/stems mass (kg/ind.pohon)} = 0,0509 (D^2H)^{0,919}$$

$$\text{Biomasa cabang/branches mass (kg/ind.pohon)} = 0,00893 (D^2H)^{0,977}$$

$$\text{Biomasa daun/leaves mass (kg/ind.pohon)} = 0,01140 (D^2H)^{0,669}$$

dimana : D = diameter setinggi dada (cm); dan H = tinggi pohon (cm).

Untuk biomasa bawah permukaan tanah (*belowground biomass*), pendekatan yang dipakai menggunakan rasio akar dan batang (*Root to Shoot Ratio*), yaitu rasio antara biomasa akar dengan biomasa atas permukaan. [12,13,14] Kandungan karbon tersimpan pada biomasa pohon dan akar dihitung dengan mengkonversikan biomasa dalam bentuk karbon. Biomasa tersebut dikali dengan faktor konversi sebesar 0,5. [15]

2.4. Analisis Data

Analisis statistic One-way ANOVA menggunakan Scheffe Post-hoc Test digunakan untuk membandingkan karakter morfometrik tegakan, biomasa dan kandungan karbon pada ke-empat jenis pionir dan non pionir. Semua analisis statistic menggunakan program SPSS Graduate Pack™ 14.0 for windows (SPSS 2005). Adanya perbedaan dievaluasi menggunakan selang kepercayaan 5 % ($P < 0.05$)

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pertumbuhan dan Kebertahanan Hidup

Hasil analisis pertumbuhan diameter relatif empat jenis pionir dan non pionir kurun waktu 32 tahun pengamatan memperlihatkan adanya peningkatan pertumbuhan selama waktu pengamatan. Peningkatan pertumbuhan ini ditunjukkan dengan nilai pertambahan diameter batang pada akhir tahun pengamatan. Rata-rata pertumbuhan diameter relatif (RDGR) empat jenis pionir dan non pionir berdasarkan pada pertambahan diameter tersaji pada Tabel 1.

Pertambahan diameter untuk *Hopea dryobalanodes* terjadi peningkatan sebesar 0.23 ± 0.16 cm/tahun dari diameter awal, dengan RDGR sebesar 0.317 ± 0.13 cm/tahun. *Macaranga hulettii* terjadi peningkatan sebesar 0.13 ± 0.04 cm/tahun dari diameter awal, dengan RDGR sebesar 0.32 ± 0.10 cm/tahun. Dari hasil terlihat bahwa ada kecenderungan RDGR jenis pionir jauh lebih tinggi dibandingkan dengan jenis non pionir.

RDGR jenis-jenis pohon di kawasan hutan tropis Pinang-Pinang tidak begitu berbeda dengan hasil rata-rata pertumbuhan tegakan di hutan tropis Costa Rika yaitu berkisar antara 2.6 ± 0.39 mm/tahun (semievergreen forest) dan 2.6 ± 0.39 mm/tahun (semideciduous forest), [16] serta 1.9-5.2 mm/tahun di neotropical lowland forest Costa Rika [17]

Tabel 1. Kebertahanan hidup (%) dan rata-rata pertumbuhan diameter relatif (cm/tahun) empat jenis pionir dan non pionir setelah 32 tahun pengamatan (mean \pm sd)

Species	Famili	Survival rate (%)	RDGR (cm/tahun)	Kategori
<i>Hopea dryobalanoides</i>	Dipterocarpaceae	80	0.317 ± 0.13	Non Pionir
<i>Macaranga hullettii</i>	Euphorbiaceae	11.11	0.32 ± 0.10	Pionir
<i>Mallotus subpeltatus</i>	Euphorbiaceae	45.45	0.13 ± 0.08	Pionir
<i>Mastixia trichotoma</i>	Cornaceae	60	0.37 ± 0.20	Non Pionir

Hasil analisis kebertahanan hidup (survival rate) berdasarkan jenis pionir dan non pionir yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Prosentase tingkat kebertahanan hidup ke empat jenis tersebut bervariasi satu sama lain. Prosentase tingkat keberlangsungan hidup tertinggi ditemukan pada *Hopea dryobalanoides* yaitu sebesar 80 %. selanjutnya diikuti *Mastixia trichotoma* sebesar 60 % dan terendah *Macaranga hullettii* sebesar 11.11 % . Umumnya prosentase tingkat kebertahanan hidup jenis-jenis pionir jauh lebih rendah dibandingkan dengan jenis non pionir.

3.2. Basal area dan biomasa

Basal area keempat jenis pionir dan non pionir berkisar antara 0.02 ± 0.01 sampai 0.07 ± 0.06 m²/ha (mean \pm sd). Ada perbedaan signifikan basal area diantara keempat jenis pionir dan non pionir. Basal area terbesar dijumpai pada jenis *Hopea dryobalanoides* (0.07 ± 0.06 m²/ha), kemudian diikuti oleh jenis *Mastixia trichotoma* (0.06 ± 0.02 m²/ha) dan terendah jenis *Macaranga hullettii* (0.02 ± 0.01 m²/ha.) ($F_{3,36} = 12.511$, $P < 0.05$, ANOVA, Scheffe post-hoc test)

Besarnya biomasa antara jenis pionir dan non pionir yang dianalisis dengan persamaan allometrik sebagai fungsi dari perubahan diameter batang dan tinggi pohon (Tabel 2). Hasil memperlihatkan bahwa total biomasa jenis non pionir jauh lebih tinggi dibanding jenis pionir. Total biomasa tertinggi dijumpai pada jenis *Hopea dryobalanoides* (1.047 ± 1.02 Mg/ha), yang terendah *Macaranga hullettii* (0.107 ± 0.03 Mg/ha). Tingginya total biomasa *Hopea dryobalanoides* merupakan konsekuensi dari besarnya tingkat kebertahanan hidup dan jumlah yang cukup banyak dibandingkan dengan jenis lain pada semua plot pengamatan. Disamping itu besarnya rata-rata diameter (27.86 ± 13.42 cm) dan tinggi (27.86 ± 8.61 m) sebagai variable utama dalam menentukan biomasa tegakan sangat menentukan besarnya biomasa *Hopea dryobalanoides*. Secara keseluruhan ada perbedaan yang signifikan total biomasa diantara keempat jenis pionir dan non pionir ($F_{3,36} = 10.923$, $P < 0.05$, ANOVA, Scheffe post-hoc test).

Tabel 2. Basal area (m²/ha), biomasa (Mg/ha), Dbh (cm) dan tinggi (m) empat jenis pionir dan non pionir setelah 32 tahun pengamatan (mean±sd)

Spesies	Basal Area (m ² ha ⁻¹)	Biomasa (Mg/ha)	Dbh (cm)	Tinggi (m)
<i>Hopea dryobalanoides</i>	0.07±0.06 ^a	1.047±1.02 ^a	27.86 ±13.42 ^a	27.86 ± 8.61 ^a
<i>Macaranga hullettii</i>	0.02±0.01 ^b	0.107±0.03 ^b	16.95± 3.75 ^b	7.65 ± 0.93 ^b
<i>Mallotus subpeltatus</i>	0.03±0.02 ^b	0.261±0.37 ^b	17.08 ± 13.29 ^{bc}	13.29 ± 7.55 ^b
<i>Mastixia trichotoma</i>	0.06±0.02 ^b	0.654±0.35 ^b	26.8 0± 6.20 ^{cd}	20.26 ± 7.15 ^{ab}
<i>F-Value</i>	12.511	10.924	10.518	9.231
<i>Significant</i>	*	*	*	*

Anova : significant pada $P < 0.05$

^{abcd} : nilai yang sama pada masing-masing kolom menunjukkan tidak ada perbedaan $P > 0.05$)

Rata-rata *aboveground biomass* dan *belowground biomass* terlihat pada Tabel 3. Hasil memperlihatkan bahwa untuk semua jenis menunjukkan bahwa prosentase batang memberikan kontribusi tertinggi terhadap besarnya *aboveground biomass* yaitu berkisar antara 51-55 %, selanjutnya diikuti oleh cabang sekitar 16-21 %. Untuk akar (*belowground biomass*) memberikan kontribusi sebesar 27 %. Rasio akar batang (R:S) umumnya lebih tinggi untuk jenis-jenis non pionir dibanding jenis pionir. Umumnya perbandingan rasio biomasa akar batang untuk jenis non pionir sebesar 1 : 2, sedangkan untuk jenis pionir tidak begitu jelas polanya. Rendahnya rasio biomasa akar batang untuk jenis-jenis pionir terkait dengan jumlah dan keterbatasan hidupnya di kawasan hutan Pinang-Pinang, serta terkait dengan karakteristik hidup yang dimiliki oleh jenis-jenis pionir. Rasio akar batang tertinggi dijumpai pada jenis *Hopea dryobalanoides* (0.526), *Mastixia trichotoma* (0.492) dan terendah pada jenis *Mallotus subpeltatus* (0.023).

3.3. Stoks dan Carbon Pool pada Empat Jenis Pionir dan Non Pionir

Besarnya kandungan (stoks) carbon pada keempat jenis pionir dan non pionir terlihat pada Tabel 4. Hasil memperlihatkan bahwa total simpanan carbon pada masing-masing jenis maupun kantung carbon (carbon pool) bervariasi satu sama lain. Total carbon terbesar dijumpai pada jenis *Hopea dryobalanoides* (7.326 Mg C/ha), kemudian diikuti oleh *Mastixia trichotoma* (4.58 Mg C/ha) dan terendah *Macaranga hullettii* (0.107 Mg C/ha).

Prosentase carbon untuk masing-masing bagian tanaman prosentasenya berkisar antara 0.8-55 %. Dari total simpanan carbon pada masing-masing jenis, 54-55 % di sumbang oleh bagian batang, 27 % dari akar, 16-21 % dari cabang dan 0.8-1.2 % dari daun. Secara umum carbon pool pada jenis pionir dan non pionir di hutan tropis pinang-pinang jumlahnya mengikuti pola batang > akar > cabang > daun. Kondisi ini tidak begitu jauh berbeda dari hasil penelitian yang dilakukan untuk jenis indigeous dan exotic di hutan tanaman Thailand [18]. Total carbon pool pada empat jenis pionir dan non pionir

Tabel 3. Rata-rata aboveground biomass (Mg/ha) dan belowground biomass (Mg/ha) empat jenis pionir dan non pionir setelah 32 tahun pengamatan (mean±sd)

Spesies	Above-ground Biomass			Belowground Biomass	Total Biomass
	Batang	Cabang	Daun	Akar	
<i>Hopea dryobalanoides</i>	0.538 ± 0.520 ^a	0.217 ± 0.221 ^a	0.009 ± 0.007 ^a	0.283 ± 0.277 ^a	1.047 ± 0.107
<i>Macaranga hullettii</i>	0.060 ± 0.018 ^b	0.016 ± 0.005 ^b	0.002 ± 0.004 ^b	0.029 ± 0.009 ^b	0.107 ± 0.010
<i>Mallotus subpeltatus</i>	0.144 ± 0.202 ^b	0.043 ± 0.065 ^b	0.003 ± 0.003 ^b	0.070 ± 0.100 ^b	0.261 ± 0.026
<i>Mastixia trichotoma</i>	0.359 ± 0.190 ^b	0.111 ± 0.062 ^b	0.007 ± 0.003 ^b	0.177 ± 0.094 ^b	0.654 ± 0.054
<i>F-Value</i>	10.979	10.68	11.988	10.924	10.924
<i>Significant</i>	*	*	*	*	*

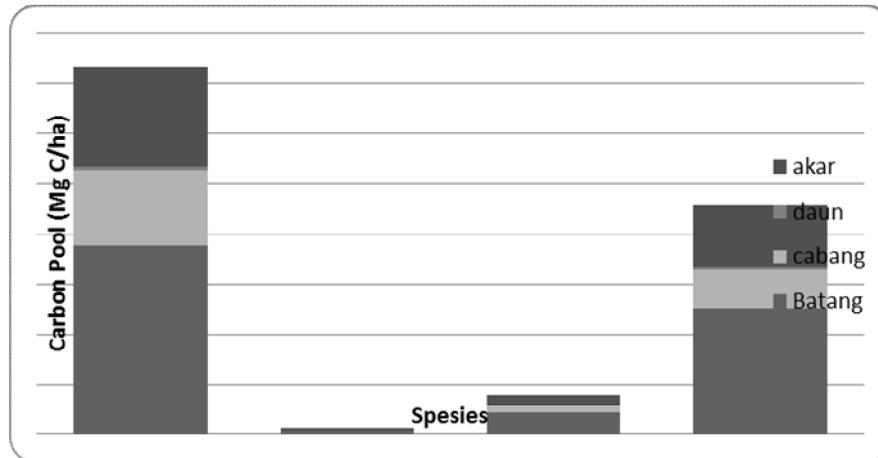
Anova : significant pada $P < 0.05$ abcd : nilai yang sama pada masing-masing kolom menunjukkan tidak ada perbedaan ($P > 0.05$)

Tabel 4. Total simpanan dan carbon pool (Mg C/ha) empat jenis pionir dan non pionir setelah 32 tahun pengamatan (mean±sd)

Spesies	<i>Hopea dryobalanoides</i>	<i>Macaranga hullettii</i>	<i>Mallotus subpeltatus</i>	<i>Mastixia trichotoma</i>
Bagian tumbuhan				
Batang	0.269 ± 0.260	0.030 ± 0.009	0.072 ± 0.101	0.141 ± 0.138
Cabang	0.109 ± 0.110	0.008 ± 0.003	0.022 ± 0.032	0.014 ± 0.004
Daun	0.004 ± 0.003	0.001 ± 0.000	0.002 ± 0.002	0.003 ± 0.003
Akar	0.141 ± 0.138	0.014 ± 0.004	0.035 ± 0.050	0.007 ± 0.003
Total	7.326	0.107	0.782	0.107
<i>F-Value</i>	2.25	11.95	1.53	11.95
<i>Significant</i>	ns	ns	ns	ns

Anova : significant pada $P < 0.05$ ns : nilai yang sama pada masing-masing kolom menunjukkan tidak ada perbedaan ($P > 0.05$)

berdasarkan bagian tumbuhan di hutan tropis Pinang-Pinang dapat dilihat pada Gambar 2. Menurut Somagyi et al, (2007) menyatakan bahwa akumulasi biomasa dan carbon sangat tergantung pada umur tegakan dan jenis. Kandungan carbon pada jaringan tumbuhan mendekati hampir ½ berat kering aboveground biomasa hidup.[19] Hal ini juga terlihat dari perbandingan antara rasio akar batang pada jenis target yang umumnya lebih besar pada jenis non pionir dibanding pionir



Gambar 2. Carbon pool pada empat jenis pionir dan non pionir (Hd = *Hopea dryobalanoides*, Mh = *Macaranga hullettii*, Ms = *Mallotus subpeltatus* dan Mt = *Mastixia trichotoma*)

KESIMPULAN

Simpanan dan carbon pool pada jenis pionir dan non pionir bervariasi berdasarkan jenis dan distribusinya pada bagian tumbuhan. Prosentase carbon pool terbesar pada jenis pionir dan non pionir terdistribusi pada batang tumbuhan sebesar 54-55 %, kemudian diikuti oleh akar sebesar 27 %, cabang 16-21 % dan daun 0.8-1.2 %. Besarnya simpanan carbon pada jenis pionir dan non pionir sangat tergantung pada jenis dan biomasa tegakan.

PUSTAKA

- [1] Kauffman, J. Hughes, R. and Haider, C., 2009. Dynamics of C and nutrient pool associated with land conversion and abandonment in neotropical landscapes. *Ecol.Appl.* 19.1211-1222
- [2] Pearce, D.W., 2001. Commentary : the economic value of ecosystem forest. *ecosystem health* Vol 7 no. 4 Desember 2001
- [3] Motoshi, H., Takeshi, T., Nina, M., Ika, H., and Yasushi, M., 2007. Long-term trends in trunk diameter and tree height growth in planted forests in the humid tropics of West Java, Indonesia *Tropics* Vol. 17(1), Issued November 30
- [4] Ghazoul J and Sheil D. *Tropical Rain Forest Ecology, Diversity, and Conservation*. Oxford University Press. 2010
- [5] Yoneda, T., Rusdi, T., and K. Ogino. 1990. Dynamics of aboveground big woody organs in a foothill dipterocarp forest, West Sumatra, Indonesia. *Ecological Research* 5; 111-130.
- [6] Yoneda, T., K. Ogino., T. Kohyama., R. Tamin., Syahbuddin and M. Rahman., 1994. Horizontal variance of stand structure and productivity in a tropical foothill rain forest, West Sumatra, Indonesia. *Tropics* 4(1); 17-33

- [7] Hermansah., Tsugiyaki M., Toshiyuki, W., and Aflizar., 2002. Dynamics of litter production and its quality in relation to climatic factors in a super wet tropical rain forest, West Sumatra, Indonesia. *Tropics* Vol 12(2):115-130
- [8] Mukhtar, E., T. Yoneda, Zalfiati and M. Rahman. 1998. Regeneration process of a climax species *calophyllum* cf. *soulattri* in Tropical Rain Forest of West Sumatra : Population dynamics of a cohort from mast fruiting in 1981. *Tropics* 7(3/4); 183-194
- [9] Kohyama, T., E. Suzuki and M. Hotta. 1994. Spatial distribution pattern of representative tree species in a foothill rain forest In West Sumatra. *Tropics* 4 (1); 1-15.
- [10] Hota. 1984. Diversity and dynamics of plant life in Sumatra : Forest ecosystem and speciation in wwet tropical environmental. Part 2. Sumatra Nature Study (Botany).
- [11] Terakunpisut J., N. Gajasen, N. Ruankawe., 2007. Carbon sequestration potential in aboveground biomass of Thong Phum National Forest, Thailand. *Ecology and Enviromental Research*. 5(2): 93-102
- [12] Chairns, Michael A., Sandra Brawn, Eileen H., Helmer, Greg A., Boumgardner. 1997. Root biomass allocation in the world's upland forests. *Oecologia*. 111:1-11
- [13] Standar Nasional Indonesia 7724; 2011. Pengukuran dan penghitungan cadangan karbon pengukuran lapangan untuk penaksiran cadangan karbon (ground based forest carbon accounting). Badan Standardisasi Nasional. Gd Manggala Wanabakti. Jakarta
- [14] Sutaryo D., 2009. Penghitungan biomass: sebuah pengantar untuk studi karbon dan perdagangan karbon. Wetland International Indonesia Programme. P28
- [15] Brown, S., 1997. Estimating biomass and biomass change of tropical forests: a Primer (FAO Forestry Paper134), FAO, United Nations, Rome
- [16] Chapman, C.A and Lauren, J.Chapman. 1990. Density and growth rate of some tropical dry forest tree: Comparison between succesinal forest type. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 117(3). 226-231
- [17] Clark, D.B and Deborah, A. Clark. 1996. Abundance , growth and Mortality of vary large tree in neotropical lowland rain forest. *Forest ecology and management* 80 (1996) 235-244
- [18] Meunpong, P.Chongrak, W., Bunvong, T., Mamoru, K., And Kongsak M., 2010. Carbon pool of indigenus and exotic trees species i a forest plantation, Prachup Khiri Khan, Thailand. *Kasetsart J. (Nat.Sci.)* 44:1044-1057
- [19] Somagyi, Z., Cienciala, E.E.,Maakipaa, E.R.,Muukkonen, P., Lehtonen, A and Weiss, P. 2007. Indirect methods of large scale forest biomass estimation. *Eur.j.for.res.*126.197-207.

TABEL KEHIDUPAN EPILACHNA VIGINTIOCTOPUNCTATA F. PADA TANAMAN INANG SOLANUM MELONGENA L.

THE AGE-SPECIFIC LIFE TABLE OF EPILACHNA VIGINTIOCTOPUNCTATA F. ON SOLANUM MELONGENA L. HOST PLANT

Suwarno¹, Tuti Arianti², Dalil Sutekad³

¹Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah, Darussalam - Banda Aceh
Email: suwarno@fmipa.unsyiah.ac.id; j_warno@yahoo.com, Telp. 082161906994

²Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah, Darussalam - Banda Aceh

³Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah, Darussalam - Banda Aceh

ABSTRACT

The age-specific life table of *Epilachna vigintioctopunctata* and key-factors analyzed on eggplant, *Solanum melongena* have been construct in semi-natural condition. The population of *E. vigintioctopunctata* was observed for four months (September to December 2013) in the field cage. Percentage of eggs which reached to adult was 1,16% and the time period of *E. vigintioctopunctata* from egg to adult was 22-27 days. The highest mortality was found at the egg stage (86,02%), followed by old instar larvae (L3 was 65,63% and L4 was 55,45%) meanwhile, the lowest mortality was found at the pupal stage (16,33%). Similarly, the maximum k-value was recorded at egg stage (1,96) meanwhile, the minimum k-value at pupal stage (0,17). Five mortality factors of immature stages (parasitoid, predators, damage leaves caused by herbivores, rain and failure to hatch) were identified during the observation. Three species of predators which attacked the egg and larval stages were *Manthis* sp., *Oxyopes* sp and *Bathippus* sp. *Tetrastichus* sp. was the parasitoid that found in the egg stage.

Keywords: age-specific life table, E. vigintioctopunctata, eggplant, mortality, k-value.

ABSTRAK

Tabel kehidupan dua generasi *E. vigintioctopunctata* and analisis faktor-faktor kunci pada tanaman terung, *Solanum melongena* telah dilakukan pada kondisi semi natural. Populasi *E. vigintioctopunctata* diamati selama empat bulan (September sampai Desember 2013) pada kandang kawat. Persentase telur *E. vigintioctopunctata* yang mencapai dewasa sebesar 1,16% dan periode waktu dari telur mencapai dewasa selama 20-27 hari. Mortalitas tertinggi terjadi pada fase telur sebesar 86,02%, diikuti oleh instar larva yang tua (L3 sebesar 65,63% dan L4 sebesar 55,45%), sedangkan mortalitas terendah terdapat pada fase pupa (16,33%). K-value maksimum terdapat pada fase telur, sedangkan yang terendah terdapat pada fase pupa. Faktor-faktor penyebab kematian fase pradewasa yang ditemukan selama pengamatan adalah parasitoid, predator, kerusakan daun akibat dimakan serangga herbivor, hujan dan gagal menetas. Tiga jenis predator yang menyerang telur dan larva adalah *Manthis* sp., *Oxyopes* sp and *Bathippus* sp. Parasitoid yang menyerang telur adalah *Tetrastichus* sp.

Kata kunci: tabel hidup, *E. vigintioctopunctata*, terung, mortalitas, k-value

PENDAHULUAN

Tabel kehidupan *age specific life table* merupakan suatu kajian yang memberikan penjelasan terperinci tentang tingkatan usia (*cohort*), natalitas, mortalitas dan berbagai macam faktor penyebabnya, migrasi serta reproduksi suatu jenis serangga. Dengan demikian tabel kehidupan penting untuk mengkaji dinamika populasi suatu jenis serangga [1,2,3]

Tabel kehidupan pada serangga juga menunjukkan faktor-faktor kunci mortalitas pada stadia yang berbeda. Faktor-faktor yang berperan dalam mortalitas serangga, khususnya pada fase pradewasa adalah predator, parasitoid, patogen, hujan, dan angin serta serangga herbivore lainnya [4]. Fenomena ini bisa digunakan dalam menggambarkan kurva kesintasan sehingga dapat dijadikan sebagai rujukan dalam mengendalikan populasi serangga-serangga hama [4, 5].

Epilachna vigintioctopunctata F. (Coleoptera: Coccinellidae) merupakan kumbang hama yang menyerang tanaman dari familia Solanaceae. Serangan yang serius dapat mengakibatkan kerugian hingga 70%. Populasi *E. vigintioctopunctata* berfluktuasi dari waktu ke waktu tergantung pada kondisi lingkungan dan musim. Serangan pada musim kemarau biasanya lebih tinggi dibandingkan musim hujan [6].

METODE PENELITIAN

2.1 Penyediaan Tanaman Inang

Tanaman yang digunakan sebagai inang uji adalah terung (*Solanum melongena*). Benih terung disemai pada *polybag* kecil (ukuran 15 cm x 10 cm). Media pembibitan berupa campuran tanah kebun dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Benih yang sudah disemai di dalam *polybag* kecil diletakkan pada kawasan yang ternaungi dan disiram setiap hari pada kapasitas lapang. Bibit terung yang telah tumbuh setinggi 8-10 cm dipindahkan ke dalam *polybag* besar (ukuran 35 cm x 25 cm) yang telah diisi dengan tanah kebun dan pupuk kandang (1:1) serta dicampur dengan pupuk urea sebanyak 10 g. Setiap *polybag* ditanam sebanyak satu batang bibit terung.

Tanaman yang sudah dipindahkan ke *polybag* besar tetap disiram satu kali setiap hari pada kapasitas lapang, namun jika udara terik dan panas penyiraman dilakukan dua kali sehari (pagi dan petang). Penambahan pupuk urea dilakukan setiap 15 hari sebanyak 10 g / tanaman yang dilarutkan dalam 500 ml air. Perawatan terhadap tanaman inang dari serangan hama sebelum digunakan dalam penelitian dilakukan secara mekanik dan tidak menggunakan pestisida. Tanaman terung yang telah mencapai tinggi \pm 50 cm, siap dipergunakan sebagai tanaman inang.

2.2 Penyediaan Hewan Uji *Epilachna vigintioctopunctata*

Parental *E. vigintioctopunctata* yang masih dalam stadia larva dikoleksi dari kebun percobaan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala di Darussalam. Larva tersebut selanjutnya dipelihara di laboratorium pada wadah plastik (tinggi 16 cm, diameter 15 cm) dengan diberi pakan berupa daun *S. melongena* sampai fase pupa. Setelah pupa menjadi kumbang dewasa (imago) dipindahkan ke dalam kandang ukuran 40 x 40 x 40 cm³ masing-masing sebanyak 2-3 pasang. Di dalam kandang tersebut kumbang dipelihara, dan dibiarkan berkopulasi sampai menghasilkan telur. Ke dalam kandang diberi pakan

berupa daun terung (*Solanum melongena*). Telur-telur yang dihasilkan dipelihara sampai menjadi imago yang selanjutnya digunakan sebagai hewan uji.

2.3 Pengamatan Tabel Kehidupan

Sebanyak 30 batang tanaman *S. melongena* berukuran tinggi \pm 50 cm yang masing-masing telah diberi nomor disiapkan dalam rumah kawat berukuran 8 x 4 x 3 m³. Selanjutnya, 10 pasang imago *E. vigintioctopunctata* dimasukkan ke dalam rumah kawat tersebut. Sebelum dilepaskan, setiap individu *E. vigintioctopunctata* diberi tanda pada bagian elitranya. Dua hari kemudian di hitung dan dicatat jumlah telur yang dihasilkan, lokasi telur diletakkan, dan warna telur. Setiap kelompok telur kemudian diberi label untuk menghindari perhitungan ganda. Perkembangan *E. vigintioctopunctata* termasuk jumlah telur, larva, pupa, dan imago dihitung dan dicatat setiap hari. Imago yang tidak bertanda disingkirkan dari populasi *E. vigintioctopunctata* yang terdapat di dalam rumah kawat. Pengukuran suhu dan kelembaban juga dilakukan setiap hari dengan menggunakan *thermohygrometer*.

2.4. Analisis Penyebab Mortalitas

Mortalitas fase pradewasa serangga disebabkan oleh beberapa faktor, namun dalam penelitian ini identifikasi faktor penyebab mortalitas fase telur lebih mudah diidentifikasi dibandingkan larva. Metode penentuan faktor mortalitas telur ini merujuk kepada Suwarno [4]. Penyebab mortalitas fase telur dikelompokkan ke dalam lima faktor berdasarkan bukti pengamatan di lapangan. Pertama, jika telur atau kelompok telur rusak atau terdapat sisa-sisa dari telur namun tidak terdapat kerusakan pada daun di sekitar kelompok telur, faktor mortalitas diduga disebabkan oleh predator. Kedua, jika warna telur telah menghitam dan tidak menetas setelah 4-5 hari dioviposisikan, telur dibawa ke laboratorium. Di laboratorium, telur diletakkan dalam cawan petri dan ditutup rapat sampai 4-5 hari. Jika ada parasitoid yang keluar maka kematian telur tersebut disebabkan oleh parasitoid. Ketiga, jika tidak ada parasitoid yang muncul dari telur, maka telur tersebut diamati di bawah mikroskop. Ada kemungkinan parasitoid gagal untuk berkembang di dalam telur. Jika tidak terdapat parasitoid di dalam telur maka telur tersebut ditetapkan sebagai gagal menetas. Keempat, jika daun tempat melekatnya telur hilang, maka mortalitas disebabkan karena daun dimakan oleh serangga herbivora. Kelima, jika telur hilang, namun tidak ditemukan kulit telur yang rusak dan daun tempat melekatnya telur masih utuh serta sehari sebelumnya terjadi hujan, maka mortalitas disebabkan oleh hujan.

Faktor-faktor penyebab mortalitas pada larva dan pupa sulit untuk diidentifikasi dengan tepat, karena kurangnya bukti-bukti yang ditinggalkan dan kurangnya tanda-tanda yang jelas sebagaimana pada larva dan pupa *Papilio demoleus* [4]. Namun demikian, setidaknya ada tiga asumsi yang memungkinkan penyebab kematian pada fase larva dan pupa ini, yaitu predator, hujan, dan daun tempat menempel larva/pupa dimakan serangga herbivora.

2.5 Analisis Data

Data hasil pengamatan terutama natalitas dan mortalitas di analisis sesuai dengan rumus yang dikemukakan oleh Southwood and Henderson [1]. Data dari semua siklus hidup dikumpulkan dan dirangkum ke dalam analisis tabel kehidupan dengan rumus sebagai berikut:

- 1 $dx = l_{x_1} - l_{x_2}$
- 2 $L_x = \frac{l_x + 1(x+1) + 1(x+2)}{2}$
- 3 $T_x = L_x + L(x+1) + L(x+2) + \dots + L_w$
- 4 $e_x = \frac{T_x}{l_x}$
- 5 $q_x = \frac{dx}{l_x}$
- 6 $s_x = 1 - q_x$
- 7 $K \text{ value} = -[\ln(s)]$; $K = k_1 + k_2 + \dots + k_n$

Keterangan:

- x = umur (stadia) serangga
- l_x = jumlah serangga yang hidup
- dx = jumlah serangga yang mati antara umur x dan $x+1$
- L_x = jumlah serangga yang hidup antara umur x dan $x+1$
- T_x = total jumlah serangga yang hidup pada umur x
- e_x = peluang hidup pada umur x
- q_x = *finite rate mortalitas*
- s_x = *finite rate survivalship* ($1 - q_x$)
- k_v = *k value*

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Siklus Hidup *Epilachna vigintioctopunctata* F.

Epilachna vigintioctopunctata mengalami metamorfosis sempurna mulai dari stadia telur, larva, pupa, dan imago. Secara morfologi, telur *E. vigintioctopunctata* berwarna kuning, berbentuk lonjong dengan ukuran 2-3 mm. Telur diletakkan secara berkelompok pada umumnya di bawah permukaan daun. Setiap kelompok telur berkisar antara 6-55 butir. Setelah 2-4 hari (rata-rata $2,8 \pm 0,3$ hari; $n = 494$), telur akan menetas menjadi larva instar satu.

Larva instar satu berlangsung selama 3-4 hari (rata-rata $2,7 \pm 0,4$ hari; $n = 400$), dengan ukuran panjang tubuh 3-4 mm. Larva instar dua berukuran panjang 4-5 mm, dan lamanya periode instar dua 2-3 hari ($2,4 \pm 0,3$ hari; $n = 320$). Selanjutnya larva instar tiga mempunyai panjang tubuh 5-6 mm, dan periode instar 2-4 hari (rata-rata $2,6 \pm 0,4$ hari; $n = 110$). Larva instar empat mirip dengan larva instar tiga dan berukuran 6-8 mm. Setelah 4-7 hari (rata-rata $5,2 \pm 0,4$ hari; $n = 49$), larva instar empat kemudian berhenti makan dan berubah menjadi pupa. Pupa *E. vigintioctopunctata* berwarna kuning dengan ukuran panjang tubuh 7-8 mm. Lamanya stadium pupa sampai menjadi imago berkisar antara 7-10 hari (rata-rata $8,4 \pm 0,5$ hari; $n = 41$). Pupa menempel pada daun dan batang terung, tidak bergerak, dan tidak makan.

Siklus hidup *E. vigintioctopunctata* yang diamati dalam penelitian ini lebih singkat dibanding dengan siklus hidup *E. vigintioctopunctata* dan *E. septima* pada beberapa lokasi di Sumatra Barat [6]. Lebih singkatnya periode larva *E. vigintioctopunctata* pada

penelitian ini diduga karena suhu lingkungan yang lebih tinggi (29-39°C berbanding 23-32°C). Hal ini didukung oleh laporan bahwa periode siklus hidup *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) dipengaruhi oleh suhu lingkungannya. Siklus hidup *C. septempunctata* yang dipelihara pada suhu $20 \pm 1^\circ\text{C}$ adalah 68 hari, pada suhu $24 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 61 hari dan pada suhu $28 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 53 hari [2].

Perbedaan jenis tanaman inang yang digunakan diduga juga mempengaruhi periode siklus hidup *E. vigintioctopunctata*. Jenis makanan berkaitan dengan kandungan senyawa kimia yang ada di dalamnya. Semakin tinggi kadar unsur N (nitrogen) dalam makanan suatu jenis serangga maka siklus hidup serangga tersebut cenderung semakin cepat. Dugaan ini didukung oleh hasil penelitian pada larva kupu-kupu *Papilio polytes* [7] dan pada kumbang *Epilachna chrysomelina* [8].

3.2 Tabel Kehidupan *Epilachna vigintioctopunctata*

Persentase jumlah telur *E. vigintioctopunctata* yang berhasil mencapai dewasa hanya sebesar 1,16%. Sementara persentase telur yang bertahan sampai pupa hanya 1,61%, artinya jumlah telur dan larva yang mati mencapai 98,39% (Tabel 1). Tingginya jumlah telur dan larva yang mati disebabkan karena banyaknya agen-agen penyebab kematian pada telur dan larva. Tercatat ada lima faktor penyebab kematian pada stadia telur (Tabel 1) dan setidaknya ada tiga macam pada stadia larva, walaupun yang mati akibat masing-masing faktor tadi tidak dapat diamati dengan pasti.

Persentase kesintasan ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu hanya sebesar 0,22% [6]. Hal ini disebabkan karena kondisi tempat penelitian yang berbeda sehingga agen-agen pengendali *E. vigintioctopunctata* yang terdapat pada ladang (kondisi alamiah) lebih banyak [6] dibanding pada rumah kawat (semi natural). Semakin banyaknya agen-agen pengendali mengakibatkan tingkat kesintasan semakin rendah.

Tabel 1. Tabel kehidupan *E. vigintioctopunctata* pada tanaman inang *S. melongena*

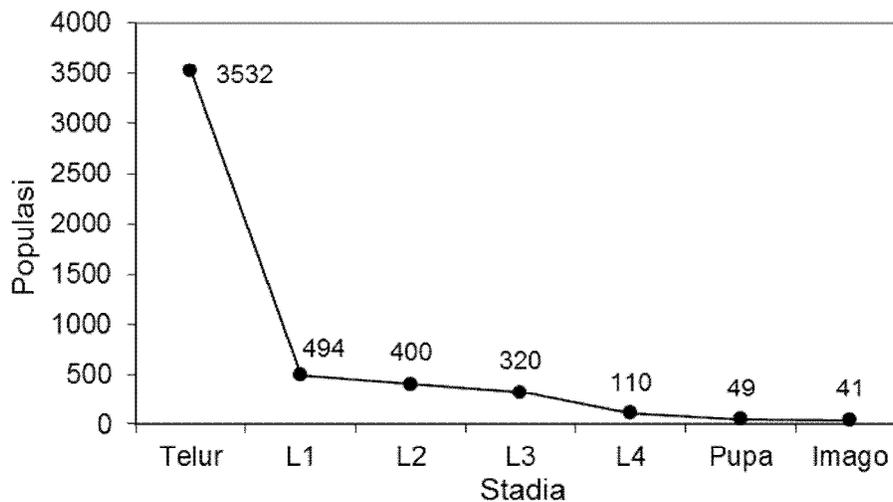
X	lx	Dx	Dxf	d'x	qx	sx	Kvalue
Telur	3532	3038	Predator	1142	0,86	0,14	1,96
			Parasitoid	271			
			Gagal menetas	408			
			Daun dimakan herbivor	1173			
			Hujan	44			
L ₁	494	94	Unidentified	94	0,19	0,81	0,21
L ₂	400	80	Unidentified	80	0,20	0,80	0,22
L ₃	320	210	Unidentified	210	0,65	0,35	1,04
L ₄	110	61	Unidentified	61	0,55	0,45	0,79
Pupa	49	8	Unidentified	8	0,16	0,84	0,17
Imago	41						
Total Kvalue							4,39

Keterangan: x = umur serangga. lx = jumlah serangga yang hidup. dx = jumlah serangga yang mati. dxf = penyebab kematian. d'x = jumlah kematian akibat penyebab yang berbeda. qx = finite rate mortalitas. sx = finite rate survivalship. Kv = k value. L₁ = larva instar satu. L₂ = larva instar dua. L₃ = larva instar tiga. L₄ = larva instar empat.

Kesintasan pada masing-masing stadium pradewasa *E. vigintioctopunctata* bervariasi (Gambar 1). Kesintasan pada stadium telur lebih rendah dibandingkan stadium lainnya. Hal ini disebabkan karena banyaknya jumlah telur yang tidak berhasil mencapai

stadium larva instar satu. Tercatat ada lima faktor penyebab stadium telur tidak dapat mencapai stadium larva instar satu yaitu: predator, parasitoid, gagal menetas, daun dimakan serangga herbivor, dan hujan. Serangga herbivor memakan daun tempat melekatnya telur *E. vigintioctopunctata*. Serangga herbivor ini merupakan penyebab kematian paling tinggi pada stadium telur yaitu sebesar 38,61%, disusul oleh predator 37,59%. Serangga-serangga herbivor yang memakan daun terung tersebut adalah: *Locusta migratoria*, *Atractomorpha crenulata*, dan *Valanga* sp.

Tingkat kesintasan pada masing-masing instar larva juga berbeda (Gambar 1). Kesintasan pada stadium larva instar tiga (L3) dan instar empat (L4), lebih rendah dibandingkan dengan stadium larva instar satu (L1) dan dua (L2). Belum dapat diketahui alasan dengan baik, karena kematian larva tersebut tidak dapat dideteksi, namun demikian dugaan sementara adalah kematian larva tersebut lebih disebabkan oleh predator. Pengamatan lebih lanjut dan lebih terperinci untuk fenomena ini mungkin menarik untuk dikaji.



Gambar 1. Kurva kesintasan *E. vigintioctopunctata* pada tanaman inang *S. melongena*

Predator stadium telur umumnya berasal dari kelompok laba-laba famili Oxyopidae dan Salticidae. Kedua kelompok laba-laba ini berukuran 1,0-2,0 cm, namun sangat aktif bergerak. Laba-laba yang berukuran kecil lebih banyak memangsa telur dibandingkan dengan larva. Sementara itu, laba-laba yang berukuran lebih besar di samping memakan telur juga memakan larva. Keefektifan laba-laba sebagai predator dalam menangkap mangsa sangat tergantung pada ukuran tubuh laba-laba tersebut [4].

Parasitoid berkontribusi sebesar 8,92% terhadap kematian telur. Persentase ini lebih kecil dibandingkan penelitian sebelumnya di alam terbuka yaitu sebesar 12,86% [6]. Terjadinya perbedaan persentase kematian telur akibat parasitoid diduga karena adanya perbedaan lingkungan dan jenis hewan uji. Parasitoid yang menyerang telur *E. vigintioctopunctata* yaitu *Tetrastichus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae). Jenis parasitoid ini merupakan jenis parasitoid yang umum menginfeksi telur dari berbagai jenis serangga herbivora, khususnya ordo Diptera dan Lepidoptera, dan penyebarannya cukup luas [4].

Selanjutnya, sebanyak 13,42% telur gagal menetas. Tingginya persentase kegagalan menetas pada stadium telur belum dapat dipastikan, namun ada beberapa

dugaan yang memungkinkan hal tersebut terjadi. Pertama, terganggunya kondisi fisiologis telur dari *E. vigintioctopunctata* akibat serangan predator. Kedua, faktor abiotik lingkungan yang kurang sesuai untuk perkembangan embrionik telur. Ketiga, ovum tidak dibuahi oleh sperma sehingga tidak terdapat bakal embrio. Namun demikian, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menjawab penyebab kegagalan menetas dari telur ini.

Persentase kematian telur yang disebabkan hujan paling rendah dibandingkan empat faktor lainnya yaitu 1,44%. Selama penelitian curah hujan yang terjadi hanya beberapa hari saja. Curah hujan dan jumlah hari hujan yang rendah tidak memberikan pengaruh yang besar terhadap kematian telur. Posisi telur yang terletak di bawah daun, menyebabkan telur akan selamat dari terpaan hujan.

Faktor-faktor penyebab kematian pada telur dapat diidentifikasi secara baik, namun tidak demikian halnya dengan faktor-faktor penyebab kematian pada larva. Larva yang mati akibat serangan predator tidak meninggalkan bekas dan bangkai, begitu juga yang mati karena hujan tidak dapat ditemukan. Oleh karena itu, faktor penyebab kematian larva tidak dapat diidentifikasi dengan pasti, namun besar kemungkinan bahwa terdapat tiga faktor penyebab kematian pada larva yaitu predator, hujan, dan daun tempat melekat larva dimakan oleh serangga herbivor. Tidak terlihat tanda-tanda larva diserang oleh parasitoid

Hasil analisis tabel kehidupan *E. vigintioctopunctata* menunjukkan kematian pada stadia larva sebesar 12,59% dari total jumlah telur yang dihasilkan oleh betina, sedangkan pada stadium pupa sebesar 0,22% (Tabel 1). Walaupun tidak dapat dihitung secara pasti persentase kematian larva dan pupa yang disebabkan oleh masing-masing faktor sebagaimana tersebut di atas, namun diduga persentase terbesar disebabkan oleh predator. Asumsi ini didasarkan pada banyaknya jenis predator yang terdapat pada tanaman *S. melongena*. Beberapa predator larva yang terdapat pada tanaman terung adalah *Oxyopes* sp. (Oxyopidae), *Bathippus* sp. (Salticidae) dan *Manthis* sp. (Mantidae).

Selain itu, Tabel 1 juga menunjukkan bahwa nilai faktor kunci, *Kvalue* (total mortalitas generasi) sebesar 4,39. Nilai ini sangat tergantung besarnya angka kematian yang disebabkan oleh masing-masing faktor. Setiap jenis serangga akan mempunyai angka *Kvalue* yang berbeda, begitu juga untuk jenis yang sama pada kondisi habitat berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lamanya siklus hidup rata-rata *E. vigintioctopunctata* adalah 26,1 hari. Ledakan populasi *E. vigintioctopunctata* pada generasi berikutnya sangat kecil kemungkinannya karena rendahnya tingkat kesintasan dan besarnya total nilai *Kvalue*, terutama pada stadium telur. Hal ini dapat dibuktikan dengan banyaknya agen-agen pengendali seperti predator, parasitoid, gagal menetas, daun tempat melekatnya telur dimakan herbivor, dan hujan. Predator menjadi agen pengendali utama terhadap populasi *E. vigintioctopunctata*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Southwood TRE, Henderson PA. 2000. *Ecological Methods*. Third Edition. Blackwell Science, Oxford.

- [2] Ali A, Rizvi PQ. 2010. Age and stage specific life table of *Coocinella septemouctata* (Coleoptera: Coccinellidae) at varying temperature. *Journal of Agricultural Sciences* 6 (3): 268-273
- [3] Win SS, Muhammad R, Ahmad ZAM, Adam NA. 2011. Life table and population parameters of *Nilaparvata lugens* Stal. (Homoptera: Delphacidae) on rice. *Tropical Life Sciences Research*. 22 (1): 25-35.
- [4] Suwarno. 2012. Age-specific life table of swallowtail butterfly *Papilio demoleus* (Lepidoptera: Papilionidae) in dry and wet seasons. *Biodiversitas* 13 (1): 28-33.
- [5] Norris RF, Caswell-Chen EP, Kogan M. 2003. *Concepts in Integrated Pest Management*. Prentice Hall, New York.
- [6] Abbas I. 1985. *Studies on the phytophagous lady beetles (Epilachninae) of the Province of Sumatra Barat, Indonesia, with special reference to the population dynamics under a humid-equatorial climate*. Andalas University, Sumatera Barat.
- [7] Suwarno, Che Salmah MR, Abu Hassan A, Norani A. 2007. Effect of different host plants on the life cycle of *Papilio polytes* L. (Lepidoptera: Papilionidae) (Common mormon butterfly). *Jurnal Biosains* 18: 35-44.
- [8] Akandeh M, Shishehbor P. 2011. Life history traits of melon ladybeetle, *Epilachna chrysomelina* (Coleoptera: Coccinellidae), on four host plant species. *Journal of Entomological Society of Iran* 31(1): 17-27.

POTENSI FUNGI ENDOFIT ASAL LAHAN KRITIS KALIMANTAN SELATAN SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN *Calopogonium mucunoides*

THE POTENTIAL OF ENDOPHYTIC FUNGI INDIGENOUS SOUTH KALIMANTAN CRITICAL LAND FOR IMPROVE CALOPOGONIUM MUCUNOIDES GROWTH

Witiyasti Imaningsih^{*}, Siti Zulaikha, Miftahul Jannah

Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin
Kampus UNLAM Banjarbaru, Jl. A. Yani KM 35,8, Banjarbaru-Kalimantan Selatan 70714

* Email : witiyasti.imaningsih@gmail.com

ABSTRACT

Exploiting the endophytic fungus isolate from critical land is one way to improve crop growth in critical land area. *Calopogonium mucunoides* used in this study, which can grow well in critical land area. The study commence with the isolation of endophytic fungi of critical land, pathogenecity test and applications on the crop, and the detection of the endophytic fungus infection. Two selected isolates *Bacrodesmium* sp. AH (from the roots *Helicteres angustifolia* L.) and *Pestalotia* sp. AM (from the roots of *Melastoma* sp.) was infected on *Calopogonium mucunoides* and observed number of lateral roots (LRN), root length (RL), shoot length (SL), fresh weight (FW) and dry weight (DW) of plants. Duncan (DMRT) test showed that LRN, RL, SL, FW and DW significantly different at all observation times, and only 5×10^6 spore concentration significantly affected to SL and FW. Detection of infection hyphae on the root *Calopogonium mucunoides* with staining method showed the existing network of hyphae on the roots.

Keywords: critical land endophytic fungi, Bacrodesmium sp. AH, Pestalotia sp. AttM, Calopogonium mucunoides growth

ABSTRAK

Pemanfaatan isolat fungi endofit lahan kritis merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman di areal lahan kritis. *Calopogonium mucunoides* merupakan jenis tanaman yang digunakan pada penelitian ini, yang dapat tumbuh baik di areal lahan kritis. Penelitian diawali dengan isolasi fungi endofit dari lahan kritis, uji patogenitas dan aplikasi pada tanaman, dan deteksi infeksi fungi endofit. Dua isolat terpilih *Bacrodesmium* sp. AH (diisolasi dari akar *Helicteres angustifolia* L.) dan *Pestalotia* sp. AM (diisolasi dari akar *Melastoma* sp.) diinfeksi pada tanaman *Calopogonium mucunoides* dan diamati jumlah akar lateral (JAL), panjang akar (PA), panjang tajuk (PT), berat basah (BB) serta berat kering (BK) tanaman. Uji statistik DMRT menunjukkan pertambahan JAL, PA, PT, BB dan BK berbeda secara signifikan pada tiap minggu pengamatan. Konsentrasi spora 5×10^6 memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata pertambahan PT dan BB. Hifa kapang endofit berhasil menginfeksi jaringan akar tanaman *Calopogonium mucunoides*.

Kata kunci : Fungi endofit lahan kritis, *Bacrodesmium* sp. AH, *Pestalotia* sp. AM, pertumbuhan *Calopogonium mucunoides*.

PENDAHULUAN

Lahan kritis adalah lahan yang tidak dapat dimanfaatkan secara optimal karena mengalami proses kerusakan fisik, kimia, maupun biologi yang dapat membahayakan fungsi hidrologi, produksi pertanian, pemukiman dan kehidupan sosial ekonomi masyarakat. Peningkatan luas lahan kritis di Kalsel menyebabkan berkurangnya luas lahan subur [1]. Menurut Dinas Kehutanan Prop. Kalimantan Selatan, luas lahan kritis Kalimantan Selatan pada tahun 2009 meningkat menjadi 761,042.6 Ha [2].

Tanah merupakan media pertumbuhan tanaman yang berperan sebagai tempat pertumbuhan mikrob [3]. Mikrob tanah memiliki peranan penting dalam kesuburan tanah. Salah satu mikrob tanah yang berperan untuk menjaga kesuburan tanah adalah fungi [4]. Beberapa fungi tanah yang mampu menjaga kesuburan tanah yakni fungi endofit [5].

Fungi (kapang) endofit sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan hidup dan biasanya tidak merugikan inangnya [6]. Kapang endofit terdapat dalam substrat jaringan tanaman yang dapat bersifat parasitik, komensalisme [7], atau saprofit [8]. Beberapa kapang endofit tidak bersifat patogen [8], dan ada yang bersifat mutualistik [7].

Bentuk simbiosis mutualisme antara kapang endofit dan tanaman antara lain adalah melalui mekanisme induksi resistensi dan melalui pengendali penyakit dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder [9,10,11]. Beberapa endofit menghasilkan auksin, etilen, gibberelin, dan sitokinin [12] yang memacu pertumbuhan tanaman.

Beberapa kapang endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman yang tumbuh di lahan kritis Cempaka yakni *Bactrodesmium* sp., *Pestalotia* sp., *Humicola* sp., dan *Penicillium* sp. Kapang asal lahan kritis yang telah diisolasi dari perakaran tanaman yang tumbuh di lahan kritis dapat dikaji potensinya sebagai bioremediasi bagi lahan kritis [13]. Beberapa kapang rizosfer dari tanaman lahan kritis tersebut juga mampu menghasilkan IAA (*indole-3-acetic acid*) [14].

Proses bioremediasi lahan kritis juga dapat melibatkan tanaman (fitoremediasi). Kapang endofit yang memiliki kemampuan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam meningkatkan kualitas dari tanaman. Beberapa tanaman yang digunakan untuk fitoremediasi lahan kritis salah satunya yakni *Calopogonium mucunoides*. *Calopogonium mucunoides* adalah tanaman yang memiliki kemampuan dalam merehabilitasi lahan yang terdegradasi, meningkatkan bahan organik, melindungi tanah dari butiran air hujan, dan memperbaiki kesuburan tanah serta sifat kimia, fisika, dan biologi tanah [15].

Genus kapang endofit yang terdapat di lahan kritis diduga memiliki potensi dalam memacu pertumbuhan tanaman, seperti beberapa kapang rizosfer yang telah berhasil diisolasi. Sehingga diharapkan kapang endofit asal akar tanaman lahan kritis dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas tanaman yang akan dimanfaatkan sebagai bioremediasi lahan kritis.

METODE PENELITIAN

Tahap pertama penelitian adalah seleksi kapang endofit dengan uji patogenitas dengan metode berdasar Simanjuntak [16] dan Wilia [11]. Kemudian dilanjutkan uji kapang endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman *Calopogonium mucunoides* dengan tahapan :

Penyemaian benih

Metode yang digunakan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Wilia [11]. Persiapan bibit *Calopogonium mucunoides* diawali dengan sterilisasi permukaan biji menggunakan air mengalir, alkohol 70% selama 0,5 menit, aquades 5 menit, NaOCl 1% selama 15 menit, kemudian direndam dalam aquades selama 5 menit dilakukan 3 kali, lalu direndam selama 24 jam untuk memecahkan dormasi benih. Benih dikecambahkan pada media zeolit steril selama dua minggu hingga berdaun tiga, kemudian ditanam pada polibag berisi tanah steril asal lahan kritis. Bibit direndam dalam 25 ml suspensi spora (konsentrasi 5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^6) yang berumur 21 hari dan ditambahkan 1 ml larutan tapioka berkonsentrasi 5% (b/v) [17] selama 12 jam, sisa larutan spora disiramkan ke dalam polibag yang berisi tanah steril.

Penanaman

Tanaman yang telah teraklimatisasi ditanam pada polybag berukuran 8x20 cm berisi 400 g tanah steril. Polibag tersebut ditempatkan di rumah kaca. Pemeliharaan terhadap tanaman tersebut dilakukan dengan penyiraman menggunakan air mineral pada pagi hari, dan pengendalian hama secara manual. Pengambilan data dilakukan pada minggu ke-2, 4, 6 setelah masa tanam. Parameter yang diamati adalah jumlah akar ;ateral (JAL), panjang akar (PA), panjang tajuk (PT), berat basah (BB) dan berat kering (BK) tanaman.

Deteksi kapang endofit pada akar tanaman

Pengamatan kolonisasi kapang endofit pada akar *Calopogonium mucunoides* dilakukan dengan teknik pewarnaan akar. Pertama, akar *Calopogonium mucunoides* dipilih yang segar dan halus dengan diameter 0,5-2,0 mm, kemudian dicuci dengan air mengalir (air kran) hingga bersih. Akar dipanaskan dalam larutan KOH 10% hingga bewarna bening (terlihat stelenya), lalu akar dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya direndam dalam larutan HCl 2% selama 1 menit dan direndam dalam larutan *Trypan blue* 0,05% dengan pelarut 33 ml asam laktat, 33 ml gliserol, 33 ml aquades dan 0.5g *Trypan blue*, pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler [18].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kapang endofit asal akar tanaman lahan kritis tidak bersifat patogen

Berdasarkan hasil seleksi kapang endofit dengan menggunakan uji patogenitas diperoleh dua isolat yang mampu mengecambahkan biji padi (*Oriza sativa*) yakni isolat *Bactrodesmium* sp.AH dari akar *Helicteres angustifolia* L dan isolat *Pestalotia* sp.AM. dari akar *Melastoma* sp. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian El- Nagerabi [19] menyebutkan bahwa *Bactrodemium rahmii* ditemukan sebagai endofit pada tanaman *Ziziphus spina-crhisti* dan berdasarkan Zou [20] bahwa *Pestalotia* sp. ditemukan sebagai endofit pada *Camelia japonicum*.

Kapang endofit asal lahan kritis berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman *Calopogonium mucunoides*

Perlakuan jenis isolat kapang endofit memberikan pengaruh yang berbeda terhadap penambahan jumlah akar lateral (JAL), panjang akar (PA) dan panjang tajuk (PT) (Tabel 1) dan berat basah (BB) serta berat kering (BK) tanaman (Tabel 2.) setiap minggu pengamatan. Secara umum, penambahan jumlah akar lateral meningkat seiring lama penanaman. Uji Duncan menunjukkan rata-rata penambahan JAL, PA, PT, BB dan BK berbeda nyata berdasarkan lama penanaman (Tabel 1,2).

Berdasarkan hasil pengamatan rata-rata JAL, PA, PT, BB dan BK antara kedua isolat bervariasi. Rata-rata JAL, PA dan PT tertinggi diperoleh dari tanaman yang diinfeksi *Bactrodesmium sp.AH* pada lama penanaman 6 minggu, sedangkan untuk BB dan BK rata-rata tertinggi diperoleh dari infeksi *Pestalotia sp.AM*.

Tingkat konsentrasi spora hanya berpengaruh pada rata-rata penambahan panjang tajuk (PT) pada setiap minggu pengamatan (Tabel 3) dan rata-rata berat basah (BB) tanaman pada minggu terakhir pengamatan (Tabel 4). Namun secara umum perlakuan pemberian spora kapang endofit meningkatkan semua parameter pertumbuhan yang diamati dibandingkan dengan tanpa penambahan spora. Panjang tajuk (PT) terbaik dan berat basah (BB) terbaik diperoleh dari infeksi spora dengan konsentrasi tertinggi (10^6) (Tabel 3,4).

Tabel 1. Rata-rata jumlah akar lateral (JAL), panjang akar (PA) dan panjang tajuk (PT) tanaman berdasarkan jenis kapang pada waktu pengamatan (2,4,6 minggu setelah tanam (MST)),

Jenis Kapang	JAL			PA			PT		
	MST								
	2	4	6	2	4	6	2	4	6
<i>Bactrodesmium sp.AH</i>	7,9 _a	10,42 _b	14,25 _c	3,72 _a	8,10 _c	10,37 _c	4,20 _a	8,64 _b	22,47 _c
<i>Pestalotia sp.AM</i>	7,9 _a	10,20 _b	11,75 _c	3,87 _a	6,35 _b	8,00 _c	6,15 _a	9,77 _b	17,75 _c

Angka yang disertai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% diuji dengan *Duncan's New Multiple Range Test* DMRT

Tabel 2. Rata-rata jumlah berat basah (BB) dan berat kering (BK) (B) tanaman berdasarkan jenis kapang pada waktu pengamatan (2,4,6 minggu setelah tanam (MST))

Jenis Kapang	BB			BK		
	2	4	6	2	4	6
<i>Bactrodesmium sp.AH</i>	0,0575 _e	0,105 _b	0,180 _c	0,015 _a	0,030 _b	0,043 _c
<i>Pestalotia sp.AM</i>	0,0725 _a	0,105 _b	0,195 _c	0,010 _a	0,030 _b	0,049 _c

Angka yang disertai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% diuji dengan *Duncan's New Multiple Range Test* DMRT

Rata-rata pertambahan JAL, PA, PT, BB dan BK pada perlakuan penambahan isolat *Bactrodesmium* sp.AH pada 2-6 minggu lama penanaman mengalami peningkatan. Pola ini juga terlihat pada perlakuan penambahan isolat *Pestalotia* sp.AM. Hal tersebut diduga terjadi karena adanya pengaruh kedua isolat kapang endofit terhadap pertumbuhan tanaman. Hal tersebut diduga terjadi karena kapang endofit mampu memproduksi hormon pengatur tumbuh. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya bahwa beberapa endofit menghasilkan auksin, etilen, gibberelin, dan sitokinin [12], meningkatkan panjang akar [21], berat kering dan tinggi tajuk [22].

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pada minggu ke 6 perlakuan penambahan isolat *Bactrodesmium* sp.AH menghasilkan rata-rata pertambahan jumlah JAL, PA, PT cenderung lebih tinggi, yaitu (JAL: 14,25 akar, PA: 10,37 cm, PT: 22,47 cm) 17,54%; 22,85% ; 21% lebih tinggi dari perlakuan *Pestalotia* sp.AM yaitu (JAL: 11,75 akar, PA: 8,00 cm; PT: 17,75 cm) (Tabel 1). Berat basah (BB) dan BK menunjukkan sebaliknya justru isolat *Pestalotia* sp.AM memberikan nilai rata-rata yang lebih baik yaitu (BB: 0,195 g; BK: 0.049g) atau lebih tinggi (7,69%; 12,2%) dari perlakuan *Pestalotia* sp.AM yaitu (BB: 0,18g ; BK: 0.043g).

Hal ini diduga terjadi karena *Bactrodesmium* sp.AH memiliki hormon pemacu pertumbuhan tanaman *Calopogonium mucunoides* yang jumlah dan jenisnya sesuai untuk perkembangan akar, tajuk maupun pertumbuhan tanaman secara umum dibandingkan dengan *Pestalotia* sp.AM. Pertumbuhan jumlah akar lateral dipengaruhi oleh hormon auksin [12] dan etilen [23].

Tabel 3. Rata-rata jumlah akar lateral (JAL), panjang akar (PA) dan panjang tajuk (PT) tanaman berdasarkan tingkat konsentrasi spora

Konsentrasi spora	Rata rata		
	JAL	PA	PT
Kontrol	9,5 _a	10,9 _a	15,5 _a
5x10 ⁴	10,48 _a	12,46 _a	21,5 _{ab}
5x10 ⁵	10,71 _a	14,83 _a	24,83 _{ab}
5x10 ⁶	10,71 _a	15,7 _a	30.26 _b

Angka yang disertai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% diuji dengan *Duncan's New Multiple Range Test* DMRT

Tabel 4. Rata-rata jumlah berat basah (BB), berat kering (BK) tanaman berdasarkan tingkat konsentrasi spora pada minggu terakhir pengamatan

Konsentrasi spora	BB	BK
Kontrol	0,200 _a	0,0485 _a
5x10 ⁴	0,235 _{ab}	0,0525 _a
5x10 ⁵	0,235 _{ab}	0,0540 _a
5x10 ⁶	0,305 _b	0,0680 _a

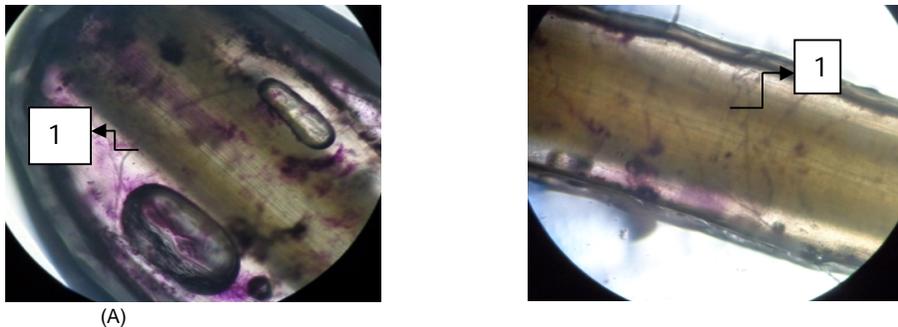
Angka yang disertai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% diuji dengan *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT)

Berdasarkan pengamatan hanya rata-rata pertambahan panjang tajuk (PT) dan berat basah (BB) tanaman yang dipengaruhi oleh konsentrasi spora. menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan spora. Konsentrasi spora 5×10^6 memberikan nilai rata-rata pertambahan tinggi tajuk tanaman berbeda nyata (30,26 cm) 50% lebih baik dibandingkan dengan tanpa diberi spora (15,5 cm) (Tabel 3). Hal tersebut membuktikan bahwa kapang endofit mampu meningkatkan tinggi tajuk tanaman. Sesuai pernyataan [21] kapang endofit asal tanaman padi berpotensi meningkatkan tinggi tajuk tanaman. Hasil penelitian Shi [22] menyebutkan bahwa pada tanaman beet yang diinokulasi fungi endofitik selama 4 minggu menghasilkan tinggi tajuk tanaman 13,5 cm.

Kapang endofit juga berpengaruh terhadap berat basah tanaman pada minggu terakhir pengamatan. Rata-rata berat basah tanaman *Calopogonium mucunoides* pada minggu terakhir pengamatan berbeda nyata antar masing-masing tingkat konsentrasi spora. Pada konsentrasi spora 5×10^6 berat basah tanaman pada minggu terakhir pengamatan 0,305 g atau 34,42% dibanding kontrol (tanpa spora) (0,200 g) (Tabel 4). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian Khan *et al.*, (2012) [24] bahwa tanaman mentimun yang diinokulasi kapang endofit memiliki berat basah (0,85 g - 0,95 g) lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol (tanpa spora) (0,46 g – 0,56 g).

Infeksi jaringan akar oleh kapang endofit asal lahan kritis

Berdasarkan hasil deteksi infeksi kapang endofit terhadap akar tanaman *Calopogonium mucunoides* dengan metode pewarnaan *Trypan blue* diketahui infeksi ditandai dengan adanya hifa pada jaringan akar. Keberadaan hifa pada jaringan akar tanaman, dapat dilihat pada (Gambar 1).



(A)
Gambar 1. Struktur morfologi organ kapang endofit kiri (*Bactrodesmium* sp. AH), kanan (*Pestalotia* sp. AM) pada jaringan korteks akar *Calopogonium mucunoides*. Perbesaran 10 x10

Kemampuan kapang dalam melakukan infeksi dapat dilihat dengan adanya hifa pada jaringan akar tanaman *Calopogonium mucunoides* dan tidak munculnya gejala penyakit terhadap tanaman. Hal tersebut berdasarkan pernyataan Kusari & Spiteller [25] bahwa asosiasi mikroorganisme ditemukan pada jaringan akar dan daun. Pernyataan tersebut diperkuat oleh Khan [24] bahwa endofit biasanya menginfeksi di seluruh jaringan tanaman, tetapi lebih sering dibagian akar.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat kapang endofit asal lahan kritis Kecamatan Cempaka, Banjarbaru Kalimantan Selatan yakni isolat *Bactrodesmium* sp.AH. (dari akar *Helicteres angustifolia* L.), dan isolat *Pestalotia* sp.AM. (dari akar *Melastoma* sp.) tidak patogen. Isolat tersebut memiliki kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman *Calopogonium mucunoides*. Pertambahan jumlah akar lateral (JAL); panjang akar (PA) dan panjang tajuk (PT), berat basah (BB) dan berat kering (BK) tanaman berbeda secara signifikan pada tiap minggu pengamatan. Konsentrasi spora 5×10^6 berpengaruh signifikan pada rata-rata rertambahan panjang tajuk (PT) dan berat basah (BB).

PUSTAKA

- [1] Sismanto. 2009. Analisa Lahan Kritis Sub DAS Riam Kanan DAS Barito Kabupaten Banjar Kalimantan Tengah. *Jurnal Aplikasi : Media Informasi & Komunikasi Aplikasi Teknik Sipil Terkini*. 6: 1-11
- [2] Sirang, K. & Syarifuddin K. 2009. Kajian Rencana Teknik Rehabilitasi Hutan dan Lahan di Das Batulicin Provinsi Kalimantan Selatan. *Jurnal Hutan Tropis Borneo*. 10:28.
- [3] Prihastuti, 2011. Struktur Komunitas Mikroba Tanah dan Implikasinya Dalam Mewujudkan Sistem Pertanian Berkelanjutan. Balai Penelitian Tanaman kacang-kacangan dan Umbi-umbian. *Jurnal El-Hayah*. 1: 174-181.
- [4] Sutanto, M. 2002. *Pertanian Organik*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- [5] Huang, W. Y., Y.Z. Cai, K.D. Hyde, H. Corke, & M. Sun. 2008. Biodiversity of Endophytic Fungi Associated with 29 Tradisional Chinese Medicinal Plant. *Journal Fungal Diversity*. 33:61-75.
- [6] Noverita, D. Fitria, & E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4: 171 -176.
- [7] Zabalgogeaazcoa. 2008. Fungal Endophytes and Their Interaction with Plant Pathogens. Instituto de Recursos Naturales Agrobiología de Salamanca, Consejo Superior de. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 6: 138-146.
- [8] Zakaria, L., A.S. Yaakop, B. Salleh, & M. Zakaria. 2010. Endophytic Fungi from Paddy. School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, 11800 USM. Pulau Pinang. *Journal Malaysia Tropical Life Sciences Research*. 21: 101–107.
- [9] Lisnawati, Tantawi, A. Rafiqi, Pinem, & M. Iskandar. 2009. *Pemanfaatan Kapang Endofit sebagai Bioprotecting terhadap Infeksi Radopholus Similis pada Pisang Barangan Di Sumatera Utara. Laporan Penelitian*. Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.

- [10] Sudantha, I. M. 2009. Uji Efektivitas Beberapa Isolat Jamur Endofit Antagonistik dalam Meningkatkan Ketahanan Terinduksi Beberapa Klon Vanili terhadap Penyakit Busuk Batang. Fakultas Pertanian Universitas Mataram. *Jurnal Agroteksos*. 19: 1-2.
- [11] Wilia, W., Y. Alia, & T. Novita. 2011. Ekplorasi Kapang Endofit dari Beberapa Varietas Kedelai sebagai Agens Pemacu Pertumbuhan Tanaman. Fakultas Pertanian. Univesitas Jambi. Jambi. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*. 13: 33-38.
- [12] Boerjan W., M.T. Cervera., M. Delarue., T. Beeckman., W. Dewitte., C. Bellini., M. Caboche., H. V. Onckelen., M. V. Montagu., & Dirk Inzé. 1995. Superroot, a Recessive Mutation in Arabidopsis, Confers Auxin Overproduction. *Plant Cell*. 9: 1405–1419.
- [13] Imaningsih, W., S. Zulaikha. 2012. Isolasi Cendawan *Indigenous* Lahan Kritis Cempaka Banjarbaru Kalimantan Selatan. Laporan penelitian. Tidak Dipublikasikan. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- [14] Imaningsih, W., S. Zulaikha, Mahriani. 2013. Pemanfaatan Isolat Cendawan dari Lahan Kritis Kalimantan Selatan sebagai Bioremediator Lahan Kritis. Laporan Penelitian. Tidak Dipublikasikan. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- [15] Purwanto, I. 2007. *Mengenal Lebih Dekat Leguminoseae*. Kanisius. Yogyakarta.
- [16] Simanjuntak, S.S. 2006. *Eksplorasi Kapang Endofit Daun Sebagai Agen Pengendali Hayati Penyakit Busuk Buah (Phytophthora palmivora Bult). Kakao (Theobroma cacao)*. Skripsi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [17] Khodijah, S. 2009. *Evaluasi Efektivitas Bahan Perekat dan Pelapis untuk Pelapisan Benih Kedelai (Glycine max (L.)Merr.) dengan Kapang Mikoriza Arbuskula*. Skripsi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [18] Tanjung, A.F. 2009. *Pengaruh Konsentrasi NaCl terhadap Perkecambah Spora Fungi Mikoriza Arbuskula*. Tesis. Pascasarjana Biologi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- [19] El-Nagerabi, S. A. F., A. E. Elshafie, S. S. Alkhanjari. 2013. Endophytic fungi associated with *Ziziphus* species and new records from mountainous area of Oman. *Biodiversitas*. 14: 10-16.
- [20] Zhou, Z., C. Zhang, W. Zhou, W. Li., L. Chu, J. Yan, & H. Li. 2014. Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic fungi from the five flower plant species collected from Yunnan, Southwest China. *Journal of Plant Interactions*. 9: 585-591.
- [21] Lingga, R. 2009. *Uji Nematisidal Jamur Endofit Tanaman Padi (Oriza sativa L.) terhadap Nematoda Puru Akar (Meloidogyne spp.)*. Skripsi. FMIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- [22] Shi, Y., Kai Lou, & Chun li. 2009. Isolation, Quantity Distribution and Characterization of Endofit Microorganisms within Sugar Beet. *African Journal of Biotechnology*. 8:835-840.
-

- [23] Barazani, O., von Dahl, C., & Baldwin, I.T. 2007. *Sebacina vermifera* Promotes Growth and Fitness of *Nicotiana attenuata* by Inhibiting Ethylene Signaling. *Plant Physiology*. 144:1223-1232.
- [24] Khan, A.L., M. Hamayun, Sang-Mo Kang, Yoon-Ha Kim, Hee-Young Jung, Joong-Hwan lee, & In-Jung Lee. 2012. Endophytic Fungal Association Via Gibberellins and Indole Acetic Acid Can Improve Plant Growth Under Abiotic Stress: an Example of *Paecilomyces Formosus* LHL10. *Research article BioMed Central Microbiology*.12: 1-14.
- [25] Kusari, S., C. Hertweck, & M. Spiteller. 2004. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Journal Chemistry & Biology*. 19: 792-798.

KAJIAN MENTOK RIMBA (*Cairina scutulata*) Di TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS, LAMPUNG

A STUDY ON WHITE-WINGED WOOD DUCK (*Cairina scutulata*) in WAY KAMBAS NATIONAL PARK, LAMPUNG

Yusrina AviantiSetiawan¹, Muhammad Yunus², Sumianto², Nur Wahid Alim², Apriawan², Agus Subagyo³, Elly Lestari Rustiati¹

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Bandar Lampung

Email: yusrinaaa@yahoo.co.id, Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung 35145

² Yayasan Penyelamatan dan Konservasi Harimau Sumatera, Lampung Timur

³ Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Keguruan dan Pendidikan, Universitas Jambi

ABSTRACT

Research on white-winged wood duck in Way Kambas National Park was conducted in January-March 2014, in collaboration with Sumatran Tiger Trust Conservation Program by direct survey. The white-winged wood duck is categorized as endangered species since 1990. Way Kambas National Park is one of its natural habitat, the open fresh water swamp, including Rawa Gajah and Ulung-Ulung. One direct observation and seven indirect observation based on its sound were noted. It may be due to that January-March 2014 is the rainy season, which extend the water area and therefore affected its wider distribution.

Keywords: White-winged wood duck (*Cairina scutulata*), endangered species, Way Kambas National Park

ABSTRAK

Kajian tentang keberadaan mentok rimba (*Cairina scutulata*) di Taman Nasional Way Kambas telah dilakukan pada bulan Januari-Maret 2014, bekerjasama dengan Yayasan Penyelamatan dan Konservasi Harimau Sumatera melalui survei langsung. Mentok rimba merupakan jenis burung air yang terancam punah sejak tahun 1990. Taman Nasional Way Kambas merupakan salah satu habitat alami dari mentok rimba, yaitu di rawa air tawar yang terbuka. Rawa Gajah dan Ulung-ulung merupakan rawa yang memiliki intensitas perjumpaan yang tinggi dengan mentok rimba. Selama pengamatan di lokasi tersebut diperoleh satu kali perjumpaan langsung dengan mentok rimba dan tujuh kali perjumpaan tidak langsung berdasarkan suara. Hal ini dimungkinkan karena pada bulan Januari-Maret 2014 merupakan musim penghujan, sehingga terjadi perluasan wilayah perairan yang diikuti dengan perluasan persebaran mentok rimba.

Kata kunci: Mentok rimba (*Cairina scutulata*), terancam punah, Taman Nasional Way Kambas

PENDAHULUAN

Salah satu jenis burung air yang dapat ditemui di Taman Nasional Way Kambas (TNWK) adalah mentok rimba (*Cairina scutulata*) [1]. Mentok rimba merupakan burung air langka yang terancam punah. Saat ini populasi mentok rimba mengalami penurunan, yang disebabkan oleh penebangan pohon, perburuan liar, dan pembukaan lahan. Mentok rimba pertama kali diidentifikasi pada tahun 1842, tersebar dari India, Banglades, Myanmar, Thailand, Laos, Vietnam, Kambodja, Malaysia dan di daerah Sumatera dan Jawa. Jenis ini telah tercatat pernah ditemukan di Sumatera, dari Aceh, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Bengkulu, Sumatera Barat sampai Lampung [2]. Di Sumatera mentok rimba cenderung hidup di hutan rawa dan hutan di sepanjang aliran sungai [3], dengan habitat alaminya di Taman Nasional Way Kambas. Keberadaan mentok rimba pernah tercatat ditemukan juga di Jawa Barat dan Jawa Tengah, tetapi mulai tahun 1907 tidak ditemukan lagi di Jawa sehingga mentok rimba dikatakan punah di Jawa karena kerusakan habitat [4].

Mentok rimba memiliki ukuran tubuh yang relative besar tanpa tanda merah di matanya. Individu jantan memiliki panjang tubuh sekitar 75 cm [5] dengan berat antara 3,8-4,3 kg dan betina memiliki panjang tubuh sekitar 60 cm dengan berat antara 2,1-3,6 kg. Tubuhnya berwarna hitam, leher bagian atas hingga kepala berwarna putih dengan bintik-bintik hitam. Matanya berwarna merah atau orange. Ekornya berwarna hitam. Bulu pada bagian dada dan perut tampak berwarna hitam dengan bagian putih yang tampak lebih banyak di bagian dada atas. Warna putih terlihat di bagian sayap dan warna hitam di sisi bulu sayap lainnya. Saat terbang mentok rimba lebih mudah dikenali karena di sisi bawah sayapnya terdapat garis putih yang akan terlihat saat sayapnya terbuka [6]. Paruhnya berwarna kekuningan. Pada mentok betina bintik-bintik hitam lebih padat dibandingkan pada mentok jantan. Sedangkan mentok jantan memiliki bulu yang lebih terang [7].

Habitat mentok rimba terbatas pada lahan basah seperti genangan air, kolam, sungai kecil, dan rawa yang sesuai sebagai daerah untuk mencari makan. Keberadaan pohon-pohon yang berbatang besar menjadi penting sebagai tempat bertengger ataupun tempat bersarang [8].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan mentok rimba di Rawa Gajah dan Ulung-Ulung, Taman Nasional Way Kambas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Rawa Gajah dan Ulung-Ulung, Taman Nasional Way Kambas, pada bulan Januari-Maret 2014, bekerjasama dengan Yayasan Penyelamatan dan Konservasi Harimau Sumatera (PKHS) dengan survei secara langsung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan mentok rimba di TNWK diketahui melalui perjumpaan langsung (n=1) di Rawa gajah dan secara tidak langsung melalui suara (n=7) dan bulu jatuhan (n=1) di Rawa gajah dan Ulung-ulung.

Perjumpaan langsung yang hanya satu kali dimungkinkan karena pada saat tersebut merupakan musim penghujan, keberadaan perairan lebih luas sehingga persebaran mentok rimba juga semakin luas, dan kondisi air yang lebih tinggi kemungkinan menyulitkan mentok rimba untuk mendapatkan pakannya. Pada bulan Januari-Maret 2014, juga bersamaan dengan waktu reproduksi mentok rimba dan berganti bulu (*molting*) (Gambar 1).



Gambar 1. Bulu Mentok Rimba yang ditemukan di Ulung-ulung

Berbeda dengan pernyataan Hapsoro [9], yang menyatakan mentok rimba tidak selalu bersuara saat terbang. Perjumpaan tidak langsung dapat diketahui melalui suara mentok rimba saat melakukan aktivitas (Apriawan, *pers.comm.*). Mentok rimba dijumpai aktif pada pagi dan sore hari (Tabel 1).

Tabel 1. Aktivitas dan perjumpaan dengan mentok rimba di Rawa Gajah dan Ulung Ulung Taman Nasional Way Kambas (Januari-Maret 2014)

No	Tanggal	Waktu	Aktivitas	Lokasi
1	19-01-14	16.14	•Penemuan bulu jatuhan	Ulung-Ulung
2	19-01-14	05.45	•Bersuara	Ulung-Ulung
3	19-01-14	15.15	•Bersuara	Ulung-Ulung
4	19-01-14	15.30	•Bersuara	Ulung-Ulung
5	20-01-14	07.30	•Bersuara	Ulung-ulung
6	20-01-14	17.28– 18.30	<ul style="list-style-type: none"> • 1 ekor mentok rimba terbang bersuara kemudian hinggap di pohon gelam • Istirahat dengan bertengger di pohon • Tetap beristirahat di pohon sampai hari gelap 	Rawa Gajah
7	21-01-14	10.00	• Bersuara	Rawa Gajah
8	21-01-14	14.23	•Bersuara saat makan	Rawa Gajah
9	27-01-14	18.30	•Bersuara	Ulung-Ulung

Mentok rimba terlihat terbang menuju Rawa Gajah pada sore hari (pukul 17.28) dan bertengger di cabang pohon dengan melipat kedua kakinya serta menurunkan tubuhnya seperti posisi mengeram dan sesekali membersihkan bulu dengan paruhnya (Gambar 2).



Gambar 2. Mentok Rimba yang sedang beristirahat di pohon gelam

Pohon yang digunakan mentok rimba untuk bertengger adalah pohon gelam (*Melaleuca leucadendron*) (Gambar 3), yang berukuran besar dan memiliki ukuran cabang yang cukup besar, mendatar, yang berada di tepi rawa.



Gambar 3. Pohon gelam yang digunakan mentok rimba untuk beristirahat

Bentuk percabangan yang mendatar memungkinkan mentok rimba untuk bertengger karena mentok rimba memiliki sepasang kaki yang tidak dapat digunakan untuk mencengkram. Mentok rimba bertengger hingga hari gelap dan diduga merupakan pohon tidurnya. Pada saat bertengger mentok rimba menggerakkan kepalanya.

Jadi Mentok rimba masih dapat ditemukan di TNWK lokasinya di Rawa Gajah, Keberadaan mentok rimba bisa diketahui secara tidak langsung berdasarkan suara dan bulu jatuhan.

PUSTAKA

- [1] Muller, S. 1842. *Verhandelingen over de Natuurlijke Geschiedenis der Nederlandsche Overzeesche Bezittingen. Land- en Volkenkunde* 1: 159, footnote. Java
- [2] Silviu, M.J. and Giesen, W. 1992. *Towards integrated management of Sumatran peat swamp forests.* AWB paper prepared for Workshop on Sumatera, Environment and Development. Bogor, September 1992.

- [3] Ariantiningih, Fransisca. 2008. Suaka Margasatwa Rawa Singkil. Program Kampanye Bangsa. Medan.
- [4] Green, A. J. 1992. The status and conservation of the White-winged Wood Duck *Cairina scutulata*. Slimbridge, Glos, U.K.
- [5] MacKinnon, J. and K. Phillips. 1993. A Field Guide To The Birds of Borneo, Sumatera, Java and Bali. Oxford University Press.
- [6] Tim Ekspedisi *Cairina scutulata* 1.1991. Bebek Hutan Bersayap Putih (*Cairina scutulata*) di Taman Nasional Way Kambas Lampung. Bandung. Himbio Unpad. Jatinangor.
- [7] Spirit of Sumatera Expedition. 1992. Status and Notes on the Ecology of *Cairina scutulata* and *Ciconiastormi* in Sumatera. The WWT. Slimbridge United Kingdom.
- [8] Holmes, D.A. 1977. A Report on The White Winged Wood Duck in Southern Sumatera. *Wildfowl* 28. Pp. 61-64.
- [9] Hapsoro, 1995. Studi Beberapa Karakteristik Habitat Itik Serati (*Cairina scutulata* Muller, 1840) di Taman Nasional Way Kambas. Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan, Fakultas Kehutanan. IPB. Bogor. Holmes, D.A. 1977. A Report on The White Winged Wood Duck in Southern Sumatera. *Wildfowl* 28. Pp. 61-64

KOORDINASI NEURMUSKULAR MENCIT (*Mus musculus* L.) PASKASAPIH SETELAH INJEKSI OCHRATOKSIN A SECARA INTRASISTERNAL

NEUROMUSCULAR COORDINATION OF POSTWEANING MICE AFTER OCHRATOXIN A INDUCTION BY INTRACISTERNAL INJECTION

Arum Setiawan¹, Mammed Sagi², Istriyati³, Widya Asmara⁴

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya, Palembang^{1*}
setiawanarum@gmail.com, 0812 781 6101/ 0711355805
Pusat Penelitian Lingkungan Hidup (PPLH) Unsri

Mess Unsri Griya Asri Jalan. Padang Selasa No. 522, Bukit Besar Palembang 30139

^{2,3}Laboratorium Histologi dan Embriologi Hewan Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta^{2,3}

⁴Labortorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Yogyakarta⁴

ABSTRACT

Ochratoxin A (OA) is the most toxic of the ochratoxins. Ochratoxin A is structurally similar to the amino acid phenylalanine (Phe), it has an inhibitory effect on a number of enzymes that use Phe as a substrate. This study aims to determine the effect of intracisternal injection of OA against neuromuscular coordination of postweaning Mice. In the experimental group, each of treatment 0.5 ; 1.0 ; 1.5 µg OA (Sigma Chemicals Ltd.) was dissolved in 1 µl of 0.1 M sodium bicarbonate, are injected into the cisterna cerebellomedularis once on day 5 after birth with Hamilton microinjection 26-gauge size. In the control group, 2 µl of 0.1 M sodium bicarbonate was injected into the same area. Mice were maintained until the age of 21 days (postweaning), then test the ability of the neuromuscular coordination using swimming test. The reaction of mice in the swimming test in the water observed in terms of the direction of swimming, swimming angle and the use of limbs. The results showed that OA decline in the ability of the neuromuscular caused postweaning mice in terms of the direction of swimming, swimming angle and the use of limbs.

Keyword: Ochratoxin A, mice, postweaning, neuromuscular

ABSTRAK

Ochratoxin A (OA) merupakan mikotoksin utama pada kelompok *ochratoxin* yang bersifat toksis. Struktur OA yang mirip dengan struktur asam amino fenilalanin (Phe), menyebabkan OA dapat menghambat enzim yang menggunakan Phe seperti *Phe-tRNA synthetase*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian secara intrasisternal OAA terhadap koordinasi neuromuskular Mencit paskasapih. Pada kelompok eksperimen, masing-masing perlakuan 0,5; 1,0 dan 1,5 µg OA (Sigma Chemicals Ltd) dilarutkan dalam 1 µl 0,1 M natrium bikarbonat, disuntikkan ke dalam cisterna cerebellomedularis sekali pada hari ke-5 setelah lahir dengan microinjeksi Hamilton ukuran 26-gauge. Pada kelompok kontrol, 2 µl 0,1 M sodium bikarbonat disuntikkan ke daerah yang sama. Mencit dipelihara sampai umur 21 hari (paskasapih), kemudian dilakukan uji kemampuan koordinasi neuromuskular dengan uji aktifitas berenang. Kemudian reaksi anak mencit setelah masuk ke dalam air diamati dalam hal arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa OA menyebabkan penurunan kemampuan neuromuskular mencit paskasapih dalam hal arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan.

Kata Kunci : Ochratoxin A, mencit, paskasapih, neuromuskular

PENDAHULUAN

Sistem saraf pusat merupakan salah satu sistem yang mempengaruhi perilaku, sehingga apabila terjadi kelainan perkembangan atau gangguan perkembangan pada sistem saraf pusat dapat menyebabkan terjadinya penyimpangan perilaku. Penyimpangan perilaku pada hewan percobaan berkaitan erat dengan terganggunya fungsi sistem saraf pusat karena terhambatnya perkembangan otak dan terganggunya produksi neurotransmitter [1].

Pengujian perilaku bermanfaat dalam mengevaluasi perilaku tahap pasca lahir akibat pendedahan pralahir berbagai faktor eksternal terhadap perilaku tahap pasca lahir karena perilaku merupakan indikator fungsional proses-proses integratif dari sistem saraf tepi, baik sensoris maupun motoris. Penyimpangan perilaku dapat merupakan indikator dini terhadap adanya efek toksik dan teratogenik suatu senyawa kimia, sebab adanya perubahan sudah dapat diketahui sebelum gejala klinis dan kelainan struktural [2].

Penyimpangan perilaku didasari oleh proses biokimiawi di dalam otak, khususnya menyangkut peran neurotransmitter, terutama asetilkolin, norepinefrin, dopamin dan serotonin [3]. Pengaturan proses belajar dan mengingat serta berbagai aktifitas muskular dipengaruhi oleh serotonin dan dopamin [4].

Ochratoxin A merupakan mikotoksin utama dari kelompok ochratoxin yang bersifat toksis. OA merupakan derivat dihydro-isocoumarin yang diikat peptida dengan fenilalanin (Phe) dan banyak ditemukan pada gandum, minyak tumbuhan, kopi, anggur dan daging unggas [5]. Penelitian mengenai pengaruh akut dan kronis dari OA pada sistem saraf masih belum banyak dilakukan [6]. OA dilaporkan neurotoksik pada tikus jantan dewasa diberi OA dalam makanan. Neurotoksisitas, ditandai dengan konsentrasi laktat dehidrogenase yang dilepaskan dari jaringan otak seperti mesencephalon ventral, hippocampus, dan striatum daripada di otak kecil [7].

Berat molekul OA ($C_{20}H_{18}ClNO_6$) adalah 403,8 Da. Secara struktural OA sangat mirip dengan asam amino fenilalanin (Phe), sehingga merupakan penghambat kompetitif pada beberapa enzim yang menggunakan Phe sebagai substrat seperti *Phe-tRNA synthetase* yang pada akhirnya akan menghambat sintesis protein [8]. OA berbentuk kristal tidak berwarna yang larut dalam pelarut organik, bersifat optik aktif dan berpendar biru di bawah sinar ultraviolet. OA merupakan mikotoksin yang sangat stabil pada beberapa pelarut yang berbeda. Penyimpanan OA dalam metanol dibawah suhu $-20^{\circ}C$ dapat bertahan sampai beberapa tahun [9].

Selama kebuntingan akhir, calon mikroneuron, yaitu sel-sel granulosa, sel-sel granulosa membentuk lapisan di luar (lapisan granular eksternal / EGL), sehingga sel-sel aktif membelah dan menyebar ke seluruh permukaan calon cerebellum [10]. Calon sel Purkinje bermigrasi dari daerah ventrikel radial menuju permukaan luar otak kecil (korteks), dan setelah posisi tertentu akan membedakan sel ke sel Purkinje. Dalam otak yang normal berbentuk *Purkinje cell monolayer* tepat di bawah lapisan granular eksternal (EGL), dan dendrit bercabang tumbuh di lapisan molekul (ML). Di sisi lain, sel-sel granulosa yang terletak di membagi korteks oleh mitosis dan mensintesis Reelin, kemudian berpindah ke bagian dalam lapisan granular intern (IGL) melalui ML dan *Purkinje Sel Layer* (PCL). Reelin adalah protein yang disekresikan oleh sel-sel granulos ekstraseluler selama migrasi awal dan berfungsi sebagai matriks adhesi molekul yang membantu posisi pengaturan pola sel-sel saraf [10].

OA menurunkan jumlah sel-sel Purkinje *cerebellum* otak fetus mencit. OA juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan otak fetus mencit (*Mus musculus* L.) setelah pendedahan selama organogenesis [12]. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh injeksi intrasisternal OA terhadap koordinasi neuromuskular anak mencit paskasapih.

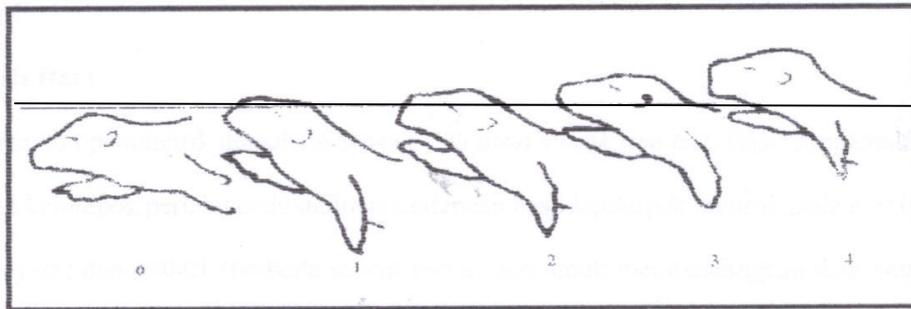
METODE PENELITIAN.

Bahan uji adalah OA diperoleh dari SIGMA-Aldrich Chemical Co., yang dilarutkan dalam larutan 0,1 M sodium bikarbonat 0,1 µl larutan tiap ekor anak mencit. Hewan uji yaitu 30 ekor anak mencit jantan (*Mus musculus* L.) sekelahiran, umur \pm 5 hari. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk pemeliharaan hewan percobaan, microinjeksi Hamilton ukuran 26-gauge, akuarium berukuran 65 cm (p) x 35 cm (t) x 45 cm (l) dan kamera digital sebagai alat dokumentasi.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing 6 ulangan. Pada kelompok eksperimen, 0,5; 1,0 dan 1,5 µg OA dilarutkan dalam 0,1 µl 0,1 M natrium bikarbonat, disuntikkan ke dalam *cisterna cerebellomedularis* sekali pada hari ke-5 setelah lahir oleh Microinjeksi Hamilton 26-gauge. Pada kelompok kontrol placebo, 2 µl 0,1 M sodium bikarbonat disuntikkan ke daerah yang sama [13], sedangkan kontrol tidak diberi perlakuan apa-apa.

Mencit dipelihara sampai umur 21 hari (paskasapih), kemudian dilakukan uji kemampuan koordinasi neuromuskular dengan uji aktifitas berenang. Pada uji ini, disiapkan air hangat dengan suhu 27°C- 30°C di dalam akuarium berukuran 65 cm (p) x 35 cm (t) x 45 cm (l), sebanyak 2/3 tinggi akuarium. Kemudian anak mencit dijatuhkan tepat di bagian tengah akuarium dari ketinggian sekitar 10 cm di atas permukaan air. Gambar 1 menunjukkan reaksi anak mencit setelah masuk ke dalam air diamati dalam hal arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan dan diberi nilai menurut metode Schapiro [14].

- a. untuk arah berenang, nilai :
 - 0 : tenggelam
 - 1 : terapung
 - 2 : berputar-putar
 - 3 : lurus
- b. untuk sudut berenang (Gambar 1), nilai :
 - 0 : kepala dan tubuh berada di bawah permukaan air
 - 1 : permukaan kepala dan sebagian hidung di atas permukaan air
 - 2 : bagian kepala sebatas mata di atas permukaan air
 - 3 : bagian kepala, mata dan setengah telinga di atas permukaan air
 - 4 : kepala dan seluruh telinga ada di atas permukaan air
- c. untuk penggunaan anggota badan, nilai :
 - 1 : tidak menggunakan anggota badan
 - 2 : menggunakan keempat anggota badan
 - 3 : menggunakan kedua kaki belakang saja.



Gambar 1. Penilaian sudut berenang anak mencit menurut metode Schapiro [14], yaitu nilai 0, 1, 2, 3, dan 4
Keterangan : Garis merupakan batas permukaan air

HASIL DAN PEMBAHASAN.

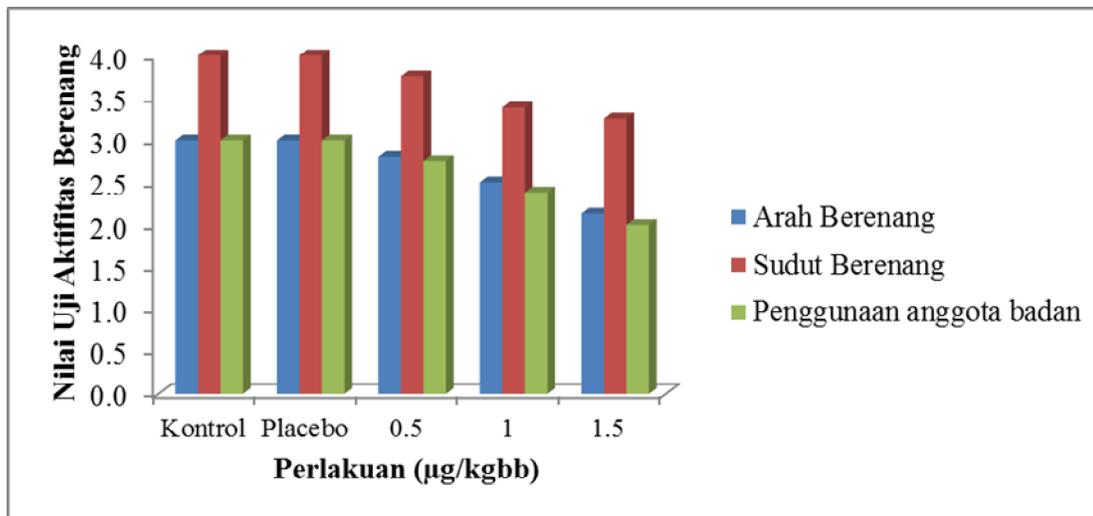
Pengamatan terhadap koordinasi motoris dilakukan dengan melakukan uji aktifitas berenang. Uji ini merupakan uji yang baik untuk pengamatan koordinasi refleks dan motoris, sebab melibatkan berbagai gerakan motoris dan keseimbangan, yang antara lain dikordinasikan oleh *cerebellum* dan korteks *cerebrum* [15]. Adanya kecenderungan perubahan nilai aktifitas memiliki arti penting sebagai ciri adanya penyimpangan perilaku [16]. Pengujian pralahir dengan berbagai faktor eksternal terhadap perilaku pascalahir merupakan indikator fungsional proses integratif dari sistem saraf pusat dan sistem saraf tepi, baik sensoris maupun motoris. Pendedahan dosis sub teratogenik dari suatu teratogen pada tahap akhir organogenesis yang tidak menimbulkan malformasi akan memunculkan kelainan fungsional yaitu terhambatnya sistem saraf pusat yang dimanifestasikan sebagai penyimpangan perilaku [17].

Tabel 1. Kemampuan motoris pada uji aktivitas berenang anak mencit setelah pemberian OA dosis 0,5 µg/kgbb; 1,0 µg/kgbb dan 1,5 µg/kgbb selama periode organogenesis

Perlakuan (µg/kgbb)	Arah Berenang ± SD	Sudut Berenang X ± SD	Penggunaan Anggota Badan X ± SD
Kontrol	3,000 ± 0,000 a	4,000 ± 0,000 a	3,000 ± 0,000 a
Plasebo	3,000 ± 0,000 a	4,000 ± 0,000 a	3,000 ± 0,000 a
0,5	2,750 ± 0,463 ab	3,750 ± 0,463 ab	2,750 ± 0,463 ab
1,0	2,500 ± 0,535 b	3,375 ± 0,518 b	2,375 ± 0,744 bc
1,5	2,125 ± 0,353 b	3,250 ± 0,886 b	2,000 ± 0,756 c

Keterangan : huruf yang sama dibelakang angka pada satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata.
Skor arah berenang : 0 – 4 ; Skor sudut berenang : 0 – 4
Skor penggunaan anggota badan : 1 – 3 (Schapiro [14]).

Hasil pengamatan mengenai kemampuan koordinasi motoris anak mencit tahap paskasapah (umur 21 hari) pada uji berenang ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 2. Dari hasil tersebut menunjukkan terjadi penurunan kemampuan koordinasi motoris pada uji berenang dalam hal arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan pada semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol dan plasebo. Penurunan kemampuan koordinasi motoris pada anak mencit tahap paskasapah tersebut sejalan dengan peningkatan dosis pada tiap kelompok perlakuan. Penurunan yang signifikan terjadi pada dosis 1,0 μg dan dosis 1,5 μg . Semakin tinggi dosis OA yang diberikan, maka koordinasi anak mencit umur 21 hari paskasapah akan semakin menurun.



Gambar 2. Histogram kemampuan koordinasi motoris pada uji aktifitas berenang
Keterangan : semakin tinggi dosis pemberian OTA, maka nilai uji aktifitas koordinasi motoris akan semakin menurun.

Untuk pengujian pada umur 21 hari (paskasapah) dengan parameter arah berenang terdapat perbedaan nyata antara kontrol dan plasebo dengan kelompok perlakuan, meskipun untuk dosis OA 0,5 μg tidak berbeda nyata dengan kontrol dan plasebo. Antara dosis 0,5 μg dengan dosis 1,0 μg dan dosis 1,5 μg tidak berbeda nyata antar perlakuan. Hal ini berarti bahwa peningkatan dosis pemberian OA tidak mempunyai pengaruh terhadap uji aktifitas berenang dalam hal arah berenang.

Untuk uji aktifitas dalam hal sudut berenang antara kontrol dan plasebo berbeda nyata dengan perlakuan. Pada pemberian dosis OA 0,5 μg belum memberikan pengaruh yang berarti terhadap sudut berenang mencit umur 21 hari, sedangkan pada dosis 1,0 μg dan 1,5 μg sudah memberikan pengaruh yang nyata. Dalam hal sudut berenang ini, dari hasil pengamatan didapatkan bahwa kenaikan dosis pemberian OA belum memberikan hasil yang signifikan terhadap pengujian sudut berenang. Hal ini berarti bahwa pemberian OA mempengaruhi aktifitas uji berenang mencit, tetapi peningkatan dosis tidak memberikan pengaruh yang berarti dan sebagian besar mencit perlakuan masih bisa mempertahankan lubang hidungnya diatas permukaan air.

Untuk parameter uji berenang adalah hal penggunaan anggota badan, terdapat beda nyata antara kelompok kontrol dan plasebo dengan kelompok perlakuan. Meskipun pada dosis OA 0,5 µg tidak berbeda nyata dengan kontrol dan plasebo, namun peningkatan dosis OA memperlihatkan pengaruh yang signifikan. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi dosis OA maka akan semakin menurunkan indeks nilai penggunaan anggota badan dalam uji berenang mencit pasca sapih umur 21 hari. Mencit dewasa yang normal pada saat berenang hanya menggunakan dua tungkai belakang saja, sedangkan kedua tungkai depannya melipat didepan dada sambil mempertahankan kedudukan kepala di atas permukaan air. Untuk mencit yang mengalami malformasi menggunakan keempat tungkainya pada saat berenang. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan pada *sensory motor cortex* (SMC) pada mencit yang mengalami malformasi [18].

Nilai aktivitas berenang anak mencit yang diamati pada tiga parameter yaitu arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan menunjukkan penurunan dengan semakin tingginya dosis pemberian OA. Hal ini berarti bahwa OA juga dapat berpotensi sebagai teratogen perilaku. Adanya kecenderungan perubahan nilai aktivitas berenang memiliki arti penting sebagai ciri adanya penyimpangan perilaku. Sesuai dengan latar belakang bahwa OA mempunyai sifat neurotoksik yang mampu mempengaruhi susunan saraf terutama pada sistem saraf pusat [19].

Penyimpangan perilaku sangat erat kaitannya dengan perubahan fisik maupun kimia di dalam jaringan otak. Otak merupakan organ yang berfungsi sebagai pusat pengaturan dan pengolahan, serta tempat proses mental yang mencakup proses belajar dan mengingat [20]. Penyimpangan perilaku sejalan dengan terjadinya perubahan konsentrasi neurotransmitter di berbagai wilayah otak. Penurunan kemampuan aktivitas berenang pada tikus sejalan dengan penurunan konsentrasi asetilkolin, serotonin dan norepinefrin di striatum; serotonin di korteks; oksipital, norepinefrin dan dopamin di hipokampus dorsal serta norepinefrin di hipokampus ventral [21].

Penurunan konsentrasi neurotransmitter otak berpengaruh terhadap kemampuan susunan saraf untuk mencerna dan menyampaikan impuls. Hal ini disebabkan oleh terganggunya fungsi neurotransmitter. Neurotransmitter berfungsi sebagai zat kimia penghantar impuls saraf dari satu neuron ke neuron lain, sehingga dengan berkurangnya konsentrasi neurotransmitter atau terganggunya aktivitas neurotransmitter otak akan berpengaruh pada kurangnya kemampuan anak mencit untuk merespon stimulus [22]. Penurunan konsentrasi neurotransmitter di otak berkaitan erat dengan terjadinya penyimpangan perilaku. Perilaku belajar dan mengingat memungkinkan untuk memberikan respon terhadap rangsangan yang datang dari luar seperti menyelamatkan diri atau menghindari dari situasi tertentu dan mendekati obyek, sehingga berperan penting karena mempunyai nilai adaptif bagi organisme.

Reseptor asetilkolin bertanggung jawab terhadap penyaluran impuls saraf ke kontraksi motoris [23]. Pemberian OA diduga mengganggu penyaluran impuls saraf ke kontraksi motoris sehingga akan mempengaruhi fungsi otak dan perilaku anak mencit dalam merespons impuls. Otak yang sedang berkembang memiliki sinapsis lebih banyak dibandingkan dengan otak dewasa dan dibentuk berdasarkan rangsangan yang diterima selama masa perkembangan. Jika terjadi peningkatan aktifitas neural, yaitu dengan adanya OA, maka proses perkembangan sinapsis dapat terhambat dan bersifat permanen terhadap anatomi sinapsis dan fungsi otak. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya kemunduran dalam proses belajar dan perilaku anak mencit yang ditandai dengan menurunnya nilai-nilai aktifitas dari beberapa parameter seperti arah berenang,

sudut berenang dan penggunaan anggota badan pada kelompok perlakuan OA bila dibandingkan dengan kontrol dan plasebo.

Penurunan koordinasi motorik mencit setelah pemberian OA juga berhubungan dengan penurunan jumlah sel Purkinje *cerebellum*. Sel Purkinje merupakan sel utama *cerebellum* dan merupakan satu-satunya sel *output* korteks *cerebellum*. Sel Purkinje menerima *input* eksitasi dari *mossy fibers* (melalui sel-sel granula dan *parallel fibers*) dan dari neuron-neuron *nucleus olivarius inferior* (melalui *climbing fibers*). Masing-masing sel Purkinje menerima input dari sekitar 100.000 *parallel fibers*, tetapi hanya satu yang dari *climbing fibers*. Interneuron sel stellat, sel basket dan sel Golgi juga menerima input dari *parallel fibers*. Sel stellat dan sel basket akan menyebabkan inhibisi sel-sel Purkinje ketika sel Golgi menginhibisi sel granula. Input dari *parallel fibers* dan inhibisi interneuron menghasilkan pelepasan impuls dari sel Purkinje yang dikenal sebagai *simple spikes*, sebaliknya *climbing fibers* menghasilkan pelepasan impuls yang diperpanjang, kadang-kadang berupa osilasi, dikenal sebagai *complex spikes* [24]. OA menurunkan jumlah sel Purkinje *cerebellum* otak fetus mencit setelah pembedahan selama periode organogenesis [25].

Sel Purkinje *cerebellum* juga memodulasi *output cerebellum*, yang bertanggung jawab dalam aspek pembelajaran motorik dari fungsi *cerebellum*. Pemberian OTA akan menurunkan jumlah sel Purkinje sehingga mengganggu proses penerimaan *input* dari *mossy fibers* dan *climbing fibers* dan modulasi *output cerebellum*. Gangguan proses ini akan menyebabkan proses transmisi *output* dari *cerebellum* ke *upper motor neuron* (UMN) terganggu sehingga menyebabkan penurunan koordinasi motorik.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa OA yang diberikan secara intrasisternal pada anak mencit umur 5 hari menyebabkan penurunan koordinasi neuromuscular pada uji aktifitas berenang dengan menurunkan nilai uji pada arah berenang, sudut berenang dan penggunaan anggota badan. OA merupakan teratogen perilaku.

PUSTAKA

- [1] Nelson B.K., Brightwell W.S., Burg J.R., Massari V.J., 1984, Behavioral and neurochemical alterations in offspring of rats after maternal or paternal inhalation exposure to the industrial solvent 2-methoxyethanol, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 20(2): 269-270.
- [2] Spyker J.M.; Avery P.I., 1977, Neurobehavioral effect of prenatal exposure to the organophosphate diazinon in mice, *J. Toxicol. Environ. Health.*, 3: 989 – 1002.
- [3] Johanson G., 1999, *Criteria Document for Swedish Occupational Standards-Ethylene Glycol Monomethyl Ether Anethylene Glycol Monomethyl Etil Acetate*, Arbete Och Halsa, National Institute for Working Life, Stockholm, Sweden.
- [4] Kibiuk L., 1997, Dopamine – a sample neurotransmitter, society for neuroscience, from : <http://www.sfn.org>, 31 Agustus 2009.

- [5] Miraglia M.; Brera C., 2002, *Assessment of Dietary Intake of Ochratoxin A by the Population of EU Member States*, Directorate General Health and Consumer Product, Rome, Italy.
- [6] Sava V., Reunova O., Velasques A., Harbison R., Sanchez-Ramos J., 2006, Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite Ochratoxin A, *Neuro. Toxicol.*, 27:82-92.
- [7] Belmadani A., Tramu G., Betbeder A.M., Steyn P.S., Creppy E.E., 1998a, Regional selectivity to ochratoxin A, distribution and cytotoxicity in rat brain, *Arch. Toxicol.*, 72: 656–562.
- [8] Marti N.B., 2006, Ochratoxin A and ochratoxigenic moduls in grapes, must and wine, ecophysiological study, tesis doctoral Universitat de Lleida Spain, from URL : http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UdL/AVAILABLE/TDX0406107172700/Tbmn10de18.pdf. 10 Juni 2007.
- [9] Valenta H., 1998, Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal an human tissues and fluids, *J. Chromat.*, 815:75-92.
- [10] Darmanto W., Inouye M., Takagishi Y., Ogawa M., Mikoshiba K., Murata Y., 2000, Derangement of Purkinje cells in the rat cerebellum following prenatal exposure to X-irradiation : decreased Reelin level is possible cause, *J. Neurophatol. Exp. Neurol.*, 59: 245-256.
- [11] Darmanto W., 2005, Abnormal struktur histologis korteks cerebellar tikus dengan normal foliasi akibat iradiasi sinar X masa postnatal, *Ber. Pen. Hay.*, 11:13-18.
- [12] Setiawan, A., Sagi M., Asmara W., Istriyati. 2011. Analisis kuantitatif sel purkinje *cerebellum* mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster setelah induksi ochratoxin A selama periode organogenesis. *J. Biota* 16(2): 262–268.
- [13] Fukui Y., Hoshino K., Kameyama Y., 1987, Developmental abnormalities of mouse cerebellum induced by intracisternal injection of ochratoxin A in neonatal period, *J. Neural. Transm.*, 116:1451-1455.
- [14] Schapiro S., Salas M., Vukovic K., 1970, Hormonal effects on ontogeny of swimming ability in the rat : assesment of control nervous system development, *Sci.*, 168: 147–150.
- [15] Kihara T., T.W. Surjono, M. Sakamoto, T. Matsuo, Y. Yasuda and T. Tanimura, 2001, Effects of prenatal rubrotoxin-B exposure on behaviors of mouse offspring, *Toxicol. Sci.*, 61:368-373.
- [16] Leonard B.E., 1983, Behavioral teratology and toxicology. In *Psychopharmacology 1, Part 1 Preclinical Psychopharmacology*, D. G. Grahame-Smith Ed., Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton, 248–299.
- [17] Vorhees C.V., and E.P. Riley, 1986, *Handbook of Behavioral Teratology*, Plenum Press, New York, London, 23–64.
- [18] Stoltz S., J.L. Humm and T. Scharllert, 1999, Cortical injury impairs contralateral forelimb immobility during swimming : a simple test for loss of inhibitory motor control, *Behav. Brain Res.*, 106:127-132.

- [19] Leonard B.E., 1983, Behavioral teratology and toxicology. In *Psychopharmacology 1, Part 1 Preclinical Psychopharmacology*, D. G. Grahame-Smith Ed., Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton, 248–299.
- [20] Scanlon S.C. and T. Sanders, 2007, *Essentials of Anatomy and Physiology* 5th edition, F.A. Davis Company, Philadelphia, 163-195.
- [21] Stemmelin J., C. Lazarus, S. Cassel, C. Kelche, and J.C. Cassel, 2000, *Immunohistochemical and neurochemical correlates of learning deficits in aged rats. J. Neurosci.*, 96:275–289.
- [22] Nelson B.K., W.S. Brightwell, J.R. Burg and V.J. Massari, 1984, Behavioral and neurochemical alterations in offspring of rats after maternal or paternal inhalation exposure to the industrial solvent 2-methoxyethanol, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 20(2): 269-270.
- [23] Patel A., 2001, How does lead effect the nervous system ?, from : <http://www.serendip.bryanmawr.edu>, 1-2, 20 Oktober 2009
- [24] Purvess D., G.J. Augustine, D. Fitzpatrick, L.C. Katz, A.S. Lamantia, J.O. McNamara and S.M. William, 2001, *Neuroscience* 2nd ed., Sinauer Associates Inc., Massachusetts, 409-426.
- [25] Setiawan, A., M. Sagi, W. Asmara dan Istriyati. 2011. Analisis kuantitatif sel purkinje *cerebellum* mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster setelah induksi ochratoxin A selama periode organogenesis. *J. Biota* 16(2): 262–268.

KONDISI DAN STRATIFIKASI VERTIKAL TERUMBU KARANG DI PERAIRAN GUNUNG ANAK KRAKATAU

CONDITION AND VERTICAL STRATIFICATION OF CORALS IN ANAK KRAKATAU

Adi Ilhan Nuari¹, Endang Linirin Widiastuti¹, Rikha Aryani Surya²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jl. Soemantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145
Email: adilhannuari@yahoo.co.id

²Balai Konservasi Sumberdaya Alam Lampung

ABSTRACT

The growth of coral reefs has limiting factors, natural and anthropogenic factors. Naturally the Anak Krakatau is with its ashes and tectonic which frequently released from the volcanic activity of Anak Krakatau and human disturbance either from the main island like Sumatra Island. The aims of the study was to determine the recent condition of the coral reefs, based on its percent life cover, and the vertical stratification of the corals formed in Anak Krakatau water. The study was conducted from October – December 2013. *Line Intercept Transect* (LIT) was appointed for determining the coral reefs condition. Prior the LIT was placed, manta-tow was assigned to determine the location for the study sites. LIT was applied vertically from deep water, in where there was lack of coral reefs, up to the water surface. Three sites was appointed for this study, two sites (no. 1 and no. 2) were in the sites where the lava run to water and the other one (no. 3) was the out away site from Anak Krakatau. The result indicated there were 18 coral species found within 9 coral life forms in every water depths. The condition of life coral in three different sites of study as followed: 33,06%, 33,21% and 17,12%.

Keyword: Corals, Anak Krakatau, *Line Intercept Transect*

ABSTRAK

Ekosistem terumbu karang memiliki faktor pembatas secara alami serta faktor akibat ulah manusia. Aktivitas Gunung Anak Krakatau berupa abu vulkanik, lelehan lava panas, dan guncangan dasar laut memberikan dampak terhadap terumbu karang di perairan Gunung Anak Krakatau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi terkini terumbu karang berdasarkan persentase tutupannya serta untuk mengetahui stratifikasi vertikal kehidupan terumbu karang yang terbentuk di perairan Gunung Anak Krakatau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember hingga Februari 2014. Metode yang digunakan adalah *Manta Tow* sebagai survey pendahuluan dan metode *Line Intercept Transect* (LIT) dalam pelaksanaan metode LIT dilakukan secara vertikal. pengambilan data dilakukan di tiga titik berbeda, dua titik berhadapan dengan bekas aliran lava dan titik ketiga posisinya agak menjauh dari aliran lava Gunung Anak Krakatau. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ditemukan 9 bentuk kategori terumbu karang hidup yang terdiri dari 18 spesies berbeda pada tiap kedalaman serta di dapatkan tutupan terumbu karang di titik 1, 2, dan 3 adalah 33,06%, 33,21%, dan 17,12%.

Kata Kunci : Karang, Anak Krakatau, *Line Intercept Transect*

PENDAHULUAN

Terumbu karang merupakan ekosistem pantai yang khas di perairan tropis dan tersebar luas di perairan Indonesia. Secara biologi terumbu karang adalah simbiosis mutualisme antara hewan karang dengan algae, dalam hal ini berupa zooxantel, dan menghasilkan endapan kalsium karbonat [1]. Hewan karang menyediakan media dan nutrisi sedangkan algae menyediakan nutrisi bagi karang melalui proses fotosintesis.

Keberadaan terumbu karang sangat berguna bagi ekosistem sekitarnya, tidak saja sebagai naungan untuk berbagai organisme perairan laut/pesisir namun juga sebagai sumber energi. Hal ini didukung oleh produktivitas primernya yang tinggi mencapai 3000-5000 Gc/m²/tahun [2]. Dengan bentuk yang beragam dari koloni karang, terumbu karang memiliki fungsi secara biologis, ekonomis, serta sosiologis.

Kepulauan Krakatau terbentang pada koordinat 5^o52' – 5^o55' Lintang Selatan (LS) dan 105^o20' – 150^o30' Bujur Timur (BT), terdiri dari 4 pulau, yaitu Pulau Rakata, Pulau Panjang, Pulau Sertung, dan Pulau Anak Krakatau. Dari ke-empat pulau tersebut, Pulau Anak Krakatau merupakan pulau vulkanik yang setiap tahun menunjukkan aktivitas geologis, kegempaan dan semburan vulkanik. Pulau ini terakhir menunjukkan aktivitas geologi yang cukup besar yaitu pada tahun 2012 [3]. Setiap aktivitas vulkanik yang ditunjukkan selalu diikuti dengan aktivitas kegempaan.

Dengan adanya aktivitas geologis yang terjadi hampir setiap tahun, maka dimungkinkan di perairan di Pulau Anak Krakatau tidak ditemui terumbu karang. Aktivitas vulkaniknya yang dapat terjadi kapanpun diduga dapat dengan cepat mengubah kondisi terumbu karang yang dimiliki di perairan pulau ini. Inipun jika ada dijumpai komunitas terumbu karang. Keberadaan terumbu karang di Pulau Anak Krakatau sangat rentan, rentan terhadap semburan lahar dan abu panas yang masuk ke perairan laut. Kerentanan ini disebabkan meningkatkan suhu air hingga tingkat yang tidak dapat ditolerir karang akibat dari semburan lahar dan abu panas yang masuk ke perairan laut [4]. Namun demikian perlu kiranya dilakukan kajian tentang kondisi terumbu karang di Pulau Anak Krakatau ini.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pola distribusi vertikal dan kondisi terumbu karang terkini di perairan Gunung Anak Krakatau, mengingat aktivitas vulkaniknya yang terus menerus dan menunjukkan peningkatan setiap tahunnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari Bulan November 2013 - Februari 2014 di perairan Pulau Anak Krakatau dengan metode *Manta-tow* (sebagai survey pendahuluan) dan *Line Intercept Transect* (LIT) secara vertikal. Meteran (Roll meter) dibentangkan secara vertikal dari kedalaman terahir yang masih dijumpai terumbu karang hingga pada kedalaman terendah yang dijumpai terumbu karang pada titik yang telah ditentukan dengan GPS (*Global Position System*) (Gambar 1). Panjang tutupan dan keanekaragaman dicatat sesuai dengan pedoman yang telah baku dengan metode *life form* menurut Veron (2000). Penelitian ini menggunakan alat selam dasar dan SCUBA untuk membantu penelitian di dalam air.

Analisis Data dan Sajian Data

Data yang didapatkan selanjutnya dihitung tutupannya dengan rumus sebagai berikut:

$$PC = \frac{\sum ni}{n} \times 100\%$$

Keterangan :

PC = Persen tutupan

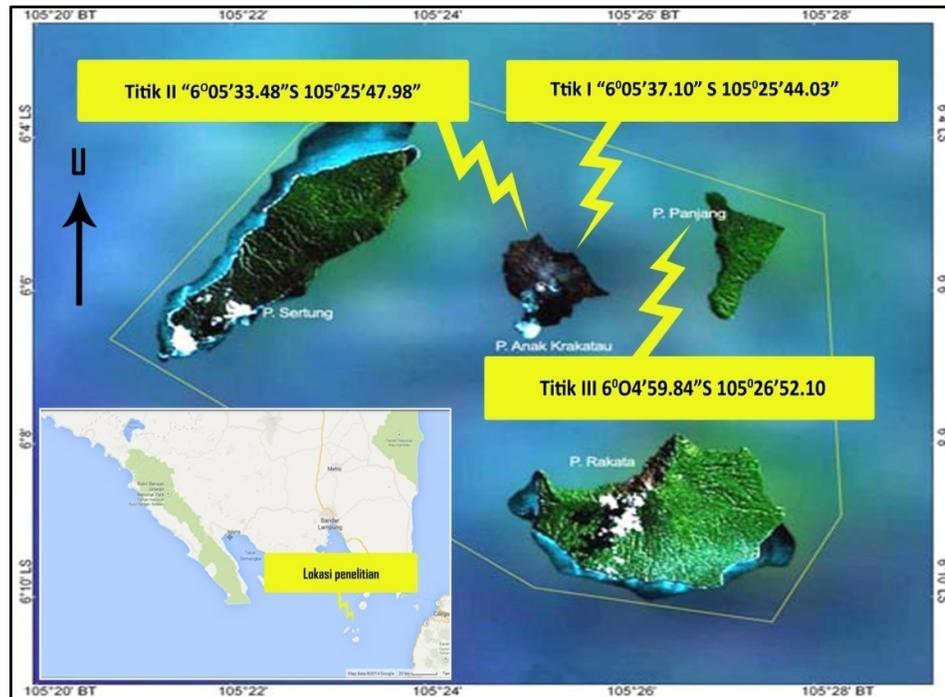
ni = Luas koloni karang

n = Luas unit terumbu karang

Tabel 1. Life form pada saat pencatatan dilakukan

No	Kategori	Singkatan
Biotik		
1	Karang mati	DC
2	Karang mati diselimuti alga Terlihat titik pertumbuhan	DCA
3	Karang bercabang	ACB
4	Karang menyebar	ACE
5	Karang submasif	ACS
6	Karang menjari	ACD
7	Karang meja Tidak terlihat titik tumbuh	ACT
8	Karang bercabang	CB
9	Karang menyebar	CE
10	Karang submasif	CS
11	Karang massif	CM
12	Karang daun/bunga	CF
13	Karang jamur	CMF
14	Karang api	CME
15	Karang biru Biota lain	CHL
16	Karang lunak	SC
17	Spongia	SP
18	Zoantid	ZO
19	Lain-lain Ganggang	OT
20	Kumpulan alga	AA
21	Alga karang	CA
22	Halimeda	HA
23	Alga besar	MA
24	Turf alga	TA
Abiotik		
25	Pasir	S
26	Serpihan karang	R
27	Lempung	SI
28	Air	WA
29	Batu	RCK

Data selanjutnya disajikan secara deskriptif.



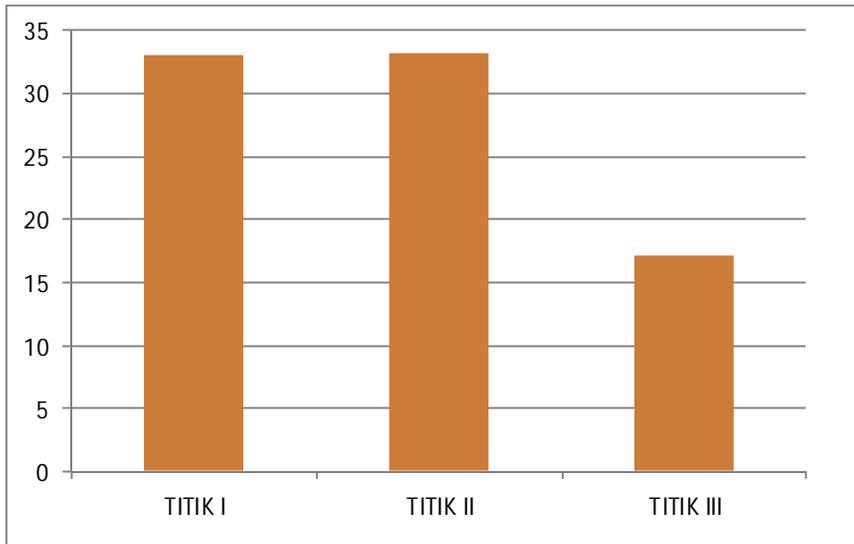
Gambar 1. Posisi pengambilan sampel di perairan Pulau Anak Krakatau

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan yang dilakukan di tiga titik didapatkan persentase karang hidup di titik I sebesar 33,06%, titik II 33,21%, dan pada titik III sebesar 17,21%. Kondisi sedang apabila persentase karang hidup berkisar antara 25% sampai dengan 50% [5]. Karang hidup dapat menjadi indikator suatu kondisi terumbu karang di perairan. Perbandingan terumbu karang hidup di tiga titik akan ditampilkan pada Gambar 2 berikut,

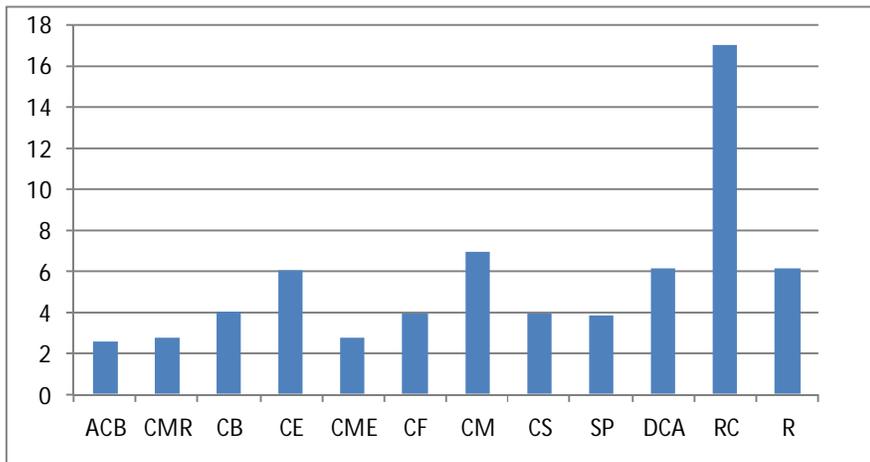
Titik II memiliki persentase yang paling besar dibandingkan titik lain dengan persentase 33,21% dan termasuk dalam kategori sedang. Pada titik ini didominasi oleh kategori batu karang (RC) sebesar 64,69% dan sisanya berupa lingkungan dan biota lain. Keadaan ini hampir sama pada titik I dengan persentase karang hidup sebesar 33,06%. Sebaliknya, pada titik I ditemui patahan karang (*rubbles*) sebesar 6,13%. Tingginya patahan karang ini mengindikasikan adanya tingkat kerusakan. Kerusakan ini diduga dapat terjadi karena aktivitas geologis berupa kegempaan (tektonik) ataupun aktivitas manusia, misal penangkapan ikan yang kurang ramah ataupun penggerukan pasir ilegal yang pernah terjadi sebelumnya (sekitar tahun 2010 – 2011). Selanjutnya pada titik III. Kondisi titik III dijumpai berupa pasir dengan persentase karang hidup yang didapat sebesar 17,12% dan termasuk dalam kategori rusak.

Komunitas terumbu karang berdasarkan kategori bentuk hidup. Pada titik I pengambilan data ditemui 8 kategori bentuk hidup terumbu karang yaitu CB, ACB, CS,



CME, CMR, CF, CM, dan CE. Persentase masing-masing kategori bentuk hidup tersebut ditampilkan pada Gambar 3.

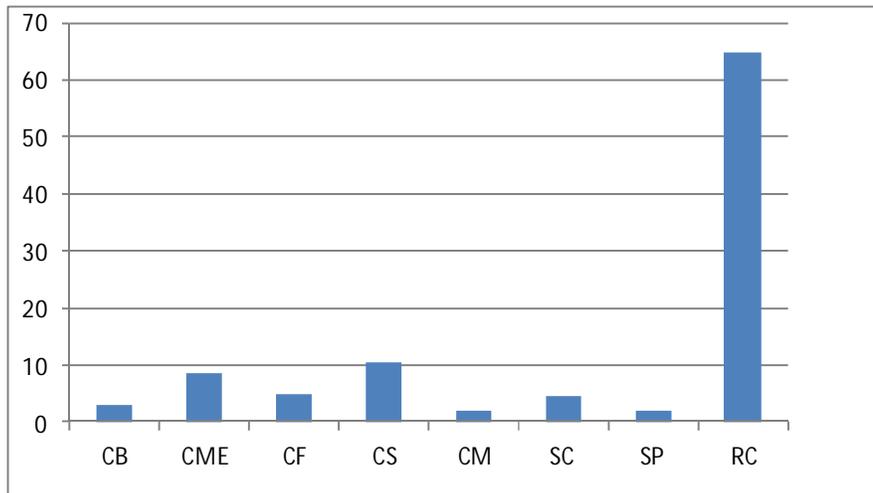
Gambar 2. Perbandingan karang hidup di tiga titik pengamatan di perairan Pulau Anak Krakatau



Gambar 3. Persentase karang hidup di titik I di perairan Pulau Anak Krakatau

Kategori karang keras (Hard Coral) mendominasi pada titik ini dengan kategori bentuk hidup Coral Masive (CM) sebesar 6,97% yaitu dari spesies *Porites lutea*. Sedangkan persentase terkecil dimiliki oleh Acropora Branching (ACB) sebesar 2,6%. Stratifikasi vertikal yang terbentuk pada titik I ini menunjukkan dominansi spesies pada berbagai kedalaman. Pada kedalaman 4 – 7 m kategori Acropora Branching mendominasi pada kedalaman ini, sedangkan kategori Coral Masive dan Rubble (patahan karang) mendominasi pada kedalaman 8 – 15 m, Selanjutnya pada kedalaman 16 – 22 m didominasi oleh kategori Rock (batu karang).

Selanjutnya pada titik II ditemukan 6 bentuk hidup terumbu karang yang terdiri dari CB, CME, CF, CS, CM, dan SC. Masing-masing persentase bentuk hidup ditampilkan pada Gambar 4 berikut.



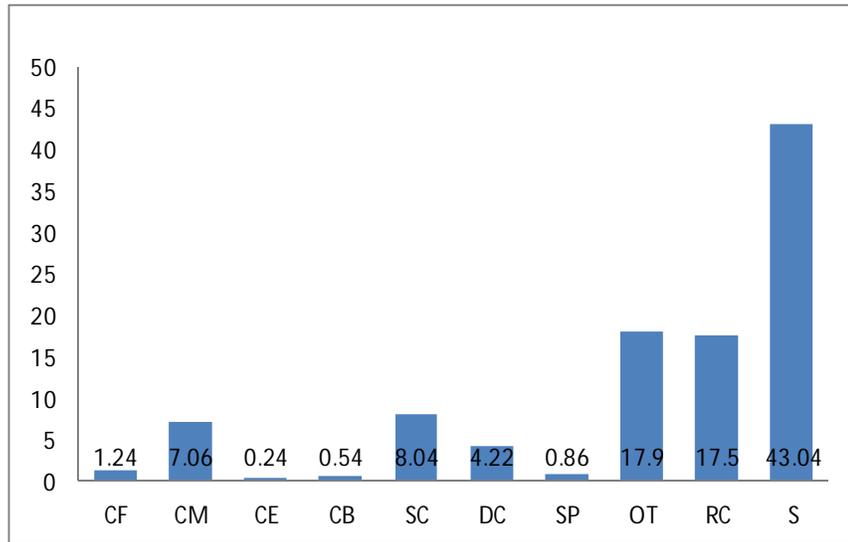
Gambar 4. Persentase karang hidup di titik II di perairan Pulau Anak Krakatau

Persentase batu karang (RC) mencapai lebih dari 60%. Mengingat bahwa terumbu karang membutuhkan substrat yang keras, padat, dan tidak ditumbuhi oleh algae, keadaan ini sangat mendukung pertumbuhan terumbu karang di titik ini [6]. Persentase yang besar pada titik ini menunjukkan aktivitas vulkanik yang pernah terjadi sebelumnya. Lelehan lava yang masuk ke perairan meningkatkan suhu air laut serta melebihi batas toleransi terumbu karang terhadap suhu dan berujung kematian masal terumbu karang [7]. Hal ini menyebabkan kondisi terumbu karang berubah secara cepat. Kategori Coral Submasive (CS) memiliki persentase karang hidup tertinggi sebesar 10,37% dengan spesies *Pocillopora meandrina*. Sebaliknya, Coral Masive (CM) pada titik ini mempunyai persentase terkecil sebesar 1,96% dengan spesies *Porites lutea*.

Pada kedalaman 4 – 6 m kategori Coral Milepora dan Coral Submasive mendominasi pada kedalaman ini, selanjutnya pada kedalaman 7 – 10 m didominasi oleh Coral Milepora dan Coral Submasive seperti pada kedalaman sebelumnya, Coral Masive dan Coral Submasive mendominasi pada kedalaman 11 – 15 m. Bentuk masive merupakan adaptasi terhadap pergerakan arus yang kuat.

Titik III merupakan titik dengan persentase karang hidup terkecil dibandingkan dengan dua titik lainnya (Gambar 5). Hal ini berhubungan dengan keadaan titik ini yang didominasi oleh pasir sebesar 43,04%. Pada titik III ini didapatkan 5 bentuk karang hidup yang terdiri dari CF, CM, CE, CB, dan SC. Persentase masing-masing bentuk hidup karang ditampilkan pada Gambar 5 berikut.

Titik ini terletak di bagian barat dekat dengan Pulau Panjang (lihat Gambar 1). Topografi perairannya landai dan berpasir, sehingga tidak ada stratifikasi vertikal yang terbentuk pada titik ini. Soft coral seperti *Sinularia sp*, *Lobophytum sp*, *Lobophylla sp* mendominasi titik ini, yaitu dengan nilai sebesar 8,04%. Jenis karang keras yang mempunyai persentase tertinggi yaitu Coral Masive dengan spesies *Favilopora sp* dan *Porites lobata*. Karang menjalar atau Coral Encrusting memiliki persentase terendah sebesar 0,24% dengan spesies *Goniastrea sp*.

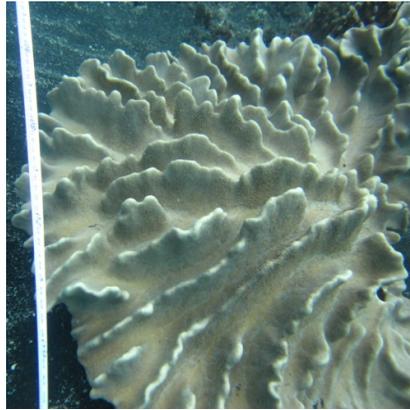
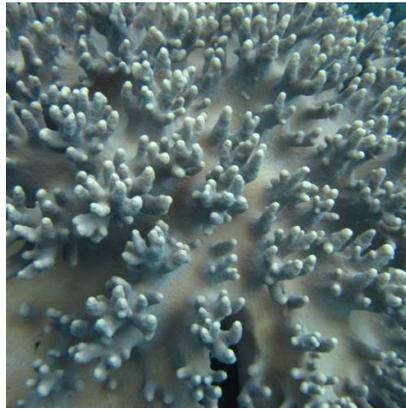


Gambar 4. Persentase Karang hidup di titik III Gunung Anak Krakatau.

Berbagai bentuk terumbu karang yang ditemukan dalam penelitian ini akan ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 6 berikut.

Tabel 2. Berbagai karang yang dijumpai di ketiga titik pengamatan di perairan Pulau Anak Krakatau

No	Spesies Karang	Titik Pengamatan
1	<i>Porites lutea</i>	I, II
2	<i>Seriatopora hystrix</i>	I, II
3	<i>Goniastrea</i> sp	I, III
4	<i>Pachyseries</i> sp	I
5	<i>Fungia</i> sp	I, II
6	<i>Pocillopora meandrina</i>	I, II
7	<i>Pocillopora verucosa</i>	I, II, III
8	<i>Milepora tenella</i>	I, II
9	<i>Montipora</i> sp	II
10	<i>Sinularia</i> sp	II, III
11	<i>Platygyra</i> sp	II
12	<i>Gorgonea</i> sp	III
13	<i>Favites</i> sp	II
14	<i>Porites rus</i>	II
15	<i>Tubiflora</i> sp	III
16	<i>Lobophyla</i> sp	III
17	<i>Lobophytum</i> sp	III
18	<i>Acabaria</i> sp	III

(a) *Lobophytum sp*(b) *Sinularia sp*(c). *Porites lobata*(d) *Seriatopora hystrix*

Gambar 6. Beberapa jenis karang hidup yang dijumpai di titik penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan beberapa kesimpulan yaitu :

- 1) Titik I dan II memiliki persentase tutupan terumbu karang sebesar 33,06% dan 33,21% termasuk dalam kategori sedang. Titik III tergolong kategori rusak dengan persentase sebesar 17,12%.
- 2) Pada titik I kategori *Acropora Branching* mendominasi pada kedalaman 3 m – 7 m, kategori *Coral Masive* dan *Ruble* (patahan karang) mendominasi di kedalaman 8 m – 15 m, serta pada kedalaman 16 m – 22 m didominasi oleh *Rock* (batuan).
- 3) Pada titik II kategori *Coral Milepora* dan *Coral Submasive* mendominasi pada kedalaman 4 m – 6 m. Untuk kedalaman 7 m – 10 m didominasi oleh kategori *Coral Milepora* dan *Coral Submasive* serta pada kedalaman 11 m – 15 m didominasi oleh *Coral Masive* dan *Coral Submasive*.

PUSTAKA

- [1] Nybaken, J.W. 1992. Biologi laut. Pendekatan Ekologis. Gramedia. Jakarta. Penerjemah Eidman dkk.
- [2] Nontji.A. 1993.*Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan : Jakarta.
- [3] BKSDA. 2012. *Laporan Kegiatan Jangka Panjang*. Lampung.
- [4] BKSDA. 2010. *Laporan Kegiatan Jangka Panjang*. Lampung.
- [5] Menurut Dahl (1981), kondisi sedang apabila persentase karang hidup berkisar antara 25% sampai dengan 50%.
- [6] Aldila, A. 2011. *Inventarisasi dan kondisi terumbu karang di Pulau Rimau Balak, Kandang Balak, dan Prajurit Kec Bakauheni, Lampung Selatan*. Skripsi. Lampung: Unila.
- [7] Timotius. 2003. *Karakteristik terumbu karang*. Yayasan terumbu karang Indonesia.

CADANGAN KARBON DI HUTAN TROPIK ULU GADUT, PADANG, SUMATERA BARAT

CARBON STOCKS IN TROPICAL FOREST ULU GADUT, PADANG, WEST SUMATRA

Erizal Mukhtar, Adi Bejo, Delfina Saswita, Syamsuardi dan Chairul

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang 25163.
email : erizal@fmipa.unand.ac.id

ABSTRACT

The study about carbon stock in tropical forest Ulu Gadut, West Sumatra have been carried out from October 2012 until April 2013 in a permanent Pinang-Pinang plot (primary forest, 1.0 ha) and Gajabuih plot (secondary forest, 0.9 ha). Tree biomass was measured by using the non-destructive sampling method. All trees in these plots with stem diameter at breast height (dbh) \geq 8 cm were measured. Tree compositions at primary forest were found 46 families, 155 species and 852 individuals. In other hand, in secondary forest tree compositions were found 29 families, 70 species and 900 individuals. In primary forest, tree biomass, carbon stock and carbon sequestration were found as 483.07 ton/ha, 241.45 ton C/ha and 885.85 ton CO₂/ha. In other hand in secondary forest, tree biomass, carbon stock and carbon sequestration were found as 71.61 ton/ha, 35.8 ton C/ha and 131.4 ton CO₂/ha. Comparison carbon stock from two locations and several main tree species were also discussed in this paper.

Keyword: Biomass, Carbon stock, Primary forest, secondary forest, Ulu Gadut

ABSTRAK

Penelitian tentang cadangan karbon di hutan tropik Ulu Gadut, Padang, Sumatera Barat telah dilakukan dari Oktober 2012 sampai April 2013 di plot permanen Pinang-Pinang (hutan primer, 1 ha) dan Gajabuih (hutan sekunder, 0,9 ha). Pengukuran biomasa pohon dilakukan dengan metode tanpa perusakan. Seluruh pohon dalam plot tersebut dengan dbh \geq 8 cm di ukur diameternya. Komposisi pohon dari hutan primer ditemukan sebanyak 46 famili, 155 species dan 852 individu. Sebaliknya di hutan sekunder komposisinya ditemukan sebanyak 29 famili, 70 species dan 900 individu. Di hutan primer ditemukan biomassa, cadangan karbon dan serapan karbon sebesar 483,07 ton/ha, 241,54 ton C/ha dan 885,85 ton CO₂/ha. Sebaliknya di hutan sekunder ditemukan biomassa, cadangan karbon dan serapan karbon sebanyak 71,61 ton/ha, 35.8 ton C/ha dan serapan karbon 131,4 ton CO₂/ha. Perbandingan cadangan karbon dari kedua lokasi dan beberapa jenis utama juga dibahas dalam makalah ini.

Kata Kunci: Biomasa, Cadangan karbon, Hutan primer, Hutan sekunder, Ulu Gadut

PENDAHULUAN

Karbon dioksida (CO₂) merupakan salah satu jenis gas rumah kaca yang terlibat dalam peningkatan suhu permukaan bumi yang berdampak pada perubahan iklim global. Kontribusi karbon dioksida terhadap peningkatan suhu permukaan bumi mencapai 96% (1). Konsentrasi karbon dioksida di atmosfer mengalami peningkatan setiap tahun dengan laju emisi mencapai 4,67% per tahun (2).

Emisi karbon dioksida (CO₂) melalui aktivitas antropogenik menyebabkan terganggunya keseimbangan energi antara atmosfer dan permukaan bumi yang memicu terjadinya pemanasan global dan perubahan iklim. Karbon dioksida berkontribusi sebesar 64% terhadap terjadinya pemanasan global dan perubahan iklim (1). Perubahan iklim diprediksi akan menyebabkan peningkatan frekuensi kejadian cuaca ekstrim, meningkatnya frekuensi banjir dan kekeringan serta akan meningkatkan kepunahan spesies [2-4]. Konsentrasi karbon dioksida di atmosfer telah mengalami peningkatan setiap tahunnya. Peningkatan konsentrasi CO₂ di atmosfer disebabkan oleh pembakaran bahan bakar fosil dalam skala besar seperti minyak, batu bara dan gas alam serta aktivitas perusakan hutan [5].

Hutan tropis sebagai bagian dari ekosistem daratan menjadi salah satu komponen penting dalam pengaturan siklus karbon global [6]. Ekosistem hutan menyerap CO₂ dari atmosfer melalui fotosintesis dan mengembalikan sejumlah besar CO₂ tersebut ke atmosfer melalui respirasi autotrop dan heterotrop. Setiap tipe ekosistem hutan memiliki perbedaan jumlah karbon yang tersimpan di dalamnya.

Penelitian di hutan Ulu Gadut telah dilakukan sejak tahun 1981 seperti meneliti bagaimana hubungan antara karakter tanah dihubungkan dengan keanekaragaman yang tinggi di dalam area yang sama (7, 8), variasi vertikal dan horisontal dari kesuburan tanah (9, 10), kualitas kesuburan tanah antara plot Pinang-pinang dan plot Gajabuih di Ulu Gadut (8). Selanjutnya mekanisme yang terjadi di hutan primer Ulu Gadut terhadap proses regenerasi dari *Calophyllum soulattri* (11, 12), *Swintonia schwenkii* (13), dispersal dan survival dari beberapa anakan pohon yang dominant di hutan Bukit Pinang-pinang (14, 14). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cadangan karbon di hutan Ulu Gadut khususnya baik pada kawasan hutan primer maupun hutan sekunder.

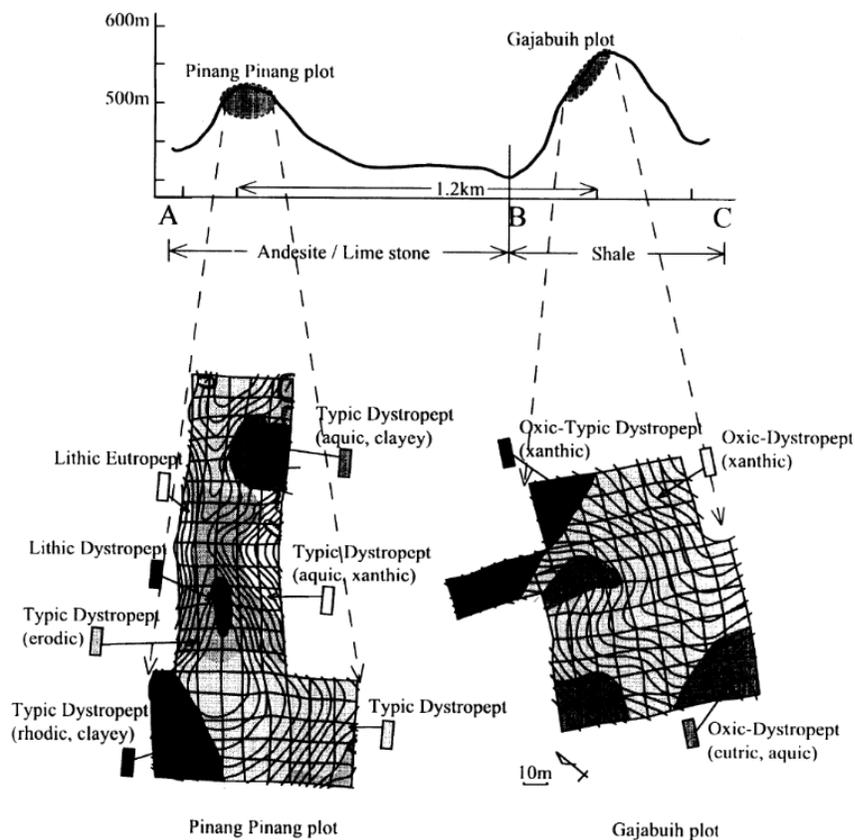
METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari Juni - Oktober 2012 di plot Pinang-Pinang (hutan primer, 1 ha) dan Januari - April 2013 di Plot Gajabuih (hutan sekunder, 0,9 ha), Sumatera Barat. Lokasi penelitian terletak ± 15 km sebelah Timur Kota Padang. Plot Pinang-pinang dan Gajabuih dibuat pada tahun 1981 namun pada tahun 1998 di plot Gajabuih telah terjadi pembalakan liar sehingga semua pohonnya habis ditebang. Dengan demikian kawasan plot Gajabuih dapat dikategorikan sebagai hutan sekunder muda (15 tahun setelah pembalakan liar). Peta lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Peta lokasi penelitian



Gambar 2. Plot Pinang-pinang (kiri bawah) dan Plot Gajabuih (kanan bawah). (Sumber : Wakatsuki *et al.*, 1986; 16)

Metode Penelitian

Pengukuran biomasa pohon dilakukan dengan metode sampling tanpa pemanenan (*non destructive method*) (Hairiah dan Subekti, 2007). Pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode sensus pada plot permanen baik di hutan Pinang-Pinang maupun di hutan Gajabuih.

Pengumpulan Data

Seluruh pohon dengan diameter batang ≥ 8 cm yang berada di dalam kedua plot permanen tersebut diukur diameternya. Semua data vegetasi dihitung besarnya biomassa pohon dengan menggunakan persamaan allometrik yang didasarkan pada diameter batang. Kemudian dihitung besarnya karbon tersimpan di hutan Pinang-Pinang.

Analisis Data

a. Biomassa Pohon

Biomassa pohon hidup diestimasi dengan menggunakan persamaan allometrik Ketterings sebagai berikut (17):

$$(AGB)_{est} = 0,11 \times \rho \times D^{2,62}$$

Keterangan :

$(AGB)_{est}$ = Above Ground Biomass = Biomassa pohon (Kg)

D = Diameter pohon (cm)

ρ = Berat jenis pohon (g/cm^3)

b. Cadangan Karbon

Cadangan karbon di hutan Pinang-Pinang diestimasi dengan persamaan berikut (18):

$$C = 0,5 \times (AGB)_{est}$$

Keterangan :

C = Cadangan karbon (ton)

$(AGB)_{est}$ = Biomassa pohon (ton)

c. Serapan Karbon

Serapan karbon pada setiap pohon dihitung dengan persamaan berikut (19):

$$\text{Serapan karbon} = 3,67 \times \text{Cadangan karbon}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi pohon

Komposisi pohon pada kedua lokasi menunjukkan perbedaannya. Vegetasi di plot Pinang-Pinang terdiri atas 46 famili, 155 spesies dan 852 individu sedangkan di plot Gajabuih terdiri dari 29 famili, 70 jenis dan 900 individu (Tabel 1). Perbandingan diatas menunjukkan bahwa meskipun jumlah individu tidak begitu berbeda namun bila ditinjau dari segi jumlah species dan famili sangat berbeda.

Tabel 1. Komposisi pohon di lokasi penelitian

Variabel	Lokasi Penelitian	
	Gajabuih	Pinang-pinang
Jumlah individu	900	852
Jumlah spesies	70	155
Jumlah famili	29	46

Bila dibandingkan dengan lokasi lainnya jumlah spesies di lokasi penelitian ini lebih tinggi dari pada di hutan Lindung Lubuk Kakap Ketapang, Kalbar (48 spesies) (20)

dan di hutan primer Siberut, Sumbar (139 spesies) (21). Selanjutnya jumlah spesies di lokasi penelitian ini tergolong tinggi jika dibandingkan dengan hutan sekunder lainnya. Di kawasan Lae Ordi Dairi ditemukan sebanyak 32 jenis pohon dengan 163 individu/ha (22), di hutan Taman Nasional G. Lauser sebanyak 159 jenis pohon, 35 famili dan 437 individu/ha (23) dan di hutan bekas tebangan illegal, TN Gunung Leuser, dengan jumlah 687 individu/ha (24).

Biomasa, Cadangan Karbon dan Serapan Karbon

Biomasa pohon, cadangan karbon dan serapan karbon di lokasi penelitian menunjukkan perbedaan. Uraian yang lebih detil dapat di lihat pada Tabel 2. Baik biomasa, cadangan karbon maupun serapan karbon di plot pinang-pinang lebih tinggi dari pada di plot Gajabuih. Perbandingan diatas menunjukkan bahwa peranan hutan sekunder cukup tinggi dalam menyimpan cadangan karbonnya meskipun umurnya masih relatif singkat atau 16 tahun setelah pembalakan liar terjadi.

Tabel 2. Biomasa, Cadangan karbon dan Serapan Karbon

Variabel	Gajabuih	Pinang-pinang
Biomasa (ton/ha)	71,61	483,07
Cadangan karbon (ton C/ha)	35,8	241,54
Serapan Karbon (CO ₂ /ha)	131,4	885,85

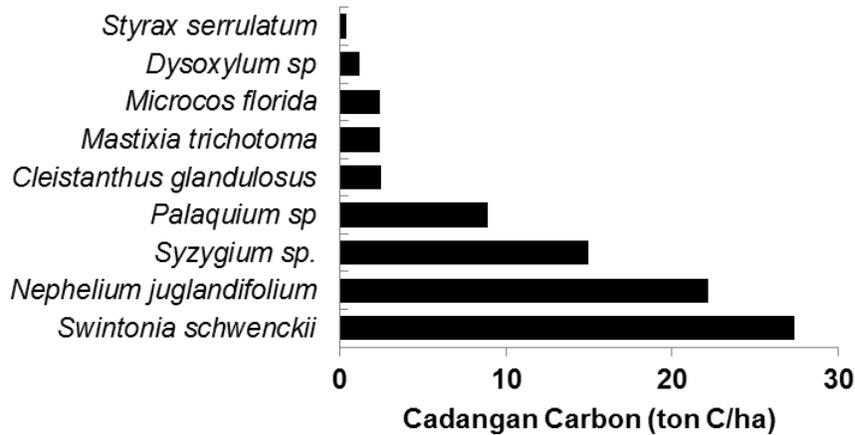
Cadangan karbon pada berbagai tipe hutan menunjukkan variasinya yaitu berkisar antara 7,5 - 264,7 ton C/ha (16). Selanjutnya cadangan karbon pada hutan alam Dipterocarpaceae berkisar antara 204-267 ton C/ha (25), hutan lindung sekitar 211,86 ton C/ha (26), hutan sekunder bekas kebakaran hutan berkisar 7,5-55,3 ton C/ha (27) dan hutan sekunder bekas tebangan berkisar 171-249 ton C/ha (25).

Cadangan Karbon per spesies

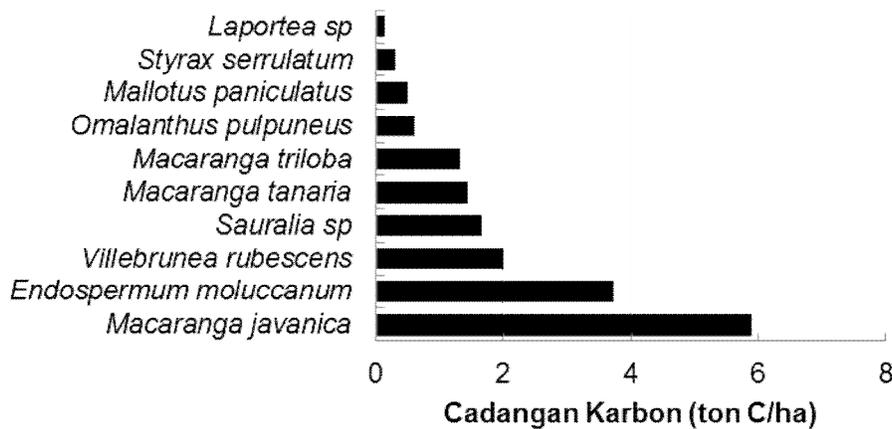
Setiap spesies memiliki kemampuan berbeda dalam menyerap dan menyimpan karbon. *Swintonia schwenkii* merupakan spesies yang memiliki biomasa dan cadangan karbon tertinggi di plot Pinang-pinang (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa secara ekologis spesies tersebut memiliki peranan yang besar dalam mengatur keseimbangan siklus karbon di hutan Pinang-Pinang. *Swintonia schwenkii* menyumbang sekitar 12,84% dari total cadangan karbon di hutan Pinang-Pinang. Sementara itu, *Syzygium* sp, *Lithocarpus mejeri* dan *Quercus argentata* masing-masing berkontribusi sebesar 10,39%, 7,03%, 5,99% dan 4,41% dari total cadangan karbon di lokasi penelitian. *Swintonia schwenkii* memiliki ukuran pohon yang relatif besar dan merupakan salah satu spesies *emergent tree* di lokasi penelitian (13). Selain itu *Swintonia schwenkii* juga mempunyai anakan pohon kedua terbanyak di plot permanen Pinang-Pinang (15).

Cadangan karbon tertinggi di plot Gajabuih ditemukan pada jenis *Macaranga javanica* sekitar 5,90 ton/ha (Gambar 4). Populasi dari *Macaranga javanica* memiliki ukuran pohon yang relatif besar dan merupakan spesies dominan kedua. Spesies lain yang memerankan peranan penting dalam penyerap CO₂ di atmosfer adalah

Endospermum moluccanum (3,74 ton/ha), *Villebrunea rubescens* (2,01 ton/ha), *Sauralia* sp (1.67 ton/ha), dan *Macaranga tanaria* (1.44 ton/ha). Dari perbandingan diatas dapat disimpulkan bahwa cadangan karbon di hutan Plot Gajabuih masih didominasi oleh pohon pionir dari family Euphobiceae namun demikian beberapa jenis klimak sudah menampakkan diri seperti jenis *Styrax serrulatum* .



Gambar 3. Cadangan carbon berdasarkan jenis di plot Pinang-pinang



Gambar 4. Cadangan carbon berdasarkan jenis di plot Gajabuih

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai bahwa komposisi pohon dari hutan primer ditemukan sebanyak 46 famili, 155 species dan 852 individu. Sebaliknya di hutan sekunder komposisinya ditemukan sebanyak 29 famili, 70 species dan 900 individu. Di hutan primer ditemukan biomassa, cadangan karbon dan serapan karbon sebesar 483,07 ton/ha, 241,54 ton C/ha dan 885,85 ton CO₂/ha, sebaliknya di hutan sekunder ditemukan sebanyak 71,61 ton/ha, 35,8 ton C/ha dan 131,4 ton CO₂/ha. *Swintonia schwenckii* memegang peranan penting dalam menyimpan cadangan karbon di hutan primer sedangkan di hutan sekunder jenis *Macaranga javanica* memiliki cadangan karbon yang paling tinggi.

PUSTAKA

- [1] Mimuroto Y, Koizumi K. 2003. *Global Warming Abatement and Coal Supply and Demand*. Institute of Energy Economics Japan (IEEJ)
 - [2] Ngaira JKW. 2007. Impact of climate change on agriculture in Africa by 2030. *Scientific Research and Essays*. 2 (7): 238-243
 - [3] Lusiana B, Noordwijk MV, Rahayu S. 2005. *Carbon Stocks in Nunukan, East Kalimantan: A Spatial Monitoring and Modelling Approach*. Report from the carbon monitoring team of the Forest Resources Management for Carbon Sequestration (FORMACS) project. WAC – ICRAF. Bogor, Indonesia
 - [4] Yanez-López R, I Torres-Pacheco, Guevara-Gonzales RG, Hernández-Zu MI, Quijano-Carranza JA, Rico-Garcia E. 2012. The effect of climate change on plant diseases. *African Journal of Biotechnology*. 11 (10): 2417-2428
 - [5] Malhi Y, Grace J. 2000. Tropical forests and atmospheric carbon dioxide. *Trends Ecol. Evol* 15 (8): 332–337
 - [6] Kindermann GE, McCallum I, Fritz S, Obersteiner M. 2008. A global forest growing stock, biomass and carbon map based on FAO statistics. *Silva Fennica* 42(3): 387–396
 - [7] Kubota D, Masunaga T, Hermansyah, Hotta M, Shinmura Y, Wakatsuki T. 1998. Soil environment and tree species diversity in tropical rain forest, West Sumatra, Indonesia. In: A. Schulte & Ruhiyat, D., (eds.), *Soils of Tropical Forest Ecosystems: Characteristics, Ecology and Management*, 159-167. Springer, Berlin.
 - [8] Kubota D, Masunaga T, Hermansah, Hotta M, Wakatsuki T. 2000. Soil Quality Characterization in Relation to Tree Species Diversity in Tropical Rain Forest, West Sumatra, Indonesia I. Comparison of two 1-ha plots. *Tropics* 9(2): 133-145
 - [9] Masunaga T, Kubota D, Hotta M, Wakatsuki T. 1997. Nutritional characteristics of mineral elements in tree species of tropical rain forest. *Soil Sci. Plant Nutr.* 44(3): 315-329.
 - [10] Masunaga T, Kubota D, William U, Hotta M, Shinmura Y, Wakatsuki T. 1998. Spatial distribution pattern of es in relation to soil edaphic status in tropical rain forest in West Sumatra, Indonesia: II. Distribution of accumulating trees. *Tropics* 7(3/4):209-222.
 - [11] Mukhtar E, Suzuki E, Kohyama T, Rahman M. 1992. Regeneration process of a climax species *Calophyllum soulattri* in tropical rain forest of West Sumatra. *Tropics* 2: 1-12
 - [12] Mukhtar E, Yoneda T, Zalfiati, Rahman M. 1998. Regeneration process of a climax species *Calophyllum soulattri* in tropical rain forest of West Sumatra. *Tropics* 7: 183-194
 - [13] Suzuki E, Kohyama T. 1991. Spatial distributions of wind-dispersed fruits and trees of *Swintonia schwenkii* (Anacardiaceae) in a tropical forest of West Sumatra. *Tropics* 1: 131-142
-

- [14] Mukhtar E, Koike F. 2007. Dispersal and survival of juveniles of several tree species in a tropical rain forest of West Sumatra. *Tropics* 16 (3): 205-214
- [15] Mukhtar E, Koike F. 2009. Juvenile height growth rate of seven major tree species in a tropical rain forest of West Sumatra. *Tropics* 18: 1-6
- [16] Wakatsuki T, Saidi A, Rasydin A. 1986. Soils in toposequenc of the G. Gadut tropical rain forest, West Sumatra. *Southeast Asian Studies* 24(3): 243-262.
- [17] Hairiah K, Rahayu S. 2007. *Pengukuran "Karbon Tersimpan" Di Berbagai Macam Penggunaan Lahan*. World Agroforestry Centre. Bogor
- [18] Murdiyarso D, Rosalina U, Hairiah K, Muslihat L, Suryadiputra INN, Jaya A. 2004. *Petunjuk Lapangan Pendugaan Cadangan Karbon pada Lahan Gambut*. Proyek CCFPI, WI-IP dan Wildlife Habitat Canada, Bogor
- [19] Brown S, Sathaye J, Cannell M, Kauppi. P 1996. Mitigation of carbon emission to the atmosphere by Forest Management, *Commonwealth forestry review* 75 : 80-91
- [20] Budiharta S. 2010 Floristic composition at biodiversity protection area in Lubuk Kakap, District of Ketapang, West Kalimantan. *Biodiversitas*. 11 (3): 151-156
- [21] Hadi S, Thomas Z, Matthias W, Hodges JK. 2009. Tree diversity and forest structure in northern Siberut, Mentawai Islands, Indonesia. *Tropical Ecology*. 50 (2): 315-327
- [22] Silalahi SH. 1995. *Keanekaragaman hayati dari bio imperialism eke bio demokrasi*. Terjemahan Sri Nuryati. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- [23] Susilo F. 2004. *Keanekaragaman jenis pohon di kawasan hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat*. Skripsi Sarjana Biologi (tidak dipublikasi) Medan : FMIPA-USU
- [24] Samsuudin I. 2006. Dinamika luas bidang dasar pada hutan bekas tebangan di Kalimantan Timur. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 3 (3), 271-280
- [25] Darmawan IWS, Siregar CA. 2008. Karbon Tanah dan Pendugaan Karbon Tegakan *Avicennia marina* (Forsk.) Viergh. di Ciasem, Purwakarta. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* V (4): 317-328. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor.
- [26] Noor'an RF. 2007. Potensi biomasa karbon di Hutan Lindung Sungai Wain, Kalimantan Timur. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Besar Penelitian Dipterokarpa. Samarinda.
- [27] Hiratsuka M, Toma T, Diana R, Hardriyanto D, Morikawa Y. 2006. Biomass recovery of naturally Regenerated Vegetation after the 1998 Forest fire in east Kalimantan, Indonesia. *JARQ* 40 (3), 277 – 282 (2006).

AMELIORASI KONDISI TANAH BEKAS TAMBANG BAUKSIT DENGAN BAHAN ORGANIK PUPUK KANDANG DAN PENGARUHNYA TERHADAP RESPON FOTOSINTESIS, KANDUNGAN KLOORIFIL DAN KONDUKTANSI STOMATA TANAMAN KARET

AMELIORATION OF EX-BAUXITE MINING SOILS CONDITIONS BY ORGANIC MANURE APPLICATION AND THEIR EFFECTS ON PHOTOSYNTHESIS, CHLOROPHYLL CONTENT AND STOMATAL CONDUCTANCE OF RUBBERTREE

Sri Wulandari dan L.N.Firdaus

Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP Universitas Riau Pekanbaru
E-mail: wulandari_sri67@yahoo.co.id (HP.081378131800)¹

ABSTRACT

Mining of bauxite resources results in extensive soil and affecting vegetation leading to destruction of vast amounts of land. Conservation and reclamation efforts to ensure continued beneficial use of land resources are essential. The response of *Hevea brasiliensis* PB 260 clone by application of chicken and cow manure to ex-bauxite mining soils has been in order to understand the effect of organic manure on photosynthesis, stomatal conductance and chlorophyll content. Three ratios of organic animal manure: ex-mining bauxite soil (w/w) has been applied i.e control (ex-mining bauxite soil only), (1:1), and (1:2) were arranged according to Complete Randomize Design. Collected data were analyzed by using one-way ANOVA and Duncan Multiple Range Test (DMRT) at level of 5%. The results showed application of organic chicken and cow manures increased the rate of photosynthesis, stomatal conductance and chlorophyll content. An overall, it can be concluded that the mixture of organic manure with 1:2 was more efficient in term of increasing the rate of photosynthesis, stomatal conductance and chlorophyll content of *Hevea brasiliensis* clones PB 260. These physiological responses should be considered for reclaiming the ex-bauxite mining soils.

Keywords: Chlorophyll content, ex-bauxite mining soil, organic manure, photosynthesis, , stomatal conductance

ABSTRAK

Kegiatan penambangan bauksit selalu menyisakan hamparan lahan kritis yang luas dan kurang produktif. Upaya konservasi dan reklamasi untuk menjamin pemanfaatan lahan yang berkelanjutan merupakan hal yang esensial. Respon Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* L. klon PB 260) terhadap aplikasi bahan organik pupuk kandang telah diteliti dengan tujuan untuk memahami pengaruh respon fotosintesis, kandungan klorofil dan konduktansi stomata. Disain percobaan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 aras perlakuan yaitu rasio campuran bahan organik kotoran ayam dan sapi dengan tanah bekas tambang bauksit (kontrol, 1:1, 1:2) masing-masing perlakuan dengan 4 kali ulangan. Parameter yang diamati yaitu laju fotosintesis, kandungan klorofil dan konduktansi stomata. Data hasil penelitian dianalisis dengan ANAVA dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan pemberian bahan organik kotoran ayam dan sapi dapat meningkatkan laju fotosintesis, kandungan klorofil dan konduktansi stomata. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa campuran bahan organik kotoran sapi dengan tanah bekas tambang 1:2 lebih efisien meningkatkan laju fotosintesis, kandungan klorofil dan konduktansi stomata *Hevea brasiliensis* klon PB 260. Respon fisiologis tersebut sebaiknya dijadikan bahan pertimbangan dalam upaya reklamasi lahan pada tanah bekas tambang bauksit.

Kata kunci: Fotosintesis, kandungan klorofil, konduktansi stomata, pupuk kandang, tanah bekas tambang bauksit

PENDAHULUAN

Kegiatan pembangunan seringkali menyebabkan kerusakan lingkungan yang dapat menurunkan kualitas lingkungan. Pertambangan bauksit merupakan kegiatan ekstraksi sumberdaya alam yang memberikan dampak terhadap lingkungan. Menurut Rahmawaty [1] dan Anonim [2] dampak penting yang timbul pada penambangan adalah terbukanya lahan akibat pembukaan lahan (*land clearing*) yang dapat menimbulkan dampak lanjutan seperti berkurangnya daya tahan lahan terhadap erosi, perubahan karakteristik infiltrasi yang akan mempengaruhi pengisian (*recharge*) air tanah, perubahan sifat tanah, terjadi *bulk density* (pemadatan), kekurangan unsur hara penting, berubah bentuk bentang alam, dan tata guna lahan. Menurut Sembiring [3] kandungan nitrogen jauh di bawah syarat kadar nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman. Selain memiliki derajat keasaman tanah yang tinggi, Kapasitas Tukar Kation tanah tergolong rendah karena minimnya ketersediaan unsur K, Mg, Ca, Na, H⁺, Al⁺⁺⁺ dan bahan organik tanah.

Upaya pemulihan produktivitas lahan bekas tambang dilakukan dengan berbagai cara seperti penambahan amelioran. Amelioran adalah bahan untuk memperbaiki sifat fisik dan kimia tanah. Amelioran dapat berupa bahan organik atau anorganik. Hasil kajian menunjukkan bahwa aplikasi bahan organik untuk reklamasi lahan bekas penambangan mineral memberikan hasil yang baik [4-6]. Bahan organik merupakan amelioran terbaik untuk memperbaiki sifat tanah, meningkatkan kemampuan tanah untuk mengikat/menahan air, sebagai perekat dalam pembentukan dan pematapan agregat tanah [2].

Karet (*Hevea brasiliensis*) merupakan salah satu tanaman perkebunan yang memberikan kontribusi penting dari keseluruhan ekspor Indonesia. Sekitar 95% dari perkebunan karet negara di Indonesia sebagai negara penghasil karet nomor dua terbesar di dunia adalah berada Sumatera dan Kalimantan. Nazaruddin dan Paimin [7] menyatakan tanaman karet merupakan salah satu tanaman unggulan daerah yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan paling toleran terhadap tanah yang kesuburannya rendah atau marginal. Menurut Tjahyana dan Ferry [8], tanaman karet merupakan salah satu alternatif utama untuk mengatasi tidak produktifnya lahan tandus bekas tambang. Tanaman karet mempunyai adaptasi yang tinggi pada lahan-lahan marginal, selain itu tanaman karet mampu memperbaiki sifat tanah melalui pengkayaan hara dengan karakter fisiologi pengguguran daunnya.

Peningkatan kandungan hara tanah yang dilakukan dengan menambahkan bahan organik seperti pupuk kandang diharapkan dapat memperbaiki proses metabolisme sehingga pertumbuhan tanaman dapat berlangsung. Respon yang dapat diteliti adalah laju fotosintesis, kandungan klorofil dan konduktansi stomata sebagai suatu respon fisiologis yang sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Alam Pendidikan Biologi FKIP Universitas Riau Pekanbaru. Bahan tanah bekas tambang bauksit diambil dari lahan bekas penambangan bauksit di Pulau Singkep. Bibit tanaman karet klon PB 260 diperoleh dari Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Medan. Pupuk kandang kotoran ayam dan sapi diperoleh dari UPT Dinas Peternakan PTPN V, Sei Galuh, Kampar.

Alat yang digunakan adalah cangkul, terpal, sekop, polybag dengan ukuran 10 cm x 20 cm yang dapat menampung tanah sebanyak 5 kg, saringan *stainless steel* dengan ukuran mata saring 4 mm, neraca elektronik, *Portable Photosynthesis System Model 6400 XT* untuk mengukur laju fotosintesis [9], mortar, aseton 80%, kertas saring Whatman No.2, cuvet, spektrofotometer untuk mengukur kandungan klorofil [10]. Derajat Keasaman pH (H₂O dan KCl) tanah diukur menurut metode Blackmore *et al.* [11].

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari tiga perlakuan rasio bahan organik pupuk kandang ayam atau sapi dengan tanah bekas tambang bauksit yaitu : 0:0, 1:1, dan 1:2. Masing-masing perlakuan dengan empat ulangan. Parameter yang diamati : Parameter Kimia-Fisika Tanah (pH tanah, laju fotosintesis, kadar klorofil dan konduktansi stomata. Data hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Sifat Kimia dan Fisika Tanah Bekas Tambang Bauksit Akibat aplikasi bahan organik kotoran Ayam dan Sapi.

Perubahan sifat kimia dan fisika pada tanah bekas tambang bauksit sangat terlihat jelas setelah penambahan amelioran bahan organik kotoran ayam atau sapi. Hasil pengukuran pH berkisar antara 6,1-7,1 untuk semua rasio, dan antara 5,0-5,1 untuk kontrol, hal ini menunjukkan bahwa nilai pH tersebut masih berada dalam kisaran batas toleransi untuk pertumbuhan tanaman karet klon PB 260 (Tabel 1). Data memperlihatkan bahwa kandungan bahan organik tanah setelah perlakuan dengan kotoran Ayam dan Sapi menunjukkan peningkatan yang cukup berarti terhadap kontrol, terutama peningkatan senyawa karbon (C), Nitrogen (N) dan Rasio C/N dan Kapasitas Tukar Kation (KTK). Peningkatan tersebut tercermin dari perubahan susunan kation Kalium (K), Magnesium (Mg), Kalsium (Ca), dan Natrium (Na). tidak ada peningkatan sama sekali kandungan aluminium dapat ditukar sehingga tanaman karet dapat terhindar dari keracunan aluminium. Kelarutan Al akan meningkat pada kisaran pH 4-5,4.

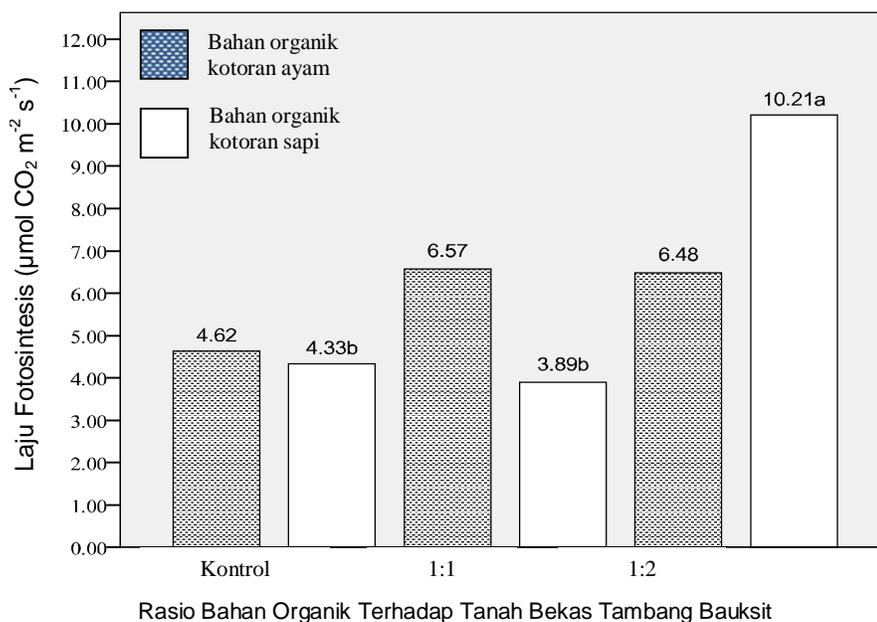
3.2. Laju fotosintesis tanaman karet klon Pb 260 pada variasi campuran bahan organik kotoran ayam atau sapi dengan tanah bekas tambang bauksit

Laju fotosintesis tanaman karet dengan perlakuan bahan organik kotoran ayam atau sapi pada tanah bekas tambang bauksit terlihat pada Gambar 1. Laju fotosintesis tanaman karet dengan perlakuan bahan organik kotoran sapi lebih tinggi dibandingkan kotoran ayam dengan rasio 1:2 yaitu sebesar 10,21 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Menurut Cechin dan Fumis [12] laju fotosintesis ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu kandungan klorofil, ketersediaan air dan CO₂, serta intensitas cahaya .

Rendahnya laju fotosintesis pada kontrol disebabkan rendahnya kadar nitrogen yang mempengaruhi pembentukan klorofil. Aplikasi bahan organik kotoran sapi atau ayam meningkatkan persediaan nitrogen dalam tanah, namun jumlah nitrogen yang paling menyebabkan peningkatan laju fotosintesis adalah pada rasio kotoran sapi dan tanah bekas tambang bauksit dengan rasio 1:2,

Tabel 1 Pengaruh penambahan amelioran bahan organik kotoran ayam dan sapi terhadap perubahan sifat kimia-fisik tanah bekas tambang bauksit

No.	Parameter	Kontrol	BO Kotoran Ayam		BO Kotoran Sapi	
			1:1	1:2	1:1	1:2
1	pH					
	- H ₂ O	5,1	6,0	7,1	6,3	6,5
	- KCl	5,0	6,7	6,8	6,1	6,2
2	Bahan Organik (%)					
	- C	0,43	6,40	6,19	7,08	0,82
	- N	0,04	0,43	0,41	0,45	0,39
	- C/N	11	15	15	16	15
3.	KTK (C mole/kg)	4,7	25,31	23,96	22,65	15,93
4	Susunan Kation (Cmole/kg)					
	- K	0,12	1,77	2,02	0,76	0,52
	- Mg	0,38	2,93	3,06	4,50	3,39
	- Ca	2,00	20,40	18,36	21,18	12,87
	- Na	0,07	0,55	0,73	0,19	0,52
5	Al-dd (Cmole/kg)	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
6	P-Olsen (ppm)	9	110	90	344	160
7	Tekstur (%)					
	- Pasir	46	36	36	36	41
	- Debu	39	31	32	34	36
	- Liat	15	33	32	27	23

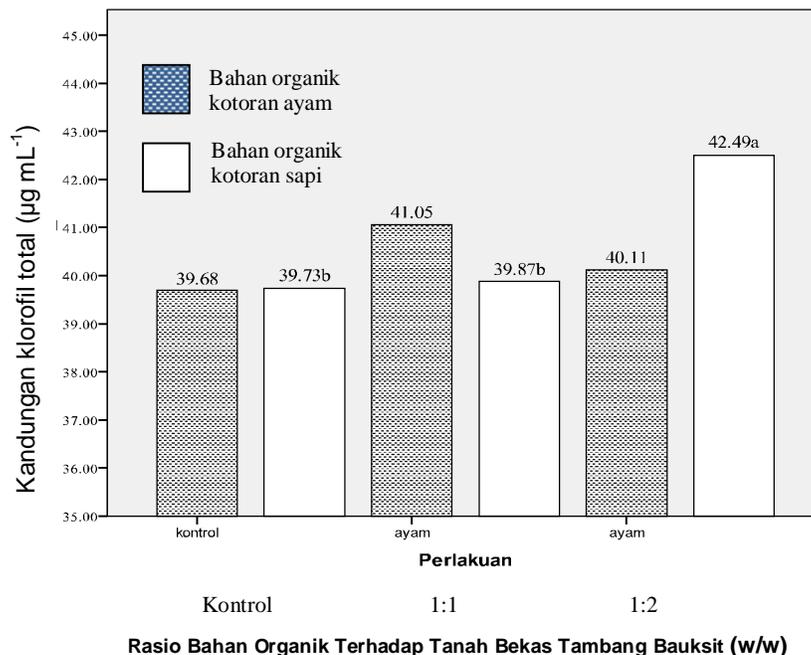


Gambar 1 Pengaruh rasio bahan organik kotoran ayam atau sapi dan tanah bekas tambang bauksit terhadap laju fotosintesis tanaman karet klon PB 260. (Angka diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, sedangkan angka tanpa notasi huruf tidak berpengaruh nyata pada taraf 5 %).

3.3. Kandungan klorofil total tanaman karet klon PB 260 pada variasi campuran bahan organik kotoran ayam atau sapi dengan tanah bekas tambang bauksit

Kandungan klorofil total tanaman karet dengan perlakuan bahan organik kotoran ayam atau sapi pada tanah bekas tambang bauksit terlihat pada Gambar 2. Kandungan klorofil total pada perlakuan bahan organik kotoran ayam tidak berpengaruh nyata, paling tinggi pada rasio 1:1 yaitu $41,06 \mu\text{g mL}^{-1}$, dan paling rendah pada kontrol sebesar $39,69 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pada perlakuan bahan organik kotoran sapi, kandungan klorofil total berpengaruh nyata, paling tinggi pada rasio 1:2, yaitu $42,50 \mu\text{g mL}^{-1}$, dan paling rendah pada kontrol, yaitu $39,74 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Kandungan klorofil total pada perlakuan bahan organik ayam tidak berbeda nyata untuk semua perlakuan. Hal ini disebabkan karena ketersediaan nitrogen pada kontrol tidak berbeda nyata dengan rasio 1:1 dan 1:2, sehingga kandungan klorofil total tidak mengalami beda nyata. Sedangkan pada perlakuan bahan organik sapi, kandungan klorofil total paling tinggi terdapat pada rasio 1:2 dan berbeda nyata dengan kontrol dan 1:1. Tingginya kandungan klorofil total pada rasio 1:2 dibandingkan dengan 1:1 disebabkan oleh kadar nitrogen yang berlebih pada rasio 1:1, sehingga kadar nitrogen berada pada kadar maksimal dan menyebabkan penurunan biosintesis klorofil. Sedangkan pada kontrol, kadar nitrogen berada pada kadar yang minimal, sehingga biosintesis klorofil juga rendah.

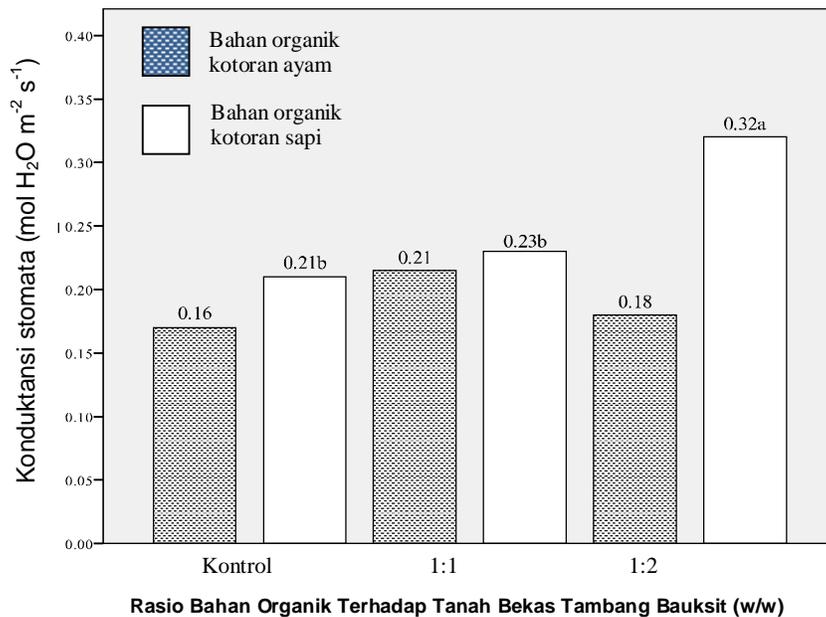


Gambar 2 Pengaruh rasio bahan organik kotoran ayam atau sapi dan tanah bekas tambang bauksit terhadap kandungan klorofil total tanaman karet klon PB 260. (Angka diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, sedangkan angka tanpa notasi huruf tidak berpengaruh nyata pada taraf 5 %).

Selain dipengaruhi oleh unsur N, biosintesis klorofil juga dipengaruhi oleh ketersediaan Mg. Namun menurut Zhao, *et al.* [13], dalam biosintesis klorofil, yang menjadi faktor pembatas adalah kehadiran nitrogen, karena selain berperan dalam pembentukan kerangka cincin tetrapirrol klorofil, nitrogen juga diperlukan sebagai unsur penyusun protein yang berfungsi sebagai enzim dalam berbagai proses metabolisme, termasuk biosintesis klorofil. Oleh karena itu, jika kandungan Mg mencukupi namun kandungan N berada di bawah keadaan normal, maka laju biosintesis klorofil akan berlangsung lambat.

3.4. Konduktansi Stomata tanaman karet klon PB 260 pada variasi campuran bahan organik kotoran ayam atau sapi dengan tanah bekas tambang bauksit

Konduktansi stomata paling besar pada perlakuan bahan organik kotoran ayam adalah rasio 1:1, yaitu $0,215 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, dan paling rendah pada kontrol, yaitu $0,17 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Namun, tidak terdapat perbedaan yang nyata pada ketiga perlakuan bahan organik kotoran ayam dengan uji DMRT. Sedangkan pada perlakuan bahan organik



Gambar 3 Pengaruh rasio bahan organik kotoran ayam atau sapi dan tanah bekas tambang bauksit terhadap konduktansi tanaman karet klon PB 260. (Angka diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%, sedangkan angka tanpa notasi huruf tidak berpengaruh nyata pada taraf 5 %).

kotoran sapi, konduktansi stomata paling besar terdapat pada rasio 1:2 yaitu $0,32 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, dan paling rendah pada kontrol 1:1 yaitu $0,21 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ Untuk rasio 1:1 dan kontrol tidak terdapat perbedaan nyata dengan uji DMRT (Gambar 3)

Konduktansi stomata menunjukkan daya hantar stomata terhadap proses transpirasi air yang dinyatakan sebagai jumlah mol air yang keluar atau CO₂ yang masuk melalui stomata dalam satu meter kuadrat per detik [14]. Pada penelitian ini, konduktansi

stomata diukur berdasarkan jumlah air yang keluar melalui stomata. Menurut Ozyigit dan Akinci [15], nilai konduktansi stomata berbanding lurus dengan diameter bukaan stomata, semakin besar nilai konduktansi stomata maka diameter bukaan stomata juga semakin besar. Besarnya diameter bukaan stomata menyebabkan proses transpirasi berlangsung lebih cepat. Namun, bukaan yang besar juga meningkatkan laju difusi CO₂ dari

Besarnya nilai konduktansi stomata pada bahan organik perlakuan bahan organik kotoran sapi dengan rasio 1:2 dibandingkan perlakuan lainnya disebabkan kadar nitrogen yang tersedia pada tanah berada pada kisaran kurva optimal pertumbuhan. Nitrogen merupakan salah satu unsur yang digunakan dalam sintesis protein. Konduktansi stomata dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti kadar CO₂, cahaya, stres air, suhu dan angin. Tekanan parsial CO₂ yang rendah di dalam daun akan menyebabkan pH sel menjadi tinggi. Pada pH yang tinggi (6-7) akan merangsang penguraian pati menjadi gula sehingga stomata terbuka. Bukaan stomata yang besar menyebabkan laju difusi CO₂ ke dalam rongga daun meningkat dan laju fotosintesis akan meningkat [16]. Dari hasil pengukuran laju fotosintesis dan konduktansi stomata pada perlakuan bahan organik kotoran sapi atau ayam, dapat dilihat bahwa laju fotosintesis dan konduktansi stomata memiliki hubungan yang berbanding lurus.

KESIMPULAN

Rasio bahan organik kotoran sapi dan tanah bekas tambang bauksit 1:2 memberikan respon yang terbaik terhadap laju fotosintesis :10,21 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$, kandungan klorofil total : 42,50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dan konduktansi stomata : 0,32 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. tanaman karet. klon PB 260.

Amelioran bahan organik kotoran sapi dapat digunakan untuk reklamasi lahan bekas tambang bauksit karena dapat mengembalikan salah satu fungsi lahan sebagai tempat hidup tumbuhan. Tanaman karet dapat dikembangkan untuk ditanam pada tanah bauksit karena menunjukkan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhannya.

PUSTAKA

- [1] Rahmawaty. 2002. *Restorasi Lahan Bekas Tambang berdasarkan Kaidah Ekologi*, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan.
 - [2] Anonim. 2006. *Lahan Bekas Tambang*. Warta dan Pengembangan Pertanian. Vo. 28 No.2. Balai Penelitian Tanah Bogor.
 - [3] Sembiring. 2008. Sifat Kimia dan Fisik Tanah Pada Areal Bekas Tambang Bauksit di Pulau Bintan Riau. *Info Hutan* V (2) :123-134.
 - [4] Kielhorn KH, Keplin B and Huttel RF. (1999). Ground beetle communities on reclaimed mine spoils: Effects of organic matter application and revegetation. *Plant and Soil* 213: 117-125.
 - [5] Delschen T. (1999). Impacts of long-term application of organic fertilizers on soils quality parameters in reclaimed loess soils of the Rhineland lignite mining area. *Plant and Soil* 213: 43-54.
-

- [6] Wilden R, Schaaf W. and Huttli RF. 1999. Soils solution chemistry of two reclamation sites in the Lusation lignite mining district as influenced by organic matter application. *Plant and Soils* 213 : 231-340
- [7] Nazaruddin dan FB, Paimin. 2005. *Karet*. PT Penebar Swadaya. Jakarta
- [8] Tjahyana BE, dan Ferry Y. 2011. Revegetasi Lahan Bekas Tambang Timah dengan Tanaman Karet (*hevea brasiliensis*). *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Perkebunan* 2011.
- [9] Mokhatar SJ, Daud NW, Zamri, NM. 2011. Evaluation of different water regimes on *Hevea brasiliensis* grown on haplic ferrarsol soil at nursery stage. *International Journal of Applied Science and Technology* 1 (3), 28-33.
- [10] Junk NV. 1971. *Plant Photosynthetic Production: Manual Of Methods*. Publisher The Hague, Netherland.
- [11] Blakemore LC., Searle PL, Daly BK. 1987. *Methods For Chemical Analysis of Soils*. NZ Soil Bureau Report 80.
- [12] Cechin I, Fumis TF. 2004. Effect of nitrogen supply on growth and photosynthesis of sunflower plants grown in the greenhouse. *Plant Science* 166 :1379-1385.
- [13] Zhao D, Reddy KR, Kakani VG, Reddy VR. 2005. Nitrogen deficiency effects on plants growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. *Europ. J. Agronomy* 22 :391-403.
- [14] Bauer H, Ache P, Lautner S, Fromm J, Hartung W. 2012. The tomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. *Curr. Biol.* 23(1): 53-57.
- [15] Ozyigit ., Akinci S. 2009. Effects of some stress factors (aluminum, cadmium and drought) on stomata of Roman Nettle (*Urtica pilulifera* L.). *Not. Bot. Hort. Agrobot.* 37(1):108-115.
- [16] Devakumar AS, Shayee MSS, Udayakumar M, Prasad TG. 1998. Effect of elevated CO₂ concentration on seedling growth rate and photosynthesis in *Hevea brasiliensis*. *J. Biosci* 23 (1),: 33-36.

**KEANEKARAGAMAN JENIS COLEOPTERA COPROFAGUS PADA FESES
GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BINAAN DI PUSAT
LATIHAN GAJAH, SEBLAT KABUPATEN BENGKULU UTARA**

**THE DIVERSITY OF COPROPHAGE COLEOPTERAN SPECIES ON CAPTIVE
SUMATRAN ELEPHANT FECALS IN SEBLAT ELEPHANT CONSERVATION CENTER,
NORTH BENGKULU REGENCY**

Rizwar¹, F. Hildayati¹ dan Helmiyetti¹

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Bengkulu, Bengkulu
Jalan WR Supratman Kel.Kandang Limun, Bengkulu 38371 Telp.0736-20919
Email: rizwar.sikumbang@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study is to find out the diversity of coprophage Coleopteran species on captive Sumatran elephant fecals in Seblat Elephant Conservation Center, North Bengkulu Regency. Some samples of Sumatran elephant fecal had been taken by using "purposive sampling" method from September to October 2013 on soil surface around the base camp backyard and secondary forest in Seblat Elephant Conservation Center. Ten fecal samples with age average of one week were collected at each location and placed on "Barlese Tulgreen Funnels" in order to extract coprophage coleoptera from elephant fecals. Identification of coprophage Coleoptera was done at the Biology Laboratory, Bengkulu University. Results showed there were 508 individuals of coprophage Coleoptera collected consisting of 6 families, 18 genera and 25 species. Most Coleoptera were Scarabaeidae (11 species) while family Carabaeidae just has one species. Species of coleopteran coprophage having the highest density was *Aphodius rufus* (D= 9,3 individuals/fecal) and relative density (DR=54,7 %). The highest index of coleopteran species diversity was found in elephant fecals on forest soil surface (2.486) with Equitability Index (0,118) and Dominance Index = 0,117. Elephant fecals in locations around base camp backyard have more prevalent in an individual of coprophage coleoptera.

Key words: *Species diversity, Sumatran elephant fecals, Coleoptera Coprophages, Barlese Tulgreen Funnels, PLG Seblat*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman jenis kumbang coprofagus pada feses gajah Sumatera binaan di Pusat Latihan Gajah Seblat, Kabupaten Bengkulu Utara. Pengambilan sampel feses gajah binaan dilakukan dari bulan September hingga Oktober 2013 pada areal di sekitar "basecamp" dan di sekitar hutan lindung Pusat Latihan Gajah. Dari masing-masing areal, bolus feses gajah berumur satu minggu dikoleksi dengan cara *purposive sampling* sebanyak 10 sampel. Kumbang Coleoptera coprofagus di dalam feses gajah diekstrak dan dikoleksi dengan menggunakan metode "pit fall trap". Identifikasi Coleoptera dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. Coleoptera coprofagus yang terkoleksi selama penelitian sebanyak 508 individu yang terdiri dari 6 famili, 18 genera dan 25 spesies. Jumlah jenis kumbang terbanyak yang ditemukan adalah dari family Scarabaeidae (11 spesies), sedangkan yang terendah adalah dari famili Carabidae (1 spesies). Kepadatan jenis yang tertinggi adalah *Aphodius rufus*, yaitu (K) 9,3 individu/bolus dengan kepadatan relatif (KR) 54,7 %. Indeks keanekaragaman Coleoptera coprofagus yang tertinggi berada di lokasi sekitar hutan (2,486) dengan Indeks Dominansi 0,33. Famili, Genera, Spesies dan individu Coleoptera coprofagus lebih banyak ditemukan di lokasi sekitar basecamp.

Kata kunci: Keanekaragaman jenis, feses, coleoptera coprofagus, purposive sampling, Pusat Latihan Gajah Seblat

PENDAHULUAN

Kawasan hutan di Pusat Latihan Gajah (PLG) Seblat merupakan hutan lindung alami yang tersisa sebagai habitat gajah dan terisolasi dari kawasan hutan Taman Nasional Kerinci Seblat. Kawasan hutan di area ini memiliki luas \pm 2.192 hektar yang menampung 40-50 individu gajah liar (1) dan 20 ekor gajah binaan Kawasan hutan PLG telah ditingkatkan statusnya menjadi kawasan Taman Wisata Alam (TWA) dengan fungsi Suaka Margasatwa dan sebagai Pusat Konservasi Gajah Sumatera (2).

Populasi gajah binaan di PLG Seblat merupakan kumpulan gajah liar yang telah dijinakkan dan dilatih menjadi hewan pekerja agar tidak menjadi hama bagi perusahaan perkebunan dan petani yang tinggal di sekitar kawasan PLG. Adapun fungsi gajah binaan di PLG Seblat adalah untuk membantu petugas Badan Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) dalam menghalau gajah liar yang masuk ke perkebunan warga atau digunakan untuk sarana hiburan.

Populasi gajah yang relatif padat dalam luas habitat hutan yang terbatas menyebabkan feses (kotoran) gajah relatif banyak dan tersebar di berbagai tempat di lahan PLG. Keberadaan feses gajah di permukaan tanah hutan PLG sangat penting bagi ekosistem tanah karena fungsinya secara langsung maupun tidak langsung dapat meningkatkan kesuburan tanah hutan setelah mengalami degradasi serangga tanah dan penguraian mikroorganisme tanah untuk menjadi zat hara. Bagi serangga tanah seperti coleoptera coprofagus, feses merupakan sumber pakan dan media untuk reproduksinya. Coleoptera Scarabaeidae merupakan komponen penting dalam ekosistem hutan (3). Beberapa Coleoptera Coprofagus yang sering mendegradasi feses ternak adalah famili Scarabaeidae, dan Geotrupidae (4).

Coleoptera coprofagus tersebar luas (ubiquitous) di berbagai ekosistem dengan spesies yang beragam dan memiliki peran penting secara ekologis. Selain berperan dalam degradasi kotoran mamalia (siklus hara), coleoptera coprofagus secara tidak langsung menyebarkan biji-biji tumbuhan yang terdapat dalam kotoran gajah. Struktur species dalam komunitas dan distribusi coleoptera coprofagus pada ekosistem tanah dipengaruhi oleh tingkat tutupan vegetasi, struktur fisik vegetasi dan ketersediaan pakan berupa fekal satwa liar (3) serta kondisi iklim mikro pada habitat hutan (5). Di Afrika, diketahui sekitar 2.000 spesies coleoptera yang hidup pada feses hewan, tetapi baru beberapa jenis saja yang telah diketahui biologinya sedangkan di Indonesia diduga terdapat lebih dari 1000 species Scarabaeidae (6).

Sejauh ini penelitian Coleoptera coprofagus banyak dipublikasikan dari hasil temuan pada kotoran ternak seperti sapi, kerbau dan kuda (7, 8, 9) sedangkan publikasi mengenai jenis coleoptera coprofagus pada feses gajah Sumatera belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman jenis kumbang Coprofagus pada fekal Gajah Sumatera binaan di kawasan PLG Seblat, Kabupaten Bengkulu Utara.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada September-November 2013 di kawasan PLG Seblat, Kabupaten Bengkulu Utara. Sejumlah sampel feses gajah binaan dikoleksi secara "Purposive Sampling" pada dua lokasi berbeda yaitu di lapangan rumput sekitar "Basecamp" BKSDA dan di hutan sekunder dimana gajah binaan dilepas untuk mencari tumbuhan pakan. Lapangan rumput di sekitar basecamp memiliki intensitas cahaya yang cukup sehingga didominasi oleh tumbuhan rumput (Poaceae) yang merupakan jenis-jenis tumbuhan pakan gajah. Pada lokasi ini, gajah-gajah binaan di lepaskan untuk merumput dan juga diberi pakan tambahan oleh pawang gajah berupa pelepah sawit, batang pisang dan tebu. Sedangkan lokasi penelitian di kawasan hutan sekunder PLG merupakan area penggembalaan gajah untuk mencari tumbuhan pakan hutan berupa kulit batang, daun muda, buah, umbut dan untuk tempat gajah beristirahat siang. Pada kawasan hutan sekunder, intensitas cahaya relatif rendah karena tertutup kanopi.

Sebanyak 10 sampel feses gajah (berat ± 500 gram) dengan umur 1 minggu (telah ditandai) pada tiap lokasi dikoleksi dan dimasukkan ke dalam kantung-kantung kain serta diberi label. Selanjutnya sampel-sampel feses yang diduga berisi coleoptera coprofagus diekstraksi selama 24 jam dengan alat "*Barlese Tulgreen Funnel*" yang telah dimodifikasi. Pengulangan proses koleksi 10 feses gajah pada tiap lokasi dan proses ekstraksi dilakukan di bulan berikutnya. Coleoptera coprofagus yang terekstraksi di masukkan ke dalam botol sampel dan diawetkan dengan alkohol 70%. Botol sampel diberi label yang berisi keterangan tempat, hari dan waktu dan ulangan. Kemudian sampel Coleoptera diidentifikasi di laboratorium Ekologi FMIPA Universitas Bengkulu dengan bantuan mikroskop stereo dan buku identifikasi (10, 11, 12) dan WCG Website of the Watford Coleoptera Group. Serangga coleoptera coprofagus yang terkoleksi dan teridentifikasi dianalisis untuk mengetahui Kepadatan dan Kepadatan Relatif (13), Indeks Keanekaragaman species dari *Shannon-Wiener*, Indeks Keseragaman dan Indeks Dominansi (14).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Coleoptera yang terkoleksi dari lapangan rumput "basecamp" dan hutan sekunder PLG Seblat sebanyak 508 individu yang terdiri dari 6 famili, 18 genus, 25 spesies. Enam Famili tersebut adalah Scarabaeidae, Staphylinidae, Hydrophilidae, Histeridae, Tenebrionidae, Carabaeidae (Tabel 1). Britton (15) mengemukakan Scarabaeidae merupakan coleoptera coprofagus sejati sedangkan Histeridae, Staphylinidae, Hydrophilidae dan Silphidae walaupun hidup pada feses tetapi tidak termasuk kelompok coleopteran coprofagus karena tidak mengonsumsi feses melainkan predator bagi Arthropoda yang hidup pada feses.

Penelitian Mawarsih (8) sebelumnya menemukan Coleoptera yang hidup pada feses sapi dan kuda hanya 5 famili yaitu Scarabaeidae, Carabaeidae, Chysomalidae, Colydiidae, Silphidae. Dengan demikian hanya 2 famili yang sama (Scarabaeidae dan Carabaedae) sedangkan lainnya berbeda. Perbedaan famili dan species coleoptera yang terdapat pada feses gajah dan feses sapi atau kuda mungkin ada hubungannya dengan perbedaan jenis tumbuhan yang dimakan, kerapatan serat dan kelembaban dari feses. Gajah banyak memakan kulit batang, ranting, buah, umbut selain daun sedangkan sapi dan kuda lebih menyukai tumbuhan rumput sebagai pakannya (1).

Tabel 1. Kepadatan (K) dan kepadatan relatif (KR) coleoptera pada feses gajah Sumatera binaan yang terletak di sekitar “base camp” dan hutan sekunder Pusat Latihan Gajah

No	Famili & Species	Base Camp			Hutan Sekunder		
		Σ	K	KR(%)	Σ	K	KR(%)
I	<u>Scarabaeidae</u>						
1	<i>Aphodius rufus</i>	186	9,3	54,7	33	1,7	19,6
2	<i>Aphodius granaries</i>	54	2,7	15,8	3	0,2	1,7
3	<i>Aphodius obliterates</i>	9	0,5	2,6	2	0,1	1,1
4	<i>Aphodius prodromus</i>	3	0,2	0,8	34	1,7	20,2
5	<i>Aphodius</i>	1	0,1	0,2	4	0,2	2,3
6	<i>haemorrhoidalis</i>	1	0,1	0,2	-	-	-
7	<i>Cetonia aurata</i>	-	-	-	3	0,2	1,7
8	<i>Liatangus militaris</i>	-	-	-	4	0,2	2,3
9	<i>Onthophagus taurus</i>	1	0,1	0,2	16	0,8	9,5
10	<i>Onthophagus sp1</i>	3	0,2	0,8	5	0,3	2,9
11	<i>Onthophagus sp2</i>	-	-	-	2	0,1	1,1
	<i>Onthophagus sp3</i>						
II	<u>Carabaeidae</u>						
1	<i>Clivina fossor</i>	-	-	-	1	0,1	0,5
III	<u>Hydrophilidae</u>						
1	<i>Cercyon impressus</i>	7	0,4	2	2	0,1	1,1
2	<i>Coleostoma orbiculare</i>	3	0,2	0,8	-	-	0
IV	<u>Histeridae</u>						
1	<i>Margarinotus brunneus</i>	2	0,1	0,5	1	0,1	0,5
V	<u>Staphylinidae</u>						
1	<i>Platystethus arenarius</i>	17	0,9	5	3	0,2	1,7
2	<i>Gabrius splendidulus</i>	8	0,4	2,3	4	0,2	2,3
3	<i>Tachinus rufipes</i>	6	0,3	1,7	5	0,3	2,9
4	<i>Lestave punctata</i>	8	0,4	2,3	12	0,6	7,1
5	<i>Atrecus affinis</i>	8	0,4	2,3	6	0,3	3,5
6	<i>Quedius maurorufus</i>	1	0,1	0,2	5	0,3	2,9
7	<i>Omalium rivulare</i>	17	0,9	5	22	1,1	13
VI	<u>Tenebrionidae</u>						
1	<i>Alphitobius sp</i>	3	0,2	0,8	-	-	-
2	<i>Tenebrio molitor</i>	1	0,1	0,2	-	-	-
3	<i>Eleates sp</i>	1	0,1	0,2	1	0,1	0,1

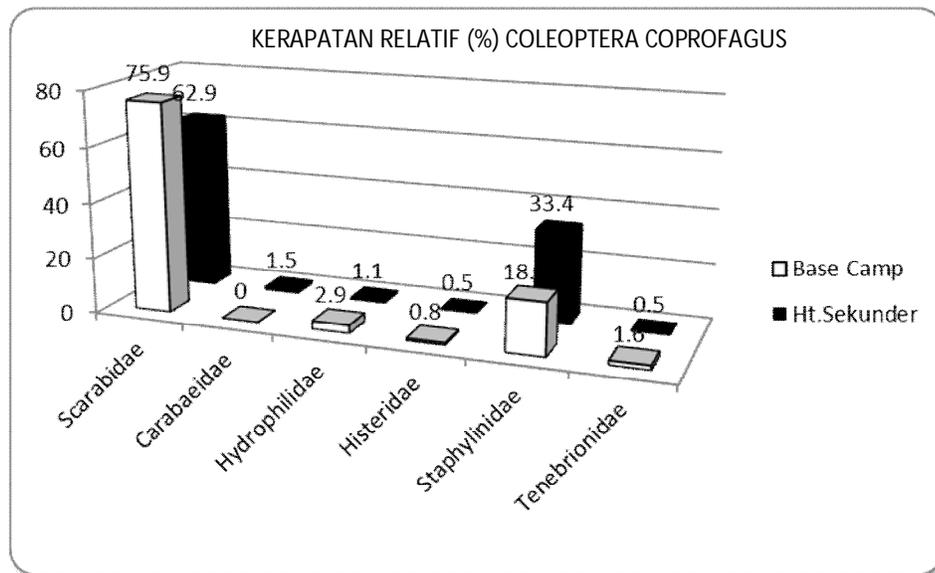
Scarabaeidae memiliki 11 spesies yaitu: *Aphodius rufus*, *A. granaries*, *A. obliterates*, *A. prodromus*, *Aphodius haemorrhoides*, *Onthophagus taurus*, *Onthophagus sp1*, *Onthophagus sp2*, *Onthophagus sp3*, *Cetonia aurata* dan *Liatangus militaris*. Carabaeidae hanya diwakili *Clivina fossor* sedangkan Staphylinidae terdapat 7 spesies yaitu *Platystethus arenarius*, *Gabrius splendidulus*, *Tachinus rufipes*, *Lestave punctata*, *Atrecus affinis*, *Quedius maurorufus*, *Omalium rivulare*. Hydrophilidae hanya 2 spesies yaitu : *Cercyon impressus*, *Coleostoma orbiculare* sedangkan Histeridae 1 species: *Margarinotus brunneus* dan Tenebrionidae terdiri dari 3 spesies yaitu *Alphitobius sp*, *Tenebrio molitor* dan *Eleates sp*.

Species pada Scarabaeidae lebih banyak dari famili lain karena Scarabaeidae lebih menyukai hidup di feses mamalia herbivore dan omnivor berukuran besar. Scarabaeidae memiliki bentuk tubuh cembung, bulat telur atau memanjang dengan tungkai bertarsi 5 ruas dan sungut 8-11 ruas. Tibia tungkai depan membesar dengan tepi luar bergerigi dan berlekuk. Bentuk kaki khas bertipe penggali (10). Selain Scarabaeidae,

juga terdapat Carabaeidae yang hanya ditemukan satu spesies. Famili ini umumnya merupakan coleoptera predator walaupun ada juga sebagai herbivor (16). Bentuk tubuh Carabaeidae berwarna hitam mengkilap, kepala dan mata selalu lebih sempit dari pronotum. Serangga ini mudah tertarik dengan aroma yang dikeluarkan dari feses gajah. Carabaeidae berlidung ketika siang hari dan aktif di malam hari.

Pada umumnya, serangga Coleoptera coprofagus di sekitar basecamp lebih banyak dalam individu daripada yang terdapat di hutan sekunder hal ini diduga ada kaitannya dengan preferensi jenis tumbuhan pakan gajah yang terdapat di sekitar base camp yang umumnya didominasi oleh rumput (Poaceae) sedangkan di lokasi hutan sekunder, tumbuhan pakan gajah lebih bervariasi dalam jenis dan berserat kasar (kulit kayu) yang di dominasi oleh tumbuhan tingkat tinggi. Coleoptera coprofagus diduga lebih menyukai feses yang berisi tumbuhan rumput karena berserat halus dan mudah dicerna. Kondisi iklim mikro seperti suhu dan kelembaban dapat pula menentukan komposisi Coleoptera Coprofagus yang hadir dalam feses (17). Serangga coprofagus berukuran tubuh besar lebih menyukai feses yang terletak di bawah vegetasi tumbuhan berkanopi rapat dibandingkan dengan di lokasi terbuka (6). Dalam penelitian ini Coleoptera Coprofagus berukuran tubuh besar lebih banyak ditemukan di lokasi hutan sekunder daripada di lokasi sekitar basecamp sebaliknya Coleoptera Coprofagus berukuran tubuh kecil lebih banyak ditemukan di lokasi base camp yang terbuka.

Kepadatan Coleoptera Coprofagus tertinggi pada penelitian ini yaitu famili Scarabaeidae baik di lokasi Base Camp maupun di hutan sekunder kemudian diikuti famili Staphylinidae (Gambar 1; Tabel 1). Pada Scarabaeidae, spesies *Aphodius rufus* menyusun kepadatan coleoptera tertinggi (9,3 bolus feses) dengan kepadatan relatif 54,7% di lokasi Base Camp, sedangkan famili Staphylinidae diisi oleh spesies *Lestave punctata*.



Gambar 1. Kepadatan relatif (%) komunitas coleoptera coprofagus pada feses gajah Sumatera di sekitar "base camp" dan hutan sekunder pusat latihan gajah Seblat.

Kepadatan *Aphodius rufus* lebih tinggi dari pada spesies yang lain diduga karena serangga ini menyukai feses yang mengandung jenis tumbuhan rumput sebagai habitatnya. *Aphodius rufus* diketahui juga dominan pada feses sapi, kerbau dan kuda (7, 8, 9). Spesies *Aphodius* diketahui juga memanfaatkan feses mamalia besar sebagai tempat penyimpanan larva dan sebagai bahan makanan. Sedangkan individu Staphyllinidae banyak hadir dalam feses walaupun bukan pemakan kotoran gajah mungkin karena famili ini merupakan predator utama Coleoptera Scarabaeidae atau serangga coprofagus lainnya yang hidup dalam feses gajah.

Nilai Indeks Keanekaragaman spesies Coleoptera Coprofagus pada feses gajah yang dikoleksi dari lokasi sekitar Base Camp dan hutan sekunder relatif berbeda dimana indeks keanekaragaman species coleopteran coprofagus yang tertinggi didapatkan pada feses gajah di hutan sekunder (2,846) sedangkan di lokasi base camp lebih rendah yaitu 1,733 (Tabel 2).

Tabel 2. Indeks keanekaragaman species (H'), indeks keseragaman (E) dan indeks dominansi (D) coleoptera coprofagus pada feses gajah Sumatera di sekitar "base camp" dan hutan sekunder Pusat Latihan Gajah Seblat

No	Lokasi	H'	E	D
1	Base Camp	1,733	0,082	0,332
2	Hutan Sekunder	2,486	0,118	0,117

Dengan demikian, coleopteran coprofagus di hutan sekunder lebih kaya dalam jenis walaupun kepadatannya lebih rendah daripada di lapangan sekitar base camp. Kondisi vegetasi berkanopi rapat, suhu udara relative moderat dan kelembaban udara yang tinggi di hutan sekunder dapat menjadi faktor penting penyebab tingginya keanekaragaman species coleoptera di lokasi ini. Sebagian besar serangga tanah lebih memilih habitat dengan kondisi faktor abiotik yang mendukung aktivitas hariannya (18).

Pada sisi lain, Indeks Keseragaman Species (E) coleopteran coprofagus pada feses gajah di lokasi hutan sekunder juga lebih tinggi (0,118) dibandingkan pada feses gajah di lokasi sekitar base camp (0,082). Sebaliknya indeks dominansi (D) hewan ini lebih rendah di hutan sekunder (0,117) daripada di lokasi sekitar base camp (0,332). Nilai Indeks keseragaman species biasanya berkorelasi positif dengan indeks keanekaragaman, sedangkan nilai Indeks Dominansi Species berkorelasi negatif dengan Nilai Indeks Keanekaragaman Species (14). Jika indeks keanekaragaman species makin tinggi maka makin tinggi pula indeks keseragaman. Dengan demikian tiap species dalam komunitas Coleoptera coprofagus di hutan sekunder memiliki pemerataan dalam kepadatan, sedangkan pada feses gajah di lokasi sekitar base camp, terdapat tiap species Coleoptera memiliki yang kepadatan yang tidak merata atau terdapat species tertentu yang ditemukan dominan.

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut : Coleoptera coprofagus pada feses gajah Sumatera binaan di Pusat Latihan Gajah Seblat terdiri dari enam famili yaitu Scarabaeidae, Carabaeidae, Staphylinidae, Hydrophilidae, Histeridae dan Tenebrionidae. Coleoptera Scarabaeidae pada feses gajah di lokasi base camp maupun di hutan sekunder memiliki species yang lebih banyak dengan kepadatan individu dan kepadatan relatif tertinggi dibandingkan lima famili lainnya. Indeks keanekaragaman dan Indeks Similaritas Species dari coleoptera coprofagus pada feses gajah di lokasi hutan sekunder ($H'=2,486$; $E=0,118$) lebih tinggi dibandingkan feses gajah di lokasi sekitar base camp ($H'=1,733$; $E=0,082$), sebaliknya Indeks Dominansi Species lebih tinggi di lokasi base camp ($D=0,332$) daripada di hutan sekunder (0,117).

Prospek

Restorasi kesuburan lahan hutan tidak saja ditentukan kehadiran mikroorganisme pengurai seperti bakteri dan fungi tetapi juga memerlukan kehadiran hewan pemakan detritus yang dapat mempercepat penghancuran material organik dan membantu kerja mikroorganisme. Hasil penelitian ini menunjukkan coleoptera coprofagus dari famili Scarabaeidae memiliki prospek yang baik untuk diaplikasi dalam proses restorasi ekosistem tanah.

PUSTAKA

- [1] Rizwar, Darmi, Zulfian, 2001. Kepadatan Populasi dan Kondisi Habitat Gajah (*Elephas maximus sumatranus* Temmick, 1847) pada Fragmentasi Hutan di Sekitar Kawasan Taman Nasional Kerinci Sebelat, Kabupaten Bengkulu Utara. Integrated Conservation Development Project.
- [2] BKSDA Bengkulu, 2013. Profil Kawasan Taman Wisata Alam Pusat Latihan Gajah (PLG) Seblat. BKSDA Bengkulu. Bengkulu Borrer D.J., Triplehorn C.A. dan N.F Johnson, 1992. Pengenalan Serangga. Edisi Ke Enam (Terjemahan). Penerjemah: Partosoedjono S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- [3] da Silva P. G., Vaz-de-Mello, F. Z. and R. A. Di Mare, 2012. Attractiveness of Different Bait to the Scarabaeinae (Coleoptera:Scarabaeidae) in Forest Fragments in Extreme Southern Brazil. *Zoological Studies* 51(4):429-441
- [4] Bertone, M. A., 2004. Dung Beetles (Coleoptera:Scarabaeidae and Geotrupidae) of North Carolina Cattle Pastures and Their Implications for Pasture Improvement. Thesis for the Degree of Master of Science, North Carolina State University, USA
- [5] Errouissi F.S., Haloti P.J., Robert A.J., Idrissi, and J.P. Lumaret, 2004. Effects of the Attractiveness for Dung Beetles of Dung Pat Origin and Size Along a Climatic
- [6] *Gradient Environ. Entomol* 4:22-32

- [7] Shahabudin, Manuwoto S., Hidayat. P., Schulze. H. C., A. W. Noerdjito, 2006. Respons Kumbang Koprofagus (Coleoptera : Scarabaeidae) terhadap Perubahan Struktur Vegetasi pada Beberapa Tipe Habitat di Taman Nasional Lore Lindu, Sulawesi Tengah. *Biodiversitas* volume 8 nomor: 01-06. Universitas Surakarta. Surakarta
- [8] Kahono S. dan L. K. Setiadi, 2007. Keragaman dan Distribusi Vertikal Kumbang Tinja Scarabaeids (Coleoptera: Scarabaeidae) di Hutan Tropis Basah Pegunungan Taman Nasional Gede Pangrango, *Biodiversitas* Issn: 1412-033X Volume 7, Nomor 4 April 2007: 118-122, Jawa Barat, Indonesia
- [9] Mawarsih, 2011. Kelimpahan Dan Keanekaragaman Kumbang Tinja (Coleoptera: Scarabaeidae) Di Kawasan Taman Wisata Pulau Situ Gintung Tangerang Banten. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- [10] Shahabudin, Manuwoto S., Hidayat. P., Schulze. H. C., A. W. Noerdjito, 2005. Penelitian Biodiversitas Serangga Di Indonesia : Kumbang Tinja (Coleopteran : Scarabaeidae) Dan Peran Ekosistemnya. *Biodiversitas* volume 6, nomor 2:141-146. Universitas Surakarta.
- [11] Borror D.J., Triplehorn C.A. dan N.F Johnson, 1992. *Pengenalan Serangga*. Edisi Keenam. (Terjemahan). Penerjemah: Partosoedjono S. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta Surakarta
- [12] Basuki I. F. D., 2008. Identifikasi Jenis-Jenis Ordo Coleopteran Koleksi Laboratorium Hama Hutan Fakultas Kehutanan. Institute Pertanian Bogor. Bogor
- [13] Sahara, 2009. Ordo Coleopteran (Familia Carabidae Dan Ciincidelidae). Universitas Pendidikan, Bandung Indonesia
- [14] Wallwork, J. A. 1970. Ecology of Soil Animals. McGraw-Hill, London. 283 Pages
- [15] Magurran A.E., 1988. Ecological Diversity and Its Measurement. Princeton University Press. Princeton, New Jersey
- [16] Britton E.B., 1970. Coleoptera. The Insects of Australia Division of Entomology, CSIRO Canberra, Australia
- [17] Lilies C.S., 1991. Kunci Determinasi Serangga. Yogyakarta: Kanisius.
- [18] Barbero E., Palestini C., dan A Rolando, 1999. Dung beetle conservation: effect of habitat and resource selection (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of insect conservation* vol.3:75-84
- [19] Suin, N.M., 1989. Ekologi Hewan Tanah. Bumi Aksara. Jakarta.

**GAMBARAN HISTOLOGIS PANKREAS MENCIT DIABETES MELLITUS
PASCA PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN DAN BIJI MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss)**

**HISTOLOGICAL APPEARANCE OF THE PANCREAS MICE DIABETES MELLITUS
AFTER GIVING ETHANOLIC LEAVES AND SEEDS EXTRACT OF NEEM
(*Azadirachta indica* A.Juss)**

Elsa Lisanti¹, A. Winarto²

¹Kampus B Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta
elsa_lisanti@yahoo.com; Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun Jakarta Timur (13220) Telp/Fax. (021)
4894909

²Departemen Anatomi Fisiologi Farmakologi (AFF) FKH IPB Bogor

ABSTRACT

Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) has been known as a multipurpose plant. The objective of this research was to investigate effects of ethanolic extract from leaves and seeds of neem to β -pancreatic cells of diabetic DDY mice. Mice was induced intraperitoneal with alloxan 120 mg/kg of bw. The extract was tested on diabetic mellitus (DM) mice. There were 9 groups of treatment and 3 replication, that are ; A. Normal mice + Aquadest (control); B. Diabetic mice + Aquadest; C. Diabetic mice + Glibenklamid; D, E, F. Diabetic mice + leaves extract of neem with doses 0,25; 0,50 and 1,00 g/kg bw, G, H, I. Diabetic mice + seeds extract of neem with doses 0,25, 0,50 and 1,00 g/kg bw, respectively. The treatment were given orally for 21 days, and then the β -pancreas cell histologicaly of treated mice were observed. Analysis of results were conducted by descriptives method. The research showed that the ethanol extract of leaves at a dose of 1,00 g/kg bw and seeds at doses 0,25 and 0,50 g/kg bw repaired the damage of β -pancreas cell, that is Langerhans island. This results indicated that ethanolic extract of leaves and seeds neem can be used to treat diabetes mellitus.

Keywords: leaves, seeds, neem, pancreas, mice

ABSTRAK

Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) adalah tanaman multiguna. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun dan biji mimba terhadap sel-sel β -pankreas mencit DDY diabetes. Mencit diinduksi aloksan dosis 120 mg/kg BB secara intraperitoneal. Ekstrak diuji pada mencit diabetes mellitus (DM). Ada 9 kelompok perlakuan dan 3 ulangan, yaitu : A. Mencit normal + Akuades (kontrol), B. Mencit DM + Akuades, C. Mencit diabetes + Glibenklamid, D, E, F. Mencit diabetes + Ekstrak Daun Mimba (EDM) dosis 0,25; 0,50 dan 1,00 g/kg bw, G. Mencit diabetes + Ekstrak Biji Mimba (EBM) dosis 0,25; 0,50 dan 1,00 g/kg BB. Perlakuan diberikan selama 21 hari dan kemudian histologi sel β -pankreas mencit diamati. Analisa dilakukan dengan metode deskriptif. Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dosis 1,00 g/kg BB dan biji pada dosis 0,25 dan 0,50 g/kg BB dapat memperbaiki kerusakan sel β -pankreas pada pulau-pulau Langerhans. Ekstrak etanol daun dan biji mimba dapat digunakan untuk menangani diabetes mellitus.

Kata kunci : daun, biji, mimba, pankreas, mencit

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan zaman dan semakin meningkatnya taraf kehidupan masyarakat tanpa disadari menimbulkan sejumlah dampak negatif, salah satunya adalah meningkatkan prevalensi penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus [DM]. Diabetes melitus [DM] merupakan jenis penyakit degeneratif dengan yang jumlah penderita yang cukup besar di negara-negara berkembang, termasuk di Indonesia. Diperkirakan ada 4,5 juta pengidap DM pada tahun 1995 dan 12,4 juta pada tahun 2025, serta pada urutan ke-4 negara yang banyak penduduknya menderita DM. Dalam Diabetes Atlas 2000 [*International Diabetes Federation*] diperkirakan bahwa penduduk Indonesia berusia di atas 20 tahun sebesar 15 juta dengan asumsi prevalensi DM sebesar 4,6 % [1]. Agar tidak berakibat fatal, berbagai upaya pengobatan penyakit tersebut telah banyak dilakukan, salah satunya adalah dengan penggunaan obat antidiabetes oral.

Dalam kaitan untuk menemukan obat antidiabetes jenis lain itu, sekarang ini banyak dilakukan pengobatan dengan memanfaatkan tanaman tradisional yang berkhasiat sebagai obat, salah satunya adalah tanaman mimba. Mimba memberikan efek hipoglikemik pada hewan, baik tikus dan mencit [2, 3]. Efek antidiabetes dari daun dan biji mimba diduga berasal dari adanya kandungan senyawa-senyawa seperti flavonoid, fenolat dan saponin yang terdapat didalamnya. Adanya kandungan senyawa-senyawa tersebut dapat meningkatkan toleransi glukosa darah sehingga dapat bermanfaat dalam pengobatan penyakit diabetes [3].

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol daun mimba [EEDM] dan ekstrak etanol biji mimba [EEBM] terhadap histologis pankreas dengan menggunakan hewan percobaan yaitu mencit diabetes akibat induksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Biologi FMIPA UNJ, Animal House UNJ, Lab. Anatomi dan Histologi FKH IPB dan Lab. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor. Penelitian dilakukan selama delapan bulan, terhitung dari Maret hingga Oktober tahun 2010.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama penelitian ini adalah daun dan biji mimba [*Azadirachta indica* A. Juss] yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat [Balitro] Bogor. Daun dan biji mimba dibersihkan untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian dihaluskan menjadi serbuk, selanjutnya dimaserasi dengan etanol 70% dan diperoleh ekstrak daun dan biji mimba.

Pengamatan histologis pankreas mencit diabetes dibutuhkan mencit jantan strain DDY dari Badan Pengawas Obat dan Makanan [BPOM Jakarta], ransum mencit, alloxan, pewarna Hematoxylin-Eosin, paraformaldehid dan aloksan untuk induksi mencit menjadi diabetes.

Alat Penelitian

Beberapa peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah hammer mill, ekstraktor, mikrotom, mikroskop, waterbath, objek glass, cover glass, sonde, glukotest meter, tube, timbangan analitik, alat bedah, rotavapor, siring, staining jar dan peralatan lainnya.

Persiapan Bahan Baku

Bahan baku [daun dan biji mimba] dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 60°C, kemudian digiling menggunakan hammer mill dengan ukuran partikel 40-60 mesh. Bahan yang telah menjadi serbuk kemudian dimaserasi dengan pelarut organik yaitu pelarut polar [etanol]. Di dalam serbuk dikocok terlebih dahulu selama 2 jam kemudian dimaserasi selama 1 malam. Setelah disaring, pelarut diuapkan menggunakan vakum evaporator pada suhu 50°C sampai dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

Perlakuan pada hewan percobaan

Sebelum diberi perlakuan lebih lanjut, berat badan mencit harus ditimbang terlebih dahulu sebagai parameter awal berat badan sebelum perlakuan [H-0]. Selanjutnya untuk mendapatkan hewan percobaan yang menderita diabetes dilakukan dengan memberikan injeksi senyawa aloksan sebanyak 75 mg/kg BB secara ip. Keadaan diabetes pada mencit ditetapkan apabila kadar glukosa darahnya telah mencapai ≥ 200 mg/dl.

Pada penelitian ini, pemberian obat antidiabetes oral [Glibenklamid] dan ekstrak EEDM dan EEBM pada mencit dilakukan setiap hari setelah diperoleh keadaan diabetes pada mencit, yaitu secara oral dengan menggunakan alat cekok masing-masing sebanyak 0,5 ml.

Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Penelitian terdiri dari 9 perlakuan dan 3 kali ulangan tiap perlakuan. Perlakuan tersebut terdiri dari :

1. A. Mencit Normal + Aquadest (Kontrol)
2. B. Mencit Diabetes Melitus (DM) + Aquadest
3. C. Mencit DM + Glibenklamid
4. D. Mencit DM + Ekstrak Daun Mimba Dosis 0,25 g/kg BB
5. E. Mencit DM + Ekstrak Daun Mimba Dosis 0,50 g/kg BB
6. F. Mencit DM + Ekstrak Daun Mimba Dosis 1,00 g/kg BB
7. G. Mencit DM + Ekstrak Biji Mimba Dosis 0,25 g/kg BB
8. H. Mencit DM + Ekstrak Biji Mimba Dosis 0,50 g/kg BB
9. I. Mencit DM + Ekstrak Biji Mimba Dosis 1,00 g/kg BB

Gambaran Histopatologis dari Organ Pankreas Mencit

Keadaan histopatologis mencit percobaan setiap perlakuan ditentukan dengan cara melihat berbagai kelainan yang terdapat pada pankreas mencit. Pada organ pankreas dilihat pulau Langerhans. Pankreas diambil dari mencit yang telah dimatikan, lalu disimpan dalam larutan fiksatif paraformaldehida 4%. Agar larutan dapat memfiksasi

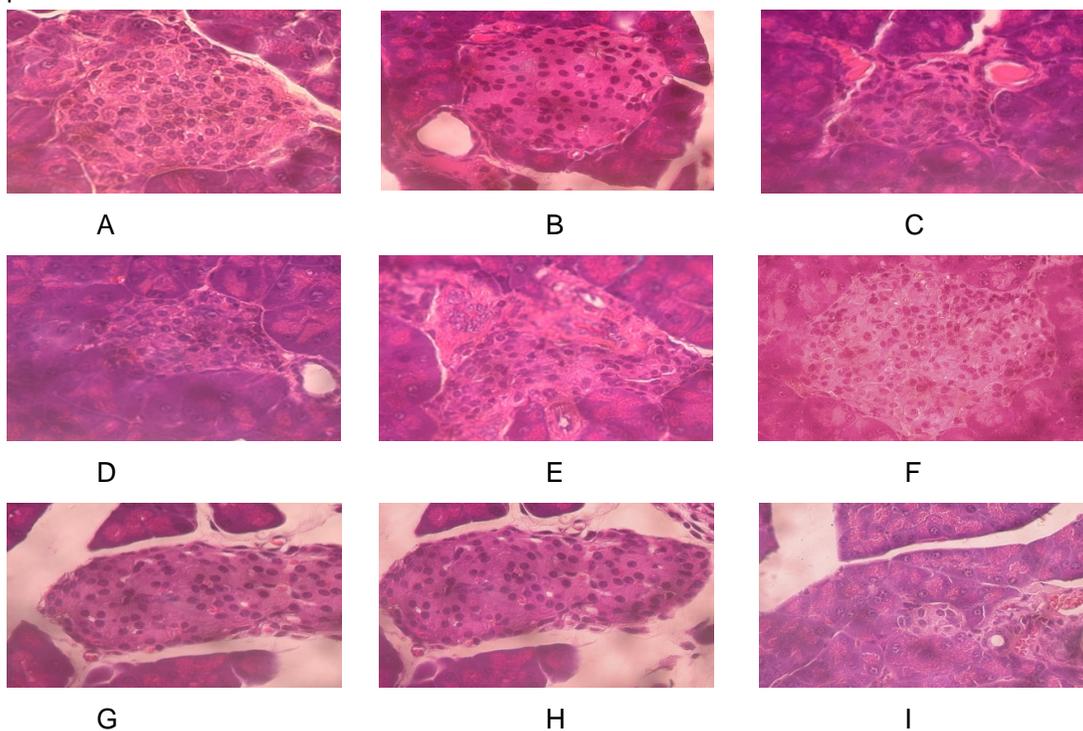
kedua organ dengan baik, maka organ-organ tersebut disayat, sehingga ukurannya menjadi lebih kecil. Pembuatan preparat histologis organ dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan *embedding* pada paraffin, serta pemotongan dengan pisau mikrotom. Preparat yang diperoleh selanjutnya diberi pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil gambaran histologis pankreas mencit diabetes yang diberi EEDM dan EEBM (*Azadirachta indica* A.Juss)

Azadirachta indica A. Juss. dapat berfungsi sebagai hipolipidemia, hipoglikemik, immunostimulan dan hepatoprotektif [4]. Hasil isolasi daun mimba terdapat kandungan *nimbocinone*, *nimolinone*, *kulactone*, *nimocinolides*, *isonimocinolide*, *nimbin*, *salanin*, *azadirachtin*, *flavonoids*, *myricetin*, *meldenindiol*, *vilasinin*, *margosinolide*, *isomargosinolide*, *desacetyldihydronimbinic acid* yang berpotensi sebagai obat [5].

Pengamatan pada Pulau Langerhans (PL) menunjukkan bahwa PL pada B mengalami kerusakan dan ukurannya mengecil. Pada C, kondisi PL mirip dengan kelompok B. Sedangkan pada D dan E, mempunyai gambaran yang mendekati kelompok A (kontrol). Pada F, perbaikan PL tidak sebaik pada D dan E, tetapi lebih baik dibandingkan C. Berikut merupakan perbandingan gambaran histologis pada organ pankreas.



Gambar 1. Histologis organ pankreas A: sel α dan β ; B : pulau Langerhans [Perbesaran 20x10]

Hasil penelitian ini menunjukkan EEDM dan EEBM mengandung senyawa alkaloid, flavonoid quersetin, steroid dan tanin/fenol serta mampu menurunkan kadar gula darah mencit diabetes yang diinduksi aloksan [6]. Disamping itu juga dapat memperbaiki risiko

simptom kehilangan bobot badan. EEDM dan EEBM sebagai preventif juga dapat mencegah kerusakan oksidatif pulau langerhans pankreas yang diakibatkan agen penginduksi diabetes aloksan.

PEMBAHASAN

Pulau Langerhans di kelenjar pankreas merupakan kumpulan sel ovoid yang tersebar diseluruh pankreas. Di dalam pulau tersebut terdapat beberapa jenis sel berdasarkan sifat pewarnaan dan morfologinya. Ada lebih kurang 4 jenis sel yaitu. Sel α , β , δ , dan sel f. Sel β jumlahnya terbanyak di dalam kelenjar pankreas hampir 60-75%. Sel β merupakan sumber insulin. Insulin bekerja pada keadaan atau kadar glukosa yang tinggi dan sifatnya menurunkan kadar glukosa yang tinggi menjadi normal. Kelainan fungsi sel-sel β dapat menyebabkan penyakit Diabetes melitus. Hiperplasia (bertambah banyaknya sel) atau adanya neoplasia dari sel β dapat mengakibatkan sindroma hiperinsulinisme yang ditandai dengan adanya hipoglikemia [7].

Pada pengamatan histologis dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun dosis 1,00 g/kg BB dan ekstrak biji dosis 0,25 g/kg BB dan 0,5 g/kg BB bekerja dengan baik pada Pulau Langerhans. Penurunan efek perbaikan terlihat pada ekstrak biji dosis 1,00 g/kg BB. Dosis 1,00 g/kg BB menunjukkan dosis yang optimum untuk meningkatkan jumlah sel dan memperbaiki kerusakan sel β – pankreas. Mengingat zat uji dalam bentuk ekstrak, kemungkinan mengandung campuran senyawa aktif yang banyak. Namun pada ekstrak biji dosis 0,25 g/kg BB dan 0,5 g/kg BB secara histologi dapat meningkatkan jumlah sel dan memperbaiki kerusakan sel β – pankreas akibat pemberian aloksan.

Secara histologis, pankreas yang normal [yaitu pada kelompok 1] dapat dilihat dengan pewarnaan HE. Akan tetapi, dengan menggunakan pewarnaan HE sel beta sulit dibedakan dari sel alfa. Pada kelompok 1, keadaan pankreas normal khususnya sel beta. Sehingga pengamatan gambaran histologis untuk organ pankreas adalah dengan mengamati perbandingan keadaan Pulau Langerhans. Pada pewarnaan HE, akan terlihat Pulau Langerhans lebih pucat dibandingkan dengan sel-sel kelenjar asinar pankreas di sekelilingnya, sehingga Pulau Langerhans mudah dibedakan [8, 9].

Pada kelompok 2, mencit diabetes yang diberi aquadest tampak sel-sel β nya mengalami nekrosis akibat perusakan oleh aloksan. Hal ini dikarenakan, aloksan akan bereaksi dengan agen-agen pereduksi [seperti sistein, glutathione, dan asam askorbat], sehingga menghasilkan radikal bebas anion superoksida dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida kemudian akan dengan cepat berdifusi masuk ke dalam membran sel dan mencapai lisosom bila tidak segera didegenerasi oleh sistem antioksidan dalam tubuh [10].

Jumlah sel beta mengalami penurunan karena injeksi atau pemberian aloksan menurunkan jumlah inti sel dan granula-granula sitoplasma sel beta, yaitu kurang lebih 5 menit setelah pemberian. Sepuluh menit setelahnya sitoplasma mengalami vakuolisasi, inti mengecil [piknosis], dan ukuran sel mengecil disertai adanya peningkatan ruang perikapiler. Setelah 5 jam, inti lisis dan membran inti, pecah. 24 jam setelah injeksi, sel beta akan hancur dan sel alpha akan mendominasi Pulau Langerhans. Proses kerusakan sel beta akibat pemberian alloksan bersifat progresif, yang artinya jumlahnya akan semakin menurun [11].

Sel-sel didalam pulau Langerhans terutama sel β dengan pewarnaan HE tidak dapat dibedakan dengan sel yang lain, hanya dapat dibedakan dari letaknya yaitu ditengah-tengah pulau Langerhans.

Pada kelompok 3, keadaan sel beta tidak mengalami perubahan secara berarti setelah pemberian glibenklamid. Hal ini dikarenakan sifat dari obat anti diabetes glibenklamid tersebut. Glibenklamid memiliki efek utama yaitu merangsang pelepasan insulin oleh sel beta pankreas, meningkatkan efektivitas dari sel beta dalam pelepasan insulin sebagai respon terhadap tingkat glukosa serum, dan tidak memperbaiki kerusakan pada sel-sel di pulau Langerhans [12]. Sehingga pada kelompok III, yaitu pada mencit DM dan diberi obat glibenklamid, pada pankreasnya tidak mengalami perubahan baik dari keadaan pankreas dan jumlah sel betanya.

Pada kelompok perlakuan tampak dengan pewarnaan HE, sel beta memang tidak dapat dibedakan secara pasti dengan sel alfa. Akan tetapi, telah diketahui bahwa sifat dan efek diabetogenik dari aloksan adalah secara selektif merusak sel beta. Jumlah sel dalam Pulau Langerhans juga terlihat lebih sedikit dan mengalami penurunan karena injeksi atau pemberian aloksan yang menurunkan jumlah inti sel dan granula-granula sitoplasma sel beta. Pada keadaan ini, Pulau Langerhans pada sel-selnya akan mengalami nekrosis. Pada kelompok 4 sampai dengan 9, sel beta pada pulau Langerhans mengalami perubahan dan perbaikan karena pada ekstrak etanol daun dan biji mimba terdapat kandungan senyawa flavonoid, yang merupakan kelompok antioksidan. Kandungan zat ini akan mendegenerasi sel beta yang mengalami kerusakan atau nekrosis akibat radikal bebas yang dihasilkan oleh aloksan [13].

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba dosis 1,00 g/kg BB dan biji pada dosis 0,25 dan 0,50 g/kg BB dapat memperbaiki kerusakan sel β -pankreas pada pulau-pulau Langerhans.

PUSTAKA

- [1] Soegondo, Sidartawan. 2005. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- [2] Akinola O. B., E. A. Caxton-Martins and L. Dini. 2010. Chronic treatment with ethanolic extract of the leaves of *Azadirachta indica* ameliorates lesions of pancreatic islets in streptozotocin diabetes. *Int. J. Morphol.* 28(1):291-302.
- [3] Lisanti, E. 2014. Evaluation of Antihyperglycemia Properties of Ethanolic Leaves and Seed Extracts of *Azadirachta indica* A. Juss on Mice (*Mus musculus albinus*). *Proceeding Traditional Complimentary and Alternative Medicine (1st International Symposium)*. 12nd – 13th April. Surabaya.
- [4] Khosla, P. S. Bhanwara, J. Singh, S. Seth, and R. K. Srivastava. 2000. A study of hyperglycemia effects of *A. indica* (Neem) in normal and alloxan diabetic rabbits," *Indian Journal of Physiology & Pharmacology*, vol. 44, pp. 69–74.
- [5] Govindachari, T. R., G. Sandhya, and S. P. Ganeshraj, "Simple method for the isolation of azadirachtin by preparative high-performance liquid chromatography," *Journal of Chromatography*, vol. 513, pp. 389–391, 1990.

- [6] Lisanti E. 2014. Potential content of ethanol extract of leaves and seeds neem as antifertility in male mice. National Seminar on Biological in Biological Role in Saving the Indonesian Biodiversity. FMIPA UI Jakarta.
- [7] Ganong, William. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan : M Djauhari Widjajakusumah *et al.* Jakarta : EGC.
- [8] Guz, Y, Nasir I, Teitelman. 2001. Regeneration of pancreatic beta cell from intra islet precursor in an experiment model of diabetes. *Jurnal. Endocrine 142 : 4956-4968.*
- [9] Widowati, S. 2007. Karakteristik Beras Instan Fungsional Dan Peranannya Dalam Menghambat Kerusakan Pankreas. Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- [10] Nugroho, Agung Endro. 2001. *Pengaruh Pra Perlakuan Brokoli (Brassica oleracea L. Var. Botrytis L.) Terhadap Efek Hipoglikemik Tolbutamid Pada Mencit Diabetes Mellitus Tipe II*. Universitas Gadjah Mada. Tesis.
- [11] Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Jurnal. Physiology Res. Journal*. Poland : Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznan.
- [12] Adnyana, I Ketut, Elin Yulinah, Andreanus A. 2004. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *Jurnal Penelitian. Acta Pharmaceutica Indonesia vol. XXIX No.2*. Bandung.
- [13] Triklasani, Wini, 2003. Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan. Laporan Penelitian. Institut Pertanian Bogor.

UPAYA KONSERVASI KUPU-KUPU *Papilio peranthus* DENGAN METODE PENGAYAAN HABITAT DI TAMAN KUPU-KUPU GITA PERSADA, GUNUNG BETUNG, LAMPUNG

CONSERVATION EFFORTS OF *Papilio peranthus* USING HABITAT ENRICHMENT METHOD IN THE GITA PERSADA BUTTERFLY PARK, GUNUNG BETUNG, LAMPUNG

Herawati Soekardi

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro no. 1 Bandar Lampung 35145; h.soekardi@yahoo.com, +62-815-4021301

ABSTRACT

Papilio peranthus is a local Sumatra butterfly from Papilionidae family with metallic green blue and black upper wing, which also belong in butterflies "swallowtail" group. In a preliminary survey, it is known that *P. peranthus* found in Tegal Island, Lampung Bay but there were none in Gunung Betung, Lampung. The purpose of the research is to conserve *P. peranthus* in a new location, Gita Persada Butterfly Park. Habitat enrichment method is used as the method. At the beginning of 2002, a research carried out at Tegal Island to find host plants for *P. peranthus* larvae food and, as the result, *Clausena excavata* discovered. Collected seeds and saplings for nursery yield about 1000 polybags and planted in the Gita Persada Butterfly Park along with a wide variety of flowering plants. Captive breeding is done using *P. peranthus* larvae and butterflies from Tegal Island released into the wild in Gita Persada Butterfly Park. The results of monitoring every three months from 2002 to December 2013 showed *P. peranthus* presence in Gita Persada Butterfly Park. It can be concluded that the conservation of *P. peranthus* has been successful.

Keywords: butterfly conservation, Papilio peranthus, habitat enrichment, Gita Persada Butterfly Park

ABSTRAK

Papilio peranthus merupakan kupu-kupu lokal Sumatera dari famili Papilionidae yang sayap bagian atasnya berwarna biru hijau metalik dan hitam, serta termasuk kelompok kupu-kupu "swallowtail". Pada survei pendahuluan, diketahui bahwa kupu-kupu *P. peranthus* dijumpai di Pulau Tegal Teluk Lampung dan tidak terdapat di Gunung Betung, Lampung. Tujuan penelitian ini adalah menjadikan Taman Kupu-kupu Gita Persada di Gunung Betung sebagai lokasi baru untuk mengkonservasi kupu-kupu *P. peranthus*. Metode yang dipakai adalah metode pengayaan habitat. Pada awal tahun 2002, di Pulau Tegal dilakukan pencarian tumbuhan inang pakan larva bagi kupu-kupu *P. peranthus* dan ditemukan tumbuhan *Clausena excavata*. Pengumpulan biji maupun anakan untuk pembibitan tumbuhan tersebut menghasilkan sekitar 1000 polibag yang kemudian ditanam di Taman Kupu-kupu Gita Persada beserta beranekaragam tumbuhan berbunga. Penangkaran dilakukan terhadap larva-larva *P. peranthus* yang berasal dari Pulau Tegal dan kupu-kupu dilepas ke alam di Taman Kupu-kupu Gita Persada. Hasil pemantauan kehadiran kupu-kupu *P. peranthus* setiap tiga bulan mulai tahun 2002 sampai dengan Desember 2013 menunjukkan keberadaan kupu-kupu *P. peranthus* di Taman Kupu-kupu Gita Persada. Dapat disimpulkan bahwa upaya konservasi kupu-kupu *P. peranthus* telah berhasil dilakukan.

Kata kunci: Konservasi kupu-kupu, *Papilio peranthus*, pengayaan habitat, Taman Kupu-Kupu Gita Persada

PENDAHULUAN

Papilio peranthus termasuk kupu-kupu lokal Sumatera dari famili Papilionidae yang sayap bagian atasnya berwarna biru hijau metalik dan hitam. Pada sayap bagian bawah kupu-kupu *P. peranthus* terdapat ekor sehingga kupu-kupu *P. peranthus* termasuk kupu-kupu "swallowtail". Dari survei yang dilakukan Yayasan Sahabat Alam pada tahun 2000, kupu-kupu *P. peranthus* ditemukan di Pulau Tegal, Teluk Lampung [[HYPERLINK \l "Yay00" 1](#)]. Penelitian lain juga melaporkan *P. peranthus* diketahui terdapat di Pulau Tegal 2]. Smart menyatakan kupu-kupu *P. peranthus* adalah kupu-kupu yang terdapat di Pulau Jawa [[HYPERLINK \l "Sma91" 3](#)].

Taman Kupu-Kupu Gita Persada merupakan taman kupu-kupu terbuka yang terletak di Tahura WAR (Wan Abdurrachman) Gunung Betung Lampung dengan luas 4,8 ha. Pada awalnya lahan tersebut merupakan lahan hutan dengan keanekaragaman tumbuhan inang bagi kupu-kupu yang terbatas. Tumbuhan sonokeling dan ilalang mendominasi lahan hutan tersebut. Penelitian konservasi kupu-kupu tentang keterkaitan spesies kupu-kupu dan tumbuhan inangnya telah dilakukan sejak tahun 1998 4]. Penelitian lanjutan mengemukakan bahwa terdapat kekhususan tumbuhan inang bagi setiap spesies kupu-kupu Papilionidae. Apabila tumbuhan inang pakan larva kupu-kupu sudah diketahui maka dapat dilakukan konservasi terhadap kupu-kupu tersebut [[HYPERLINK \l "Soe05" 5](#)].

Metode pengayaan habitat merupakan cara untuk menambah tumbuhan inang baik sebagai pakan larva maupun pakan imago yang merupakan upaya perbaikan habitat sehingga sesuai dengan kebutuhan kupu-kupu 6].

Tujuan penelitian ini adalah menjadikan Taman Kupu-Kupu Gita Persada Gunung Betung Lampung sebagai lokasi baru untuk mengkonservasi kupu-kupu *P. peranthus* dengan metode pengayaan habitat.

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian yang diperoleh dari survei pendahuluan Yayasan Sahabat Alam di Pulau Tegal, Teluk Lampung tahun 2002 menemukan bahwa tumbuhan inang pakan larva bagi kupu-kupu *Papilio peranthus* adalah tumbuhan *Clausena excavata* [[HYPERLINK \l "Yay02" 7](#)]. Kemudian biji dan anakan tumbuhan tersebut diambil dari Pulau Tegal dan dilakukan pembibitan di Taman Kupu-kupu Gita Persada Gunung Betung Bandar Lampung. Hasil penyemaian biji dan penanaman bibit-bibit diperoleh 1000 polibag bibit tumbuhan *C. excavata* siap tanam. Selain itu dipersiapkan pula bibit-bibit tumbuhan berbunga, yaitu *Stachytarpetta indica*, *Lantana camara*, *Clerodendrum paniculatum*, dan *Ixora javanica* masing-masing 50 polibag. Selanjutnya 6 ekor larva kupu-kupu *P. peranthus* dibawa dari Pulau Tegal ke Taman Kupu-kupu Gita Persada.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode pengayaan habitat. Penanaman dilakukan terhadap bibit-bibit *C. excavata* dan berbagai tumbuhan berbunga yang telah dipersiapkan pada lahan di Taman Kupu-kupu Gita Persada.

Penangkaran dilakukan di Taman Kupu-kupu Gita Persada terhadap enam ekor larva *P. peranthus* yang berasal dari Pulau Tegal dan Kupu-kupu hasil penangkaran dilepaskan ke alam di Taman Kupu-kupu Gita Persada. Pencarian terhadap telur dan larva pada tumbuhan *C. excavata* dilakukan secara periodik dan dilakukan penangkaran. Kupu-kupu hasil penangkaran dilepaskan kembali ke alam. Selanjutnya pemantauan

keberadaan kupu-kupu *P. peranthus* dilakukan setiap tiga bulan sejak 2002 sampai 2013. Data pemantauan tiga bulanan yang dilakukan untuk mengetahui keberhasilan upaya konservasi kupu-kupu *P. peranthus* di Taman Kupu-kupu Gita Persada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

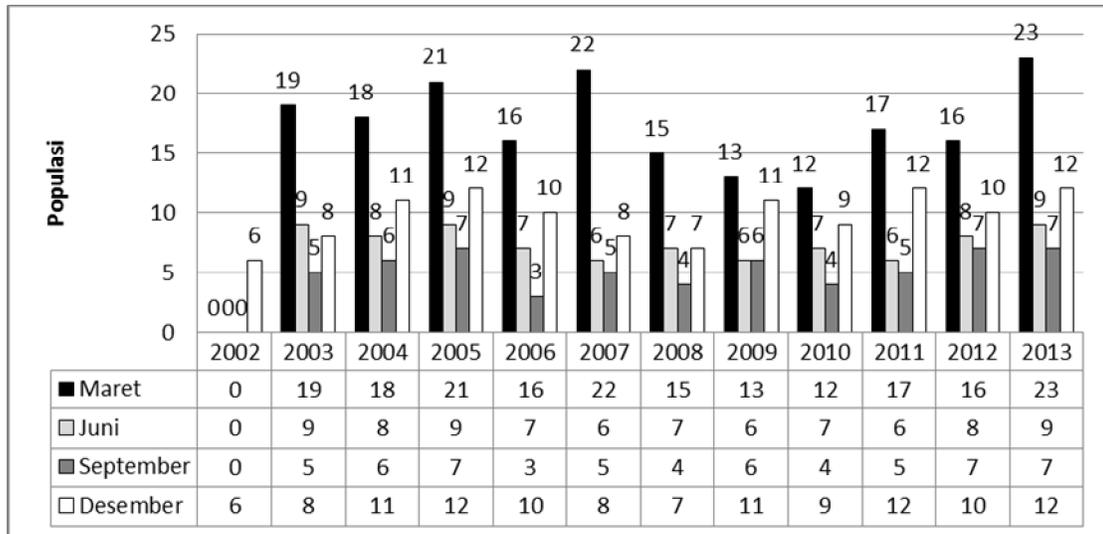
Hasil Penangkaran enam ekor larva kupu-kupu *Papilio peranthus* yang berasal dari Pulau Tegal pada tahun 2002 adalah kupu-kupu *P. peranthus* pertama yang dilepaskan di Taman Kupu-kupu Gita Persada. Keberhasilan penangkaran *P. peranthus* tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan inang pakan larva merupakan tumbuhan inang yang sesuai dengan kebutuhan pakan larvanya 5][[HYPERLINK \ "Soe09" 8 \]\]. Konservasi kupu-kupu sangat ditentukan oleh ketersediaan tumbuhan inang pakan larvanya. Hal ini disebabkan karena larva kupu-kupu pada umumnya monofagus walaupun sebagian ada yang oligofagus ataupun polifagus. Larva kupu-kupu *P. peranthus* tercatat monofagus 6\].](#)



Gambar 1. Larva, pupa, dan imago *P. Peranthus*

Pada penelitian ini, tumbuhan *C. excavata* yang ditanam dalam jumlah cukup banyak di Taman Kupu-kupu Gita Persada menyebabkan induk kupu-kupu *P. peranthus* dengan mudah mengenali dan mendapatkan tumbuhan inang untuk meletakkan telur-telurnya. Kunjungan kupu-kupu untuk meletakkan telur-telurnya dipandu oleh zat kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut [[HYPERLINK \ "Fee91" 9 \]\].](#)

Pada penelitian ini, juga ditanam beranekaragam tumbuhan berbunga. Terdapat dua kelompok tumbuhan yang dibutuhkan oleh Kupu-kupu yaitu tumbuhan inang pakan bagi larvanya dan tumbuhan berbunga sebagai pakan inangnya 5]. Konservasi kupu-kupu Sumatera yang dilakukan di Taman Kupu-kupu Gita Persada telah berhasil karena menyediakan kebutuhan hidup bagi fase-fase pada siklus hidup kupu-kupu [[HYPERLINK \ "Soe11" 6 \]\].](#)



Gambar 2. Fluktuasi Populasi Kupu-kupu *Papilio peranthus* di Taman Kupu-kupu Gita Persada

Dari Gambar 2 dapat diketahui bahwa fluktuasi populasi *P. Peranthus* cenderung lebih tinggi pada bulan Maret dan Desember, menjadi rendah pada bulan Juni, dan populasi paling rendah pada bulan September.

Fluktuasi populasi *P. peranthus* dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti kelembaban dan curah hujan. Hal tersebut berpengaruh terhadap ketersediaan tunas-tunas muda tumbuhan inang yang dibutuhkan *P. peranthus* untuk kelangsungan hidup larva-larvanya[[HYPERLINK \ "Sus09" 10](#)]. Larva kupu-kupu yang masih kecil akan mati apabila tidak tersedia tunas daun muda tumbuhan inangnya 4}].

Selanjutnya, dapat diketahui bahwa *P. peranthus* yang terpantau pada saat survei dengan populasi yang stabil dari tahun ke tahun. Hal ini berarti bahwa upaya konservasi Kupu-kupu *P. peranthus* di Taman Kupu-kupu Gita Persada telah berhasil dilakukan.

KESIMPULAN

Taman Kupu-kupu Gita Persada Gunung Betung, Lampung telah berhasil menjadi lokasi baru untuk mengkonservasi kupu-kupu *Papilio peranthus* dengan metode pengayaan habitat. Oleh karena itu upaya konservasi kupu-kupu *P. peranthus* dapat mengembangkan kegiatan Eduekowisata di Indonesia.

PUSTAKA

- [1] Yayasan Sahabat Alam, "Laporan Kegiatan Tahun 2000," Yayasan Sahabat Alam, Bandar Lampung, Laporan Tahunan 2000.
- [2] A. Larasati, "Keanekaragaman Kupu-Kupu (Rhopalocera) pada Dua Pulau Kecil di Teluk Lampung," Bandung, 2003.
- [3] P. Smart, *Encyclopedia of the Butterfly World*. London: Tiger Books International PLC, 1991.
- [4] H. Soekardi, "Keterkaitan Keanekaragaman Spesies Kupu-Kupu dengan Tumbuhan Inangnya," in *Seminar Nasional Biologi XVI ITB*, Bandung, 2000.
- [5] H. Soekardi, "Keanekaragaman Papilionidae di Hutan Gunung Betung Lampung, Sumatera: Penangkaran serta Rekayasa Habitat sebagai Dasar Konservasi," Bandung, 2005.
- [6] H. Soekardi, "Sumatran Butterflies Conservation in Mount Betung, Lampung," in *ICBS BIO-UGM 2011*, Yogyakarta, 2011.
- [7] Yayasan Sahabat Alam, "Laporan Kegiatan Tahunan 2002," Yayasan Sahabat Alam, Bandar Lampung, Laporan Tahunan 2002.
- [8] H. Soekardi, "Model Konservasi Kupu-Kupu Nymphalidae di Hutan Konservasi Kupu-Kupu Gunung Betung Lampung," Bandar Lampung, 2009.
- [9] P. Feeny, *Chemical Constraints on the Evolution of Swallowtail Butterflies*. In Price, P.W., Lewinsohn, T.M., Fernandes, G.W., W.W. Benson Ed., *Plant-Animal Interactions, Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Region*. Chichester. Brisbane. Toronto. Singapore: Awiley Interscience Publication. John Wiley and Sons, Inc., 1991.
- [10] T.F. Susilo, "Fluktuasi Populasi Kupu-Kupu Pieridae di Kampus Universitas Lampung," Universitas Lampung, Bandar Lampung, Skripsi 2009.

**BIOKONSERVASI JERUK KEPROK BRASTAGI (*Citrus nobilis* BRASTEPU)
JERUK LOKAL SUMATERA UTARA SECARA OKULASI**

**BIOCONSERVATION OF BRASTAGI CITRUS (*Citrus nobilis* Brastepu) A LOCAL
CITRUS OF SUMATERA UTARA THROUGH CUTTING PROPAGATION**

Isnaini Nurwahyuni¹, Riyanto Sinaga

Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara, Kampus USU Padang Bulan Medan,
Sumatera Utara, Indonesia 20155, E-mail: isnaininurwahyuni@yahoo.co.id

ABSTRACT

The strategy to preserve *Citrus nobilis* Brastepu is urgently needed to overcome the extinction of local citrus from Sumatera Utara for it has potential genetic, such as sweet taste, big size fruit, reddish colour, and it is containing of bioactive compounds that commonly used as traditional medicine. Preservation of the citrus is conducted by grafting the citrus into a root stock of sour orange (*Citrus aurantium*) via budding method. The results showed that 7 months year old of sour orange have a potential as a root stock in the grafting technique. The success of budding is influenced by the ages of the plants as bud stick source and the storage length of the buds. The optimum condition on the propagation was obtained when using bud stick from mature and healthy Brastepu trees. Effective budding technique is achieved when grafting process was conducted with fresh bud stick, where high percentages of the plants are grown. The number of leaves, branches and stem length observed in the plant are linear with time length preservation of the bud stick. The shorter of the storage time of bud sticks have been made result in increasing the percentage of living plants.

Key words: Bioconservation, orange, Citrus nobilis Brastepu, occulation, germplasm, Brastagi orange

ABSTRAK

Strategi biokonservasi jeruk keprok Brastepu (*Citrus nobilis* Brastepu) mendesak dilakukan untuk mengatasi kepunahan jeruk lokal andalan Sumatera Utara yang memiliki keunggulan genetika seperti cita rasa manis, bentuk buah dan warna yang menarik, ukuran buah besar, dan mengandung senyawa bioaktif yang dipergunakan sebagai bahan obat tradisional. Penyelamatan jeruk keprok Brastepu dilakukan melalui perbanyakan secara tempel dari sumber tanaman yang masih hidup. Hasil penelitian diperoleh jeruk asam (*Citrus aurantium*) berumur 7 bulan sangat baik sebagai batang bawah. Keberhasilan tanaman induk batang bawah menyatu dengan mata tempel sangat dipengaruhi oleh umur pohon jeruk sumber mata tempel dan lama penyimpanan mata tempel. Kondisi optimum pertumbuhan dan perkembangan jeruk keprok Brastepu hasil okulasi diperoleh menggunakan pohon jeruk sumber mata tempel dari tanaman sehat yang relatif muda, dan okulasi efektif bila dilakukan langsung pada hari pada saat pengambilan mata tempel karena menghasilkan bibit dengan tunas terpanjang, jumlah daun terbanyak, jumlah cabang terbanyak dan persentase tanaman yang hidup paling tinggi.

Kata kunci: Biokonservasi, jeruk keprok, *Citrus nobilis* Brastepu, okulasi, plasmanuftah, Jeruk Brastagi

PENDAHULUAN

Erupsi Gunung Sinabung Tahun 2013-2014 yang melanda Desa Brastepu sangat berpengaruh pada percepatan kepunahan jeruk lokal Brastagi sebagai salah satu plasmanuftah Indonesia. Jeruk Brastagi, yaitu jeruk keprok Brastepu, pernah menjadi buah andalan (primadona) Sumatera Utara karena keunggulan genetika yang dimiliki dalam hal cita rasa manis, bentuk buah dan warna yang menarik, ukuran buah besar, dan memiliki kandungan bioaktif dalam kulit buah dan daun yang dipergunakan sebagai bahan obat-obatan. Akan tetapi, jeruk keprok Brastepu tidak dilestarikan lagi karena rentan terhadap penyakit CVPD [1]. Survey yang dilakukan tim peneliti menunjukkan bahwa jeruk Brastepu hanya tinggal 1 sampai 2 pohon yang bertahan dari serangan penyakit CVPD lebih dari 20 tahun yang lalu. Keberadaan jeruk Brastagi sudah diganti dengan jeruk madu impor, dan erupsi Gunung Sinabung yang melanda Desa Brasitepu, tempat asal jeruk Brasiepu mempercepat punahnya tanaman ini. Sebelum jeruk tersebut punah maka perlu dilakukan biokonservasi dengan menggunakan jeruk Brastepu yang masih hidup di sekitar Kabupaten Karo Sumatera Utara. Biokonservasi jeruk lokal varietas Brastepu perlu dilakukan untuk mempertahankan keanekaragaman hayati Indonesia agar jeruk lokal ini tidak punah.

Perbanyakan tanaman jeruk pada umumnya dilakukan melalui generatif dengan biji, perbanyakan secara vegetatif melalui sambung, stek, okulasi dan kultur jaringan [2-4]. Teknik okulasi telah lama dilakukan untuk perbanyakan bibit jeruk, baik oleh petani jeruk maupun dalam penyediaan bibit jeruk secara komersil. Teknik okulasi adalah dengan menempelkan mata tunas pada tanaman batang bawah. Metode berdasarkan bentuk sayatan pada batang bawah dan cara meletakkan mata tempel. Beberapa metode okulasi yang dilakukan adalah *T-budding*, *Chip Budding*, *Patch budding* dan *V-budding* [5]. Teknik okulasi memiliki beberapa keuntungan dalam jaminan kualitas dan kuantitas produksi karena tanaman yang diperoleh hampir sama dengan tanaman induknya, sehingga dipandang sangat menguntungkan karena sudah dapat menduga hasil akhir yang akan diperoleh pasca budidaya. Teknik okulasi memerlukan batang bawah dengan perakaran baik dan mata tempel dipilih dari tanaman unggul. Persyaratan lainnya adalah pertumbuhan batang atas dan bawah seimbang [6]. Batang bawah yang diperbanyak dengan biji dengan cepat dapat menyesuaikan dengan pertumbuhan mata tempel jeruk, dan keberhasilan okulasi sangat dipengaruhi oleh masa simpan mata tempel, media pembungkus dan masalah teknis pada daerah tempelan [7].

Penggunaan teknik okulasi sebagai strategi biokonservasi jeruk lokal varietas Brastepu sangat tepat dilakukan untuk perbanyakan bibit jeruk lokal Sumatera Utara sebagai usaha paling cepat untuk melestarikan kekayaan plasma nuftah tanaman jeruk manis Indonesia yang terancam punah. Penelitian ini bertujuan untuk penyediaan bibit jeruk keprok Brastepu sebagai langkah awal biokonservasi melalui perbanyakan secara tempel dari sumber tanaman yang masih hidup sehingga dapat dipergunakan sebagai sumber bibit mengatasi kelangkaan jeruk lokal di Sumatera Utara.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan tanaman jeruk keprok Brastepu (*Citrus nobilis* Brasitepu) yang dipergunakan adalah tanaman jeruk yang tumbuh secara alami di lahan perkebunan yang tidak kena dampak erupsi gunung Sinabung, yaitu Desa Bukit Brastagi, Kabupaten Karo Sumatera Utara. Bahan tanaman lain yang menjadi batang bawah dalam teknik okulasi adalah jeruk asam (*Citrus aurantium*) berumur 6 bulan. Peralatan yang diperlukan dalam teknik okulasi adalah bahan plastik pengikat, pisau, pupuk, dan pestisida.

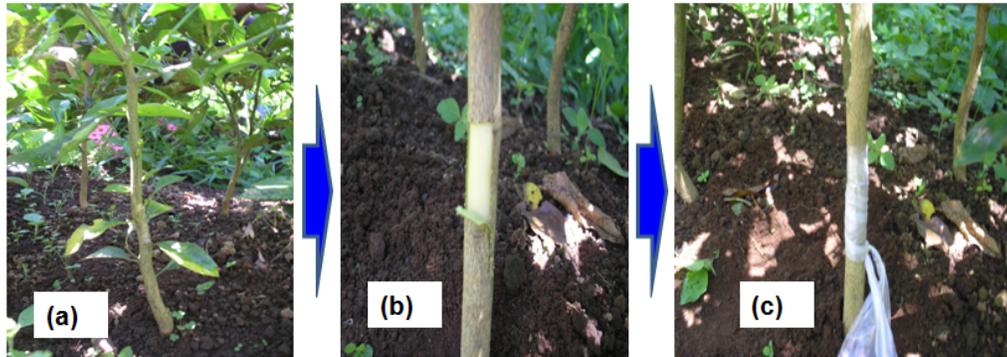
Prosedur Penelitian

Teknik okulasi biokonservasi jeruk lokal varietas Brastepu yang dilakukan mengikuti metode yang penelitian sebelumnya [7,8]. Penyediaan batang bawah adalah biji jeruk asam disemai di tanah bedengan dan ditumbuhkan selama 6 bulan. Penyediaan batang sumber entres atau mata tempel adalah berasal dari jeruk keprok Brastepu dipilih dari pohon yang masih produktif, sehat, dan umur yang berbeda (± 15 dan 30 tahun). Seleksi dan persiapan okulasi dilakukan dengan cara memilih cabang sumber mata entres dan disimpan di dalam pelepah pisang. Pemotongan batang bawah, pemotongan dan penyisipan mata entres dilakukan dengan cara memilih batang bawah dengan diameter 0.8-1.0 cm, disayat sepanjang ± 2 cm dan lebar $\pm 0,8$ cm pada sekitar 20 cm dari pangkal batang. Lembaran kulit batang yang mengandung mata entres diambil dari pohon induk, dipotong kurang lebih sama ukurannya dengan besarnya luka sayatan pada batang bawah. Mata entres ditempelkan pada sayatan batang bawah dan secepat mungkin dibalut dengan plastik supaya terjadi perlekatan sekaligus menjaga mata entres tidak kering. Cara yang sama dilakukan untuk cabang sumber mata entres yang disimpan 1-5 hari, dengan 6 ulangan. Balutan dipertahankan selama 2 minggu sampai mata tempel menyatu dengan batang bawah. Hasil okulasi selanjutnya dipindahkan ke polibag dan disusun acak dan terlebih dahulu tunas batang bawah dipotong sehingga batang bawah yang tertinggal hanya ± 5 cm sampai ± 10 cm dari tempat okulasi. Pengamatan dilakukan selama 5 bulan dan peubah yang diamati meliputi jumlah daun, tinggi tanaman, jumlah cabang, dan persentase okulasi yang hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biokonservasi Jeruk Keprok Brasitepu Secara Okulasi

Teknik biokonservasi jeruk keprok Brastepu secara okulasi dilakukan untuk mendapatkan tanaman jeruk lokal pada batang bawah jeruk asam. Beberapa faktor penentu perlu diperhatikan pada perbanyak jeruk secara okulasi diantaranya adalah kualitas batang bawah, tanaman induk sebagai sumber tanaman yang akan diokulasi (tempel), teknik tempel, dan perawatan tanaman pasca penempelan. Pemilihan tanaman jeruk asam sebagai batang bawah karena daya tahan (resistensi) terhadap berbagai jenis penyakit, dan kemampuan tanaman beradaptasi dengan mata tempel jeruk Brastepu sudah terbukti [7]. Strategi okulasi untuk menempelkan mata tempel jeruk keprok Brastepu pada batang pohon jeruk asam diperlihatkan pada Gambar 1.

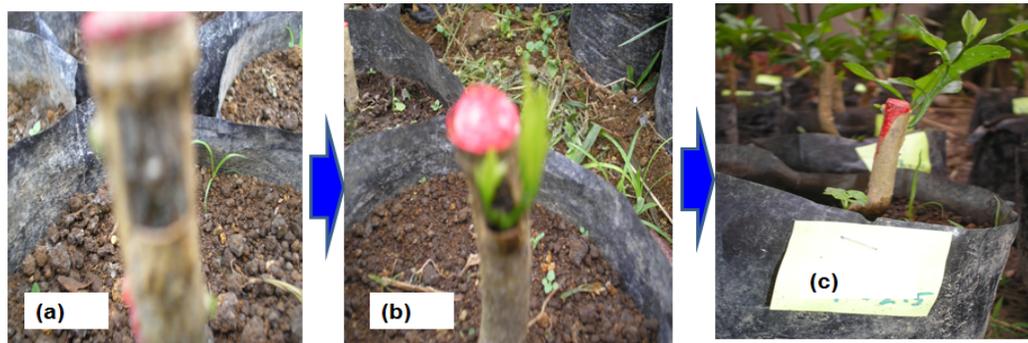


Gambar 1. Teknik okulasi untuk perbanyak tanaman jeruk keprok Brastepu sebagai mata tempel pada tanaman batang bawah jeruk asam: **(a)** Penyediaan batang bawah **(b)** Pemotongan bagian kulit tanaman batang bawah tempat ditempel sesuai ukuran mata tempel tunas jeruk keprok Brastepu yang akan ditempelkan, **(c)**, Proses penempelan tunas jeruk keprok Brastepu pada batang bawah dan pengikatan mata tempel dengan batang bawah untuk proses inkubasi.

Batang bawah yang sehat berumur 6 bulan disediakan (Gambar 1a), lalu kulit tanaman batang bawah disayat seukuran dengan mata tempel tunas jeruk keprok Brastepu yang akan ditempelkan dengan kulit terbuka (Gambar 1b), dilanjutkan dengan penempelan tunas jeruk keprok Brastepu pada batang bawah dan pengikatan mata tempel dengan batang bawah menggunakan plastik agar menyatu dengan batang induk sekaligus menjaga sambungan tidak terinfeksi dan basah (Gambar 1c). Bahan mata tempel jeruk keprok Brastepu segera disimpan di dalam pelepah pisang untuk menjaga tanaman dari kekeringan mengikuti prosedur adaptasi fisiologis yang lazim dilakukan oleh petani tradisional di Brastagi. Proses inkubasi dilakukan agar mata tempelan dengan kulit batang bawah menyatu dengan sempurna. Beberapa hal penting yang perlu diperhatikan dalam teknik okulasi jeruk keprok Brastepu pada batang bawah jeruk asam diantaranya adalah: (1) kondisi lingkungan harus dijaga saat menempelkan mata tempel Brasitepu agar debu tidak masuk ke dalam bagian kulit tanaman yang dikelupas, (2) ukuran kulit batang bawah tempat tempelan harus sama dengan ukuran mata tempel tanaman jeruk keprok Brastepu, (3) penempelan bakal tunas harus dilakukan secepat mungkin pada posisi kulit tanaman induk menyisip kulit bakal tunas yang ditempelkan, (4) pengikatan untuk menyatukan mata tempel jeruk keprok Brastepu dengan batang bawah jeruk asam harus dilakukan dengan baik, kuat dan tidak memberikan celah udara pada penyambungan, (5) pembukaan ikatan dilakukan setelah periode 2 minggu inkubasi. Pemindahan tanaman ke dalam polibag dilakukan setelah yakin bahwa mata tempel sudah benar-benar menyatu dengan batang bawah, dan dilanjutkan dengan pemotongan bagian tanaman induk kira-kira 5-10 cm di atas tempat penempelan, diikuti dengan pemberian cat pada bagian pemotongan untuk menghindarkan terjadinya perkembangan jamur pada bagian tanaman yang terluka. Bentuk bibit tanaman jeruk keprok Brastepu yang ditempelkan dan dipotong bagian tanaman induk yang ditunggu pertumbuhan tunasnya sampai terbentuk tunas diperlihatkan pada Gambar 2.

Proses pertumbuhan tunas dalam teknik okulasi perbanyak tanaman jeruk keprok Brastepu dapat diketahui apabila bagian bakal tunas bertumbuh menjadi tunas

setelah ikatan dibuka selama 1 minggu (Gambar 2a), selanjutnya tunas ini terlihat tumbuh dengan baik seperti cabang setelah dibiarkan selama 2 minggu setelah pembukaan bungkus tempelan tunas di dalam batang jeruk induk (Gambar 2b), dan setelah dibiarkan selama 1 bulan terlihat tunas bertumbuh sempurna sama seperti tunas tanaman dewasa (Gambar 2c). Apabila tunas tidak bertumbuh maka batang bawah masih dapat dipergunakan kembali setelah dibiarkan bertumbuh kira-kira 1 bulan.



Gambar 2. Pertumbuhan tunas jeruk keprok Brastepu dalam teknik okulasi setelah dipindah di dalam polibag: **(a)** Bagian mata tempel yang menyatu setelah dibuka digores berwarna hijau, **(b)** Bagian tunas yang bertumbuh setelah dibuka selama 3 minggu terlihat tunas bertumbuh dengan baik, **(c)** Tunas yang bertumbuh seperti tanaman dewasa pada umur 1 bulan.

Pengaruh Penyimpanan *Bud Stick* Terhadap Pertumbuhan Tunas

Bahan ranting tanaman jeruk keprok Brastepu yang dipergunakan sebagai sumber mata tempel (*bud stick*) dalam teknik okulasi diambil dari tanaman sehat dari tiga lokasi desa di Kabupaten Karo berturut-turut Desa Bukit, Desa Tongkah, dan Desa Beganding, sedangkan okulasi di lakukan di satu lokasi Desa Bukit. Untuk menjamin kualitas *bud stick* yang dipergunakan dalam teknik okulasi maka di lakukan penyimpanan *bud stick* pada pelepah pisang sampai waktu pelaksanaan okulasi. Bahan tanaman disimpan secara tradisional di dalam pelepah pisang dan dibalut dengan kain sebagai prosedur umum yang dilakukan oleh petani jeruk dalam teknik okulasi untuk memelihara kondisi fisiologis ranting bahan tanaman konstan saat penyimpanan ranting sebelum dipergunakan untuk keperluan mata tempel. Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan ranting tanaman sebagai bahan tanaman jeruk keprok Brastepu terhadap kemampuan *bud stick* menempel pada tanaman induk dilakukan okulasi dengan lama penyimpanan *bud stick* di dalam pelepah pisang dan dibalut dengan kain selama 1-3 hari.

Dalam teknik okulasi jeruk keprok Brastepu, disediakan masing-masing 6 bibit tanaman induk untuk setiap kelompok, sehingga tersedia sebanyak 288 batang pohon jeruk asam sebagai batang bawah. Sebagai sumber *bud stick* diambil dari pohon jeruk keprok Brastepu yang relatif muda umur ± 10 tahun (M), dan jeruk keprok Brastepu relatif tua umur ± 20 tahun (T). Pengaruh lama penyimpanan *bud stick* terhadap kemampuan menyatu antara mata tempel jeruk keprok Brastepu pada tanaman batang bawah jeruk asam dalam teknik okulasi pada masing-masing kelompok perlakuan diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh lama penyimpanan *bud stick* terhadap kemampuan menyatunya mata tempel jeruk pada tanaman batang bawah jeruk asam dalam teknik okulasi.

No	Lama penyimpanan ranting (<i>bud stick</i>) sumber mata tempel*	Jeruk Keprok Brastepu dari Desa Bukit				Jeruk Keprok Brastepu dari Desa Tongkah				Jeruk Keprok Brastepu dari Desa Beganding				Total	
		Tumbuh		Mati		Tumbuh		Mati		Tumbuh		Mati		Tumbuh	Mati
		M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T		
1	0 hari	6	6	0	0	6	6	0	0	6	6	0	0	36	0
2	1 hari	6	6	0	0	6	6	0	0	6	5	0	1	35	1
3	2 hari	6	5	0	1	5	6	1	0	6	5	0	1	33	3
4	3 hari	5	5	1	1	4	5	2	1	5	5	1	1	29	7
5	4 hari	5	4	1	2	4	5	2	1	4	5	2	1	27	9
6	5 hari	3	3	3	3	3	2	3	4	4	3	2	3	18	18
7	7 hari	1	0	5	6	1	0	5	6	1	0	5	6	3	33
8	10 hari	0	0	6	6	0	0	6	6	1	0	5	6	1	35
Jumlah		32	29	16	19	29	30	19	18	33	29	15	19	182	106

Keterangan: M = tanaman induk asal *bud stick* sumber mata tempel umur ± 10 tahun

T = tanaman induk asal *bud stick* sumber mata tempel umur ± 20 tahun

*Ranting disimpan di dalam pelepah pisang pada suhu normal dan dibalut dengan kain

Keberhasilan tanaman induk batang bawah menyatu dengan mata tempel sangat dipengaruhi oleh penyimpanan sumber mata tempel setelah diambil dari tanaman asal. Pengaruh lama penyimpanan *bud stick* terhadap kemampuan menyatunya mata tempel jeruk keprok Brastepu pada tanaman batang bawah jeruk asam diringkas pada Tabel 1. Dari hasil ini terlihat bahwa semua (100%) mata tempel jeruk keprok Brastepu yang diokulasi pada hari yang sama dengan pengambilan ranting (0 hari) dapat menyatu dengan batang bawah jeruk asam. Pola pertumbuhan yang baik juga diperoleh pada kelompok okulasi menggunakan mata tempel yang disimpan 2-3 hari, yaitu berturut-turut 97% dan 92% hidup. Dapat dinyatakan bahwa okulasi menggunakan *bud stick* yang disimpan tidak terlalu lama sangat baik untuk okulasi jeruk keprok Brastepu. Tidak ada perbedaan antara mata tempel yang berasal dari jeruk keprok Brastepu yang relatif tua umur ± 20 tahun dengan yang relatif muda umur ± 10 tahun, semuanya dapat menyatu dengan baik dengan batang bawah, yang ditunjukkan dengan kulit tanaman yang hijau pada saat digores kulit arinya. Kemampuan mata tempel menyatu dengan batang bawah semakin menurun setelah ranting sumber mata tempel disimpan di dalam pelepah daun pisang selama 3 malam, yaitu hanya 81% tanaman yang hidup. Kemampuan mata tempel menyatu dengan tanaman induk yang hidup semakin menurun bila *bud stick* disimpan semakin lama, yaitu berturut-turut jumlah tanaman yang hidup sebanyak 75% dan 50% bila mata tempel disimpan 4 dan 5 hari. Hampir tidak ada tanaman yang hidup bila mata tempel disimpan 7-10 hari, yaitu pertumbuhan di bawah 10%. Fenomena ini menunjukkan bahwa *bud stick* bahan tanaman yang disimpan di dalam pelepah pisang akan semakin terganggu keadaan fisiologinya apabila *bud stick* disimpan semakin lama sebelum ditempelkan. Mata tempel yang diambil dari tanaman yang relatif tua (umur ± 20

tahun) lebih banyak mati bila dibanding terhadap tanaman yang menggunakan sumber *bud stick* dari tanaman relatif muda (umur ± 10 tahun). Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor umur yang akan mempercepat adanya kerusakan *bud stick* pada penyimpanan lebih lama.

Pertumbuhan dan Perkembangan Okulasi Jeruk Keprok Brastepu

Pertumbuhan dan perkembangan jeruk keprok Brastepu hasil okulasi diamati mulai dari saat pelepasan ikatan mata tempelan pada jeruk asam (lemon) batang bawah sampai umur 5 bulan. Pengamatan dilakukan secara intensif untuk melihat potensi jeruk dalam bertumbuh menjadi tanaman yang sempurna. Pengamatan yang dilakukan meliputi pertumbuhan dan perkembangan batang tunas, daun, dan cabang sebagai tingkat keberhasilan teknik okulasi perbanyak jeruk keprok Brastepu seperti dirangkum pada Tabel 2. Diketahui bahwa lama penyimpanan *bud stick* sebagai sumber mata tempel

Tabel 2. Rataan jumlah cabang jeruk keprok Brastepu pada variasi perlakuan umur pohon sumber mata tempel dan lama penyimpanan mata tempel, sampai tanaman hasil okulasi berumur 5 bulan

Variasi Lama penyimpanan Mata Tempel	Rataan pertumbuhan dan perkembangan jeruk okulasi					
	Panjang Batang (cm)		Jumlah Daun (helai)		Jumlah Cabang (buah)	
	1 bln	5 bln	1 bln	5 bln	1 bln	5 bln
MB0	2,93	64,43	7,90	71,80	1,20	8,30
MB1	2,11	51,11	6,40	65,90	1,15	7,20
MB2	1,94	45,55	4,20	57,10	1,00	6,15
MB3	1,38	45,11	3,30	49,80	0,75	5,71
MB4	1,11	25,25	1,90	39,20	0,57	3,15
MB5	0,48	19,38	1,20	29,20	0,45	2,30
TB0	2,78	61,22	6,70	61,60	1,12	7,30
TB1	2,03	48,15	6,00	58,90	1,01	6,90
TB2	1,89	41,21	4,10	51,50	0,91	6,10
TB3	1,31	32,23	2,80	42,10	0,67	5,12
TB4	0,92	20,29	1,50	22,90	0,42	2,95
TB5	0,36	11,88	1,10	20,60	0,31	1,75
Rata-rata	1,60	38,82	3,93	47,55	0,80	5,24

Keterangan:

M = tanaman induk asal *bud stick* sumber mata tempel umur ± 10 tahun,

T = tanaman induk asal *bud stick* sumber mata tempel umur ± 20 tahun

B0 = lama penyimpanan *bud stick* 0 hari, B1 = lama penyimpanan *bud stick* 1 hari

B2 = lama penyimpanan *bud stick* 2 hari, B3 = lama penyimpanan *bud stick* 3 hari

B4 = lama penyimpanan *bud stick* 2 hari, B5 = lama penyimpanan *bud stick* 3 hari

sangat berpengaruh terhadap pertambahan panjang batang tunas, jumlah daun, dan jumlah cabang jeruk keprok Brastepu (Tabel 2). Hampir semua tanaman jeruk keprok Brastepu yang diokulasi menggunakan *bud stick* yang disimpan tidak terlalu lama (0-4 hari) menunjukkan pertumbuhan jumlah batang tunas, daun dan cabang tinggi bila dibandingkan terhadap kelompok tanaman yang diokulasi menggunakan mata tempel disimpan lebih lama (5-10 hari). Pola pertumbuhan jumlah batang tunas, daun dan cabang secara konsisten sangat dipengaruhi oleh sumber mata tempel. Kelompok tanaman menggunakan *bud stick* dari pohon relatif muda menunjukkan pertumbuhan jumlah batang tunas, daun, dan cabang lebih tinggi bila dibandingkan kelompok tanaman menggunakan mata tempel dari pohon relatif tua. Pola pertumbuhan dan perkembangan batang tunas, daun, dan cabang terlihat konsisten pada pengamatan bulan pertama sampai bulan ke lima.

Dapat dinyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan jeruk keprok Brastepu hasil okulasi menggunakan mata tempel *bud stick* relatif muda lebih baik bila dibandingkan dengan kelompok tanaman jeruk keprok Brastepu dengan *bud stick* dari pohon relatif tua. Semakin lama mata tempel disimpan di dalam pelepah pisang akan mengurangi kemampuan pertumbuhan dan perkembangan jeruk keprok Brastepu. Untuk menghasilkan tanaman okulasi yang baik maka tanaman induk sumber *bud stick* harus diusahakan dari tanaman sehat yang relatif muda, dan penyimpanan mata tempel sebaiknya tidak lama. Dari sebanyak 288 batang bibit jeruk manis Okulasi jeruk keprok Brastepu menggunakan mata tempel dari tanaman induk yang relatif muda lebih efektif dalam menghasilkan tunas dibandingkan dengan tanaman yang menggunakan mata tempel dari tanaman induk yang relatif tua. Tanaman jeruk keprok Brastepu hasil tempelan menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan yang sangat menggembirakan, yaitu tumbuh dan berkembang mejadi bibit jeruk manis Brastepu yang sempurna dan siap untuk dipindahkan ke lapang sebagai strategi biokonservasi yang paling cepat dalam melestarikan tanaman jeruk keprok Brastepu dari kepunahan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diketahui bahwa teknik okulasi untuk penyediaan bibit jeruk keprok Brastepu sebagai langkah awal biokonservasi dari sumber tanaman yang masih hidup telah berhasil dilakukan untuk dipergunakan sebagai sumber bibit mengatasi kelangkaan jeruk lokal di Sumatera Utara. Keberhasilan tanaman induk batang bawah menyatu dengan mata tempel sangat dipengaruhi oleh umur *bud stick* dan lama penyimpanan mata tempel. Kondisi optimum pertumbuhan dan perkembangan jeruk keprok Brastepu okulasi diperoleh menggunakan *bud stick* dari tanaman sehat yang relatif muda, dan okulasi dilakukan langsung pada hari pada saat pengambilan mata tempel menghasilkan bibit dengan tunas lebih panjang, jumlah daun lebih banyak, dan jumlah cabang lebih banyak.

PUSTAKA

- [1] Nurwahyuni, I., (2012), Optimalisasi Teknik *In Vitro* Perbanyakan Jeruk Keprok Brastepu, *Jurnal Sains Indonesia* **36(1)**: 8 - 15.
- [2] Sanford M.T. 1992. *Pollination of citrus by honey bees*. UF/IFAS document RFAA092. Available [online](#).

- [3] Rieger, M., (2006), *Introduction to Fruit Crops*. Hawthorn Food Products Press, NY. p.462.
- [4] Su, H. J. (2008), *Production and cultivation of virus free citrus saplings for citrus rehabilitation in Taiwan.*, APCoAB. New Delhi. India.
- [5] Williamson, J.G., dan Jackson, L.K., (1994), *Citrus propagation*. University of Florida, Fact Sheet HS-86, June 1994. <http://ultimatecitrus.com>
- [6] Sumaatmaja, G., (2001), *Teknik perbanyakan tanaman jeruk manis di Kabupaten Bengkulu Selatan*. Laporan Teknis PUSLIT-Biologi-LIPI. Jakarta.
- [7] Nurwahyuni, I., Napitupulu, J.A., Rosmayati, dan Harahap, F., (2012), Pertumbuhan Okulasi Jeruk Keprok Brastepu (*Citrus nobilis* Var. Brasitepu) Menggunakan Jeruk Asam Sebagai Batang Bawah, *Jurnal Penelitian Saintika* **12(1)**: 24-35.
- [8] Prastowo, N.R.; Roshetso, J.M.; Manurung, G.E.S.; Nugraha, E.; Julian, J.M. dan Harum, F., (2006), *Teknik pembibitan dan perbanyakan vegetatif tanaman buah*. World Agroforestry centre (ICRAF). Bogor. p.87.

POTENSI EKSTRAK SEGAR *Ageratum conyzoides* L. DAN *Piper betle* L. SEBAGAI HERBISIDA ORGANIK PADA GULMA *Borreria alata* (Aublet) DC

THE POTENCY OF *Ageratum conyzoides* L. AND *Piper betle* L. FRESH EXTRACT AS ORGANIC HERBICIDE ON *Borreria alata* (Aublet) DC WEED

Siti Fatonah¹, Herman¹, Mayta Novaliza Isda¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Riau Pekanbaru

*Email: fath0104@gmail.com, Jl. H. Subrantas Km 12,5
Simpang Panam, Pekanbaru Riau, 085375233396

ABSTRACT

The aim of this study was to determine effect of fresh leaf extract of *Ageratum conyzoides* and *Piper betle* as organic herbicide on weed *Borreria alata*, by its effect to seed germination and seedling's growth of *Borreria alata* weed in polybag at garden. The experiment was designed in Randomized Block Design, with different extract concentration [M1: 0 % (kontrol), M2: 5 % *A. conyzoides*, M3: 10 % *A. conyzoides*, M4: 20 % *A. conyzoides*, M5: 5 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M6: 10 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M7: 20 % *A. conyzoides* + *P. Betle*]. Leaf extract was sprayed on the soil surface evenly and weed seedling surface. Extract was applied at the time of planting seeds once a week for 4 weeks. Results showed that extracts of *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* reduced germination and of growth *Borreria alata* weed and its increase damage symptom of seedling weed. Combination extract of 20 % *Ageratum conyzoides* with *Piper betle* showed the highest inhibitory effect.

Keywords : organic herbicide, fresh extract, *Ageratum conyzoides*, *Piper betle*, *Borreria alata*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi ekstrak segar daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* sebagai herbisida organik pada gulma *Borreria alata* melalui pengaruhnya terhadap perkecambahan dan pertumbuhan anakan pada polibag di kebun percobaan. Percobaan dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok, dengan berbagai perlakuan ekstrak (M1: 0 % (kontrol), M2: 5 % *A. conyzoides*, M3: 10 % *A. conyzoides*, M4: 20 % *A. conyzoides*, M5: 5 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M6: 10 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M7: 20 % *A. conyzoides* + *P. betle*). Ekstrak daun disemprotkan pada permukaan tanah secara merata dan permukaan anakan gulma. Pemberian ekstrak dilakukan pada saat penanaman biji seminggu sekali selama 4 minggu. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun *A. conyzoides* dan *P. betle* mampu menghambat perkecambahan, pertumbuhan anakan gulma dan meningkatkan kerusakan anakan gulma. Kombinasi ekstrak 20 % *A. conyzoides* + *P. betle* menunjukkan pengaruh penghambatan tertinggi.

Kata kunci: herbisida organik, ekstrak segar, *Ageratum conyzoides*, *Piper betle*, *Borreria alata*

PENDAHULUAN

Gulma merupakan salah satu kendala di lahan tanaman budidaya yang mengakibatkan penurunan hasil 20 hingga 80 %. Gulma mengganggu tanaman budidaya karena berkompetisi dalam mendapatkan hara, air, cahaya dan ruang [1] [2]. Pengendalian gulma umumnya dilakukan secara kimia menggunakan herbisida karena lebih praktis dan efektif. Namun pengendalian gulma menggunakan herbisida yang terus menerus dapat mengakibatkan resistensi gulma, merusak lingkungan dan berdampak negatif bagi kesehatan manusia.

Pada sistem pertanian organik, pengendalian gulma menggunakan herbisida harus dihindari. Salah satu alternatif lain untuk menghindari penggunaan herbisida adalah menggunakan herbisida organik. Herbisida organik komersial yang ada saat ini umumnya sangat mahal. Herbisida organik komersial yang berasal dari ekstrak tumbuhan umumnya mengandung alelopat antara lain minyak atsiri, contohnya GreenMatch (55% d-limonene), Matratec (50% clove oil), WeedZap (45% clove oil + 45% cinnamon oil) dan GreenMatch EX (50% lemongrass oil) [3] [4].

Salah satu upaya pengendalian gulma yang dapat dilakukan dengan biaya murah antara lain melalui herbisida organik yang berasal dari ekstrak tumbuhan yang mudah didapatkan, mudah tumbuh dan mengandung minyak atsiri, antara lain *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle*. Dari hasil ekstraksi daun *Ageratum conyzoides* ditemukan 6 jenis minyak atsiri [5]. *A. conyzoides* juga mengandung alkaloids dan flavonoids. Kandungan minyak atsiri paling tinggi terdapat pada daun, yaitu sekitar 0,11 sampai 0,58%. Daun *Piper betle* mengandung sekitar 11 macam senyawa minyak atsiri, yang mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi. Kandungan minyak atsiri *Piper betle* mencapai 50 g tiap 100 g ekstrak segar daun [6].

Pemberian ekstrak beberapa tanaman yang mengandung minyak atsiri antara lain *Majorana hortensis* L. (*marjoram*), *Melissa officinalis* L. (*lemon balm*), *Origanum vulgare* L. (*oregano*), *Thymus vulgaris* L. (*thyme*) (Lamiaceae), *Carumcarvi* L. (*caraway*), *Verbena officinalis* L. (*vervain*) (Verbenaceae) masing-masing dengan konsentrasi 2,5 mg/L menunjukkan penghambatan perkecambahan mencapai 100% pada biji *Lactuca sativa* [7]. Minyak atsiri dari ekstrak daun *Eucalyptus globulus* 3,5 nL/L mampu menghambat perkecambahan gulma *Amaranthus blitoides* hingga mencapai 51% [8].

Kemampuan biji gulma berkecambah menentukan keberadaan gulma di berbagai lahan pertanian. Herbisida organik umumnya lebih efektif pada gulma anakan dari pada gulma dewasa. Untuk mengetahui potensi dari ekstrak daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* sebagai herbisida organik maka perlu diujikan kemampuannya dalam menekan perkecambahan dan pertumbuhan anakan gulma yang mendominasi di berbagai lahan pertanian. Diantara gulma yang mendominasi di berbagai lahan antara lain gulma rumput setawar (*Borreria alata* (Aublet) DC.). Gulma *Borreria alata* termasuk gulma berdaun lebar yang dominan di perkebunan kelapa sawit Kampar Riau [9].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi ekstrak daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* sebagai herbisida organik pada gulma *Borreria alata* melalui pengaruhnya terhadap perkecambahan dan pertumbuhan anakan gulma.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Kebun Biologi dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Penelitian dilakukan pada polibag yang disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok. Penelitian berupa percobaan faktor tunggal yang terdiri dari 7 perlakuan ekstrak [M1: 0 % (control), M2: 5 % (50 g/L) *A. Conyzoides*, M3: 10 % (100 g/L) *A. conyzoides*, M4: 20 % (200 g/L) *A. conyzoides*, M5: 5 % (50 g/L) *A. conyzoides* + *P. betle*, M6: 10 % (100 g/L) *A. conyzoides* + *P. betle*, M7: 20 % (200g/L) *A. conyzoides* + *P. Betle*].

Bahan yang digunakan adalah biji *Borreria alata*, daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle*, tanah *top soil*, dan air. Alat yang digunakan adalah blender, timbangan digital, polibag (35 x 40 cm), *hand sprayer*, penyaring (kain lap), kertas label, alat tulis dan peralatan gelas.

Tahapan yang dilakukan selama penelitian adalah pembuatan ekstrak, persiapan media tanah, pengumpulan biji gulma, penanaman biji gulma, perlakuan ekstrak, dan pemanenan gulma. Biji *Borreria alata* disebarakan secara merata di atas permukaan tanah sebanyak 20 biji per polibag. Ekstrak daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* dibuat dalam bentuk segar, dengan cara diblender, direndam dalam air selama satu jam dan disaring. Untuk masing-masing konsentrasi dibuat stok sebanyak satu liter. Misalnya untuk 5% ekstrak dibuat dengan menimbang sebanyak 50 g daun, kemudian diblender dengan menambahkan 100 ml air, disaring dan ditambah air hingga mencapai satu liter. Perlakuan ekstrak diberikan sesuai perlakuan dengan frekuensi seminggu sekali selama 4 minggu, dimulai saat penanaman. Penyemprotan dilakukan pada permukaan tanah dan permukaan anakan gulma secara merata. Pengamatan dilakukan sampai akhir minggu keempat.

Peubah yang diamati adalah perkecambahan [persentase perkecambahan (%) dan penghambatan perkecambahan dibandingkan kontrol (%)], pertumbuhan anakan gulma [(berat basah (g), panjang akar (cm), tinggi tanaman (cm), jumlah daun (helai), penurunan pertumbuhan dibandingkan kontrol (%) dan persentase kerusakan anakan Gulma (%), serta peningkatan kerusakan anakan gulma dibandingkan kontrol (%)]. Jumlah biji yang berkecambah dihitung selama 4 minggu. Kemudian dihitung persentase perkecambahan biji. Persentase perkecambahan dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase Perkecambahan (\%)} = \frac{\text{Jumlah biji yang berkecambah}}{\text{Jumlah total biji yang ditanam}} \times 100 \%$$

Penghambatan perkecambahan dibandingkan kontrol menunjukkan efektivitas ekstrak dalam menghambat perkecambahan, dihitung dengan rumus:

Penghambatan perkecambahan (%) =

$$\frac{\% \text{ perkecambahan perlakuan kontrol} - \% \text{ perkecambahan perlakuan ekstrak}}{\% \text{ perkecambahan perlakuan kontrol}} \times 100 \%$$

Pengukuran panjang akar utama diukur dimulai dari leher akar sampai ujung akar yang terpanjang. Pengukuran tinggi tanaman diukur mulai dari leher akar sampai pucuk terpanjang yang diluruskan. Perhitungan jumlah daun dilakukan dengan menghitung seluruh daun gulma yang muncul dengan syarat daun telah membuka sempurna. Gejala kerusakan yang terjadi berupa bercak seperti terbakar atau kematian jaringan pada daun.

Persentase kerusakan anakan gulma adalah banyaknya anakan gulma yang mengalami kerusakan setelah berkecambah selama waktu pengamatan. Jumlah anakan gulma yang mengalami kerusakan pada setiap polibag diamati hingga akhir minggu keempat pengamatan. Persentase kerusakan anakan gulma dapat dihitung dengan menggunakan rumus

$$\text{Persentase kerusakan (\%)} = \frac{\text{Jumlah anakan yang mengalami kerusakan}}{\text{Jumlah total anakan yang tumbuh}} \times 100 \%$$

Data dianalisis menggunakan Analysis Of Variance (ANOVA). Apabila hasil ANOVA menunjukkan adanya pengaruh nyata, maka diuji lanjut dengan menggunakan Duncan's Multi Range Test (DMRT) pada taraf 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkecambahan Biji *Borreria alata*

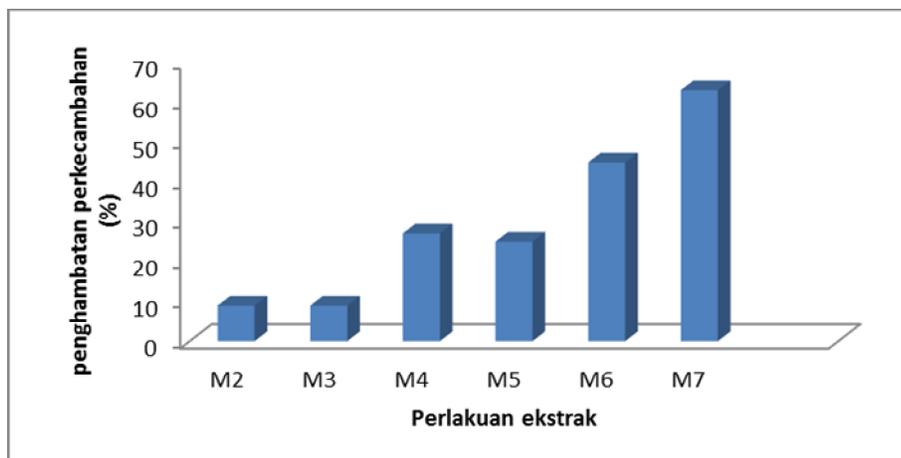
Dari hasil ANOVA menunjukkan adanya pengaruh nyata perlakuan konsentrasi ekstrak *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* terhadap perkecambahan *Borreria alata*. Rerata perkecambahan *Borreria alata* terlihat pada Tabel 1. Adapun persentase penghambatan perkecambahan dibandingkan kontrol terlihat pada gambar 1.

Tabel 1. Rerata Perkecambahan *Borreria alata* pada beberapa konsentrasi ekstrak daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* 28 hari setelah tanam.

Konsentrasi ekstrak daun	Persentase perkecambahan (%)
0 % (control)	100 a
5 % <i>A. conyzoides</i>	91 a
10 % <i>A. conyzoides</i>	91 a
20 % <i>A. conyzoides</i>	73 a
5 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	75 a
10 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	55 a
20 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	35 b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT taraf 5 %.

Hasil pengamatan perkecambahan (tabel 1) menunjukkan kecenderungan perlakuan ekstrak segar daun *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* mampu menurunkan perkecambahan mulai konsentrasi terendah (5%) sampai tertinggi (20%) dengan penurunan 9% sampai 63% dibandingkan kontrol (gambar 1). Namun demikian, penurunan perkecambahan secara nyata baru terjadi pada perlakuan kombinasi *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* konsentrasi 20% dengan penurunan mencapai 63% dibandingkan kontrol.



Gambar 1 Penghambatan perkecambahan biji gulma *Borreria alata* dibandingkan kontrol pada berbagai pemberian ekstrak, yaitu M1: 0 % (control), M2: 5 % *A. conyzoides*, M3: 10 % *A. conyzoides*, M4: 20 % *A. conyzoides*, M5: 5 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M6: 10 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M7: 20 % *A. conyzoides* + *P. betle*.

Dari hasil tersebut menunjukkan kombinasi ekstrak lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Perlakuan konsentrasi rendah (5 dan 10%) belum optimal menghambat perkecambahan karena ekstrak yang diberikan berupa ekstrak dari daun segar, yang lebih sedikit dibandingkan ekstrak dari daun kering.

Terjadinya penurunan perkecambahan menunjukkan, sebagian biji tidak mampu berkecambah. Biji tidak mampu berkecambah kemungkinan karena biji terhambat berkecambah atau biji mengalami kematian. Ini kemungkinan karena toksisitas dari alelopat yang terkandung dalam ekstrak berupa minyak atsiri. Minyak atsiri tergolong senyawa terpen. Mekanisme kerja ekstrak *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* dengan kandungan utama berupa minyak atsiri kemungkinan hampir sama dengan herbisida organik yang mengandung minyak atsiri, misalnya GreenMatch EX yang mengandung minyak lemongrass (*Cymbopogon* sp.) atau InterceptorTM yang mengandung 10% minyak pinus (*Pinus sylvestris* L.). Dari hasil penelitian ini, biji tidak mampu berkecambah karena minyak atsiri merusak kulit biji, mengakibatkan desikasi, atau jaringan pada biji terbakar [10]. Toksisitas dari minyak esensial yang tergolong terpen dapat merusak integritas membran plasma, dan mempengaruhi enzim spesifik [11]. Adanya kerusakan dan gangguan pada jaringan biji mengakibatkan kematian biji atau mengakibatkan proses-proses metabolisme selama perkecambahan biji tidak bisa berlangsung. Terhambatnya biji berkecambahan kemungkinan juga karena terhambatnya proses-proses fisiologi selama perkecambahan antara lain pembelahan sel, differensiasi sel, penyerapan air dan hara, cekaman air, metabolisme fitohormon, respirasi, fungsi enzim, serta ekspresi gen [12].

Terhambatnya perkecambahan biji akibat pemberian ekstrak *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* penting dalam pengendalian gulma. Terhambatnya biji berkecambah mengakibatkan keberadaan gulma pada suatu lahan berkurang, sehingga mengurangi kepadatan gulma. Adanya pengaruh ekstrak terhadap penghambatan perkecambahan ini dapat diaplikasikan di lahan dengan kondisi gulma annual yang sudah

menghasilkan biji dan memberantas simpanan biji gulma di permukaan tanah maupun di dalam tanah.

Dari hasil penelitian ini, aplikasi ekstrak basah yang paling efektif adalah perlakuan kombinasi ekstrak *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* dengan konsentrasi 20 % dengan penghambatan perkecambahannya sekitar 63%. Ekstrak kombinasi lebih efektif kemungkinan karena jenis minyak atsirinya lebih banyak. Untuk meningkatkan efektivitas ekstrak, kemungkinan dapat dilakukan dengan peningkatan konsentrasi dan atau penambahan ekstrak tumbuhan lain.

Pertumbuhan Anakan Gulma

Hasil ANOVA menunjukkan adanya pengaruh nyata perlakuan konsentrasi ekstrak daun terhadap pertumbuhan anakan gulma *Borreria alata*. Rerata hasil pertumbuhan anakan gulma ditunjukkan pada tabel 3, persentase penurunan pertumbuhan anakan gulma ditunjukkan pada gambar 2.

Tabel 2. Pertumbuhan *Borreria alata* pada berbagai konsentrasi ekstrak *Ageratum conyzoides* dan *Piper betle* 28 hari setelah tanam.

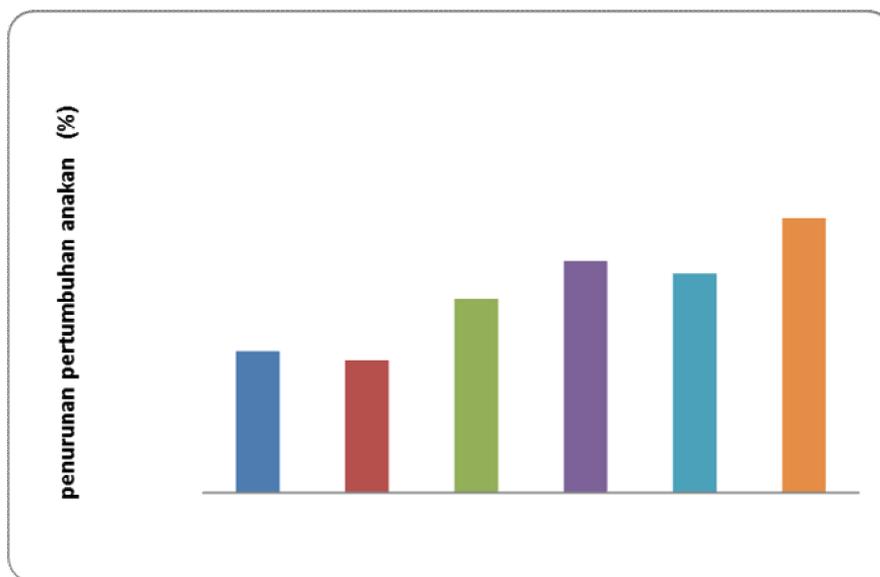
Konsentrasi Ekstrak	Berat Basah (g)	Panjang Akar (cm)	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun
0 % (control)	1.33 b	10.03 a	4.86 b	9.9 e
5 % <i>A. conyzoides</i>	0.72 ab	7.78 b	4.37 b	8.9 d
10 % <i>A. conyzoides</i>	0.76 ab	7.46 b	2.38 a	8.4 c
20 % <i>A. conyzoides</i>	0.49 a	7.24 b	2.28 a	7.9 b
5 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	0.35 a	6.75 b	1.88 a	7.9 b
10 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	0.38 a	6.98 b	1.87 a	7.7 b
20 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	0.14 a	6.73 b	0.96 a	6.2 a

Keterangan: angka yang diikuti huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT taraf 5 %.

Dari hasil pada tabel 2 menunjukkan kecenderungan penghambatan pertumbuhan berat basah anakan *Borreria alata* mulai terjadi pada konsentrasi ekstrak 5 % *A. conyzoides*, namun penghambatan pertumbuhan mulai terjadi pada ekstrak 20 % *A. conyzoides*. Untuk peubah panjang akar dan jumlah daun sudah terjadi penurunan secara nyata mulai pemberian ekstrak 5 % *A. conyzoides*, sedangkan penurunan tinggi tanaman baru terjadi pada perlakuan 10 % *A. conyzoides*. Penghambatan pertumbuhan tertinggi pada perlakuan ekstrak 20 % *A. conyzoides* + *P. betle*, dengan penghambatan pertumbuhan sebesar 89%. Perlakuan kombinasi menunjukkan penghambatan lebih tinggi dibandingkan perlakuan *A. conyzoides* saja, baik konsentrasi 5%, 10% maupun 20%.

Terhambatnya pertumbuhan anakan kemungkinan terjadi karena waktu berkecambah yang terlambat dan karena toksisitas alelopat ekstrak *A. conyzoides* + *P. betle*. Anakan yang munculnya lebih lambat, dengan umur yang lebih muda menunjukkan

ukuran pertumbuhan yang lebih kecil dibandingkan anakan yang munculnya lebih cepat. Alelopat umumnya menghambat pertumbuhan melalui pengaruhnya terhadap berbagai proses fisiologi, antara lain pembelahan sel, differensiasi sel, penyerapan air dan hara, cekaman air, metabolisme fitohormon, respirasi, fotosintesis, fungsi enzim, serta ekspresi gen [13]. Mekanisme penghambatan fotosintesis antara lain melalui interaksi antara alelopat dengan komponen-komponen fotosistem. Alelopat menghambat respirasi melalui gangguan aktivitas enzim glikolisis, fosforilasi oksidatif. Beberapa senyawa terpen berinteraksi dengan mitokondria, antara lain minyak atsiri sangat kuat menghambat respirasi [14].



Gambar 2. Persentase penurunan pertumbuhan anakan gulma *Borreria alata* dibandingkan kontrol pada berbagai perlakuan ekstrak, yaitu : M1: 0 % (control), M2: 5 % *A. conyzoides*, M3: 10 % *A. conyzoides*, M4: 20 % *A. conyzoides*, M5: 5 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M6: 10 % *A. conyzoides* + *P. betle*, M7: 20 % *A. conyzoides* + *P. betle*.

Persentase Kerusakan Anakan Gulma

Dari hasil ANOVA menunjukkan adanya pengaruh yang nyata perlakuan konsentrasi ekstrak daun terhadap persentase kerusakan anakan gulma *Borreria alata*. Tabel 3 menyajikan rerata persentase kerusakan anakan gulma. Gambar 3 menggambarkan gejala kerusakan anakan gulma setelah pemberian ekstrak.

Peningkatan kerusakan anakan gulma secara nyata mulai terjadi pada perlakuan ekstrak 10 % *A. conyzoides* + *P. betle*, dengan peningkatan kerusakan sebesar 84%. Peningkatan kerusakan paling tinggi terjadi pada perlakuan ekstrak 20 % *A. conyzoides* + *P. betle*. Perlakuan kombinasi menunjukkan kerusakan lebih tinggi dibandingkan perlakuan ekstrak *A. conyzoides* dengan konsentrasi yang sama.

Tabel 3 Rerata persentase kerusakan anakan *Borreria alata* pada beberapa perlakuan ekstrak

Konsentrasi ekstrak	Persentase Kerusakan Anakan Gulma (%)
0 % (control)	0
5 % <i>A. conyzoides</i>	10.076 a
10 % <i>A. conyzoides</i>	10.076 a
20 % <i>A. conyzoides</i>	40.73 a
5 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	34.10 a
10 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	84.102 b
20 % <i>A. conyzoides</i> + <i>P. betle</i>	90,05 b

Keterangan: angka yang diikuti huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji lanjut DMRT taraf 5



Gambar 3. Gejala kerusakan anak gulma *Borreria alata*

Dari hasil pengamatan visual (gambar 3), gejala kerusakan yang muncul merupakan kerusakan jaringan berupa bercak seperti terbakar atau kematian jaringan. Gejala kerusakan tersebut menunjukkan kemungkinan minyak atsiri merusak kutikula, mengakibatkan desikasi, dan jaringan terbakar [10]. Dari gejala ini kemungkinan mekanisme kerja dari ekstrak *A. conyzoides* + *P. betle* seperti herbisida yang sifatnya kontak, yaitu kematian atau kerusakan secara langsung pada jaringan yang disemprot. Herbisida organik yang ada misalnya Weed Pharm (20% acetic acid), C-Cide (5% citric acid), GreenMatch (55% d-limonene), Matratec (50% clove oil), WeedZap (45% clove oil + 45% cinnamon oil) and GreenMatch EX (50% lemongrass oil) menunjukkan sifat seperti herbisida tipe kontak. Herbisida organik komersial umumnya lebih efektif membunuh gulma pada bagian permukaan atas. Herbisida organik komersial umumnya lebih efektif pada gulma yang lebih muda terbakar [4]. Dari hasil penelitian ini pemberian ekstrak *A. conyzoides* + *P. betle* sampai konsentrasi 20% belum mampu menyebabkan kematian gulma. Untuk meningkatkan efektivitas dari ekstrak *A. conyzoides* + *P. betle* sebagai herbisida organik, maka perlu ditingkatkan konsentrasinya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Perlakuan ekstrak segar daun *A. conyzoides* dan *P. betle* mampu menghambat perkecambahan, pertumbuhan anakan gulma dan meningkatkan kerusakan anakan gulma. Penghambatan perkecambahan, penghambatan pertumbuhan dan peningkatan kematian anakan gulma *Borreria alata* tertinggi terjadi pada perlakuan kombinasi *A. conyzoides* dengan *P. betle* dengan konsentrasi 20%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan efektivitas dari ekstrak *A. conyzoides* dan *P. betle* sebagai bioherbisida, dengan meningkatkan konsentrasi ekstrak.

PUSTAKA

- [1] Sukman, Y dan Yakup. 2002. Gulma dan Teknik Pengendaliannya. Jakarta : PT Grafindo Persada.
- [2] Sit, A.K., M. Bhattacharya, B. Sarkari, and V. Arunachalam. 2007. Weed floristic composition in palm gardens in Plains of Easter Himalayan region of West Bengal. *Current Science*, 1434 (92) 10: 1434 – 1439.
- [3] Quarles, W. 2010. Alternative Herbicides in Turfgrass and Organic Agriculture. *IPM Practitioner* 32(5/6): 1-12
- [4] Lanini, W.T. 2011. *Optimizing Organic Herbicide Activity*. University of California
- [5] Ekundayo O., I Laakso, and R Hiltunen, 1988. Essential Oil of *Ageratum conyzoides*. *Planta Medica* 54(1):55-7
- [6] Arambewela L., K.G.A. Kumaratunga, K. Dias, 2005. Studies on *Piper betle* on Sri Lanka. *J. Natn.Sci. Foundation in Sri Langka*. 33(2): 133-139.
- [7] Almeida, L.F.R., F. Frei, E. Mancini, L. De Martino and V.De Feo, 2010. Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils. *Molecules* (15): 4309-4323.
- [8] Rassaeifar¹, M., N. Hosseini, N. Haji Hasani Asl, P. Zandi, A. Moradi Aghdam, 2013 Allelopathic Effect Of *Eucalyptus globulus* Essential Oil On Seed Germination And Seedling Establishment Of *Amaranthus blitoides* And *Cynodon dactylon*. *Trakia Journal Of Sciences* (11): 1.
- [9] Fatonah, S. dan Herman, 2011. Komposisi Floristik Gulma Di Perkebunan Kelapa Sawit Yang Berbeda Umur Tegakan Dan Metode Pengendaliannya Di Desa Tambang, Kampar. Semirata BKS PTN Barat Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin.
- [10] Soltys, D., U.Krasuska, R. Bogatek and A. Gniazdowska, 2013. Allelochemicals as Bioherbicides, Present and Perspectives. InTech. (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>).

- [11] Macías, F.A., J. C. G. Galindo, and J. M. G. Molinillo, 2004. Allelopathy Chemistry And Mode Of Action Of Allelochemicals. Horace G. Cutler Crc Press. Boca Raton London New York Washington, D.C.
- [12] Khalaj, M. A., Amiri, M, Azimi, M.H. 2013. Allelopathy: physiological and Sustainable Agriculture Important Aspects. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. Vol., 4 (5): 950-962.
- [13] Adewole L. Okunade, 2002. Review. *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae *Fitoterapia* (73) : 1-16.
- [14] Weir, T.L., S. Park and J.M. Vivanco, 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology* (7): 472–479

PEMANFAATAN RADIOISOTOP ^{32}P SEBAGAI PENANDA SEL BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN PATIN

UTILITY OF ^{32}P RADIOISOTOPE AS LABELLED OF LACTIC ACID BACTERIA CELL FROM SMALL INTESTINE OF PATIN

Dina Hanifa¹, Narti Fitriana¹, Irawan Sugoro² dan Adria Priliyanti Murni²

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta¹

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi – BATAN²

Email: irawansugoro@gmail.com

Dinadydy22@gmail.com

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are widely used as an ingredient of probiotics fish, because it can improve the performance of digestive system. The important thing that have to consider in using of probiotics is a viability of LAB cells in digestive system of fish, especially in small intestine. First step that should have to do before testing viability is to determine the highest time of incorporation isotope ^{32}P in LAB cells. This study is using LAB isolate which is isolated from small intestine of Patin and coded with P2 PTB PTB because it has a dominant total number of cells. In this study, the determination of growth curves was determinate based on absorbance values and labelled of LAB cells by radioisotope of ^{32}P . The result showed that the radioisotope of ^{32}P could be incorporated into the LAB cells in which the highest value of incorporation time was comparable with the highest values of cell growth. The highest time was occurred on the 12th hour. Based on this result, the age of culture cells which could be recommended to tested on the viability of Patin was 12th hour.

Keywords: Lactic acid bacteria (LAB), time of incorporation, radioisotope of ^{32}P

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) banyak digunakan sebagai bahan probiotik ikan karena mampu meningkatkan kinerja sistem pencernaan. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemanfaatan probiotik adalah viabilitas sel BAL dalam sistem pencernaan ikan, khususnya di dalam usus halus. Langkah awal yang dilakukan sebelum pengujian viabilitas adalah dengan menentukan waktu inkorporasi radioisotop ^{32}P tertinggi di dalam sel BAL. Penelitian ini menggunakan isolat BAL yang diisolasi dari usus halus ikan patin dan diberi kode P2 PTB karena merupakan bakteri yang memiliki jumlah total sel yang paling dominan. Dalam penelitian ini, dilakukan penentuan kurva tumbuh berdasarkan nilai absorbansi dan pelabelan sel BAL dengan radioisotop ^{32}P . Hasilnya, terlihat bahwa radioisotop ^{32}P dapat terinkorporasi ke dalam sel BAL yang mana nilai waktu inkorporasi tertingginya sebanding dengan nilai waktu tertinggi pertumbuhan sel. Waktu tertinggi tersebut yaitu pada jam ke-12. Berdasarkan hasil ini, kultur sel yang dapat direkomendasikan untuk diuji viabilitasnya pada ikan patin memiliki umur ke-12.

Kata kunci : Bakteri asam laktat (BAL), waktu inkorporasi, radioisotop ^{32}P

PENDAHULUAN

Seperti yang telah banyak diketahui, bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu dari berbagai jenis mikroba yang hidup di alam yang banyak dimanfaatkan untuk membantu mempercepat proses fermentasi. Bakteri asam laktat diartikan sebagai bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk yang dihasilkan maupun sebagai produk yang dihasilkan dari hasil metabolisme karbohidrat[1]. Bakteri penghasil asam laktat ini kemudian dikelompokkan ke dalam dua bentuk, yakni bakteri kelompok homofermentatif yang mampu mengubah hampir 95% heksosa menjadi asam laktat, serta kelompok heterofermentatif yang memproduksi asam laktat dalam jumlah lebih sedikit dengan produk yang dihasilkan beragam, yakni berupa etil alkohol, asam asetat, asam format dan karbondioksida[2]. Secara fisiologis, BAL merupakan bakteri dengan Gram positif dan memiliki bentuk batang atau bulat, tidak membentuk spora dan umumnya menghasilkan katalase yang negatif. Berbagai jenis asam amino, vitamin dan mineral merupakan komponen penting untuk pertumbuhan bakteri[3].

Produk yang dihasilkan dari bakteri ini yang berupa asam laktat diketahui dapat menurunkan nilai derajat keasaman yang salah satu manfaatnya dapat menghambat bakteri mikroorganisme lain yang bersifat negatif, seperti pertumbuhan bakteri patogen [4]. Dengan adanya kemampuan ini, BAL selain diketahui memiliki peran yang esensial dalam proses fermentasi dan pengawetan makanan, salah satu dari jenis BAL yakni *Lactobacillus* sp. juga diketahui berpotensi sebagai bahan probiotik[5]. Probiotik menurut FAO (Food and Agriculture Organization) kumpulan mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inangnya, baik hewan maupun tumbuhan[6]. Pemberian probiotik pada pakan ikan memberikan pengaruh terhadap kecepatan fermentasi pakan dalam saluran pencernaan, sehingga sangat membantu dalam mempercepat proses penyerapan nutrisi yang ada pada makanan. Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa dengan pemberian produk probiotik yang mengandung *Bacillus* sp. dengan dosis 10 ml/kg pakan cukup untuk mendukung efisiensi dari pakan dan meningkatkan retensi protein pada ikan patin[7]. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi inokulum bakteri *Lactobacillus plantarum* pada pakan probiotik memberikan kelangsungan hidup ikan patin 100% selama lima hari pemeliharaan[8].

Seiring berkembangnya zaman, teknologi pun ikut mengalami perkembangan, salah satunya adalah teknologi radioisotop. Teknik radioisotop adalah salah satu teknologi yang berkembang pesat semenjak 49 tahun lalu. Salah satu bentuk pemanfaatan radioisotop adalah teknik penandaan atau labelling. Hal ini karena sifat radioisotop yang juga dapat memancarkan sinar radioaktif, sehingga dapat digunakan sebagai penanda untuk melacak keberadaan target. Penandaan dengan radioisotop lebih menguntungkan dibanding dengan zat warna karena dapat terinkorporasi atau terikat pada jaringan meskipun dalam jumlah massa yang kecil[9]. Salah satu kegunaan menggunakan teknologi ini adalah dapat melacak kemampuan hidup atau viabilitas dari target yang ditandai. Namun, sebelum dapat menentukan viabilitas target, perlu adanya penghitungan persen tertinggi terserapnya radioisotop yang digunakan sehingga keberadaan target dapat terlacak dengan sempurna.

Bakteri asam laktat dapat diisolasi pada bagian organ dalam makhluk hidup seperti pada saluran pembuangan, saluran intestin, saluran genital, maupun jalur respiratori baik pada hewan maupun manusia[10]. Bahan probiotik yang akan dibuat dalam penelitian ini

berasal dari BAL yang diisolasi langsung dari saluran pencernaan ikan patin, yakni pada bagian usus halusnya. Ikan patin dipilih sebagai sumber salah satunya karena memiliki daging yang mengandung kalori dan protein yang cukup tinggi, rasa yang khas, lezat, dan gurih. Daging ikan patin juga dinilai lebih aman untuk kesehatan karena kadar kolestrolnya yang lebih rendah dibandingkan dengan daging ternak[8]. Bakteri asam laktat yang akan dijadikan bahan probiotik disarankan berasal dari sumber yang sehat dan berpotensi baik dalam pertumbuhannya. Ikan patin yang digunakan adalah ikan dengan bobot terbesar yang diambil dari kolam penangkaran. Bakteri asam laktat yang terisolasi akan dibuat kurva tumbuhannya dan akan dilakukan pula penentuan waktu inkorporasi ^{32}P dengan cara pemberian label isotop ^{32}P ke dalam sel BAL. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat murni BAL langsung dari usus halus dari sumber yang digunakan, yakni ikan patin dan untuk mengetahui waktu inkorporasi tertinggi isotop ^{32}P yang terserap pada sel BAL murni yang terisolasi, sehingga dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya mengenai viabilitas sel dan aplikasinya.

METODELOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan sebagai sumber BAL adalah ikan patin (*Pangasius pangasius*, Hamilton) yang masih hidup dan berusia ± 2 bulan masa penangkaran dan panjang awal 11 cm-12 cm. Ikan diambil dari dua jenis kolam penangkaran yang berada di penangkaran ikan Hatchery UPT Pusat Budidaya Perikanan, Ciganjur. Dua jenis kolam tersebut adalah kolam yang diberi pakan biogas dan yang diberikan pakan komersil. Selain itu, bahan lain yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, NaCl 0,85%, agar bakterio, *deMan Rogosa and Sharpe* (MRS) dan *Nutrient Broth* (NB).

Persiapan ikan dan isolasi BAL

Ikan patin yang memiliki berat dan panjang yang paling besar dipilih dari kolam penangkaran dan dipisahkan. Sebelum dibedah, Ikan yang dipilih direndam dalam akuades yang dicampur dengan alkohol 70% selama 1 jam. Setelah perendaman selesai, ikan dibedah dan diambil bagian usus halusnya. Setelah tergunting, kedua ujung usus halus diikat dengan benang dan dicelupkan ke dalam alkohol 70% sebanyak 3 kali, kemudian berat usus ditimbang. Usus halus dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan dalam *yellow tube* berisi 5 ml NaCl 0,85% dan ditera hingga 10 ml.

Beberapa potong usus dari *yellow tube* diambil dan dimasukkan ke dalam MRS cair untuk diperkaya terlebih dahulu selama 24 jam. Setelah 24 jam, sampel diambil untuk dilakukan pengenceran dari 10^0 - 10^{-4} kemudian tiap pengenceran diinokulasi ke media MRS padat dengan cara disebar merata (*spread*). Setelah tersebar merata, media diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam untuk membiarkan terjadinya perbanyakan bakteri. Setelah 24 jam, bakteri diamati morfologinya dan dihitung jumlahnya.

Bakteri pada media pengayaan sebelumnya direinokulasi ke media agar agar MRS baru yang dibuat pada cawan petri maupun tabung ulir dengan cara di goreskan (*streak*) pada media. Media di cawan dan tabung ulir kemudian diinkubasi pada suhu 30° selama 24 jam. Setelah 24 jam, isolat berumur baru diinokulasikan ke dalam erlenmayer berisi media NB sebanyak 3 ose, diberi kode, lalu diperbanyak dengan *shaker incubator* selama 24 jam.

Kurva tumbuh

Media tumbuh yang digunakan adalah media NB. Media kemudian diinokulasikan dengan isolat bakteri yang sebelumnya telah diperkaya di dalam media NB selama 24 jam sebanyak 3 ose. Setelah semua Erlenmeyer terisi dengan isolat, masing-masing diberi kode dan diperbanyak dengan *shaker incubator* pada waktu 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 sampai 30 jam. Isolat diambil sesuai dengan waktu yang telah ditentukan dan diukur jumlah selnya dengan melihat nilai absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer pada gelombang λ 600 nm. Selain itu, nilai keasaman yang dihasilkan media selama proses perbanyakannya juga diukur dengan menggunakan pH meter.

Pengukuran % inkorporasi ^{32}P

Pengukuran % inkorporasi ini dilakukan bersamaan dengan pengukuran kurva tumbuh. Isotop ^{32}P dicampurkan ke tiap-tiap Erlenmeyer yang juga berisi NB dan isolat. Metode yang dilakukan sama dengan pembuatan kurva tumbuh, hanya saja Erlenmeyer ditambahkan dengan radioisotop ^{32}P dalam bentuk $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ sebanyak $100\mu\text{l}^{[11]}$. Setelah semua Erlenmeyer terisi dengan isotop, masing-masing diberi kode sesuai dengan waktu inkubasi dan diperbanyak dengan *shaker incubator* dengan waktu inkubasi yang sama seperti kurva tumbuh. Tiap-tiap isolat yang sudah tercampur dengan isotop dalam media NB diambil sebanyak 5ml sesuai dengan waktu yang telah ditentukan dan dipindahkan ke dalam tube. Masing-masing tube sampel disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm, kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 2 kali. Supernatan dipisahkan untuk diukur aktivitasnya dengan LSC. Rumus % inkorporasi sebagai berikut ^[11] :

$$\% \text{ inkorporasi} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan ikan dan isolasi BAL

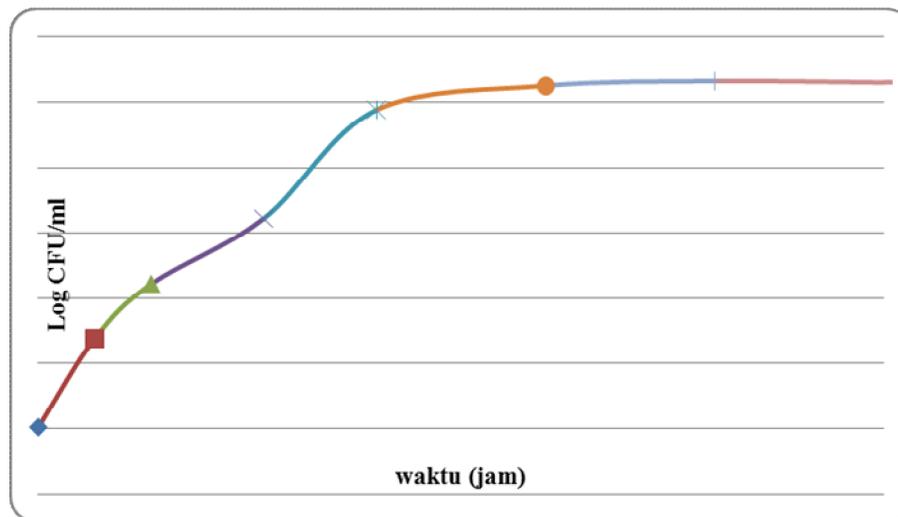
Enumerasi dilakukan di media tumbuh agar agar MRS yang merupakan media tumbuh selektif untuk bakteri yang bersifat menghasilkan asam laktat sebagai produknya. Oleh karena itu, isolat yang tumbuh pada media ini dikatakan sebagai kelompok BAL. Hasil enumerasi tersebut memperlihatkan bahwa jumlah total BAL yang diberi kode P2 PTB lebih banyak. Isolat dengan kode P2 PTB ini kemudian dibuat kurva pertumbuhannya untuk melihat bentuk pertumbuhan yang dihasilkan serta waktu pertumbuhan yang dimiliki isolat.

Kurva Tumbuh

Berdasarkan hasil pengukuran kurva tumbuh, hanya terdapat dua fase yang terbentuk. Tampak bahwa fase adaptasi terlihat tidak terbentuk. Hal ini terjadi karena sebelum pengukuran grafik pertumbuhan, isolat telah diperbanyak dalam media yang sama yaitu NB, sehingga penyesuaian diri dengan lingkungan media berlangsung cepat bahkan tidak terjadi seperti yang dihasilkan oleh isolat ini. Fase pertumbuhan terus terjadi sejak jam ke-0 dan kemudian mencapai puncaknya pada jam ke-12. Fase ini merupakan fase reproduksi seluler atau mulai berlangsungnya pembelahan sel. Konsentrasi biomassa meningkat sehingga massa sel menjadi dua kali lipat, komposisi seluler tetap, laju

pertumbuhan konstan. Namun, komposisi kimiawi media biakan pada fase ini berubah seiring penggunaan substrat pada media [12].

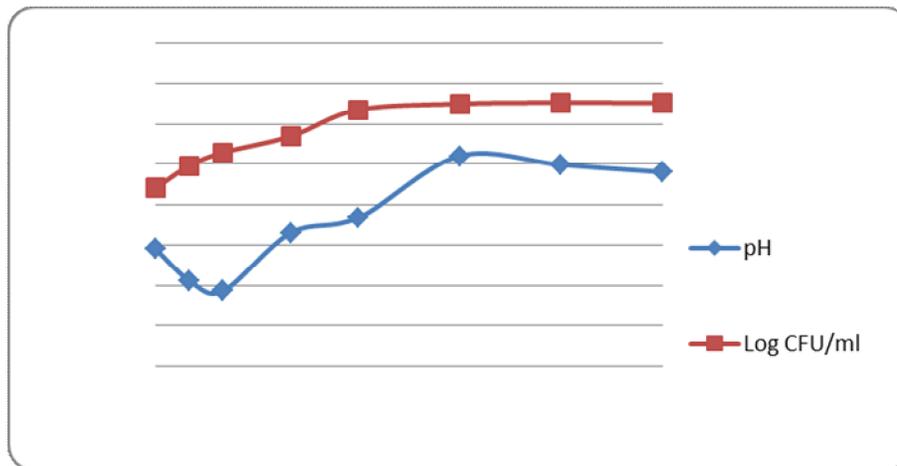
Setelah jam ke-12, bakteri tidak lagi memperlihatkan pertumbuhan yang signifikan yang artinya bakteri tersebut sudah masuk pada fase stasioner. Terlihat sudah tidak terlalu adanya penambahan sel secara signifikan yang terbentuk pada fase ini. Saat memasuki fase ini, jumlah sel cenderung mulai stabil karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati dan pertumbuhan perlahan mulai berhenti [12]. Tidak terlihatnya fase kriptik pada grafik pertumbuhan dikarenakan pengukuran dilakukan dengan menggunakan nilai absorbansi. Keadaan akan tetap terlihat stabil meskipun pertumbuhan bakteri sudah mulai terhenti seperti yang terlihat pada kurva (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik pertumbuhan isolat P2 PTB

Jika dibandingkan antara pertumbuhan bakteri dengan nilai keasaman yang dihasilkan, maka terlihat bahwa aktifitas produksi asam yang dihasilkan hanya berlangsung dari jam ke-0 sampai jam ke-4. Bakteri mulai menggunakan salah satu sumber nutrisi dari substratnya. Contohnya, menggunakan sumber karbon yang mungkin ada pada pepton yang pertama kali digunakan untuk membentuk asam-asam organik sehingga perlahan derajat keasamannya mulai menurun. Asam-asam organik tersebut diduga sebagai asam laktat dan asam asetat. Pembentukan dari asam-asam organik terjadi melalui proses fermentasi substrat. Contohnya seperti fermentasi glukosa yang terdiri atas (1) pemecahan dari rantai karbon glukosa menjadi asam piruvat dan (2) asam piruvat tersebut akan tereduksi sehingga menghasilkan asam laktat dan senyawa lain seperti etanol, asam asetat dan juga CO_2 [12].

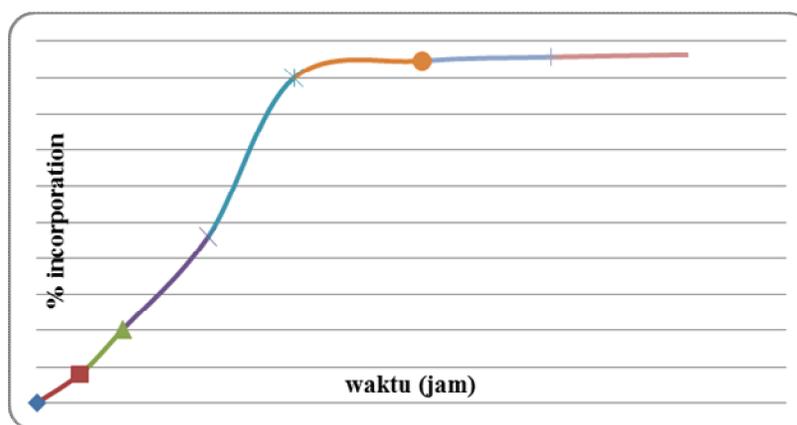
Dengan adanya produk asam yang dihasilkan, maka kondisi lingkungan pada media tumbuh mulai cenderung asam. Namun, pada jam ke-8 sampai jam ke-30, kondisi lingkungan pada media mulai kembali meningkat dan berada pada kisaran normal, yakni pH 7,4 (Gambar 2). Hal ini diduga karena, terjadi degradasi protein yang menghasilkan ammonia sehingga pH naik. Protein itu dapat berasal dari media NB yang digunakan karena mengandung pepton, ekstrak daging dan ragi [13]



Gambar 2. Perbandingan nilai pertumbuhan sel dengan nilai keasaman

Pengukuran % Inkorporasi ^{32}P

Bersamaan dengan pengukuran kurva tumbuh, pengukuran persen inkorporasi ^{32}P juga dilakukan. Nilai tertinggi pada kurva tumbuh ternyata sebanding dengan nilai tertinggi pada grafik inkorporasi (Gambar 3). Dengan adanya kesamaan ini, maka bisa dipastikan bahwa yang terjadi pada jam ke-0 sampai ke-12 memang merupakan fase pertumbuhan dari bakteri P2 PTB, karena isotop ^{32}P yang berasal dari larutan $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ tidak bisa terserap oleh sel yang mati atau rusak. Isotop ini akan terserap apabila sel masih hidup dan terus membelah. Jika sel mati, maka fosfor akan dilepas kembali ke lingkungan^[11]. Seperti yang telah diketahui, unsur ini dibutuhkan sel dalam beberapa hal, seperti pada sitoplasma, pada komposisi kimia sel membran dan di mitokondria, serta substansi mineral yang diperlukan oleh komponen asam nukleat sebagai materi genetik, yakni pada DNA dan RNA. Waktu tertinggi dari tercampurnya isotop ^{32}P adalah pada jam ke-12. Waktu inilah yang dapat dijadikan acuan penelitian lebih lanjut untuk mengukur viabilitas sel pada usus ikan saat isolat BAL diaplikasikan ke pakan.



Gambar 3. Hasil pengukuran % Inkorporasi ³²P

KESIMPULAN

Hasil isolasi langsung dari usus ikan patin menunjukkan adanya Isolat yang diberi kode P2.PTB dengan jumlah total BAL terbanyak dan memiliki waktu pertumbuhan serta inkorporasi tertinggi yang sama, yakni pada jam ke-12 masa inkubasi. Waktu inilah yang dapat digunakan sebagai acuan pengujian lebih lanjut.

PUSTAKA

- [1] Zahirotul HH, 2006, Isolasi Lactobacillus, bakteri asam laktat dari feses dan organ saluran pencernaan ayam, *Seminar Nasional Teknologi Perikanan dan Veteriner*, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Kalimantan Selatan.
- [2] Salle AJ, 1979, *Fundamental principles of bacteriology*, Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd, New Delhi.
- [3] Kandler O, Weiss N, 1986, Genus Lactobacillus beijerinck 1901, 212^{AL}, In: Sneath, PHA: Mairs, NS: Sharpe, ME and Holt, JG (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 2, Baltimore: Williams and Walkins : 1209-1234.
- [4] Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH and Wooton, 1987, Ilmu Pangan, Universitas Indonesia Press, Jakarta (diterjemahkan oleh H. Purnomo dan Adiono).
- [5] Purwandhani SN, Rahayu ES, 2003, Isolasi dan seleksi Lactobacillus yang berpotensi sebagai agensia probiotik, *Agritech* 23 (2): 67-64.
- [6] Endang NW, 2011, Peran probiotik untuk kesehatan, *Jurnal Kesehatan* 4 (1) : 14-20.
- [7] Jariyah ES, Tarsim, Adiputra YT, Siti H, 2013, Pengaruh penambahan probiotik pada pakan dengan dosis berbeda terhadap pertumbuhan, kelulushidupan, efisiensi pakan dan retensi protein ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*), *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* Vol 1(2):152-162.
- [8] Atira, 2009, Pengaruh berbagai konsentrasi inokulum *Lactobacillus plantarum* terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan patin (*Pangasius hypophthalmus Sauvage*), *J.Agroland* 16 (2) : 98-102.
- [9] Darwin A, Lulus S, Ali R, 2010, Pemanfaatan radioisotop P-32 untuk penandaan (*Labelled Compound*) pada nyamuk *Aedes aegypti*, *Suplemen media Penelitain dan Pengembangan Kesehatan*, Vol 20 : S19-S24.
- [10] Stamer JR, 1979, The lactid acid bacteria. Microbes of diversity, *J.Food Technol* 1: 60-65.
- [11] Sugoro I, 2012, *Prosedur Kerja : Pelebelan bakteri dan pengujian viabilitas bakteri*, PAIR-BATAN.

- [12] Timotius KH, 1982, Mikrobiologi dasar : Cetakan I, Universitas Kristen Satya Wacana Press, Salatiga.
- [13] Acumedia, 2010, Nutrient Broth, Neogen Corporation, www.neogen.com (diakses pada 12 april 2014).

INVENTARISASI JENIS-JENIS ARECACEAE DI TAMAN NASIONAL BUKIT DUABELAS JAMBI ¹⁾

INVENTARIZATION OF ARECACEAE SPECIES IN NATIONAL PARK BUKIT DUABELAS JAMBI

Dewi Komariah¹⁾ dan Muswita ²⁾

¹⁾²⁾ Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jambi
Muswita_2009@yahoo.co.id, Hp 081366007431

ABSTRAK

Taman Nasional Bukit Duabelas (TNBD) merupakan taman nasional yang terdapat di Provinsi Jambi yang kaya akan flora diantaranya Arecaceae (Palem). Arecaceae merupakan tumbuhan yang sangat menarik dan memiliki keanekaragaman jenis yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menginventarisasi jenis-jenis Arecaceae di TNBD Jambi. Penelitian menggunakan metode deskriptif eksploratif. Pelaksanaan penelitian meliputi koleksi sampel, pembuatan herbarium, identifikasi dan analisis data. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian mendapatkan 21 jenis Arecaceae yang termasuk dalam 11 genus di TNBD Jambi yaitu *Arenga pinnata*, *Calamus c.f flabellatus*, *C. c.f javensis*, *C manan*, *C scipionum*, *Calamus sp1*, *Calamus sp2*, *Calamus sp3*, *Calamus sp4*, *Calamus sp5*, *Caryota c,f mitis*, *Daemonorops draco*, *Elaeis guineensis*, *Korthalsia rigida*, *K rostrata*, *Licuala c,f paludosa*, *L spinosa*, *Livistona rotundifolia*, *Metroxylon sagu*, *Pinanga sp* dan *Salacca sp*. *Calamus* merupakan genus yang memiliki jenis yang terbanyak, yaitu 9 jenis (42%). . Karena itu, diharapkan kepada instansi terkait agar tetap menjaga kelestarian arecaceae di TNBD.

Kata kunci: *inventarisas* , *Arecaceae*, *taman nasional*, *bukit duabelas*.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Taman Nasional Bukit Duabelas (TNBD) merupakan hutan hujan tropis dataran rendah yang berada di Provinsi Jambi. TNBD ditetapkan sebagai taman nasional berdasarkan SK menteri kehutanan No.258/Kpts-II/2000, tanggal 23 Agustus 2000 (Anonim, 2006a).

Keberadaan TNBD tidak terlepas dengan kehidupan masyarakat tradisional/orang rimba yang sehari-hari di dalam dan sekitar kawasan taman nasional untuk mencari kehidupan seperti rotan, damar, kayu gaharu, dan lain-lain. Taman Nasional Bukit Duabelas memiliki berbagai jenis flora dan fauna, baik yang dilindungi maupun yang langka dan sumber obat-obatan (Anonim, 2004a). Jenis-jenis flora di kawasan TNBD belum seluruhnya diidentifikasi dan diinventarisasi. Data yang tersedia saat ini masih terbatas pada hasil-hasil survei diantaranya Ekspedisi Biomedika (1998), Eksplorasi Flora Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI Bogor (2001), Eksplorasi Populasi Rotan Manau (2003), dan Inventarisasi Anggrek Hutan (2003) (Anonim, 2004b).

Arecaceae (Palem) merupakan tumbuhan yang sangat menarik dan mempunyai banyak manfaat, juga memiliki keanekaragaman. Di dunia diperkirakan terdapat lebih dari 2800 jenis, terdiri atas 200 marga. Palem tersebar luas, mulai dari daerah tropik, sub tropik,

sampai daerah yang memiliki empat musim (*temperate*). Sebagian besar jenis-jenis palem terdapat di daerah tropik, baik di Asia, Afrika, maupun Amerika Selatan. Indonesia merupakan pusat keanekaragaman palem dunia. Dari 2.800 jenis palem dunia, 576 jenis (46 marga) diantaranya terdapat di hutan-hutan alam di Indonesia. Dari 576 jenis 216 jenis (29 marga) diantaranya merupakan palem endemik (Witono, dkk., 2000).

Palem memiliki akar berbentuk silinder dan menghujam ke tanah, percabangan sedikit, biasanya tumbuh banyak dan padat (Anonim, 2010). Batang seringkali tidak bercabang dan mempunyai bekas daun berbentuk cincin, kadang-kadang dari batang yang terletak di atas tanah atau akar rimpang dapat keluar beberapa batang (membentuk rumpun) (Steenis, 2002). Batangnya tidak memiliki kambium sejati. (Anonim, 2010). Daun majemuk dan tersusun menyirip tunggal atau berbentuk kipas yang khas dan menjadi tanda pengenal yang paling mudah. Pada beberapa kelompok Palem ditumbuhi duri. Tangkai daun dilengkapi pelepah yang membungkus batang (Anonim, 2010). Bunga terletak pada suatu tandan yang tersusun dalam bentuk malai yang terdiri atas bulir-bulir. Umumnya berkelamin satu, jarang yang berkelamin dua, kerap kali banyak menghasilkan madu (Steenis, 2002). Dalam hal pembuahan, semua jenis palem dapat digolongkan menjadi dua, yaitu jenis-jenis yang menghasilkan buah beberapa kali dalam hidupnya (*polycarpic*) dan jenis-jenis yang sekali berbuah kemudian mati (*monocarpic*). (Sastrapraja, dkk., 1980).

Inventarisasi jenis palem yang dilakukan oleh Siregar (2004) menemukan 31 jenis palem. Hasil penelitian Sumedi (2003) menemukan 8 jenis Palem. Selanjutnya Witono (2004) menemukan 33 jenis palem Penelitian yang dilakukan oleh Rahawarin (2004) menemukan 12 jenis palem.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian tentang inventarisasi jenis-jenis Arecaceae di Kawasan Taman Nasional Bukit Duabelas Jambi.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk menginventaris jenis-jenis Arecaceae di TNBD Jambi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan dibutuhkan adalah sampel tumbuhan, kertas koran, kantong plastik, karton , label ,etiket gantung dan spiritus.

Metode

Penelitian menggunakan metode deskriptif eksploratif, dengan cara membuat tiga jalur pengamatan. Kemudian dilakukan penandaan lokasi dan ketinggian tempat menggunakan GPS, pengamatan terhadap jenis tumbuhan arecaceae dan pencatatan kondisi habitat. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Tumbuhan Arecaceae yang terdapat pada lokasi pengamatan, diambil dan diberi etiket gantung yang berisi data berupa kode nomor spesimen, lokasi, dan tanggal koleksi. Sampel yang dikoleksi dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disiram dengan spiritus.

Kemudian sampel dimasukkan ke dalam lipatan koran dan ditumpuk menjadi satu dan diletakkan di antara dua sasak, selanjutnya diikat kencang. Kemudian sampel dikeringkan di dalam oven. Selanjutnya, sampel yang telah kering ditempelkan pada kertas herbarium. Kemudian dilakukan pemasangan kertas label yang berisi semua informasi tentang spesimen herbarium. Terakhir sampel diidentifikasi menggunakan buku *A Manual of The Rattans of The Malay Peninsula* (Dransfield, 1979), *Genera Palmarum A Classification of Palms Basic on The Work of Harold E. More Jr*, *Bailey Hortorium and The International Palm Society* (Uhl dan Dransfield, 1987), *Koleksi Palem Kebun Raya Purwodadi* (Widyatmoko, dkk., 2005), *Palem Indonesia* (Sastrapraja, dkk., 1980), dan bantuan ahli di Herbarium Bogoriense-LIPI.

Analisis Data

Jenis-jenis *Arecaceae* yang ditemukan, dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

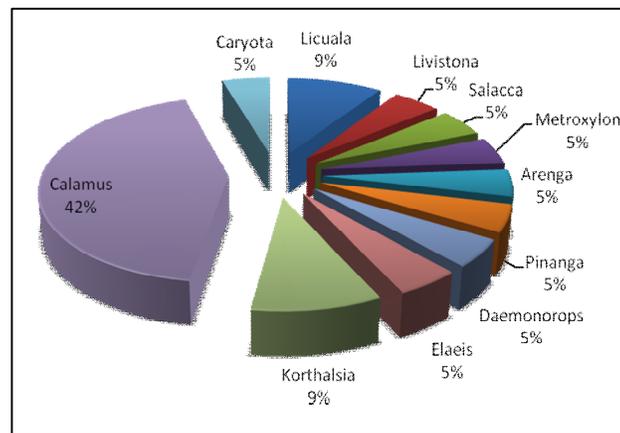
Berdasarkan hasil penelitian ditemukan 21 jenis *Arecaceae*, yang termasuk ke dalam 11 genus. Jenis-jenis *Arecaceae* yang ditemui tersebar pada ketinggian 50-140 m dpl. Genus yang ditemukan, yaitu *Arenga*, *Calamus*, *Caryota*, *Daemonorops*, *Elaeis*, *Korthalsia*, *Licuala*, *Livistona*, *Metroxylon*, *Pinanga*, dan *Salacca*. Jenis-jenis *Arecaceae* yang ditemukan di TNBD Jambi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1., menunjukkan bahwa TNBD memiliki 21 jenis *Arecaceae*. Hasil ini menunjukkan bahwa keanekaragaman jenis *Arecaceae* relatif rendah. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Siregar (2005), pada ketinggian 30-100 m dpl terdapat 31 jenis *Arecaceae* yang termasuk dalam 12 marga, sedangkan Witono (2004), mendapatkan 33 jenis yang termasuk ke dalam 11 marga. Dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sumedi (2003) pada ketinggian 940-1100 m dpl hanya ditemukan delapan jenis, TNBD memiliki keanekaragaman jenis *Arecaceae* yang lebih tinggi. Persentase setiap genus yang terdapat di kawasan TNBD disajikan dalam Gambar 1.

Tabel 1. Jenis-jenis *Arecaceae* yang ditemukan di TNBD Jambi

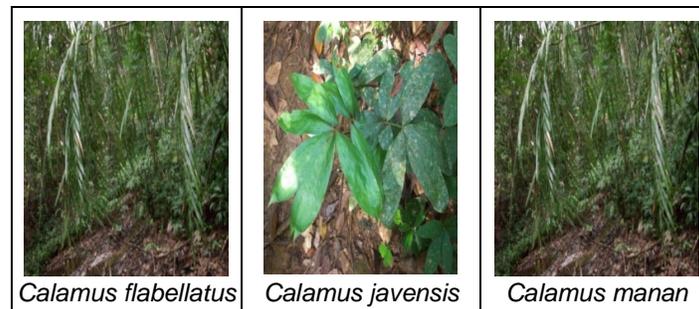
No	Nama Ilmiah	Nama Daerah
1	<i>Arenga pinnata</i> (Wurmb) Merr.	Aren
2	<i>Caryota cf. mitis</i> Lour.	Sarai
3	<i>Elaeis guineensis</i> Jack.	Kelapa Sawit
4	<i>Pinanga</i> sp.	Pinang
5	<i>Calamus cf. flabellatus</i> Becc.	Rotan Lilin
6	<i>Calamus cf. javensis</i> Blume.	Rotan Cacing
7	<i>Calamus manan</i> Miquel	Rotan Manau
8	<i>Calamus scipionum</i> Lour.	Rotan Semambu
9	<i>Calamus</i> sp1	Rotan
10	<i>Calamus</i> sp2	Rotan
11	<i>Calamus</i> sp3	Rotan

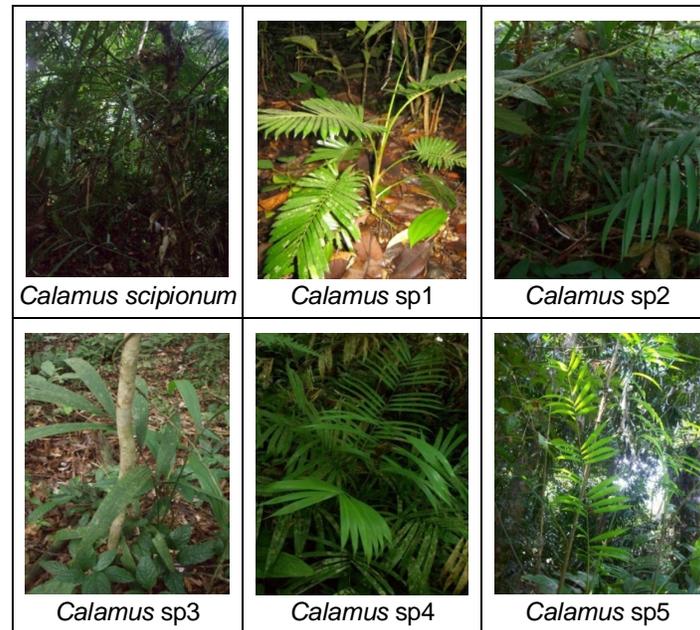
12	<i>Calamus</i> sp4	Rotan
13	<i>Calamus</i> sp.5	Rotan
14	<i>Daemonorops draco</i> Blume	Jernang
15	<i>Korthalsia rostrata</i> Blume	Rotan semut
16	<i>Korthalsia rigida</i> Blume	Rotan dahan
17	<i>Metroxylon sagu</i> Rottb.	Sagu
18	<i>Salacca</i> sp.	Salak
19	<i>Licuala cf. paludosa</i> Griff.	Lipai
20	<i>Licuala spinosa</i> Wurm. b.	Palas duri
21	<i>Livistona rotundifolia</i> (Lamk.) Mart.	Serdang



Gambar 1. Persentase setiap genus yang ditemukan di TNBD

Berdasarkan Gambar 1., genus *Calamus* paling mendominasi, dari seluruh jenis *Arecaceae* yaitu 42%. Jenis *Arecaceae* dari genus *Calamus* ditemukan berjumlah 9 jenis, yaitu *Calamus flabellatus*, *Calamus javensis*, *Calamus manan*, *Calamus scipionum*, *Calamus* sp1, *Calamus* sp2, *Calamus* sp3, *Calamus* sp4, *Calamus* sp5 (Gambar 2.).



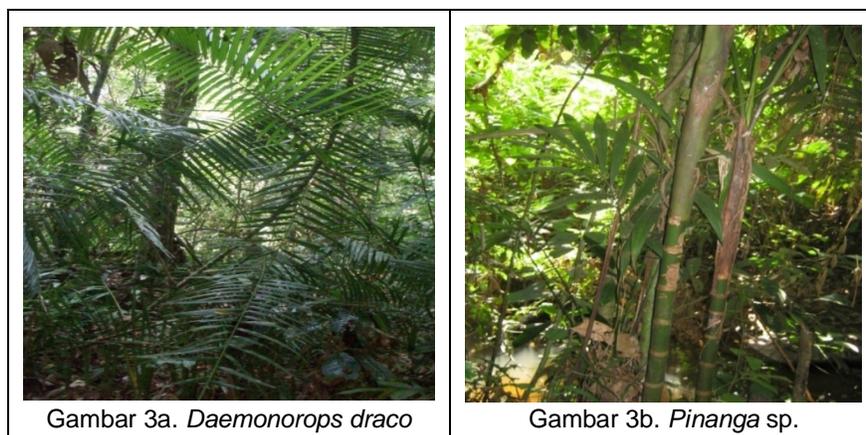


Gambar 2. Jenis-jenis Arecaceae dari genus *Calamus*

Banyaknya jenis dari genus *Calamus* yang didapatkan karena *Calamus* merupakan jenis Arecaceae yang mempunyai keanekaragaman jenis paling besar dan dapat tumbuh pada berbagai ketinggian. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyatmoko, dkk. (2005) dan Heyne (1978) yang menyatakan ada sekitar 370 jenis *Calamus* di dunia, dan 170 jenis di antaranya terdapat di Indonesia. Siregar (2005) juga menyatakan marga *Calamus* termasuk kelompok rotan yang dapat tumbuh secara alami pada hutan primer dan hutan sekunder serta pada daerah bekas perladangan liar dan belukar. Secara umum rotan dapat tumbuh pada berbagai keadaan, pada jenis tanah aluvial (sepanjang tepi sungai) pada ketinggian 0-2900 meter dengan iklim tipe A dan tipe B. hal ini sesuai dengan kondisi TNBD yang memiliki jenis tanah aluvial dengan tipe iklim A.

Marga *Korthalsia* dan marga *Licuala* ditemukan sebanyak 9%, dan 8 marga lainnya, yaitu *Arenga*, *Caryota*, *Daemonorops*, *Elaeis*, *Livistona*, *Metroxylon*, *Pinanga*, dan *Salacca* masing-masing hanya ditemukan 1 jenis atau sebanyak 5% (Gambar 1.). Dari hasil identifikasi, ada 6 jenis palem yang tidak dapat diketahui penunjuk spesiesnya, yaitu *Calamus sp1*, *Calamus sp2*, *Calamus sp3*, *Calamus sp4*, *Calamus sp5*, dan *Pinanga sp.*, hal ini dikarenakan sampel tidak disertai dengan organ generatif.

Jenis-jenis Arecaceae yang sering ditemui pada kawasan TNBD adalah *Calamus manan*, *Korthalsia rigida*, *Caryota mitis*, *Elaeis guineensis*, *Salacca sp.*, *Livistona rotundifolia*. Jenis arecaceae yang jarang ditemui adalah *Daemonorops draco* (Gambar 3a.), dan *Pinanga sp* (Gambar 3b.). *Daemonorops draco* (jernang) sudah sangat jarang ditemui, selama penelitian hanya ditemukan satu rumpun tumbuhan jernang, hal ini disebabkan karena tumbuhan jernang hanya diambil buahnya saja oleh masyarakat sekitar tanpa ada usaha untuk memperbanyak tumbuhan jernang.



Gambar 3. Jenis-jenis Arecaceae dari genus *Calamus*

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan ditemukan 21 jenis palem yang termasuk ke dalam 11 marga, yaitu *Arenga*, *Calamus*, *Caryota*, *Daemonorops*, *Elaeis*, *Korthalsia*, *Licuala*, *Livistona*, *Metroxylon*, *Pinanga*, dan *Salacca*. Perlu dijaga kelestarian arecaceae di TNBD terutama untuk jenis-jenis yang sudah jarang ditemui.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, 2004a. Diakses tanggal 25 Januari 2011 <http://www.pendakierror.com/tnbdb.htm>.
- [2] -----, 2004b. *Rencana Pengelolaan 2005-2029 Taman Nasional Bukit Duabelas*. Jambi: BKSDA.
- [3] -----, 2010. Diakses tanggal 1 Pebruari 2011. <http://ksdasulsel.org/artikel-flora/74>.
- [4] Dransfield, J., 1997. *The Rattan of Brunei Darussalam*. Brunei Darussalam: Ministry of Industry and Primary Resources.
- [5] Dransfield, J., dan N. Manokaran, 1996. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 6*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- [6] Rahawarin, Y. Y., 2004. Eksplorasi Jenis Palem di Pulau Mioswaar, Kabupaten Teluk Wondama, Irian Jaya Barat (Papua). *Biodiversitas*, 6 (2): 108-112.
- [7] Sastrapraja, S., Johanis P. Moge, Harini H.M., dan J.J. Afriastini, 1980. *Palem Indonesia*. Bogor: PN Balai Pustaka.
- [8] Siregar, E.B.M., 2004. Inventarisasi Jenis Palem (*Arecaceae*) di Kawasan Hutan Dataran Rendah di Stasiun Penelitian Sikundur (Kawasan Ekosistem Leuser) Kabupaten Langkat, *Skripsi*, Universitas Sumatera Utara, Medan.

- [9] Siregar, E.B.M., 2005. *Potensi Palem Indonesia*. Medan: e-USU Repository.
- [10] Steenis, C. G. G. J. van, 2002. *Flora*. Jakarta: PT. Pradhya Paramita
- [11] Sumedi, E., 2003, Keanekaragaman Jenis Palem (*Arecaceae*) di Resort Cikaniki, Taman Nasional Gunung Halimun, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [12] Uhl, N.W. dan J. Dransfield, 1987. *Genera Palmarum A Classification of Palms Basic on The Work of Harold E. More Jr, Bailey Hortorium and The International Palm Society*. Kansas-USA: Allen Press.
- [13] Widyatmoko, D., Sri W., dan Adi S., 2005. *Koleksi Palem Kebun Raya Purwodadi*. Purwodadi: Kebun Raya Purwodadi-LIPI.
- [14] Witono, J.R., Agus S., Nanang S., dan R. Subekti P., 2000. *Koleksi Palem Kebun Raya Cibodas*. Cianjur: Cabang Balai Kebun Raya Cibodas UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI Sindang Laya.
- [15] Witono, J.R., 2004. Keanekaragaman Palem (*Palmae*) di Gunung Lumut, Kalimantan Tengah. *Biodiversitas*, 6 (1): 22-30.

VARIASI SEKUEN DENGAN PENANDA ITS DAN IMPLIKASINYA DALAM KLASIFIKASI *Hornstedtia schypifera* (ZINGIBERACEAE)

SEQUENCE VARIATION WITH ITS MARKER AND ITS IMPLICATION ON CLASSIFICATION OF *Hornstedtia schypifera* (ZINGIBERACEAE)

Nurainas, Syamsuardi, Ardinis Arbain

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Padang

email: nas_herb@yahoo.com; nurainas@fmipa.unand.ac.id, Jurusan Biologi, FMIPA, Kampus
Unand Limau Manis Padang

ABSTRACT

Hornstedtia schypifera is the common and type species for genus *Hornstedtia* (Zingiberaceae). The infraspecific classifications this species divided into three varieties. They have similar on morphological characters, such as their stilt root and involucres, but their inflorescence apex was different. However, this species have taxonomically problem. Thus, the variation analyses of DNA sequence were studied. This paper presents the result of *H. schypifera* variation analysis by looking at the DNA sequence with ITS primer. The result showed that variation of DNA sequences supported the separation of *H. schypifera* into two species.

Keywords: Hornstedtia, Zingiberaceae, variation, sequence, ITS

ABSTRAK

Hornstedtia schypifera merupakan jenis yang umum dan species tipe untuk genus *Hornstedtia* (Zingiberaceae). Klasifikasi dibawah species membagi jenis ini kedalam 3 varietas. Ketiganya mempunyai persamaan pada keberadaan akar tunjang, bentuk daun pelindung bunga, namun terdapat perbedaan pada susunan bractea di ujung spika. Species ini masih mempunyai permasalahan secara taksonomi. Karena itu dilakukan analisa variasi dengan menggunakan sekuen DNA. Tulisan ini menguraikan hasil analisa variasi dalam *H. schypifera* dengan menggunakan sekuen DNA dengan primer ITS. Hasilnya menunjukkan bahwa variasi sekuen mendukung untuk pemisahan varietas menjadi dua species yang berbeda.

Kata kunci: *Hornstedtia*, Zingiberaceae, variasi, sekuen, ITS

PENDAHULUAN

Horstedtia merupakan salah satu genus dari famili Zingiberaceae atau suku jahe-jahean. Genus ini diberikan nama berdasarkan species (species type) *Hornstedtia schypifera*. Jenis ini terdiri dari tiga varietas yakni *H. schypifera* var. *scyphifera*, *H. scyphifera* var. *fusiformis* dan *H. scyphifera* var. *grandis*. *Hornstedtia scyphifera* var. *fusiformis* merupakan varietas baru ("new variety"), sedangkan *H. scyphifera* var. *grandis* sebelumnya adalah *H. grandis* ("new status") [1].

Secara morfologi, ketiganya mempunyai persamaan pada keberadaan akar tunjang dan bentuk dari bractea involucrum, namun perbedaan pada bentuk ujung dari conus bunga

majemuk. *Hornstedtia scyphifera* var. *scyphifera* mempunyai ujung inflorescence seperti cawan (“cup-shaped”), sedangkan *H. scyphifera* var. *fusiformis* dan *H. scyphifera* var. *grandis* mempunyai ujung runcing. Karena itu bukti-bukti dari karakter lain sangat dibutuhkan untuk memperjelas status taksa ini.

ITS dari 18S-5,8S-26S nuclear ribosom merupakan salah satu sekuen yang sangat umum digunakan sebagai penanda dalam analisa filogeni pada level marga kebawah. Pendapat ini didasari oleh survey terhadap publikasi-publikasi filogeni yang menggunakan ITS sebagai primer pada level genera ke bawah, dimana dari 244 publikasi dalam 5 tahun terakhir, 66% diantaranya menyertakan sekuen data ITS. Lebih mencolok lagi 34% diantaranya secara eksklusif memberikan hypotesa mengenai hubungan filogeni hanya menggunakan sekuen data ITS[2].

Pada Zingiberaceae, ITS telah digunakan sebagai salah satu penanda pada analisa molekuler di tingkat famili[3]. Analisa tersebut membentuk klasifikasi baru famili Zingiberaceae berdasarkan data molekuler. Sejalan dengan hal tersebut, penelitian ini menguraikan peran data DNA dalam mengklarifikasi pengelompokan tingkat varietas pada *H. scyphifera*.

BAHAN DAN METODE

Material

Material *Hornstedtia schypifera* dikoleksi dari beberapa lokasi di Sumatera dan *H. pininga* sebagai outgroup dikoleksi dari Sumatera dan luar Sumatera (table 1).

Ekstraksi DNA, Amplifikasi dan Sekuensing

Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Molekuler dan Sistemik, Herbarium Bogoriense. Ekstraksi mengikuti metode Doyle and Doyle (1987) dengan beberapa modifikasi[4]. Purifikasi dilakukan untuk mendapatkan DNA yang lebih bersih. Purifikasi mengikuti dan menggunakan bahan Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit. Amplifikasi DNA menggunakan alat DNA Thermal Cycler (PCR). Prosedur dan pengaturan mengikuti siklus Doyle and Doyle 1987. Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus, masing-masing siklus dimulai dengan suhu denaturasi 94 oC. Secara lengkap suhu PCR sebagai berikut: Suhu denaturasi 94 oC selama 30 detik, anealing 55 oC selama 1 menit, extention 72 oC selama 1 menit. Primer yang digunakan adalah ITS5P sebagai forward (5'-GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G-3') dan ITS8P sebagai reverse (5'-CAC GCT TCT CCA GAC TAC A-3'). Sekuensing dilakukan oleh Macrogen Korea.

Tabel 1: Daftar sampel yang digunakan pada analisa variasi sekuen *Hornstedtia scyphifera*

No. Kode	Species	No. Coll	Posisi voucher	Lokasi
34	<i>H. schypifera</i>	Nurainas 2162	ANDA	Riau, Bangkinang
35	<i>H. schypifera</i>	Nurainas 2344	ANDA	Sumut, Angkola
36	<i>H. schypifera</i>	Nurainas, N01	ANDA	Sumbar
10	<i>H. schypifera</i> var. <i>fusiformis</i>	Nurainas 2221	ANDA	Sumut, D. Toba

11	<i>H. schypifera</i> var. <i>fusiformis</i>	Nurainas 2495	ANDA	Sumbar, Solok
12	<i>H. schypifera</i> var. <i>grandis</i>	Nurainas 2493	ANDA	Sumbar, Solok
23	<i>H. pininga</i>	Nurainas 2144	ANDA	Sumbar
24	<i>H. pininga</i>	WI 60	ANDA	Jawa Barat, KRC
25	<i>H. pininga</i>	N08	ANDA	Sumbar
26	<i>H. pininga</i>	NJ4	ANDA	Jambi, G7
27	<i>H. pininga</i>	ADP 303	ANDA	Kalimantan

Analisa data

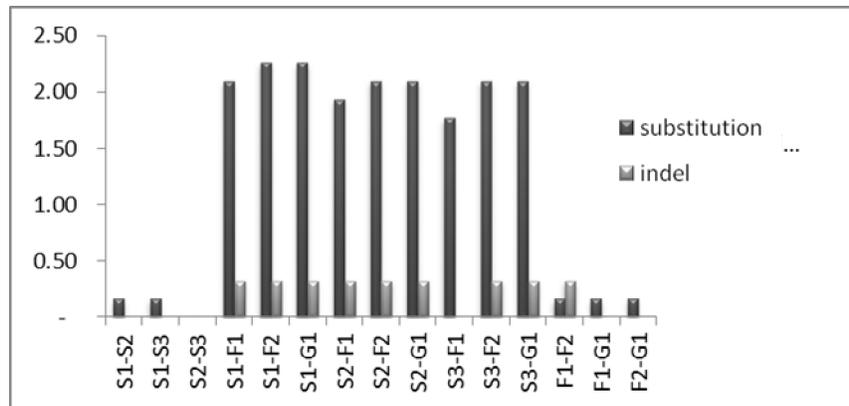
Aligment sekuen menggunakan ClustalW melalui software 4Peaks dan diedit menggunakan software Se-Al, BioEdit dan MEGA5[5]. Setiap sekuen dibandingkan untuk melihat sumber variasi. Analisa data menggunakan “pairwise distance method” MEGA5 dilakukan untuk melihat jarak variasi antar individu dan antar kelompok. Data diuraikan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Variasi antar individu disebabkan oleh adanya subsitusi dan insersi-delesi (indel). Total enam sekuen yang terdiri dari tiga sekuen dari *H. scyphifera* var. *scyphifera*, dua sekuen dari *H. fusiformis* var. *fusiformis* dan satu sekuen dari *H. fusiformis* var. *grandis* telah dianalisa untuk melihat sumber variasi pada taksa ini.

Hasil analisa dari 620 pasang basa yang dibandingkan, variasi pada ketiga sekuen *H. scyphifera* var. *scyphifera* bersumber dari subsitusi sebesar 0.00% - 0.16%. Selanjutnya variasi antara dua individu *H. scyphifera* var. *fusiformis* dan satu individu *H. scyphifera* var. *grandis* berasal dari subsitusi sebesar 0.16% dan indel sebesar 0.32%. Sementara itu variasi antara *H. scyphifera* var. *scyphifera* dengan *H. scyphifera* var. *fusiformis* dan *H. scyphifera* var. *grandis* bersumber dari subsitusi sebesar 1.77% - 2.26% dan indel sebesar 0.32% selengkapnya dapat dilihat pada gambar 1.

Guna mendeteksi seberapa besar variasi antara sekuen digunakan perbedaan evolusi (“evolutionary divergences”). Perbedaan evolusi didapatkan dengan menggunakan metode jarak pasangan (“pairwise distance method”) dari program MEGA5. Total 12 sekuen telah dianalisa dengan *H. pininga* sebagai outgroup.



Gambar 1. Substitusi dan indel dari *H. scyphifera* dan *H. fusiformis*. S1=*H. scyphifera*_N01; S2=*H. scyphifera*_Nas2344; S3= *H. scyphifera*_Nas2162; F1=*H. fusiformis*_Nas2495; F2=*H. fusiformis*_Nas2221; G1=*H. fusiformis* var. *grandis*_Nas2493.

Hasil analisa memperlihatkan perbedaan evolusi sekuen yang beragam. Secara umum perbedaan antar individu berkisar dari 0,0000 – 0,0265, selengkapnya lihat matrik 1.

Matrik 1. Evolutionary Divergence antara sekuen

Hfusi_1	-	0.0018	0.0025	0.0030	0.0039	0.0018	0.0039	0.0035	0.0035	0.0065	0.0063	0.0063
Hfusi_2	0.0018	-	0.0018	0.0025	0.0035	0.0000	0.0035	0.0030	0.0030	0.0063	0.0060	0.0060
Hgrand	0.0035	0.0018	-	0.0030	0.0039	0.0018	0.0039	0.0035	0.0035	0.0065	0.0063	0.0063
Hpini_1	0.0053	0.0035	0.0053	-	0.0043	0.0025	0.0043	0.0039	0.0039	0.0067	0.0065	0.0065
Hpini_2	0.0088	0.0071	0.0088	0.0106	-	0.0035	0.0000	0.0018	0.0030	0.0067	0.0065	0.0065
Hpini_3	0.0018	0.0000	0.0018	0.0035	0.0071	-	0.0035	0.0030	0.0030	0.0063	0.0060	0.0060
Hpini_4	0.0088	0.0071	0.0088	0.0106	0.0000	0.0071	-	0.0018	0.0030	0.0067	0.0065	0.0065
Hpini_5	0.0071	0.0053	0.0071	0.0088	0.0018	0.0053	0.0018	-	0.0025	0.0065	0.0063	0.0063
Hpini_6	0.0071	0.0053	0.0071	0.0088	0.0053	0.0053	0.0053	0.0035	-	0.0065	0.0063	0.0063
Hscy_1	0.0247	0.0229	0.0247	0.0265	0.0265	0.0229	0.0265	0.0247	0.0247	-	0.0018	0.0018
Hscy_2	0.0229	0.0212	0.0229	0.0247	0.0247	0.0212	0.0247	0.0229	0.0229	0.0018	-	0.0000
Hscy_3	0.0229	0.0212	0.0229	0.0247	0.0247	0.0212	0.0247	0.0229	0.0229	0.0018	0.0000	-

Keterangan: Hfusi = *Hornstedtia scyphifera* var. *fusiformis*; Hgrand = *Hornstedtia scyphifera* var. *grandis*; Hpini = *Hornstedtia pininga*; Hscy = *Hornstedtia scyphifera* var. *scyphifera*.

Perbedaan antar individu dalam jenis yang sama tidak bervariasi tinggi. Jarak antara *H. scyphifera* var. *scyphifera* berkisar antara 0.0000 - 0.0018, *H. scyphifera* var. *fusiformis* berkisar antara 0.0000 - 0.0035, dan *H. pininga* berkisar antara 0.0000 - 0.0106. Individu tersebut mempunyai perbedaan dengan kisaran yang rendah. Data ini memperlihatkan bahwa individu-individu dalam satu species terkelompok dengan jelas.

Sementara itu perbedaan antara individu dari species berbeda mempunyai nilai yang bervariasi. Perbedaan *H. scyphifera* var. *grandis* dengan *H. pininga* berkisar antara 0,0018 – 0,0247, dengan *H. scyphifera* var. *fusiformis* 0,0018 dan dengan *H. scyphifera* var. *scyphifera* berkisar antara 0,0229 – 0,0247. Sementara itu *H. scyphifera* var. *fusiformis* dengan *H. pininga* berkisar antara 0,0018 – 0,0088, dengan *H. scyphifera* var. *scyphifera* berkisar antara 0,0212 – 0,0247. Selanjutnya *H. scyphifera* var. *scyphifera* dengan *H. pininga* berkisar antara 0,0212 – 0,0265. Data ini memperlihatkan perbedaan individu dua varietas (*H. scyphifera* var. *fusiformis* , *H. scyphifera* var. *grandis*) lebih tinggi terhadap *H. scyphifera* var. *scyphifera* jika dibandingkan dengan *H. pininga*.

Secara umum individu yang dianalisa terbagi menjadi dua kelompok. Kelompok pertama terdiri dari individu *H. scyphifera* var. *scyphifera* dan kelompok kedua terdiri dari individu-individu *H. scyphifera* var. *fusiformis* , *H. scyphifera* var. *grandis* dan *H. pininga*.

KESIMPULAN

Variasi sekuen dengan penanda ITS memperlihatkan kecenderungan mendukung pemisahan 3 varietas dalam *Hornstedtia schypifera* menjadi dua spesies berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Holttum, R.E. 1950. The Zingiberaceae of the Malay Peninsula. *The Gardens Bulletin Singapore*, volume. 13, part 1.
- [2] Alvares, I., & Wendel, J.F. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 417–434.
- [3] Kress, W.J., Prince, L.M., & Williams, K.J. 2002. The Phylogeny and new Classification of Gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany* 89: 1682-1696.
- [4] Doyle, J.J., & Doyle, J.L. 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- [5] Tamura, M.N., Yamshita, J., Fuse, S., & Haraguchi, M. 2004. Molecular phylogeny of Monocotyledons inferred from combined analysis of plastid matK and rbcL gene sequences. *Journal of Plant Research*, 117: 109-120.

STRUKTUR POPULASI *Daemonorops draco* (Willd.) Blume (ARECACEAE) BERDASARKAN PENANDA RAPD

POPULATION STRUCTURE OF *Daemonorops draco* (Willd.) Blume (ARECACEAE) BASED ON RAPD MARKERS

Revis Asra¹, Syamsuardi², Mansyurdin², Joko Ridho Witono³

¹ Program Studi S2 Pendidikan IPA, Pascasarjana Universitas Jambi,
Email: r.revisasra@yahoo.com Kampus Pinang Masak, Jambi
Jalan Jambi-Muara Bulian KM. 15 Mendalo Darat, Jambi, 36361

² Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Kampus Limau Manih, Padang

³ Pusat Konservasi Tumbuhan –Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI),
Bogor

ABSTRACT

Daemonorops draco (Willd.) Blume is one of the species in the group of dragon's blood palm, because it produces red resin on the surface of the fruit and has a high economic value. The red resin is the source for the medicines and natural dyes. Conversion of forests to plantations on a large scale, illegal logging and forest fires are three factors that led to the high decreased of plant population and cause the rare of this plant. Therefore, the genetic structure of *D. draco* species is important to be investigated because gene flow can affect the adaptation ability of this plant to the environment. High gene flow led to a better adaptation of populations to habitat conditions. Based on the results of molecular analysis with RAPD (Random Amplified DNA polymorphisms) showed that the coefficient of genetic differentiation (G_{ST}) among the population of *D. draco* was 0.680 (68 % of the total genetic variation in the population) and 32 % in the population. The limited gene flow ($Nm = 0.236$) between *D. draco* populations was indicated by isolated location among *D. draco* populations, and it did not allow for gene flow to occur among them.

Keywords : *population structure , genetic differentiation , gene flow , Daemonorops draco , RAPD .*

ABSTRAK

Daemonorops draco (Willd.) Blume merupakan salah satu species yang termasuk dalam kelompok palem darah naga, karena menghasilkan resin merah pada permukaan buahnya dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Resin merah ini, sumber bahan baku untuk obat-obatan dan pewarna alami. Konversi hutan menjadi perkebunan dalam skala besar, pembalakan hutan serta kebakaran hutan merupakan faktor-faktor yang menyebabkan populasi tumbuhan ini menurun drastis, sehingga menyebabkan tumbuhan ini menjadi langka. Oleh karena itu struktur genetik spesies tumbuhan *D. draco* penting untuk diketahui karena aliran gen dapat mempengaruhi kemampuan adaptasi tumbuhan ini terhadap lingkungannya. Aliran gen yang tinggi menyebabkan adaptasi populasi yang lebih baik terhadap kondisi habitat. Berdasarkan hasil analisis molekuler dengan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphisms DNA*) menunjukkan bahwa koefisien diferensiasi genetik (G_{ST}) antar populasi *D. draco* adalah 0.680 (68% dari total variasi genetik di antara populasi) dan 32% di dalam populasi. Aliran gen yang terbatas ($Nm = 0.236$) antar populasi *D. draco* ditunjukkan oleh lokasi populasi *D. draco* yang terisolasi sehingga antara satu populasi dengan populasi lainnya tidak memungkinkan terjadinya aliran gen.

Kata kunci: Struktur populasi, Diferensiasi genetic, Aliran gen, *Daemonorops draco*, RAPD.

PENDAHULUAN

Daemonorops adalah salah satu genus rotan yang berasal dari bahasa Greek “*daemon*” (setan) dan “*rhops*” (semak) [14]. Genus *Daemonorops* memiliki 115 jenis yang tersebar dari India dan China hingga New Guinea [7]. Salah satu keunikan yang dimiliki oleh beberapa jenis *Daemonorops*, adalah dihasilkannya resin berwarna merah pada daging dan permukaan kulit buah genus rotan ini, sehingga jenis-jenis ini dikenal dengan rotan jernang, dan secara internasional rotan penghasil resin ini dikenal dengan nama *dragon’s blood palm* (palem darah naga).

Rustiami *et. al.* [14], melaporkan bahwa 6 jenis *Daemonorops* yang menghasilkan resin merah dari Sumatera adalah *D. acehensis*, *D. brachystachys*, *D. dracuncula*, *D. dransfieldii*, *D. siberutensis* dan *D. draco*. Jenis *Daemonorops draco* merupakan jenis yang menghasilkan resin terbanyak dibandingkan jenis lainnya, karena tandan buah yang lebih panjang dan ukuran buah yang lebih besar.

Pada abad ke 11, resin *Daemonorops draco* digunakan sebagai pewarna rambut, dan sejak abad ke 21 digunakan sebagai tinta [5]. Di Eropa, *dragon’s blood* digunakan sebagai obat disentri, diare dan astringen di pasta gigi. *D. draco* digunakan untuk mengatasi masalah pencernaan, sakit perut dan sariawan di Malaysia. Darah naga mengandung resin draco resinotannol 56 %, asam kemenyan dan asam benzoate [14]. Asam benzoat pada resin darah naga berperan sebagai antiseptik [12]. *D. draco* digunakan secara internal untuk meningkatkan sirkulasi darah, mengurangi rasa sakit, meningkatkan regenerasi jaringan, keseleo, bisul dan mengontrol pendarahan [11;16].

Menurut Balai Informasi Kehutanan Provinsi Jambi [2] bahwa tumbuhan *D. draco* sudah dikategorikan langka. Hal ini disebabkan kurangnya minat masyarakat dalam membudidayakan tumbuhan ini, karena kemampuan tumbuh dari anakan yang sangat rendah. Rendahnya kemampuan adaptasi tumbuhan ini berkorelasi dengan tingkat aliran gen dalam populasi dan antar populasi. Aliran gen yang tinggi menyebabkan adaptasi populasi yang lebih baik terhadap kondisi habitat, sehingga akan mengurangi proses spesiasi yang sedang berlangsung [3].

Handel [8] menyatakan bahwa struktur genetik spesies tumbuhan juga dipengaruhi oleh pengaruh aliran gen yang kuat, seperti polinasi biologi dan sistem perkawinan. Menurut Heywood [9], level yang tinggi dari suatu aliran gen oleh penyebaran polen mempengaruhi struktur populasi dengan menurunkan diferensiasi antara populasi.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penting untuk diketahui struktur populasi jernang (*Daemonorops draco*) dalam dan antar populasi pada beberapa lokasi di dalam kawasan Taman Nasional Bukit Tiga Puluh (TNBT) dan diluar kawasan TNBT.

BAHAN DAN METODE

Koleksi Sampel

Sampel daun *D. draco* untuk isolasi DNA diperoleh dari Taman Nasional Bukit Tiga Puluh (3 populasi), hutan sekunder di Jambi (1 populasi) dan di kebun karet (1 populasi). Sampel yang dikoleksi dimasukkan ke dalam kertas yang didalamnya sudah mengandung silica gel, untuk mengeringkan sampel. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium.

Isolasi DNA

Isolasi DNA mengikuti prosedur Carment del Castillo et al. [4] dengan beberapa modifikasi [1].

Seleksi Primer

Sebanyak 40 primer RAPD dari beberapa spesies palem, seperti: *Calamus palustris* [6], *Pinanga javana* [18], *Phoenix dactylifera* [21] dan *Satakentia liukuensis* [19], diseleksi untuk mendapatkan primer yang cocok untuk amplifikasi DNA *D. draco*. Hasil seleksi dipilih sebanyak 6 primer yang menghasilkan pita terbanyak dan *reproducible*. Primer tersebut adalah OPA 11, OPO 10, OPE 18, OPAQ 05, OPZ 13 dan UBC 499

Amplifikasi (PCR)

PCR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: (1) denaturasi awal suhu 96^o C selama 2 menit sebanyak 1 siklus, (2) amplifikasi pada suhu 94^o C selama 30 detik, suhu 36^o C selama 1 menit dan 72^o C selama 2 menit sebanyak 45 siklus dan (3) perpanjangan akhir pada suhu 72^o C selama 5 menit sebanyak 1 siklus dan dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu 4^oC [17].

Analisis Data

Data hasil RAPD diskor berdasarkan ada atau tidaknya pita. Hasil matriks data biner dianalisis dengan menggunakan software genetika populasi POPGENE versi 1.32 (2012) menurut Yeh *et al.* [20]. Diversitas genetik di dalam dan di antara populasi diukur dengan : heterozigositas dalam populasi (H_S), heterozigositas total pada populasi (H_T) dan koefisien diferensiasi genetik (G_{ST}). Program PAST versi. 2.10 (2011) digunakan untuk membuat dendrogram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis molekuler terhadap struktur populasi *D. draco* dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini:

Koefisien diferensiasi genetik (G_{ST}) antar populasi *D. draco* adalah 0.680 (68% dari total variasi genetik di antara populasi) dan 32% di dalam populasi. Tingkat aliran gen (N_m) antara populasi adalah 0.236. Koefisien diferensiasi genetik dari populasi *D. draco* jauh lebih tinggi dari nilai standarisasi koefisien diferensiasi genetik Nybom [10] yang juga menggunakan penanda RAPD (rata-rata $G_{ST} = 0,27$).

Tabel 1. Hasil analisis molekuler struktur populasi (*D. draco*) dengan penanda RAPD dan nilai *gene flow*

Jumlah Sampel	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}	N_M
43	0.235	0.075	0.159	0.680	0.236

Keterangan : H_T : Nilai heterozigositas total populasi (H_S+D_{ST})
 H_S : Nilai heterozigositas dalam populasi
 D_{ST} : Nilai heterozigositas antar populasi
 G_{ST} : Genetik diferensiasi antar populasi
 N_M : Aliran gen (gen flow)

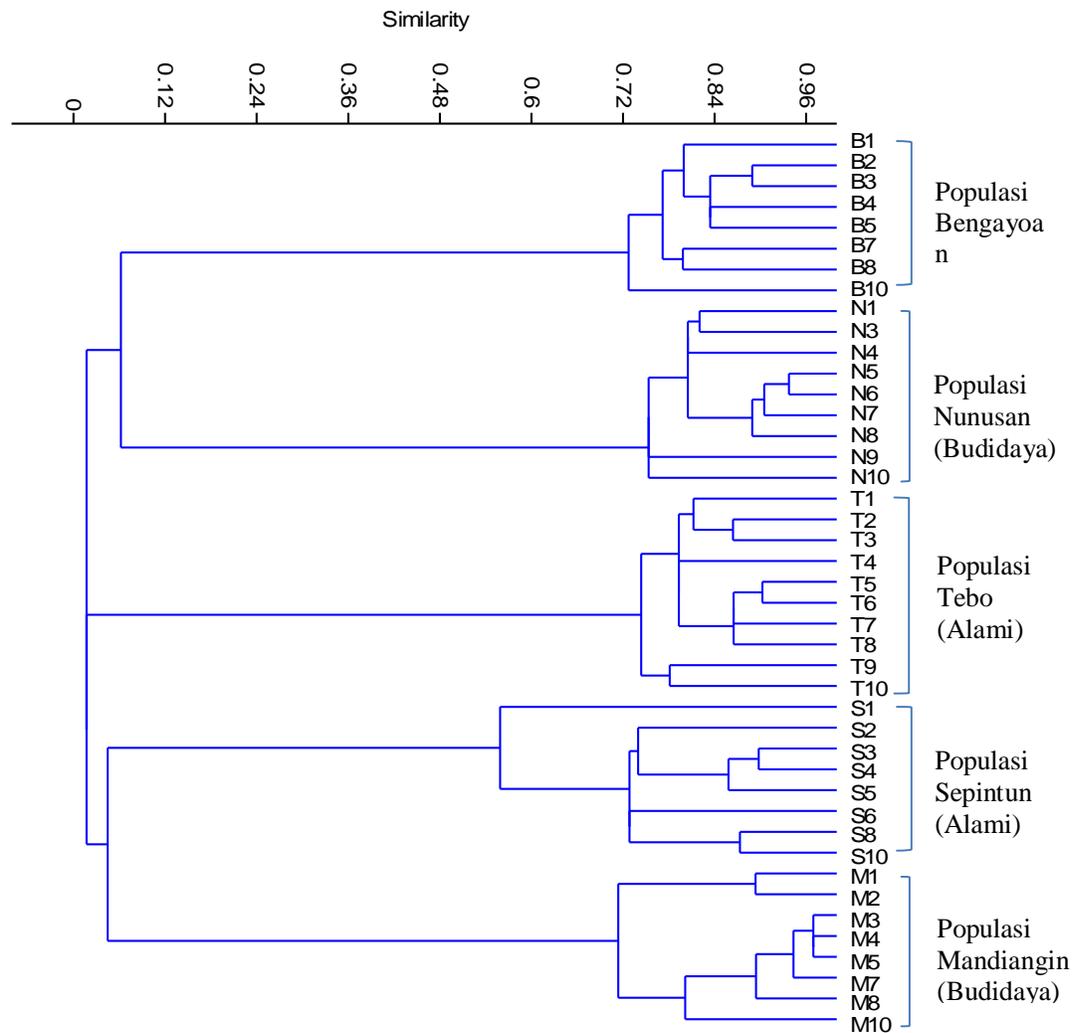
Bila dibandingkan dengan nilai standarisasi koefisien diferensiasi (G_{ST}) oleh Nybom [10], untuk bentuk hidup perennial berumur panjang ($G_{ST} = 0,19$), kisaran distribusi yang endemik ($G_{ST} = 0,18$), sistem *breeding* yang *outcrossing* ($G_{ST} = 0,22$) dan pemencaran biji yang gravitasi ($G_{ST} = 0,32$), ternyata koefisien diferensiasi (G_{ST}) *D. draco* jauh lebih tinggi ($G_{ST} = 0,680$). Hal ini disebabkan oleh sifat apomiksis yang dimiliki oleh *D. draco*, sehingga menyebabkan diferensiasi genetik antar populasi menjadi lebih tinggi. Pada tumbuhan apomiksis lainnya seperti pada *Limonium dufourri* juga memiliki nilai koefisien diferensiasi genetik ($G_{ST} = 0,52$) yang lebih tinggi dari nilai koefisien differensiasi genetik oleh Nybom [10] (rata-rata $G_{ST} = 0,27$). Struktur genetik dari populasi tumbuhan merefleksikan interaksi dari beberapa proses yang berbeda seperti sejarah evolusi spesies masa lalu (perubahan dalam distribusi, fragmentasi habitat dan isolasi populasi), mutasi, *genetic drift*, sistem perkawinan, *gene flow* dan seleksi [15].

Aliran gen yang terbatas ($Nm = 0,236$) antar populasi *D. draco* ditunjukkan oleh lokasi populasi *D. draco* yang terisolasi dan antara 1 populasi dengan populasi lainnya tidak memungkinkan terjadinya aliran gen. Populasi yang terisolasi yang jumlahnya terbatas dapat menyebabkan berkurangnya pertukaran gen antara populasi dan akan memperbesar diferensiasi genetik antar populasi. Selain itu, *genetic drift* yang disebabkan oleh ukuran populasi kecil dan atau berkurangnya aliran gen atau penyebaran antara populasi yang tidak merata dapat menyebabkan struktur genetik dari populasi *D. draco*.

Selain analisis differensiasi genetik (G_{ST}) struktur populasi dapat juga dideteksi dengan adanya pengelompokan individu atau populasi berdasarkan kesamaan atau perbedaan genetik antar populasi menggunakan analisis pengelompokan (*cluster analysis*). Analisis pengelompokan merupakan metode analisis untuk menentukan pola pengelompokan suatu populasi individu. Kriteria pengelompokan didasarkan pada ukuran keserupaan yang berupa kemiripan/kesamaan genetika (*genetic similarity*) [13].

Dendrogram menunjukkan bahwa seluruh individu mengelompok berdasarkan populasinya. Koefisien kesamaan aksesi *D. draco* berkisar antara 0.015 dan 0.975. Dari 43 kombinasi di antara aksesi dalam populasi yang sama, indeks kesamaan tertinggi ditunjukkan oleh M3, M4 dan M5 pada populasi Mandiangin (0.975) dan terendah antara S1 dan S6 pada populasi Sepintun (0.528). Indeks kesamaan yang tinggi juga ditemukan pada populasi Nunusan yaitu pada individu N5 dan N6. Hal ini berarti bahwa individu M3, M4 dan M5 pada populasi Mandiangin, secara genetik memiliki tingkat kemiripan yang tinggi.

Berdasarkan hasil analisis pengelompokan dengan program PAST versi 2.10 (2011), *D. draco* terbagi dalam 3 kelompok. Kelompok 1 terdiri atas 2 subkelompok yang berdekatan jarak geografi, yaitu populasi Bengayoan (8 aksesi) dan populasi Nunusan (9 aksesi); kelompok kedua terdiri atas populasi Tebo (10 aksesi) dan kelompok 3 terdiri atas 2 subkelompok, yaitu populasi Sepintun (8 aksesi) dan populasi Mandiangin (8 aksesi).



Gambar 26. Dendrogram hasil cluster analysis antar individu dari 5 populasi dengan penanda RAPD

KESIMPULAN DAN PROSPEK

Dari penelitian struktur populasi *Daemonorops draco* berdasarkan penanda RAPD dapat disimpulkan:

1. Koefisien differensiasi genetik (G_{ST}) jernang (*D. draco*) dengan penanda RAPD jauh lebih tinggi dari nilai standarisasi koefisien differensiasi genetik Nybom (2004).
2. Dendrogram menunjukkan seluruh individu mengelompok berdasarkan populasinya.

Prospek dari penelitian ini adalah bahwa perbedaan genetik yang tinggi antar populasi berpotensi untuk dilakukannya perkawinan silang antar spesies *D. draco* pada

populasi yang berbeda. Hal ini dapat meningkatkan aliran gen antar spesies, sehingga kemampuan adaptasi *D. draco* lebih baik terhadap perubahan kondisi lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Asra, R., Syamsuardi, Mansyurdin, Witono, J. R. 2013. Modification of DNA Isolation Protocol From Dried Leaf Tissues of Treated Species “Jernang” (*Daemonorops draco* (Willd.) Blume). *Jurnal Penelitian Universitas Jambi* 15 (2): 01 - 06
 - [2] Balai Informasi Kehutanan Provinsi Jambi, 2009. <http://infokehutananjambi.or.id> (diakses tanggal 2 Januari 2009)
 - [3] Balloux, F., and Lugon-Moulin, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers (Review Article). *Molecular Ecology*. 11(2): 155-165
 - [4] Carmen del Castillo, T Winkel, G Mahy, JP Bizoux. 2006. Genetic Structure of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from the Bolivian Altiplano as Revealed by RAPD Markers. *Genet Resour Crop Evol Springer Science Business Media B.V.* 9p.
 - [5] Cavallo, P., Proto, M. C., Patruno, C., Del Sorbo, A., and Bifulco, M., 2008. Review Article : The first cosmetic treatise of history. A female point of view. *International Journal of Cosmetic Science*, 30, p. 79 – 86.
 - [6] Changtragoon, S., Szmidt, A. E. and Wang X-R., 1995. The use of molecular markers in the study of genetic diversity in rattan : preliminary result. In : IPGRI Workshop: Molecular Genetic Techniques for Plant Genetics Resources. Rome Italy. 39 – 43.
 - [7] Dransfield, J., 2001. Taxonomy, biology and ecology of rattan. *Unasylva*. No.205.
 - [8] Handel, S. N. 1983. Contrasting gene flow patterns and genetic subdivision in adjacent populations of *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae). *Evolution* 37: 760-71
 - [9] Heywood, J. S. 1991. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 23: 335-355
 - [10] Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*. 13. 1143-1155
 - [11] Pearson, J. 2002. Dragon’s Blood. *The Horticulturist*. Volume 11. No. 2.
 - [12] Piozzi F., Passsannanti S. & Paternostro MP (1974) “Diterpenoid resin acids of *Daemonorops draco*” *Phytochemistry* **13**, 2331-2233.
 - [13] Raslim, D. I., Hartana, A., Suharsono, 2003. Kemiripan genetic tiga populasi kelapa tipe dalam berdasarkan tiga metode analisis data penanda RAPD. *Hayati*. Vol 10. N0. 1: 12-18
 - [14] Rustiami, H., Setyowatii, F.M., Kartawinata K., 2004. Taxonomy and uses of *Daemonorops draco* (Willd.) Blume. *Journal of Tropical Ethnobiology* Vol I (2): 65 – 75.
 - [15] Slatkin, M. 1977. Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinction. *Theoretical Population Biology* 12: 253-262
-

- [16] Thomson, G.E. 2007. The Health Benefits of Traditional Chinese Plant Medicines : Weighing the Scientific Evidence. Rural Industries Research and Development Corporation. Australian Government.
- [17] Williams, J. G., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J.A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acid Res.*, 18. 6531-6535
- [18] Witono, J.R., Y. Masuda and K. Kondo (2006). Genetic diversity of *Pinanga javana* Blume (Palmae) in six natural populations in Java, Indonesia as revealed by RAPD markers. *Chromosome Botany* 1: 33-39.
- [19] Witono, J. R., and Kondo, K. 2010. A comparative genetic diversity in natural population and cultivated individuals in *Satakentia liukuensis* (Hatus) H. E. Moore inferred by RAPD markers. *Chromosome Botany* 5: 27-31
- [20] Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., Ye, Z.H., Mao, J.X. 1997. *POPGENE, the User-Friendly Shareware of Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Center. University of Alberta, Edmonton, Canada
- [21] Younis, R. A. A., Ismail, O. M. and Soliman, S. S., 2008. Identification of Sex-specific DNA Markers for Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Using RAPD and ISSR Techniques. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(4): 278 – 284

KARAKTERISTIK MORFOLOGI DURIAN MERAH BANYUWANGI JAWA TIMUR

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BANYUWANGI RED DURIAN JAWA TIMUR

Rusmiati¹ , Eko Mulyanto², Sumeru Ashari³, M.Aris Widodo⁴ dan Lutfi Bansir²

¹Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat,² Forum Pemerhati Hortikultura Banyuwangi³Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, ⁴Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
E-mail: rusmiati39@ymail.com

ABSTRACT

Banyuwangi regency, has a unique durian (*Durio* sp), with fleshy red arillus that has an exotic value. In general, the durian is a perennial plant that the population is decreased due to the population getting old, and not well conserved. Conservation activities as a first step in plant breeding efforts can be done through the study of durian genetic diversity. X. of the aim of the research was to study the genetic diversity of Banyuwangi red durian based on morphological characters in order to help the red durian fruit development efforts and to maintain genetic resources from extinction. The information of each character of red durian variant is essential for assembling high-yield varieties. The research was conducted based on direct observation and deliberately purposive sampling. Plants were observed with established criteria in their natural habitat. Four red durian variants used in this study were durian Serad, and durian F1 Serad consisting of Serat Pink, Talun Jeruk, and Musang Merah. The observed morphological characters included tree stature, leaf shape, flower, fruit, and seeds. The data analysis was based on the primary data (direct observation data) and secondary data (supporter data). The result showed that the morphological characteristics of Banyuwangi red durian was different to the other durians in several characters which were : 1. the abaxial surface of leaves are silvery, 2. the adaxial surface of leaves are green, 3. The adaxial surface of leaves are wavy.,4 the margin of leaves is curly , 5. the number of petal is four. Meanwhile, the other durian has brown color on the the abaxial surface of leaves and three petals.

Keywords : characteristics , morphology , red durian , Banyuwangi

ABSTRAK

Kabupaten Banyuwangi, memiliki jenis durian (*Durio* sp.) unik, berdaging merah yang memiliki nilai - eksotis. Secara umum-durian merah Banyuwangi tersebut merupakan tanaman tahunan yang populasinya semakin berkurang akibat penuaan pohon dan belum terkonservasi dengan baik. Kegiatan konservasi sebagai langkah awal upaya pemuliaan tanaman yang dapat dilakukan melalui studi tentang keanekaragaman genetik tanaman durian tersebut. Salah satu kajian untuk mempelajari keanekaragaman genetik adalah berdasarkan karakteristik morfologi. Tujuan karakterisasi terhadap tanaman durian merah ini adalah untuk membantu upaya pengembangan buah durian merah dan dapat mempertahankan sumber daya genetiknya dari kepunahan. Untuk itu informasi karakter dari masing-masing varian durian merah sangat penting bagi program perakitan varietas unggul. Metode penelitian adalah survey berdasarkan pengamatan langsung dan pengambilan sampel secara sengaja purposive sampling. Tanaman yang diamati sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan. Empat varian durian merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu durian Serad, dan tiga durian F1 Serad meliputi Serat Pink, Talun Jeruk, dan Musang Merah, diamati ciri morfologinya langsung di habitat aslinya meliputi perawakan

pohon, bentuk daun, bunga, buah, dan biji. Analisis data secara deskripsi berdasarkan data primer (pengamatan langsung) dan data sekunder (pendukung). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa karakteristik morfologi durian merah berbeda dengan durian lainnya pada beberapa karakter yaitu: 1. . Warna daun bagian bawah daun durian merah berwarna keperakan, 2. warna bagian permukaan atas daun berwarna hijau, 3. Permukaan daun bergelombang. Bagian bawah durian biasa berwarna coklat. b. Tepi daun durian merah melengkung, bila diraba seperti ada menyangkut dikulit jari tangan.. 2. Struktur bungadurian pada umumnya memiliki 3 kelopak, durian merah memiliki 4 kelopak.

Kata Kunci: Karakteristik, morfologi, durian merah, Banyuwangi

PENDAHULUAN

Kabupaten Banyuwangi, memiliki keanekaragaman sumber daya hayati buah-buahan tropis yang perlu mendapat perhatian yang serius dalam hal pengembangan maupun pelestariannya. Banyak diantara buah-buahan tersebut adalah buah lokal yang memiliki nilai endemik dan eksotis karena mempunyai karakter yang khas, spesifik dan tidak ditemukan di daerah lain.

Salah satu jenis buah-buahan tersebut adalah durian berdaging merah. Dari hasil penelitian sebelumnya disebutkan bahwa durian yang memiliki arillus berwarna merah banyak ditemukan di Kalimantan, dan ternyata memiliki karakter yang sangat berbeda dengan durian yang berada di Banyuwangi [3]. Durian ini tersebar di empat kecamatan, yaitu Glagah, Songgon, Licin, dan Kalipuro [1]. Durian merah Banyuwangi ini diduga merupakan jenis turunan dari persilangan yang dilakukan oleh alam, antara *D. zibethinus* dan *D. graveolens* atau *D. zibethinus*, *D. graveolens* dan *D. kutejensis*.

Dari hasil penelitian sebelumnya didapatkan ada 32 varian durian merah [5]. Berdasarkan warnanya dibedakan menjadi merah total, merah muda, dan merah kuning. Durian merah di Songgon memiliki warna merah paling pekat dibandingkan durian merah lain di Banyuwangi. Durian merah di desa Kemiren kecamatan Glagah warna merahnya menyerupai semburat. Durian merah yang tumbuh di Kecamatan Kalipuro, memiliki paduan warna merah, jingga, dan kuning. Durian merah Banyuwangi diduga memiliki tiga tetua yaitu *Durio kutejensis*, *D. graveolens*, dan *D. zibethinus*. Ciri *D. kutejensis* terlihat dari warna daging buahnya yang jingga. Warna merah di pangkal daging buah dari *D. graveolens*, sementara *D. zibethinus* dari aroma yang menyengat [3].

Pada umumnya durian merupakan tanaman tahunan yang populasinya semakin berkurang akibat penebaran pohon dan belum terkonservasi dengan baik karena belum diketahui keunggulan dan potensi komersialnya [8]. Kegiatan konservasi sebagai langkah awal upaya pemuliaan tanaman yang dapat dilakukan melalui studi tentang keanekaragaman genetik tanaman durian tersebut. Salah satu kajian untuk mempelajari keanekaragaman genetik adalah berdasarkan karakteristik morfologi mencakup pengenalan ciri-ciri morfologi akar, batang, bentuk percabangan dan daun; fisiologi; dan molekuler (model gen, mutasi). Koleksi yang ada dan yang telah dikarakterisasi dapat menghasilkan deskripsi yang bermanfaat sebagai materi dalam pembentukan varietas unggul baru, yang dapat dilakukan melalui introduksi, seleksi dan persilangan dengan menggunakan tetua yang terpilih dari koleksi plasma nutfah [6].

Penampilan morfologi dari tanaman durian beragam tergantung dari lingkungannya. Dalam usaha pembudidayaan tanaman ini pemilihan bibit yang tepat merupakan suatu keharusan karena durian termasuk tanaman tahunan apabila terjadi kesalahan dalam

pemilihan bibit akan menimbulkan kerugian sangat besar. Kesalahan dalam pemilihan bibit dapat diminimalkan dengan cara mengenal morfologi durian. Yang menjadi permasalahan adalah: apakah karakteristik durian merah Banyuwangi berbeda dengan durian pada umumnya.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik morfologi durian merah sehingga akan membantu upaya pengembangan buah durian merah yang memiliki nilai komersial sekaligus juga dapat dipertahankan sumber daya genetiknya dari kepunahan. Untuk itu informasi karakter dari varian durian merah sangat penting bagi program perakitan varietas unggul. Kegiatan karakterisasi morfologi tanaman durian diharapkan dapat mengungkapkan potensi unggulan tanaman ini dan informasi yang didapatkan digunakan sebagai pedoman bagi masyarakat luas untuk dapat mengetahui jenis-jenis durian yang ada di Kabupaten Banyuwangi untuk pengembangan pembudidayaan durian secara lebih luas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian survey berdasarkan pengamatan langsung dan pengambilan sampel secara sengaja, *purposive sampling*. Tanaman yang diamati sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan yaitu tanaman yang berasal dari satu keturunan terdiri dari durian Serad (induk) dan durian F1 Serad yaitu: durian Serad Pink, Talun Jeruk, dan Musang Merah.

Pengambilan data dilakukan dengan pengukuran dan pengamatan langsung terhadap tanaman durian di lapangan sebagai data primer, sedangkan sumber data sekunder diperoleh dengan melakukan wawancara dengan pemilik tanaman durian dan pakar durian. Variable pengamatan yang dikumpulkan dan didokumentasikan di lapangan dari karakter morfologi yang diamati meliputi: perawakan pohon, bentuk daun, bunga, buah, dan biji.

Hasil karakterisasi morfologi dianalisis secara deskriptif, dan didokumentasi dengan pemotretan bagian tanaman seperti batang, daun, bunga, buah, dan biji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perawakan pohon

Tinggi pohon durian 27,15 m (durian Serad), 20,12 m - 20,70 m (durian F 1 Serad). Bentuk tajuk dari tanaman durian yang diamati terdiri dari bentuk tajuk piramida. Bentuk batang tanaman durian berdasarkan penampang melintangnya adalah bulat (*terete*). Warna batang adalah coklat tua

Struktur dan ukuran daun

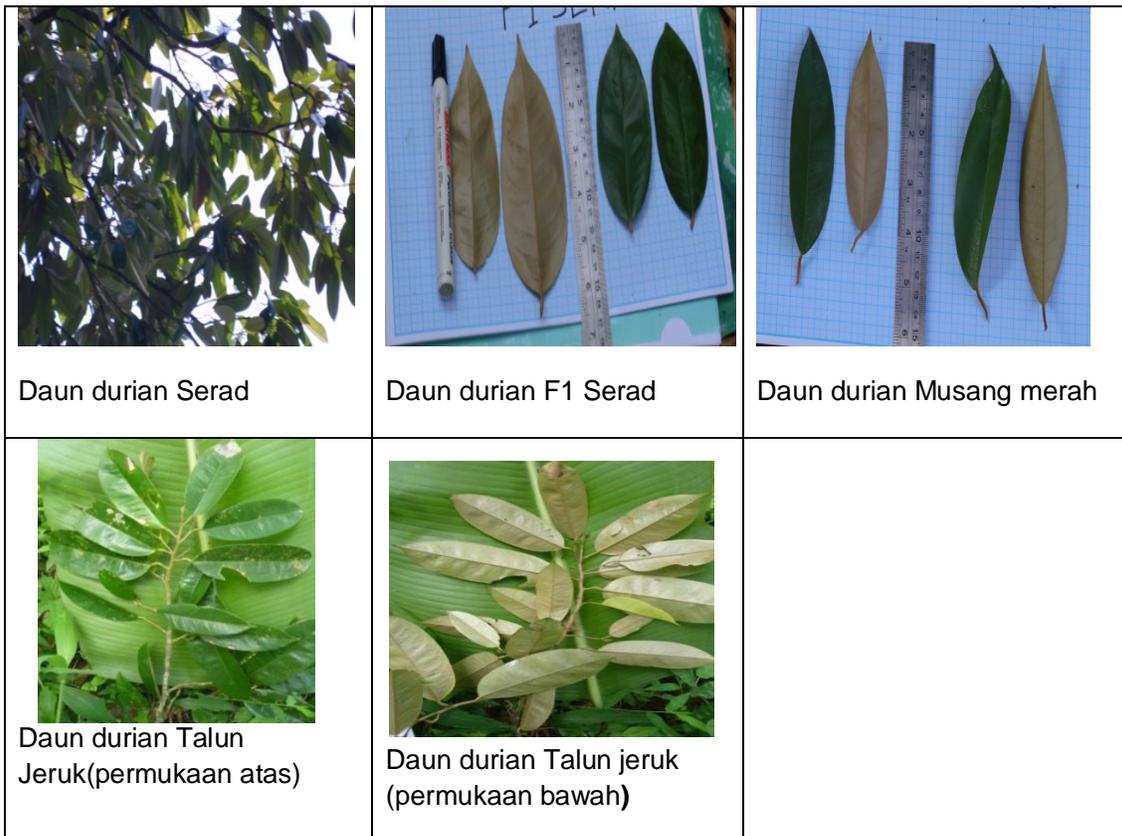
Daun tanaman durian merupakan daun tidak lengkap. Permukaan bawah daun tanaman durian memiliki warna yang berbeda dengan permukaan atasnya yang didominasi warna hijau. Sementara permukaan bawah daun berwarna coklat keemasan

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa daun permukaan bawah daun durian merah berwarna keperakan, bagian permukaan atas terlihat bergelombang. Tepi daun durian merah melengkung, bila diraba seperti ada menyangkut dikulit jari tangan. Bagian bawah durian pada umumnya berwarna coklat. Ukuran daun sama dengan durian lainnya. Durian

merah keturunan lai (*Durio kutejensis*) seperti durian merah dari desa Kampung Anyar, kecamatan Kalipuro, ukuran daun lebih panjang daripada durian lain, panjang daun mencapai 15 cm, durian biasa 12 cm (Gambar 1).

Struktur bunga

Bunga durian muncul pada cabang atau ranting, termasuk bunga ramiflorous [2]. Hiasan bunga dibedakan menjadi dua yaitu kelopak bunga (calyx) dan mahkota atau tajuk bunga (corolla). Warna mahkota bunga durian secara umum adalah putih keabu-abuan. Durian merah mahkota berwarna kuning keemasan, warna kelopak hijau kekuningan. Selain itu, pada tumbuhan yang tergolong ordo Malvales (durian termasuk ordo Malvales), diluar kelopak, terdapat daun yang menyerupai kelopak yang disebut kelopak tambahan (epicalyx) dengan warna hijau yang menyelubungi bunga ketika masih kuncup [8]. Pada durian merah ditemukan 4 kelopak tambahan, durian lain hanya 3 kelopak tambahan. Ukuran kelopak tambahan berbeda. Sebanyak 16 varian memiliki kelopak bunga tambahan sepanjang 6 cm, lainnya hanya 3 cm. Gambar 2.





Gambar 1. Daun durian merah



Gambar 2. Bunga durian merah

Struktur buah durian merah

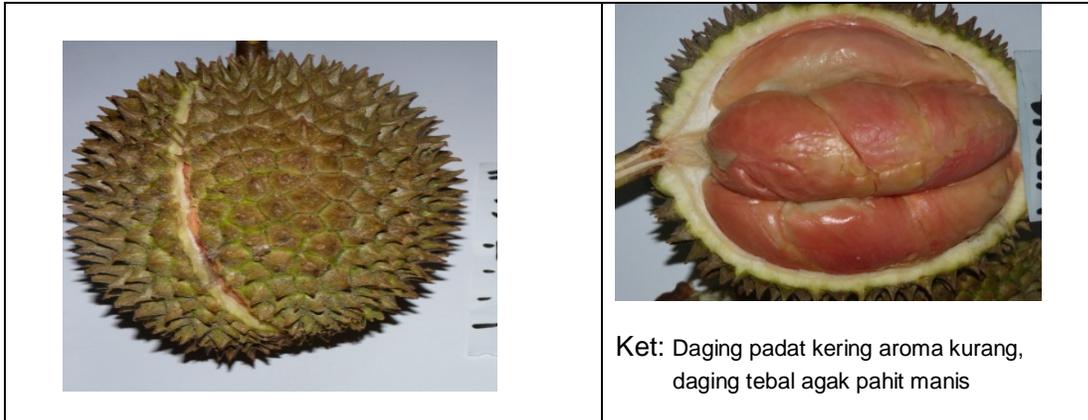
Durian Serat dari desa Kemiren adalah induk dari pohon durian merah yang ada di Banyuwangi (Kecamatan Glagah, kecamatan Giri, kecamatan Kalipuro dan kecamatan Licin). Bentuk fisik buah durian merah pada umumnya lebih kecil dari durian biasa (dengan berat 1 – 1,5 kg per buah), penampakan luar sama dengan durian pada umumnya. Warna daging buah durian Serat merah tua, lebih tebal, rasa lebih manis, lebih berlemak, lebih berbau, aroma lebih kuat, dan biji lebih kecil. Durian F1 serat warna buah merah muda, tidak semanis durian Serat.



Gambar 3. a. Buah durian merah Serat



Gambar 3.b. Buah durian merah F1 Serat (Musang Merah)



Ket: Daging padat kering aroma kurang, daging tebal agak pahit manis

Gambar 3. c.buah durian merah F1 Serat (Talun Jeruk)



Ket: Daging sangat tebal, empuk ,gurih dan rasa manis yang sangat kuat, aroma cukup wangi, bagian kulit daging seperti ada ari yang agak tebal dan agak lembek berair, sangat enak.

Gambar 3.d buah durian merah F1 Serat (Serat Pink)



Ket: Biji durian merah lebih kecil dan berwarna lebih coklat, sedangkan turunannya lebih besar dan berwarna coklat muda

Gambar 4. Beberapa biji durian

KESIMPULAN

Morfologi durian merah berbeda dalam hal:

1. Bagian bawah daun durian merah berwarna keperakan, bagian permukaan atas terlihat bergelombang. Tepi daun durian merah melengkung, bila diraba seperti ada menyangkut dikulit jari tangan.
2. Ukuran daun sama dengan durian lainnya, kecuali durian merah keturunan lai (*Durio kutejensis*) seperti durian merah dari desa kampung Anyar, kecamatan Kalipuro, ukuran daun lebih panjang daripada durian lain.
3. Struktur bunga, durian merah memiliki 4 kelopak tambahan durian biasa 3 kelopak.

PROSPEK:

Dari penelitian ini akan dihasilkan deskripsi sebagai pedoman dalam pemberdayaan genetik dalam program pemuliaan tanaman (sebagai materi dalam pembentukan varietas unggul).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonimous. 2012. Dunia Durian, My Trubus favourite fruit. PT Trubus Swadaya, Jakarta.
- [2] Brown, M.J.1997. Durio-Bibliographic Review. In Arora, Rao and A.N Rao (Eds).IPGRI office for South Asia, New Delhi.
- [3] Mulyanto, E. 2012. Merajut yang terserak di bumi Blambangan. Forum Pemerhati Hortikultura Banyuwangi.
- [4] Mulyanto, E. 2013. Relasi kontrak pohon rp. 6 juta setahun untuk penelitian. Radar Banyuwangi, jumat 29 maret 2013
- [5] Rusmiati , Mulyanto, E; Ashari, S; Widodo,, M.A dan Bansir, L.2013. Eksplorasi, Inventarisasi dan Karakterisasi Durian Merah Banyuwangi. Makalah disampaikan pada Seminar dan Rapat Tahunan Bidang MIPA BKS – PTN B di Universitas Lampung, tanggal 10 – 11 Mei 2013.
- [6] Suryadi, Lutfhy, Yenni, K., dan Gunawan, 2003. Karakterisasi Plasma Nutfah Mentimun (*Cucumis sativus*). Buletin Plasma Nutfah, Lembang. Vol. 10 (1) : 28 – 31.
- [7] Tjitrosoepomo, G. 2003. Morfologi Tumbuhan. Gadjah Mada University press.Yogyakarta.
- [8] Uji, T. 2005. Keanekaragaman jenis dan Sumber Plasma Nutfah Durio (*Durio spp*) di Indonesia. Buletin Plasma Nutfah Vol. 11. No. 1.

MORFOLOGI SERBUK SARI BEBERAPA VARIETAS KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* R.)

POLLEN MORPHOLOGY OF SOME CHRYSANT VARIETIES ((*Chrysanthemum morifolium* R.)

Des M^{1*}, Moralita Chatri², Suci Rahmiati³

Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang^{1*}

des.unp@gmail.com, 081266662630

Universitas Negeri Padang, Padang²

Universitas Negeri Padang, Padang³

ABSTRACT

Pollen is the male reproductive cells of flowering plants. Pollen morphology characters can be used in a variety of disciplines and scientific research. Chrysant (*Chrysanthemum morifolium* R.) has many varieties with two flower types, spray and standard. The purpose of the study was to determine the pollen morphology of nine chrysant varieties from the spray type. The study was conducted at the Laboratory of Botany, Department of Biology, Padang State University, in November- December 2013. This research used asetolysis methods with 0.1 % safranin staining, and the pollen morphology was observed using a digital microscope. The results showed that pollen of chrysant has three forms, namely oblate spheroidal, prolate spheroidal and subprolate. Pollen of chrysant was spread in the singular form (monad). Pollen size was medium ranged from 29.82 μm to 46.34 μm , isopolar polarity and radial symetry. Ornamentation of exin was echinate like a thorn. The aperture type was 3-colporate type.

Keywords: acetolysis, Chrysanthemum morifolium, pollen

ABSTRAK

Serbuk sari merupakan alat reproduksi jantan pada tumbuhan berbunga. Karakter morfologi serbuk sari dapat digunakan dalam berbagai disiplin ilmu dan penelitian ilmiah. Krisan (*Chrysanthemum morifolium* R.) mempunyai banyak varietas dengan dua tipe bunga yaitu tipe *spray* dan *standard*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui morfologi serbuk sari dari sembilan varietas krisan tipe *spray*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang, pada bulan November-Desember 2013. Metode yang digunakan adalah asetolisis dengan pewarnaan safranin 0,1%, dan pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa serbuk sari krisan memiliki tiga bentuk yaitu *oblate spheroidal*, *subprolate* dan *prolate spheroidal*. Serbuk sari krisan tersebar dalam bentuk tunggal (*monad*). Ukuran serbuk sari termasuk golongan medium yang berkisar 29,82 μm sampai 46,34 μm . Serbuk sari memiliki polaritas isopolar, dan simetri radial. Ornamenasi eksin serbuk sari yaitu *echinate* yang menyerupai duri, dengan tipe apertur 3-*colporate*.

Kata Kunci : *Chrysanthemum morifolium*, asetolisis, serbuk sari

PENDAHULUAN

Serbuk sari merupakan alat reproduksi jantan pada tumbuhan berbunga [1]. Analisis serbuk sari diperlukan untuk menunjang berbagai disiplin ilmu dan penelitian ilmiah diantaranya taksonomi, sejarah vegetasi, kriminologi, kualitas madu dan lainnya [2]. Serbuk sari yang ada pada tumbuhan hidup maupun tumbuhan yang telah mati, dan terendapkan dalam sedimen (berupa fosil) dapat digunakan sebagai sumber data untuk menggambarkan perubahan vegetasi. Contohnya perubahan keanekaragaman vegetasi hutan mangrove di Pantai Kaliuntu Rembang [3]. Serbuk sari juga dimanfaatkan sebagai sumber pakan bagi lebah madu (*Apis mellifera*) karena kandungan protein dan karbohidrat yang tinggi [4].

Karakter penting dari morfologi serbuk sari yang sering digunakan dalam klasifikasi adalah ; bentuk, unit, ukuran, polaritas, simetri, ornanentasi eksin dan apertur. Biasanya digunakan untuk mengoreksi kembali hubungan kekerabatan antara satu tumbuhan dengan tumbuhan lainnya dalam kelompok-kelompok takson [5].

Ukuran dan bentuk serbuk sari sangat beragam, serta pola lekukannya berbeda-beda, termasuk adanya butiran dan duri. Aprianty dan Kriswiyanti [5]) meneliti sepuluh varietas kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dengan warna bunga berbeda, memperlihatkan adanya perbandingan ukuran serbuk sari yang mencolok yaitu perbandingan panjang aksis polar dengan diameter ekuatorial P/E antara 0,99 sampai dengan 1,04.

Krisan merupakan tanaman perdu, semusim ataupun tahunan yang termasuk dalam familia Asteraceae dengan genus *Chrysanthemum* [6]. Salah satu species yang terkenal yaitu *Chrysanthemum morifolium* [7]. Krisan jenis ini memiliki beragam varietas, berdasarkan bentuk, ukuran dan warna mahkota. Krisan merupakan salah satu jenis bunga potong (florikultura) yang terkenal dan mendatangkan nilai ekonomis yang tinggi bagi petani bunga potong [8]. Berdasarkan cara produksinya krisan dibagi dua tipe yaitu tipe *spray* dan *standard*. Bunga tipe *spray* memiliki 10 sampai 20 kuntum bunga berukuran kecil dengan diameter 2 sampai 3 cm pada satu tangkai bunga. Bunga tipe *standard* hanya memiliki satu bunga pada satu tangkai bunga dan bunga berukuran besar [9]. Banyak varietas krisan yang telah dihasilkan tetapi belum ada informasi mengenai morfologi serbuk sari krisan tipe *spray* pada varietas yang berbeda. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui morfologi serbuk sari dari sembilan varietas krisan (*C. morifolium* R.).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dari bulan November sampai Desember 2013 di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang (UNP).

Pengambilan Sampel

Sampel Krisan diambil dari kelompok tani tunas baru, Nagari Aia Batumbuak Kabupaten Solok Sumatera Barat sebanyak sembilan varietas. Dalam satu individu diambil sebanyak \pm sepuluh bunga majemuk. Anteranya dipotong, dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi FAA sekitar $\frac{1}{4}$ dari isi botol. Kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk diamati morfologi serbuk sarinya.

Pengamatan di Laboratorium

Karakter morfologi serbuk sari yang diamati yaitu: bentuk, unit, ukuran, polaritas, simetri, ornanentasi eksin dan apertur. Untuk melihat morfologi serbuk sari krisan, digunakan metode kerja Asetolisis (Aprianty dan Kriswiyanti- 2008 [5]).

FAA yang berisi sampel serbuk sari dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm, kemudian FAA dibuang sehingga yang tertinggal hanya endapan serbuk sari saja. Serbuk sari kemudian difiksasi dengan AAG 100% sebanyak 2 mL, selama 24 jam, dan disentrifus selama 5 menit, kemudian larutan AAG dibuang.

Endapan serbuk sari dicuci dengan akuades dan disentrifus selama 5 menit kemudian akuades dibuang, dan pencucian dilakukan dua kali. Setelah itu dilanjutkan dengan alkohol 50% dan alkohol 70%, kemudian disentrifus selama 5 menit, lalu alkohol dibuang. Tahap berikutnya pewarnaan serbuk sari dengan safranin 0,1% dalam alkohol 70%.

Endapan serbuk sari diambil menggunakan kuas kecil lalu disapukan diatas gelas objek, dan tutup dengan gelas penutup. Kemudian diamati karakter morfologinya dibawah mikroskop digital perbesaran 1000x dan salah satu sampel diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.

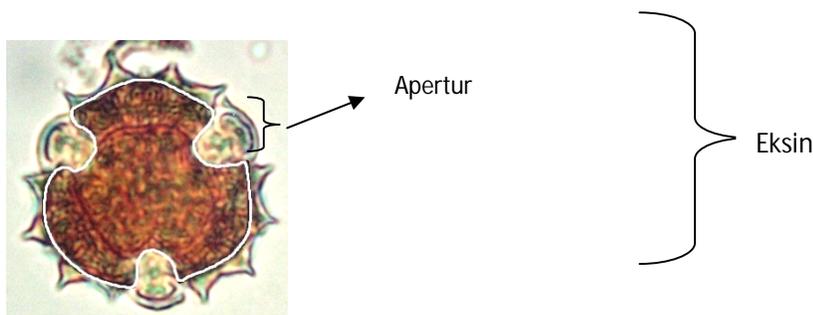
Data yang diperoleh dianalisis deskriptif secara kuantitatif dan kualitatif. Analisa secara kuantitatif yaitu dengan mengukur panjang aksis polar dan diameter bidang ekuatorial serbuk sari dengan menggunakan mikrometer. Analisa secara kualitatif dengan membandingkan karakter-karakter morfologi serbuk sari yang didapat dengan literatur dan buku identifikasi yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

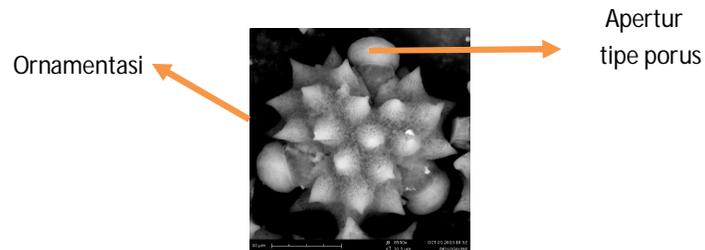
Berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran yang telah dilakukan ditemukan 3 bentuk morfologi serbuk sari yaitu *oblate spheroidal*, *subprolate* dan *prolate spheroidal* (Tabel 1). Serbuk sari *C. morifolium* tersebar dalam bentuk tunggal (*monad*). Ukuran serbuk sari termasuk golongan medium/menengah yang berkisar dari 29,82 μm sampai 46,34 μm , pengukuran ini berdasarkan panjang aksis polar dan diameter bidang ekuatorial (Tabel 1), polaritas isopolar, dan simetri radial. Pada tampilan polar kesembilan varietas memiliki bentuk tipe melingkar (*circular*)(Gambar. 1)

Bentuk permukaan ornamentasi eksin adalah *echinate* yaitu ornamentasi dinding menyerupai duri. Tipe apertur yaitu *colporate* merupakan gabungan bentuk *colpus* (alur) dan bulat (*porus*). Jumlah apertur tiga buah, sehingga aperturnya disebut *3-colporate*.

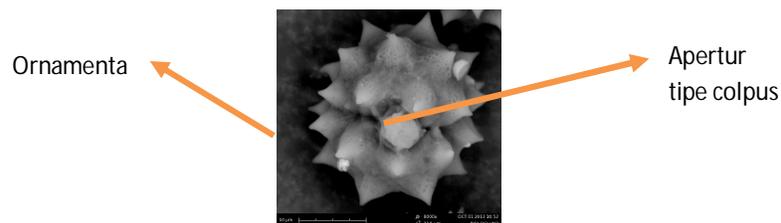


Gambar 1. Bentuk morfologi serbuk sari tipe *circular* tampak polar

Untuk lebih jelasnya, ornamentasi eksin dan apertur pada salah satu varietas krisan remix ungu diamati dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) secara polar (Gambar 2)



Gambar 2. Morfologi serbuk sari *C. morifolium* tampak polar dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).



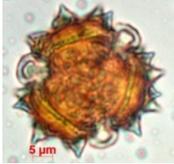
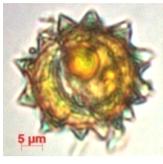
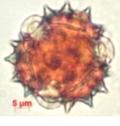
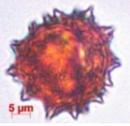
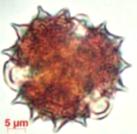
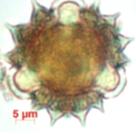
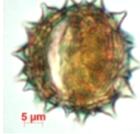
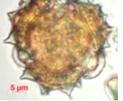
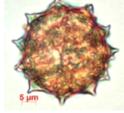
Gambar 3. Morfologi serbuk sari *C. morifolium* tampak ekuatorial dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

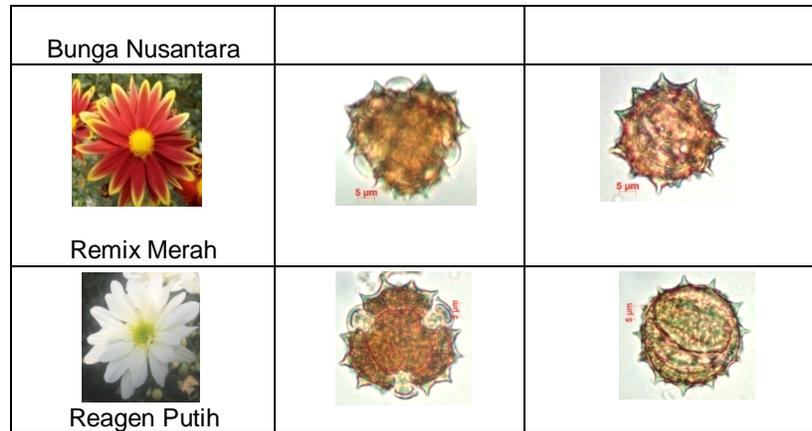
Tabel 1. Hasil Pengukuran Serbuk Sari Beberapa Varietas Krisan

No	Nama varietas	Panjang aksis polar (P) dan diameter bidang ekuatorial (E) (μm)		Indeks P/E.100 (μm)	Bentuk	Ornamentasi Eksin	Apertur	
		P	E				Jmh	Tipe
1	Reagen Oranye	37,61 –	30,84 –	115,65 –	Subprolate	Ekinat	3	Colporate
		39,6	34,54	121,21				
2	Pasopati	38,4 –	31,25 –	117,78 –	Subprolate	Ekinat	3	Colporate
		39,74	33,74	122,88				
3	Alfa Ungu	37,86 –	29,82 –	122,44 –	Subprolate	Ekinat	3	Colporate
		38,79	31,68	126,96				
4	Reagen Kuning	34,83 –	36,37 –	95,76 –	Oblate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate
		36,55	37,28	98,04				
5	Reagen Pink	36,5 –	36,81 –	98,22 –	Oblate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate
		36,89	37,65	99,15				

6	Remix Ungu	41,29 – 42,12	35,78 – 39,52	106,58 – 113,55	Prolate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate
7	Bunga Nusantara	40,8 – 42,77	36,8 – 39,73	108,15 – 110,87	Prolate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate
8	Remix merah	39,72 – 39,74	35,05 – 35,46	108,18 – 112,01	Prolate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate
9	Reagen Putih	44,09 – 46,34	40,11 – 41,76	109,92 – 110,96	Prolate Spheroidal	Ekinat	3	Colporate

Berikut adalah gambar morfologi serbuk sari sembilan varietas krisan (*C. morifolium* R.) dilihat secara polar dan ekuatorial:

Varitas	Tampak polar	Tampak ekuatorial
 Reagen Oranye		
 Pasopati		
 Alfa Ungu		
 Reagen Kuning		
 Reagen Pink		
 Remix Ungu		
 Reagen Putih		



Gambar 11. Morfologi Serbuk Sari Beberapa Varietas Krisan (*Chrysanthemum morifolium* R.)

Pembahasan

Dari hasil pengamatan dan pengukuran serbuk sari sembilan varietas *C. morifolium* tipe spray, ditemukan tiga bentuk yaitu *subprolate*, *oblate spheroidal* dan *prolate spheroidal*. Sesuai dengan pendapat [2] umumnya genus *Chrysanthemum* memiliki serbuk sari *oblate spheroidal* sampai *prolate*.

Bentuk *subprolate* dengan indeks P/E x 100 = 112,44 – 126,96 µm ditemukan pada varietas alfa ungu, bunga nusantara, dan reagen oranye, bentuk *oblate spheroidal* dengan indeks P/E x 100 = 95,76 – 99,15 µm adalah varietas reagen kuning dan reagen pink, sedangkan yang memiliki bentuk *prolate spheroidal* dengan indeks P/E x 100 = 108,1 – 113,55 µm ditemukan pada varietas pasopati, reagen putih, remix merah dan remix ungu (Tabel 1). Erdmant [10] menyatakan bentuk *subprolate* memiliki indeks P/E x 100 = 114 – <133 µm, bentuk *oblate spheroidal*, indeks P/E x 100 = 88 – <100 µm dan bentuk *prolate spheroidal* indeks P/E x 100 = 100 – <114 µm. Bentuk serbuk sari *C. morifolium* juga diamati tampak polar yaitu tipe *circular*. Sesuai dengan pendapat Huang [2] bahwa bentuk polar serbuk sari *Chrysanthemum* umumnya melingkar (*circular*) atau *intersemi lobate*.

Serbuk sari tersebar dalam bentuk tunggal (*monad*), karena masing-masing serbuk sari terpisah satu persatu dan saling bebas, satu unit serbuk sari terdiri dari satu butir serbuk sari. Sesuai dengan pendapat Huang [2] bahwa serbuk sari genus *Chrysanthemum* tersebar secara bebas.

Ukuran serbuk sari kesembilan varietas terlihat adanya perbedaan, tetapi masih berada dalam ukuran medium (29,82 µm - 46,34 µm). Sebagaimana yang ditemukan Hesse et al. [11], serbuk sari yang memiliki ukuran menengah berkisar 26 µm – <51 µm.

Aksis polar terpendek 34,83 µm ditemukan pada krisan varietas reagen kuning. Aksis polar terpanjang 46,34 µm ditemukan pada varietas reagen putih. Diameter ekuatorial terpendek 29,82 µm ditemukan pada krisan varietas alfa ungu. Diameter ekuatorial terpanjang 41,76 µm ditemukan pada varietas reagen putih (Tabel 1).

Serbuk sari *C. morifolium* memiliki polaritas isopolar dan simetri radial karena bagian distal sama persis dengan bagian proksimal. Sedangkan simetri serbuk sari merupakan

simetri radial karena memiliki lebih dari dua bidang vertikal simetri jika dibagi di daerah manapun, maka sumbu ekuatorialnya sama panjang.

Karakter morfologi serbuk sari yang penting untuk klasifikasi adalah ornamentasi dan apertur. Ornamentasi terdapat di dinding luar eksin serbuk sari. Kesembilan varietas yang diamati memiliki bentuk ornamentasi menyerupai duri disebut ekinat/*echinate*. Erdmant (1972 [10]) mengemukakan bahwa familia Compositae memiliki ornamentasi *echinate*. Sebagaimana pada penelitian Haryanti [12] pada *Dahlia pinnata* dengan warna mahkota berbeda juga memiliki ornamentasi eksin *echinate*.

Apertur merupakan area yang ber dinding tipis pada dinding eksin serbuk sari. Kesembilan varietas memiliki tipe dan jumlah apertur yang sama yaitu tipe aperturnya gabungan bentuk alur/memanjang (*colpus/colpate*) dan bulat (*porus/porate*) disebut *colporate* dan berjumlah tiga buah sehingga aperturnya adalah *3-colporate* (Gambar.1). Erdmant [10] mengatakan umumnya familia Compositae memiliki tipe apertur *3-colporate* salah satunya genus *Chrysanthemum*. Sebagaimana pendapat Fahn [13] tipe apertur *colpus* berbentuk memanjang/alur yang tegak lurus dengan bidang ekuatorial dan *porus* merupakan tipe apertur berbentuk bulat. Kombinasi antara *colpus* dan *porus* disebut *colporate*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi serbuk sari 9 varietas krisan (*C. morifolium* R.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Bentuk serbuk sari ditemukan 3 macam yaitu *oblate spheroidal*, *subprolate* dan *prolate spheroidal*. Unit serbuk sari dari semua varietas tunggal (*monad*).
2. Ukuran serbuk sari berkisar 29,82 µm sampai 46,34 µm yang termasuk dalam golongan medium.
3. Ornamentasi eksin serbuk sari adalah *echinate*, menyerupai duri. Jumlah apertur tiga buah, dan tipe apertur merupakan gabungan bentuk alur/memanjang (*colpus*) dan bulat (*porus*) disebut *3-colporate*.

Karena keterbatasan alat masih ada karakter morfologi serbuk sari yang belum teramati seperti ketebalan lapisan eksin dan intin. Disarankan bagi peneliti selanjutnya untuk mengamati karakter morfologi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] O'Neill, S.D dan J.A. Roberts. 2002. *Plant Reproduction*. Sheffield: Sheffield Academic Press.
- [2] Huang, T.C. 1972. *Pollen Flora of Taiwan*. Taiwan: National Taiwan University.
- [3] Suedy, S.W.A., T.R. Soeprbowowati., A.T. Rahardjo., K. Anwar., Maryuni.,R. dan Setijadi (2006). Keanekaragaman Flora Hutan Mangrove di Pantai Kaliuntu Rembang Berdasarkan Bukti Palinoginya. *Jurnal Biodiversitas*. 7(4): 323-324.
- [4] Febretrisiana, A. 2006. Pengaruh Pemberian Olahan Kedelai Sebagai Tepung Sari Pengganti Terhadap Tingkat Mortalitas Anakan Lebah Madu (*Apis mellifera*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.

- [5] Aprianty, N.M.D. dan E. Kriswiyanti. 2008. Studi Variasi Ukuran Serbuk Sari Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dengan Warna Bunga Berbeda. *Jurnal Biologi*. 12(1):14-18.
- [6] Tjitrosoepomo, G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- [7] Turang, A.C., Taulu L.A., Matindas L.A., Taslan E. 2007. *Teknik Budidaya Tanaman Krisan (Chrysanthemum morifolium)*. Sulawesi Utara: Departemen Pertanian.
- [8] Pangemanan, L., G. Kapantow., M. Watung. 2011. Analisis Pendapatan Usahatani Bunga Potong (Studi Kasus Petani Bunga Krisan Putih di Kelurahan Kakaskasen Dua Kecamatan tomohon Utara Kota Tomohon). *Jurnal Analisis Pendapatan Usahatani Bunga Potong*. 7(2):6.
- [9] Phrameswani, P.D. 2012. Eksplorasi Cendawan Entomophthorales Dan Nematoda Pada Trips Dan Kutudaun Pada Tanaman Mawar Dan Krisan Di Balai Penelitian Tanaman Hias Kabupaten Cianjur. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- [10] Erdmant, G. 1972. *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*. New York: Hafner Publishing Company.
- [11] Hesse, M., R. Zetter., H. Halbritter., M. Weber., R. Buchner., A. Frosch-Radivo., S. Ulrich. 2009. *Pollen Terminology*. Austria: Springer Wien New York.
- [12] Haryanti, R. 2012. Studi Morfologi dan Variasi Ukuran Serbuk sari Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.) Pada Warna Mahkota Berbeda. *Skripsi*. Universitas Negeri Padang.
- [13] Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Edisi Ketiga. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.

AKTIVITAS AMILASE PADA ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK YANG BERASAL DARI SUMBER AIR PANAS SEMURUP, KERINCI, JAMBI

AMYLASE ACTIVITY OF THE THERMOPHILIC BACTERIA ISOLATE FROM SEMURUP HOT SPRING, KERINCI, JAMBI

Ruth Rize Paas Megahati S^{1*}, Mansyurdin², Anthonie Agustien², dan Djong Hon Tjong²

Program Studi Pendidikan Biologi, STKIP PGRI Sumbar, Padang, Sumatera Barat^{1*}

E-mail : biomolekuler@yahoo.com, Jl. Gunung pangilun Padang, Sumatera Barat

Tlp/Fax: +6281267769988/ 0751-34311

Jurusan Biologi, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat²

ABSTRACT

Amylase play a role in various industries, such as textiles, paper, biscuit, and detergents. Therefore, these demand of these enzymes are about 30% of the world's production. Amylase is an extracellular enzyme that hydrolyzes binding 1,4- α -D glucosidic into glucose. Amylase from thermophilic bacteria are more widely used in various industries because amylase is stable under conditions of industrial processes that require high temperatures and pH, especially detergen industri. Isolation of thermophilic bacteria at various temperatures have been successfully carried out, ie 46 °C, 58 °C, 60 °C, 67 °C, and 75 °C. The purpose of this study were to isolationing thermophilic bacteria from Semurup hot springs, Kerinci, Jambi and measured its activity amylase. The results of the isolation were 10 isolates with amylase activity, namely SM1 = 21.14 U/ml, SM2 = 17.39 U/ml, SM3 = 9.7 U/ml, SM4 = 10.55 U/ml, SM5 = 35.31 U/ml, SM6 = 26.74 U/ml, SM7 = 0.09 U/ml, SM8 = 3.40 U/ml, SM9 = 41.92 U/ml, SM10 = 41.92 U/ml. Differences amylase activity of each isolates could be due to environmental temperature, types of bacteria, and differences in the amino acid sequence of the gene encoding amylase.

Keywords : Thermophilic bacteria, Amylase, amylase activity, hot spring

ABSTRAK

Amilase berperan dalam berbagai industri, seperti tekstil, kertas, biskuit, dan detergen. Kebutuhan amilase terus meningkat hingga mencapai 30% dari seluruh enzim di dunia. Amilase adalah enzim ekstraseluler yang menghidrolisis ikatan 1,4- α -D glukosidik menjadi glukosa. Amilase yang berasal dari bakteri termofilik lebih banyak digunakan pada berbagai industri karena amilase stabil pada kondisi proses industri yang membutuhkan suhu dan pH yang tinggi, terutama pada industri detergen. Isolasi bakteri termofilik pada berbagai suhu telah berhasil dilakukan, yaitu 46 °C, 58 °C, 60 °C, 67 °C, dan 75 °C. Tujuan penelitian ini untuk isolasi dan uji aktivitas amilase pada bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Semurup kabupaten Kerinci propinsi Jambi. Hasil isolasi dan uji aktivitas bakteri termofilik diperoleh 10 isolat bakteri penghasil amilase, yaitu SM1 = 21,14 U/ml. SM2 = 17,39 U/ml, SM3 = 9,7 U/ml, SM4 = 10,55 U/ml, SM5 = 35,31 U/ml, SM6 = 26,74 U/ml, SM7 = 0,09 U/ml, SM8 = 3,40 U/ml, SM9 = 41,92 U/ml, SM10 = 41,92 U/ml. Perbedaan aktivitas amilase dari setiap isolat disebabkan kerena adanya perbedaan suhu lingkungan bakteri, jenis bakteri, dan perbedaan susunan asam amino dari gen pengkode amilase.

Katakunci: bakteri termofilik, amilase, aktivitas amilase, sumber air panas

PENDAHULUAN

Amilase merupakan enzim yang berperan dalam menghidrolisis pati menjadi gula. Amilase dihasilkan oleh berbagai tanaman, hewan dan mikroorganisme (jamur dan bakteri). Jamur dan bakteri telah digunakan secara luas untuk menghasilkan amilase (Ivanova *et al.*, 2001). Bakteri termofil banyak digunakan sebagai sumber amilase karena tahan atau stabil pada suhu dan pH tinggi selama proses industri sehingga disebut sebagai amilase termostabil. Amilase termostabil banyak digunakan pada berbagai industri, seperti pada pembuatan roti, penyedap rasa pada makanan, penyamakan kulit, industri kertas, industri fermentasi, farmasi, tekstil, dan campuran detergen (Hag *et al.*, 2010). Kebutuhan terhadap amilase termostabil terus meningkat hingga 30% dari keseluruhan enzim di dunia (Munoz *et al.*, 2011). Akan tetapi jumlah bakteri penghasil amilase belum banyak ditemukan oleh karena itu perlu dilakukan isolasi dan uji aktivitas amilase pada bakteri termofil dari sumber air panas Semurup kabupaten Kerinci propinsi Jambi.

Sumber air panas Semurup merupakan salah satu sumber air panas yang mempunyai pH 8,4 atau bersifat basa. Amilase yang dihasilkan oleh bakteri termofil yang berasal dari sumber air panas yang bersifat basa akan tahan pada pH tinggi selama proses industri. Terutama pada industri detergen yang membutuhkan amilase yang stabil pada pH tinggi.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain: botol sampel, tabung reaksi, mikropipet, cawan petri, jarum ose, gelas ukur, hot plate, autoklaf, bunsen, sarung tangan, inkubator, shaker, vortex, spatula, beaker glass, timbangan analitik, lemari pendingin, tabung mikrosentrifius, sentrifius, inkubator, laminar air flow, dan lain lain.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumber air panas, aquades, tissue, kapas, kertas label, medium NA, pati, alkohol 70%, plastik wrap, aluminium foil, dan lain lain.

Metode Kerja

Isolasi bakteri

Pada sampel sumber air panas Semurup dilakukan pengukuran suhu dan pH dengan menggunakan termometer dan pH meter, yang dicelupkan langsung ke dalam sumber air panas. Sampel air panas sebanyak 250 ml diambil pada berbagai suhu, antara lain 46 °C, 58 °C, 60 °C, 67 °C, and 75 °C. Sampel air panas dimasukkan ke dalam botol sampel dan diberi label selanjutnya dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang

Isolasi amilase termostabil

Isolat penghasil amilase termostabil ditanam ke dalam 10 ml media pati cair (3 g K₂H₂PO₄, 3 g KH₂PO₄, 3 g MgSO₄, 10 g NaCl dan 10 g pati) dengan pH 7,5 dan dishaker dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 50 °C selama 24 jam. Bila terjadi pertumbuhan bakteri selanjutnya dipindahkan 2, 5 ml kultur bakteri ke dalam 50 ml media pati cair dan dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Kultur bakteri yang terbentuk disentrifius dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang mengandung

ekstrak amilase termostabil diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifius untuk uji aktivitas (Teodoro dan Martins. 2000).

Uji aktivitas amilase termostabil

Uji Aktivitas amilase termostabil dilakukan dengan cara menginkubasi 0,5 ml larutan pati 1% selama 5 menit dan ditambah 0,5 ml amilase kemudian diinkubasi pada suhu 50 °C selama 1 jam. Untuk menghentikan reaksi dilakukan pemanasan pada air mendidih selama 20 menit. Ditambah 1 ml larutan Samogy Nelson, divorteks dan dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit. Didinginkan dalam air mengalir dan ditambah 1 ml arsenomolibdat kemudian dicukupkan volumenmenjadi 10 ml. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm. Satu unit enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 µmol gula permenit.

$$1 \text{ U/menit/ml} = \frac{\text{Aktivitas enzim } (\mu\text{mol})}{\text{vol enzim (ml)} \times \text{waktu inkubasi (menit)}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Sumber air panas Semurup mempunyai suhu 80 °C dan pH 8,4. Hasil isolasi bakteri pada berbagai suhu telah diperoleh 20 isolat bakteri termofil. Dari 20 isolat bakteri termofil tersebut dipeoleh 10 isolat bakteri termofil penghasil amilase termostabil (Tabel 1). Hasil uji aktivitas amilase termostabil tertinggi diperoleh pada isolat SM9 sebesar 41,92 U/ml dan terendah diperoleh pada isolat SM7 sebesar 0,09 U/ml.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas amilase termostabil

No.	Isolat bakteri	Aktivitas amilase (U/ml)
1	SM1	21,14
2	SM2	17,39
3	SM3	9,70
4	SM4	10,55
5	SM5	35,31
6	SM6	26,74
7	SM7	0,09
8	SM8	3,40
9	SM9	41,92
10	SM10	41,62

Pembahasan

Bakteri termofil merupakan sumber dari berbagai enzim termostabil, seperti lipase, protease, xilanase dan amilase. Perbedaan hasil uji aktivitas dari 10 isolat bakteri termofil disebabkan karena perbedaan pada gen amilase yang mengkode asam amino pembentuk amilase. Urutan asam amino yang berbeda akan menghasilkan amilase termostabil dengan aktivitas yang berbeda (Dale,195). Selain itu suhu lingkungan akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri termofil. Bakteri termofil akan tumbuh dan menghasilkan amilase pada kondisi lingkungan yang optimum untuk produksi amilase termostabil.

Amilase termostabil banyak digunakan pada industri detergen terutama amilase yang berasal dari bakteri termofilik yang hidup pada lingkungan yang mempunyai pH tinggi atau basa (Sauza *et al.*, 2010). Bakteri penghasil amilase yang pernah dilakukan, antara lain Raharjo (2010) dengan aktivitas 0,418 U/ml pada sumber air panas lokal Sulawesi, dan Subandi (2011) dengan aktivitas 2,175 U/ml pada sumber air panas Cangar-Batu. Perbedaan aktivitas amilase selain dari perbedaan gen pengkode amilase dan suhu juga dipengaruhi oleh jenis bakteri. Bakteri dengan jenis yang berbeda akan menghasilkan amilase termostabil dengan aktivitas yang berbeda.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Diperoleh 10 isolat bakteri termofil penghasil amilase termostabil
2. Hasil uji aktivitas amilase termostabil tertinggi diperoleh oleh isolat SM9 dan aktivitas amilase termostabil terendah diperoleh oleh isolat SM7

Saran

Sebaiknya dilakukan optimasi pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat untuk meningkatkan aktivitas amilase termostabil.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dale, JW. 1995. *Molecular Genetic of Bacteria*. John Wiley & Sons. Singapore
- [2] Hag I., Ali, MM. Javed, U. Hameed, A. Saleem, F. Adnan dan MA. Qadeer. 2010. Production of Alpha Amylase From a Randomly Induced Mutant Strain *Bacillus Amyliliquefaciens* and Its Application as a Desizer in Textile Industry. *Pak. J. Bot.*, 42(1): 473-484.
- [3] Ivanova V., D. Yankov, L. Kabaivanova dan D. Pashkoulov. 2001. Simultaneous Biosynthesis and purification of Two Extracellular *Bacillus* hydrolases in Aqueous Two Alpha Amylase. *Biochem. Eng. J.*, 8: 61-81
- [4] Munoz J., Quintero M. dan Gutierrez PA. 2011. Characterization of The Amylase gene from *Bacillus* sp. BBM1. *Journal of Bacteriology*. 18(3).
- [5] Raharjo, S, Ardiansyah, Endang P, dan Tien. 2010. Isolation of thermophilic α -amylase from local thermophilic bacteria for liquefaction. *Proceeding of the Third international Conference on Mathematic and Natural Sciences*. Page 342-354
- [6] Sauza. PM, dan Magalhaes.PO. 2010. Application of Microbial α -amylase in industri – A riview. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41: 850-861.
- [7] Subandi, Resmi SC, dan Muntholib. 2011. Isolation and identification of thermostable α -amylase producing thermophilic bacteria from Cangar-Batu hot spring. *Proceeding of the 2nd International Seminar on Chemistry*. Page 305-308.
- [8] Teodoro CE. dan MLL. Martins. 2000. Culture Condition for Production Thermostabil Alpha Amylase by *Bacillus* sp. *Braz. J. Microbial*. 31: 298-302.

ADSORPSI ION LOGAM TEMBAGA (Cu^{2+}) DENGAN KARBON AKTIF DARI KAYU GELAM (*Melaleuca leucodendron* L)

ADSORPTION OF COPPER METAL ION (Cu^{2+}) WITH ACTIVATED CARBON FROM GELAM WOOD (*Melaleuca leucodendron* L)

Fatma¹, Nova Yuliasari¹, Yuni Angela Nidianti²

Fatmakamal62@gmail.com, 085279691777

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya Palembang

1) Dosen Jurusan Kimia FMIPA UNSRI, Palembang

2) Alumni Jurusan Kimia FMIPA UNSRI, Palembang

ABSTRACT

Research about ability activated carbon gelam wood (*Melaleuca leucodendron* L) had been done for the adsorption of copper metal ion. Parameter which investigated were variation of particle size 60, 80, 100 and 140 mesh, variation of contact time 15, 30, 60, 90 and 120 minutes, variation of concentration 50, 60, 70, 80, 90 and 100 ppm, variation of pH 4, 7 and 9. Measurement of concentration copper metal ion was conducted by Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS). The result showed the optimum activated carbon for the adsorptions of copper metal ion obtained at particle size 80 mesh, contact time 30 minute, concentration 100 ppm and pH 9 with adsorption value 9.9742 mg/g. Adsorption using activated carbon of waste water from PT. Pertamina at addition 100 ppm of metal ion Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} dan Cu^{2+} was 2.0548 mg/g with respect to copper metal ion.

Key word : activated carbon, copper metal ion (Cu^{2+}), gelam wood

ABSTRAK

Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui kemampuan karbon aktif dari kayu gelam (*Melaleuca leucodendron* L) untuk adsorpsi ion logam tembaga. Perlakuan yang diberikan adalah variasi ukuran partikel 60, 80, 100 dan 140 mesh; waktu kontak 15, 30, 60, 90 dan 120 menit; konsentrasi 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm; dan pH 4, 7 dan 9. Pengukuran konsentrasi ion logam tembaga dilakukan dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa penyerapan optimum karbon aktif terhadap ion logam tembaga diperoleh pada ukuran partikel 80 mesh, waktu kontak 30 menit, konsentrasi 100 ppm dan pH 9, dengan daya serap 9.742 mg/g. Daya serap karbon aktif terhadap limbah cair PT. Pertamina yang ditambahkan masing-masing 100 ppm larutan ion logam Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} dan Cu^{2+} adalah 2.0548 mg/g terhadap ion logam Tembaga.

Kata kunci : karbon aktif, ion logam tembaga (Cu^{2+}), kayu gelam

PENDAHULUAN

Tumbuhan gelam (*Melaleuca Leucodendron L*) merupakan tumbuhan rawa yang banyak terdapat di Sumatera Selatan dan Kalimantan. Tumbuhan ini dapat ditemukan di daerah dataran rendah pada 400 meter dari permukaan laut, dekat pantai, di tanah berawa atau membentuk hutan kecil di tanah kering maupun basah.

Penggunaan kayu gelam masih sangat terbatas sebagai penyangga pada pembuatan bangunan, kemudian kayu gelam dibuang begitu saja. Penggunaan lain dari kayu gelam hanya sebagai kayu bakar, sehingga perlu dicarikan alternatif penggunaan kayu gelam yang jumlahnya sangat melimpah di daerah Sumatera Selatan.

Kayu gelam memiliki tekstur kayu yang keras dan kuat serta pada bagian batang kayu gelam terdapat kandungan karbon yang sangat tinggi, sehingga sangat berpotensi untuk dijadikan karbon aktif. Pada prinsipnya karbon aktif dapat dibuat dari bahan yang mengandung karbon seperti kayu, batubara, sekam padi, ampas tebu, tempurung kelapa, tulang dan lainnya (Jankwoska, 1991)¹.

Pembuatan karbon aktif dilakukan dengan cara mengkarbonasi bahan yang mengandung karbon pada suhu 500⁰C – 700⁰C, kemudian diaktivasi dengan cara kimia atau secara fisika sehingga menjadi karbon aktif. Karbon aktif mempunyai sisi aktif pada permukaannya dan memiliki luas permukaan yang besar, sehingga karbon aktif memiliki daya serap yang tinggi terhadap bahan yang berbentuk larutan maupun uap.

Pengolahan limbah industri dapat dilakukan dengan menggunakan karbon aktif sebagai adsorben. Feber (2008)² melaporkan daya serap karbon aktif dari cangkang keong mas terhadap kation Cu²⁺ adalah 46.9447 mg/g. Sitinjak (2008)³ juga menginformasikan daya serap karbon aktif dari ampas serai terhadap kation Cu²⁺ adalah 479.00 mg/g.

Pemanfaatan karbon aktif dari kayu gelam untuk menyerap ion logam Cr⁶⁺ telah dilaporkan oleh Naimah (2009)⁴ dengan daya serap terhadap ion logam sebesar 7.7706 mg/g. Fatma dkk. (2011)⁵ melaporkan Daya serap karbon aktif dari kayu gelam terhadap ion logam Pb²⁺ sebesar 4.0797 mg/g. Harmilia (2009)⁶ juga melaporkan daya serap karbon aktif dari kayu gelam untuk fenol sebesar 9.764 mg/g.

Ion tembaga (Cu²⁺) merupakan logam berat yang banyak terdapat dalam limbah industri. Keberadaan ion logam Cu yang tinggi dalam air limbah dapat mengganggu pemanfaatan sumber air. Batas toksisitas Cu²⁺ dalam air 0.002 ppm (Palar 1994)⁷. Ion tembaga jika dikonsumsi oleh manusia dalam waktu yang lama akan menyebabkan keracunan dengan gejala muntah – muntah, sakit perut, kejang bahkan menyebabkan kematian (Darmono 1995)⁸.

Hasil analisa pendahuluan terhadap limbah PT. Pertamina terukur adanya logam Cu, Pb, Cd dan Zn dengan konsentrasi yang kecil. Hal ini karena limbah yang diperoleh untuk penelitian ini adalah limbah yang sudah diolah dan siap untuk dibuang ke perairan.

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan penyerapan ion Cu²⁺ menggunakan karbon aktif dari kayu gelam. Pada penelitian ini ditentukan kondisi optimum proses adsorpsi ion logam Cu²⁺ dengan jalan menvarisikan ukuran . Kondisi optimum proses penyerapan ion logam Cu²⁺ menggunakan karbon aktif dari kayu gelam akan diterapkan untuk penyerapan ion logam Cu²⁺ dalam air limbah PT. PERTAMINA yang terlebih dahulu ditambahkan ion logam Cd, Pb, Cu dan Zn masing-masingnya 100 ppm. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengatasi masalah pengolahan limbah yang mengandung ion logam Cu²⁺.

METODOLOGI PENELITIAN

Pembuatan Arang (Proses Karbonisasi)

Sampel kayu gelam diambil di daerah Jalan Kasnariansyah Km 4.5 Palembang. Kayu gelam dibuang kulitnya, lalu dipotong-potong dan dikeringkan dengan bantuan sinar matahari, kemudian dibakar sampai menjadi arang. Arang yang dihasilkan dihaluskan dan diayak dengan ayakan ukuran 60, 80, 100 dan 140 mesh (Fatma,dkk 2011)⁵.

Pembuatan Karbon Aktif

Arang dicampur dengan larutan KOH 45 % dengan perbandingan 1:4, kemudian direndam selama 14 jam sehingga terbentuk pasta. Selanjutnya pasta dipanaskan dalam tungku pembakaran (600°C) selama 2 jam. Karbon aktif yang dihasilkan dicuci dengan akuades sampai air cucuannya netral, kemudian dikeringkan di dalam oven (110°C) selama 2 jam. selanjutnya disimpan dalam desikator (Fatma,dkk 2011)⁵.

Penentuan Kadar Air

Sebanyak 0.1 g karbon aktif ukuran 80 mesh ditempatkan dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya, kemudian dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan pada temperatur 110°C selama 2 jam. Karbon aktif selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Pemanasan dilakukan beberapa kali sampai diperoleh berat yang konstan. SII^[9]

Penentuan Kadar Abu

Sebanyak 0,1 g Karbon aktif diabukan dalam tungku pembakaran (900°C) selama 2 jam sampai menjadi abu, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Pemanasan dilakukan beberapa kali sampai diperoleh berat konstan. SII^[9]

Penentuan Daya Serap Terhadap Iodium

Sebanyak 0.5 g karbon aktif ukuran 80 mesh ditempatkan dalam labu Erlenmeyer, ditutup dan dipindahkan ke tempat yang gelap, kemudian ditambahkan 50 mL larutan iodium 0.1 N dan dikocok selama 15 menit, disentrifus sampai diperoleh filtrat kuning. Sebanyak 10 mL filtrat dipipet dan dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0.1 N sampai larutan berwarna kuning pucat, kemudian ditambahkan 3 tetes indikator amilum 1% sampai terbentuk warna biru. Titrasi dilanjutkan sampai warna biru larutan hilang. SII^[9]

Pembuatan larutan Induk

Sebanyak 0.3928 g larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan air suling di dalam labu ukur 100 mL sehingga diperoleh larutan induk 1000 ppm (Fatma,dkk 2011)⁵.

Pembuatan Larutan Standar

Larutan induk diencerkan dengan air suling di dalam labu ukur 100 mL menjadi larutan 10 ppm, kemudian dibuat larutan standar 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm (Fatma,dkk 2011)⁵.

Penentuan Daya Serap Karbon Aktif dengan Variasi Ukuran Partikel Adsorben

Sebanyak 0.5 g karbon aktif dengan ukuran partikel 60, 80, 100, dan 140 mesh ditempatkan di dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 50 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 50 ppm dan dikocok selama 30 menit. Larutan disaring dan diambil filtratnya, kemudian ditentukan nilai absorbansinya dengan menggunakan SSA (Fatma,dkk 2011)⁵.

Penentuan Daya Serap Karbon Aktif dengan Variasi Waktu Kontak

Sebanyak 0.5 g karbon aktif dengan ukuran partikel 80 mesh ditempatkan di dalam labu Erlenmeyer yang berisi 50 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 ppm. Campuran ini dikocok dengan variasi waktu kontak 15, 30, 60, 90 dan 120 menit. Filtrat disaring dan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan SSA (Fatma,dkk 2011)⁵.

Penentuan Daya Serap Karbon Aktif dengan Variasi Konsentrasi Ion Cu^{2+}

Sebanyak 0.5 g karbon aktif dengan ukuran partikel 80 mesh ditempatkan di dalam labu Erlenmeyer yang berisi 50 mL larutan ion logam 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm dan 90 ppm, kemudian dikocok dengan waktu kontak 30 menit. Filtrat disaring dan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan SSA (Fatma,dkk 2011)⁵.

Penentuan Daya Serap Karbon Aktif dengan Variasi pH Larutan Ion Cu^{2+}

Sebanyak 0.5 g karbon aktif ukuran 80 mesh ditempatkan di dalam 3 buah gelas piala 100 mL, kemudian ditambahkan 10 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1000 ppm, lalu ditambahkan buffer pH 4, 7 dan 9 sampai larutan menunjukkan pH tersebut, kemudian diencerkan dengan akuades. Berdasarkan pembuatan larutan tersebut, maka dapat ditentukan volume buffer pH 4, 7 dan 9 yang diperlukan untuk membuat larutan dengan menggunakan labu ukur 100 ml. Larutan tersebut ditempatkan di dalam labu Erlenmeyer, dikocok selama 30 menit. Filtrat disaring dan diukur nilai absorbansinya dengan SSA (Fatma,dkk 2011)⁵.

Pengukuran daya serap karbon aktif terhadap larutan PT.Pertamina yang ditambahkan masing – masing 100 ppm larutan Ion Logam Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} dan Zn^{2+}

Sebanyak 0.5 g karbon aktif ukuran 80 mesh ditempatkan di dalam labu Erlenmeyer berisi 50 mL larutan limbah cair PT. Pertamina yang ditambahkan larutan ion logam Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} dan Zn^{2+} masing-masingnya 100 ppm, yang pHnya telah diatur pada pH 9 dan pH tanpa dikondisikan, kemudian dikocok pada waktu kontak 30 menit. Filtrat disaring dan diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan SSA (Fatma,dkk 2011)⁵.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Karbon Aktif

Hasil analisa penentuan karakteristik karbon aktif meliputi kadar air, kadar abu dan daya serap terhadap iodin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Karakteristik karbon aktif

Parameter	Hasil analisa	Standar SII (1988) ⁹
Kadar air (%)	3.7	< 15
Kadar abu (%)	2.1	< 10
Daya serap terhadap iodium (mg/g)	878.1757	> 750

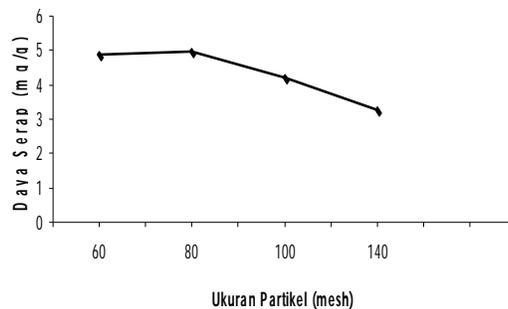
Hasil analisa diperoleh kadar air 3.7 % yang memenuhi standar SII maksimal 15 %. Kadar air yang dihasilkan rendah karena pada proses pengaktifan karbon aktif, ditambahkan KOH yang dapat menghilangkan pengotor dan mengikat air yang terperangkap, sehingga hanya sedikit air yang tersisa dalam karbon aktif.

Kadar abu yang dihasilkan 2.1% telah memenuhi standar SII (1988)⁹ maksimal 10 %, Semakin tinggi kadar abu maka kandungan oksidanya juga semakin tinggi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kandungan oksida dalam karbon aktif rendah, telah banyak yang hilang pada proses pengaktifan karbon aktif.

Hasil analisa daya serap terhadap Iodium diperoleh 878.1757 mg/g, yang memenuhi standar SII minimal 750 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa karbon aktif mempunyai kemampuan yang baik untuk menyerap molekul – molekul yang berdiameter kecil seperti ion logam.

Daya Serap Karbon Aktif terhadap Ion logam Cu^{2+} dengan Variasi Ukuran Partikel

Pada analisa daya serap karbon aktif dengan variasi ukuran partikel dapat dilihat pada Gambar 1.

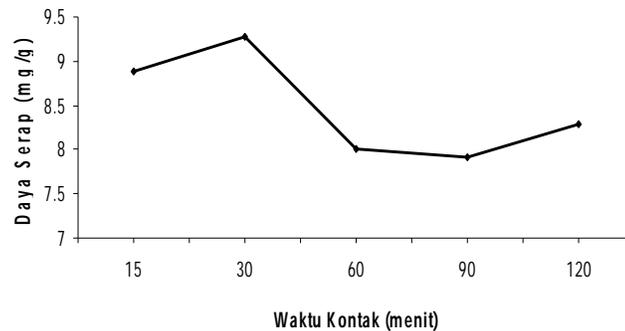


Gambar 1 Daya serap karbon aktif untuk variasi ukuran partikel

Hasil penelitian ini menunjukkan daya serap tertinggi terdapat pada ukuran partikel 80 mesh, yaitu 4.9884 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa ukuran 80 mesh merupakan kondisi optimum. Pada ukuran 100 dan 140 mesh daya serapnya semakin menurun, karena terjadi penggumpalan karbon aktif, sehingga banyaknya pori-pori karbon aktif yang tertutup menyebabkan luas permukaan semakin kecil, dan daya serap karbon aktif menjadi berkurang.

Daya Serap Karbon Aktif terhadap Ion logam Cu^{2+} dengan Variasi Waktu Kontak

Daya serap karbon aktif terhadap ion logam Cu^{2+} dengan variasi waktu kontak dapat dilihat pada Gambar 2.

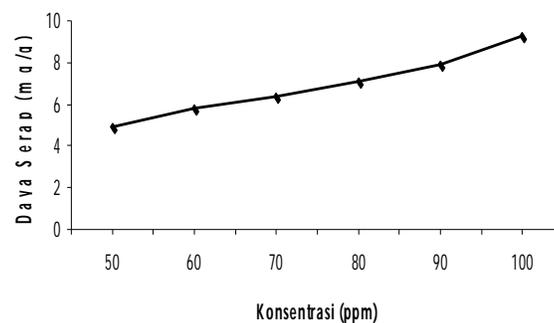


Gambar 2. Daya Serap Karbon Aktif untuk Variasi Waktu Kontak

Berdasarkan hasil yang diperoleh, daya serap yang paling baik terdapat pada kondisi waktu kontak 30 menit, yaitu 9.2818 mg/g. Daya serap karbon aktif menurun pada waktu kontak lebih dari 30 menit, karena pori-pori karbon aktif mengalami kejenuhan, sehingga pada saat dikocok adsorban yang terserap dapat terlepas kembali, menyebabkan kemampuan adsorpsi menurun (Sukardjo 1984)¹⁰.

Daya Serap Karbon Aktif terhadap Ion Logam Cu^{2+} dengan Variasi Konsentrasi

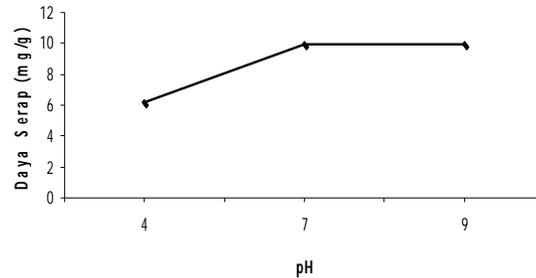
Pada analisa pengaruh konsentrasi terhadap daya serap karbon aktif dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya serap meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi ion logam Cu. Daya serap tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100 ppm sebesar 9.2821 mg/g, sedangkan pada konsentrasi 50 ppm daya serapnya 4.9355 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa daya serap akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi.



Gambar 3 Daya serap karbon aktif untuk variasi konsentrasi

Daya Serap Karbon Aktif terhadap Ion Logam Cu^{2+} dengan Variasi pH

Daya serap karbon aktif terhadap ion logam Cu^{2+} dengan variasi pH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Daya serap karbon aktif untuk variasi pH

Hasil penelitian menunjukkan terjadi perbedaan daya serap apabila dikondisikan pada pH yang berbeda. Perbedaan daya serap ini terjadi karena kestabilan ion-ion logam pada masing-masing pH berbeda. Selanjutnya dapat dipengaruhi oleh kesetimbangan antara zat yang sedikit larut dengan ion-ionnya (Petrucci 1985)¹¹.

Daya serap pada pH 4 yaitu 6.2046 mg/g, hal ini dapat terjadi karena pada saat penambahan buffer pH 4, larutan ion logam membentuk endapan biru yang menyerupai kristalin, sehingga sulit untuk terserap oleh karbon aktif, dengan demikian konsentrasi ion logam dalam larutan berkurang menyebabkan daya serapnya menurun. Daya serap karbon aktif terhadap ion logam Cu^{2+} pada pH 9 adalah 9.9742 mg/g dan daya serap karbon aktif terhadap ion logam Cu^{2+} pada pH 7 sebesar 9.9321 mg/g. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa daya serap yang paling baik yaitu jika larutan ion logam Cu^{2+} yang dikondisikan antara pH 7 sampai pH 9.

Daya Serap Karbon Aktif terhadap Limbah cair PT. Pertamina yang Masing-masing Ditambahkan 100 ppm Logam Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} dan Zn^{2+}

Hasil pengukuran daya serap karbon aktif terhadap limbah cair PT.Pertamina dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Daya serap karbon aktif terhadap limbah cair PT.Pertamina

pH Limbah	Daya serap (mg/g)
2.08 (pH awal)	1.0274
9 (pH optimum)	2.0548

Daya serap karbon aktif terhadap ion logam Cu dari limbah yang dikondisikan pada pH 9 (pH optimum) yaitu 2.0548 mg/g, sedangkan pada limbah dengan pH awal daya serap karbon aktif sebesar 1.0274 mg/g.

Daya serap karbon aktif terhadap ion logam tembaga dalam limbah PT.Pertamina lebih dibandingkan dengan larutan ion logam standar, hal ini disebabkan pada limbah tersebut mengandung ion logam lain (Pb^{2+} , Zn^{2+} dan Cd^{2+}), sehingga terjadi kompetisi antara ion-ion logam tersebut untuk diserap oleh karbon aktif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Karbon aktif dari kayu gelam memiliki kadar air 3.7 %, kadar abu 2.1 % dan daya serap terhadap iodium 878.1757 mg/g
2. Kondisi terbaik untuk menyerap ion logam Cu^{2+} adalah pada ukuran partikel karbon aktif 80 mesh, dengan waktu kontak 30 menit, konsentrasi larutan ion logam Cu^{2+} 100 ppm dan pH 9, dengan daya serap sebesar 9.9742 mg/g
3. Daya serap karbon dari kayu gelam yang diaplikasikan pada limbah cair PT.Pertamina yang ditambahkan masing-masing 100 ppm ion logam Pb^{2+} , Zn^{2+} dan Cd^{2+} pada kondisi optimum adalah sebesar 2.0548 mg/g.

Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan karbon aktif dari kayu gelam untuk proses pengolahan limbah berupa logam-logam toksik maupun limbah organik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Jankwoska H. 1991. *Active Carbon*. Ellis Harwood Series. First Edition.
- [2] Feber I. 2008. Studi Adsorpsi Kation Logam Cu(II) pada Kitosan dari Cangkang Keong Mas (*Pomacea Camaliculata* L). *Skripsi* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
- [3] Sitinjak M. 2008. Studi Penyerapan Arang Ampas Serai (*Andropogon Nardus* L) Terhadap Kation Logam Cu (II) dan Zn (II). *Skripsi* Jurusan Kimia. FMIPA Universitas Sriwijaya.
- [4] Naimah D. 2009. Studi Pemanfaatan Karbon Aktif dari Kayu Gelam (*Melaleuca Leucodendron* Linn) untuk Adsorpsi Ion Logam Krom. *Skripsi* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
- [5] Fatma, Rima E, Addy Rachmat. 2011. Pemanfaatan Karbon Aktif dari Kayu Gelam (*Melaleuca Leucodendron* Linn). *Prosiding* Semirata Bidang MIPA BKS-PTN. Banjar Masin.
- [6] Harmilia ED. 2009. Studi Pemanfaatan Karbon Aktif dari Kayu Gelam (*Melaleuca Leucodendron* Linn) untuk Adsorpsi Fenol. *Skripsi* Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
- [7] Palar H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Rineka Cipta. Jakarta.
- [8] Darmono. 1995. *Logam dalam Sistem Biologi Mahluk Hidup*. Jakarta : UI Press.
- [9] SII. 0258-88 1988. *Mutu dan Uji Arang Aktif*. Departemen Perindustrian Republik Indonesia.
- [10] Sukardjo.1984. *Kimia Anorganik*. Yogyakarta : Bina Aksara.
- [11] Petrucci RH. 1985. *Kimia Dasar Jilid I*. Jakarta : Erlangga..

**BIODEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI OLEH KULTUR TUNGGAL
DAN KULTUR CAMPUR KAPANG HIDROKARBONOKLASTIK ASAL
KAWASAN BAKAU YANG TERCEMAR MINYAK BUMI**

**PETROLEUM HYDROCARBON BIODEGRADATION BY SINGLE AND MIXED
CULTURE OF HYDROCARBONOCLASTIC FUNGI FROM PETROLEUM
CONTAMINATED MANGROVE AREAS**

Hary Widjanti^{1*}, Nuni Gofar², Moh.Rasyid Ridho¹, Farhan Syahdi¹

Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya, Inderalaya¹
Jalan Jambu 8 Komplek PT Pusri Palembang, HP.085273651116,
email : haryunsri@yahoo.com^{1*}
Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Inderalaya²

ABSTRACT

The objective of this study was to test the ability of a single culture and mixed culture of fungi from petroleum contaminated mangrove areas in the process of petroleum hydrocarbons biodegradation. Ten fungal species namely *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Chrysonilia sitophila*, *A. oryzae*, *A. sydowii*, *Paecilomyces* sp, *A. flavus*, *A. candidus*, and *Mucor racemosus* were used. Ten species of hydrocarbonoclastic fungi tested for its ability as a single culture and selected five single culture that has high capability and hereafter devised various formulas mixed cultures, each of which consisted of a combination of three fungal species. The study design used completely randomized design with 10 treatments and three replications per treatment. The results showed that the fungi that have a high ability in petroleum biodegradation were *Aspergillus parasiticus* (82.74 %), *A. niger* (75.70 %), *A. fumigatus* (73.29 %), *Chrysonilia sitophila* (72.65 %), and *A. oryzae* (72.21 %) . Fungal mixed culture which have high ability in the biodegradation of petroleum hydrocarbons was its combination of *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, and *A. oryzae* with percentage of petroleum biodegradation 87.36%.

Keywords : hydrocarbonoclastic fungi, mixed culture, petroleum biodegradation, single culture

ABSTRAK

Tujuan penelitian yaitu untuk menguji kemampuan kultur tunggal dan kultur campur kapang asal kawasan bakau yang tercemar minyak bumi dalam proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi. Sepuluh spesies kapang yang digunakan adalah *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Chrysonilia sitophila*, *A. oryzae*, *A. sydowii*, *Paecilomyces* sp, *A. flavus*, *A. candidus*, dan *Mucor racemosus*. Dari 10 spesies kapang hidrokarbonoklastik diuji kemampuannya sebagai kultur tunggal dan dipilih 5 (lima) kultur tunggal yang mempunyai kemampuan tinggi, selanjutnya dibuat berbagai formula kultur campur yang masing-masing kombinasi terdiri atas tiga spesies kapang. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 10 perlakuan dan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapang yang mempunyai kemampuan tinggi dalam biodegradasi minyak bumi adalah *A. parasiticus* (82.74%), *A. niger* (75.70%), *A. fumigatus* (73.29%), *Chrysonilia sitophila* (72.65%), dan *A. oryzae* (72.21%). Kultur campur kapang yang mempunyai kemampuan tinggi dalam biodegradasi hidrokarbon minyak bumi adalah kombinasi *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, dan *A. oryzae* dengan persentase degradasi minyak bumi sebesar 87,36%.

Kata kunci : biodegradasi minyak bumi, kapang, kultur campur, kultur tunggal Hidrokarbonoklastik

PENDAHULUAN

Di Indonesia luas hutan mangrove semakin berkurang dari tahun ke tahun. Hutan mangrove secara kuantitatif mengalami penurunan luas, secara kualitatif juga mengalami penurunan mutu lingkungan akibat mengalami pencemaran. Hal itu termasuk kawasan mangrove di Sumatera Selatan terutama kawasan Tanjung Api-api, Sungsang dan Upang. Ketiga kawasan itu merupakan wilayah Daerah Aliran Sungai (DAS) Musi dan DAS Dawas yang dijadikan sebagai jalur utama pelayaran pengangkutan minyak bumi dari ladang minyak Sekayu (Kabupaten MUBA) dan ladang minyak Palembang. Pencemaran minyak di kawasan ini dapat disebabkan oleh tumpahan dan ceceran minyak selama kegiatan pengeboran, produksi, pengilangan dan transportasi, perembesan dari reservoirnya; kegiatan pemuatan dan pembongkaran di pelabuhan; maupun limbah tanker/kapal [1]. Kawasan Sungsang merupakan kawasan ekosistem mangrove yang tingkat kerusakannya paling parah, hal ini karena kawasan ini merupakan jalur transportasi laut paling padat terutama transportasi kapal penyuplai kapal tanker minyak [2].

Penanggulangan limbah minyak bumi di perairan dapat dilakukan secara fisik, kimia, dan biologi. Penanggulangan minyak yang memerlukan biaya relatif lebih murah dan tidak menimbulkan dampak negatif terhadap ekosistem perairan adalah penanggulangan limbah minyak bumi secara biologi. Penanggulangan secara biologi salah satunya adalah dengan teknik bioremedasi. Bioremediasi, pengelolaan yang mengandalkan biodegradasi dengan memanfaatkan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon merupakan cara yang ramah lingkungan, efektif, efisien, ekonomis, dan dapat diterima lingkungan [3] dan [4]. Biodegradasi merupakan suatu proses yang penting artinya bagi rehabilitasi lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi maupun produk-produknya, dengan memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan pencemar minyak menjadi bentuk lain yang lebih sederhana, tidak berbahaya, dan diharapkan memiliki nilai tambah bagi lingkungan [5].

Mikroorganisme utama yang mendegradasi hidrokarbon minyak bumi adalah bakteri dan cendawan (khamir dan kapang). Hifa cendawan mempunyai beberapa sifat yang membuat mereka sebagai agen potensial dalam biodegradasi, cendawan melakukan percabangan dengan cepat pada substrat, mencerna melalui sekresi enzim ekstraseluler. Disamping itu, cendawan mampu tumbuh di bawah kondisi lingkungan yang tertekan. Keuntungan penggunaan kapang indigen sebagai agen bioremediasi limbah minyak bumi, karena kapang mempunyai cabang-cabang hifa atau miselium yang memudahkan kontak dengan lingkungannya dan enzim-enzim ekstraseluler yang mampu mengoksidasi dan mengkatalisis senyawa hidrokarbon minyak bumi dengan memanfaatkannya sebagai sumber energi [6]. Menurut Atlas (1981) cendawan mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada hidrokarbon minyak bumi [7].

Penelitian yang dilakukan oleh [8] telah mendapatkan 10 isolat kapang hidrokarbonoklastik (pendegradasi hidrokarbon) minyak bumi yang berasal dari kawasan bakau yang tercemar minyak bumi. Secara kualitatif isolat yang didapatkan dapat mendegradasi hidrokarbon minyak bumi namun secara kuantitatif kemampuan setiap isolat belum diketahui. Untuk dapat digunakan sebagai agen bioremediasi perlu diketahui terlebih dahulu kemampuan setiap isolat dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi, selanjutnya agar potensi biodegradasinya maksimal perlu dibuat kultur konsorsium.

Pada umumnya mikroorganisme yang digunakan dalam mendegradasi limbah minyak memiliki kemampuan yang lebih tinggi jika digunakan sebagai kultur konsorsium

atau kultur campur [9] dan [10]. Mikroorganisme pengurai minyak tidak bekerja secara individu spesies, tetapi berupa konsorsium multi spesies [3]. Konsorsium adalah kelompok mikroorganisme yang saling menguntungkan satu dengan lainnya dan melaksanakan proses dimana masing-masing organisme tidak dapat melakukannya secara terpisah. Konsorsium mikroorganisme sering disebut juga dengan kultur campur (*mixed culture*). Konsorsium mikroorganisme dibuat dengan mempertimbangkan bahwa antara mikroorganisme yang merupakan anggota konsorsium tidak berkompetisi dalam melakukan suatu proses tertentu, melainkan diharapkan antara anggota konsorsium akan mempunyai kerja yang sinergis [11].

Susunan senyawa yang kompleks, seperti minyak bumi menyebabkan suatu spesies tunggal mikroorganisme tidak dapat mendegradasi keseluruhan komponen penyusun minyak bumi tersebut, karena setiap spesies mikroorganisme membutuhkan substrat yang spesifik. Beberapa mikroorganisme yang berinteraksi saling menguntungkan dalam bentuk konsorsium sangat berperan selama berlangsungnya proses degradasi minyak bumi [12]. Proses biodegradasi senyawa hidrokarbon sampai sempurna tidak mungkin dilakukan hanya oleh satu jenis mikroorganisme, tetapi selalu dilakukan oleh suatu kumpulan mikroba. Laju biodegradasi senyawa hidrokarbon lebih cepat pada kultur campuran dibandingkan dengan kultur tunggal. Untuk memperoleh hasil biodegradasi hidrokarbon minyak bumi yang maksimal maka perlu penggunaan kultur konsorsium yang mempunyai kemampuan degradasi tinggi, hal ini dapat diperoleh jika kombinasi mikroorganisme (kapang maupun bakteri) merupakan kombinasi yang tepat dalam kultur konsorsium [9].

Tujuan penelitian ini adalah 1) menguji kemampuan isolat tunggal kapang dalam mendegradasi minyak bumi, 2) membuat berbagai macam formula kultur konsorsium kapang hidrokarbonoklastik dan menguji kemampuannya dalam proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi.

METODE PENELITIAN

Uji Kemampuan Kapang dalam Mendegradasi Minyak Bumi

Sebanyak 10 spesies kapang pendegradasi hidrokarbon minyak bumi hasil isolasi dan seleksi dari penelitian sebelumnya [13] masing-masing sebanyak 10% diinokulasikan ke dalam medium Soemarti cair yang ditambah 5% (b/v) minyak bumi, sumber N (KNO_3) dan P (K_2HPO_4) dengan rasio 10:1. Dibuat satu bioreaktor tanpa kapang sebagai kontrol. Volume total yang dibuat pada masing-masing bioreaktor sebanyak 100 mL. Semua bioreaktor diagitasi di atas *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu kamar. Potensi bakteri dilihat dari persentase penurunan TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*) pada akhir masa inkubasi (5 hari)

Dari sepuluh spesies kapang yang diuji potensinya dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi diseleksi 5 (lima) spesies dengan potensi tertinggi. Lima spesies dengan kemampuan tertinggi ini selanjutnya akan dibuat 10 (sepuluh) kombinasi kultur konsorsium kapang.

Pembuatan Kultur Konsorsium Kapang

Pembuatan kurva pertumbuhan

Lima spesies kapang pendegradasi hidrokarbon terpilih ditentukan kurva pertumbuhannya dengan cara menginokulasikan masing-masing 10% kapang (v/v) pada medium Soeminarti cair dengan kadar *sludge* minyak bumi 5% (b/v). Kultur diinkubasi pada suhu 37°C, kemudian dipanen dan ditimbang berat keringnya (biomassa) setiap hari sampai menunjukkan pertumbuhan yang menurun. Data biomassa kapang dari setiap waktu pengamatan dibuat grafik, sehingga diketahui fase-fase pertumbuhannya. Setiap kurva pertumbuhan dari kapang yang diperoleh ditentukan waktu generasi terpendek pada fase pertumbuhan eksponensialnya [14]. Waktu generasi terpendek yang diperoleh dari masing-masing kapang digunakan sebagai dasar pembuatan kultur campur.

Pembuatan inokulum konsorsium kapang

Dari lima spesies kapang yang telah diketahui waktu generasi terpendeknya berdasarkan kurva pertumbuhan, dibuat menjadi inokulum campur. Kultur campur yang dibuat merupakan berbagai macam kombinasi yang terdiri atas tiga jenis bakteri (modifikasi [10]). Cara membuat kultur campur dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri ke dalam medium Zobell cair sesuai dengan waktu generasinya.

Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi oleh Kultur Campur Kapang

Percobaan disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan kombinasi perlakuan 3 (tiga) spesies bakteri dari 5 (lima) spesies bakteri dengan kemampuan tertinggi sehingga ada 10 (sepuluh) perlakuan yang masing-masing dibuat 3 ulangan. Percobaan yang sama dilakukan terhadap kapang.

Bioreaktor untuk biodegradasi oleh kapang dibuat dengan cara mengisi bioreaktor dengan volume total 100 mL yang terdiri atas minyak bumi 5% (b/v), sumber N (KNO_3) dan sumber P (K_2HPO_4) dengan rasio 10:1, 10% inokulum kapang dengan kepadatan 10^6 spora/mL dan medium Soeminarti cair. pH campuran diatur hingga mencapai pH 6 (modifikasi [9]). Setiap unit perlakuan diagitasi di atas *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu kamar selama 10 hari. Selanjutnya dilakukan pengukuran variabel-variabel yang menunjukkan terjadinya degradasi hidrokarbon minyak bumi [6].

Biomassa kapang diukur berdasarkan berat keringnya. Pada setiap bioreaktor kapang dipanen dengan cara disaring menggunakan kertas Whatman. Hasil saringan selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 70°C dan ditimbang sampai beratnya konstan. Pengukuran biomassa kapang diukur pada hari ke sepuluh.

Kadar *Total Petroleum Hydrocarbons* (TPH) hasil biodegradasi kapang diukur menggunakan metode gravimetri. Tahap pertama yaitu TPH diekstrak dengan n-heksana sampai kondisi terlarut. Perbandingan rasio yang sederhana antara TPH dan n-heksana adalah 1:1, kemudian larutan ini dihomogenkan menggunakan divorteks laju 10 rpm selama 10 menit. Tahap kedua proses pemisahan TPH dengan cara diambil sebanyak 350 g, disentrifugasi selama 10 menit. Dari tahapan ini dihasilkan tiga lapisan, pada lapisan dasar merupakan sel bakteri, di lapisan tengah merupakan sisa media, pada lapisan atas merupakan minyak bumi yang terlarut n-heksana. Kemudian minyak bumi dan n-heksana dituangkan ke dalam botol dan proses ekstraksi diulang lagi sampai larutan menjadi cerah. Tahap ketiga adalah menemukan TPH yang terlarut melalui penguapan 70°C. Setelah itu berat TPH sisa dapat ditentukan. Untuk menghitung persentase degradasi TPH dengan rumus sebagai berikut [15] :

$$\text{Persentase degradasi TPH} = \frac{\text{TPH awal} - \text{TPH akhir}}{\text{TPH awal}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data biomassa kapang dan persentase degradasi TPH dianalisis varians (Anova) pada taraf α 0,05. Jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji lanjut wilayah berganda Duncan (DNMRT) pada taraf α 0,05 menggunakan Program Statistics-6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Kemampuan 10 Spesies Kapang dalam Mendegradasi Hidrokarbon Minyak

Hasil uji kemampuan 10 spesies kapang menunjukkan kemampuan yang bervariasi dengan kisaran persentase degradasi TPH antara 31.27 – 82.74% (Tabel 1.). Dari hasil uji kemampuan 10 (sepuluh) spesies kapang maka yang akan digunakan untuk membuat formula kultur campur adalah 5 (lima) spesies kapang dengan kemampuan degradasi tinggi, berturut-turut dari yang tertinggi *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Chrysonilia sitophila* dan *A. oryzae*.

Tabel 1 Hasil uji kemampuan 10 spesies kapang pendegradasi hidrokarbon

No.	Nama spesies kapang	Degradasi minyak bumi (%)
1.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	82.74
2.	<i>A. niger</i>	75.70
3.	<i>A. fumigatus</i>	73.29
4.	<i>Chrysonilia sitophila</i>	72.65
5.	<i>A. oryzae</i>	72.21
6.	<i>A. sydowii</i>	47.41
7.	<i>Paecilomyces sp</i>	44.32
8.	<i>A. flavus</i>	41.67
9.	<i>A. candidus</i>	37.16
10.	<i>Mucor racemosus</i>	31.27

Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi oleh Kultur Campur Kapang

Kombinasi kultur campur kapangi berpengaruh tidak nyata terhadap biomassa kapang dan persentase degradasi minyak bumi (Tabel 2).

Berat kering kapang yang tinggi (85.43 dan 92.63 mg) diperoleh pada perlakuan kultur campur A+B+D dan A+C+E. Hal ini diduga pada kultur campur yang terdiri dari *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Chrysonilia sitophila* dan *A. oryzae* mempunyai waktu generasi terpendek yang berbeda. *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, dan *A. oryzae* mempunyai waktu generasi terpendek 17 hari sedangkan *A. parasiticus* 22 hari. Perbedaan waktu generasi tersebut akan mengurangi terjadinya kompetisi yang

Tabel 2 Rata-rata biomassa kapang dan persentase degradasi minyak bumi pada 10 (sepuluh) kombinasi kultur campur kapang

No.	Kultur Konsorsium	Biomassa kapang (mg)	Degradasi minyak bumi (%)
1.	B+C+E	52,13	77.43
2.	B+D+E	67,80	79.58
3.	C+D+E	68,93	72.92
4.	B+C+D	73,76	82.68
5.	A+B+C	75,40	77.61
6.	A+B+E	77,13	79.41
7.	A+C+D	79,30	80.35
8.	A+D+E	79,50	77.15
9.	A+B+D	85,43	74.47
10.	A+C+E	92,63	87.36

Keterangan : A = *Aspergillus parasiticus* ; B = *A. Niger* ; C = *A. Fumigatus*; D = *Chrysonilia sithophila*; E = *A. oryzae*

menyebabkan pemanfaatan substrat secara bergantian, sehingga interaksinya bersifat sinergisme. Menurut [16] bahwa dalam keadaan bersama akan terjadi kerjasama sinergisme untuk menghasilkan enzim yang lebih bervariasi dan dapat memecah stuktur hidrokarbon. Menurut [17] kapang menggunakan hidrokarbon sebagai substrat untuk pertumbuhan dengan melepaskan enzim-enzim dan asam ekstraseluler yang mampu memecahkan molekul hidrokarbon dengan memotong rantai yang panjang dari hidrogen dan karbon. Dengan demikian, perubahan minyak kedalam bentuk dan hasil sederhana yang bisa diabsorpsi untuk pertumbuhan kapang.

Kultur campur yang menghasilkan berat kering yang rendah (52.13, 67.80, dan 68.93 mg) konsorsium yang anggotanya terdiri atas *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *A. niger* dan *C. sithophila*. Berdasarkan kurva pertumbuhan keempat spesies kapang tersebut diduga mempunyai waktu generasi terpendek yang sama yaitu 17 hari, sehingga kemungkinan menyebabkan terjadinya kompetisi dalam menggunakan substrat yang sama dalam waktu aktivitas yang sama. Hal tersebut menyebabkan substrat hidrokarbon yang ada tidak dapat dimanfaatkan secara optimal untuk pertumbuhan kapang tersebut dan juga kultur campur yang mempunyai kepadatan yang tinggi menghasilkan metabolit toksik. Menurut [18] interaksi negatif dapat disebabkan oleh adanya senyawa toksik yang dihasilkan oleh anggota campuran populasi. Pada kultur campur berkepadatan tinggi, metabolit toksik dapat terakumulasi sehingga membatasi pertumbuhan.

Persentase degradasi minyak bumi pada 10 kombinasi perlakuan yang cukup tinggi yaitu di atas 70% (Tabel 2), hal ini menunjukkan adanya aktivitas dari kultur campur kapang indigen yang diteliti memanfaatkan hidrokarbon minyak sebagai sumber karbon. Menurut [19], banyak genus kapang yang telah diidentifikasi mampu mengoksidasi naptalena. Kebanyakan mekanisme degradasinya adalah kometabolisme, yaitu sumber

karbon digunakan untuk energi dan tumbuh, PAH di transformasi sebagai akibat dari pertumbuhannya.

Kapang yang digunakan pada perlakuan kultur campur ini didominasi oleh kapang dari genus *Aspergillus*. Genus *Aspergillus* ini telah diketahui mampu tumbuh dengan baik pada minyak bumi dan memiliki kemampuan yang cukup tinggi dalam mendegradasi minyak bumi. Menurut [20], empat kapang yang diisolasi dari tanah yang terkontaminasi teridentifikasi tergolong genus *Aspergillus*, merupakan genus yang paling sering dijumpai dalam mendegradasi hidrokarbon didalam tanah tropis yang tercemar oleh minyak bumi. Menurut [21] bahwa kapang berfilamen mempunyai distribusi yang luas di lingkungan yang sesuai dan secara bersamaan merespons substrat yang beragam. *Aspergillus* sp mampu mendegradasi katekol dengan menggunakan senyawa aromatik sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi dalam kondisi yang berbeda.

Persentase degradasi minyak bumi pada 10 kombinasi perlakuan lebih tinggi yaitu berkisar 72.92-87.36% dibanding dengan persentase degradasi minyak oleh kultur tunggal yaitu 72.21-82.74%. Hal ini dimungkinkan karena di dalam kombinasi kultur konsorsium terjadi asosiasi yang sinergis. Menurut [9] kapang dalam bentuk kultur tunggal dan campuran mempunyai kemampuan yang berbeda. Laju biodegradasi senyawa hidrokarbon lebih cepat pada kultur campuran dibandingkan dengan kultur tunggal. Menurut [22] beberapa jenis mikroorganisme dapat memecah hidrokarbon tetapi tidak dapat menggunakan fraksi hasil pemecahannya sebagai sumber karbon dan energi. Untuk mempertahankan hidupnya jenis mikroorganisme tersebut menggunakan fraksi yang dihasilkan oleh jenis mikroorganisme lain sebagai sumber karbon dan energinya. Pada komunitas mikroorganisme biasa terjadi proses kometabolisme antar jenis yang ada. Jenis mikroorganisme tertentu memecah hidrokarbon menjadi fraksi tertentu yang akan digunakan oleh jenis mikroorganisme yang lain, sedangkan dirinya sendiri menggunakan fraksi hasil pemecahan yang dilakukan oleh jenis lainnya.

Persentase degradasi minyak bumi tertinggi sebesar 87.36% dihasilkan oleh kultur konsorsium yang terdiri dari *A. oryzae*, *A. fumigatus*, dan *A. parasiticus*. Hal ini diduga karena kultur campur memiliki karakteristik enzim yang berbeda dan menunjukkan adanya interaksi yang positif. Kultur campur juga memiliki persentase degradasi lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal ketiga spesies kapang tersebut dengan rata-rata persentase degradasi hidrokarbon hanya 76.08%. Dengan demikian kultur campur lebih baik daripada kultur tunggal. Menurut [23] mikroorganisme tunggal hanya dapat mendegradasi jenis-jenis senyawa minyak tertentu, tetapi populasi campuran atau kumpulan mikroorganisme mampu mendegradasi ke tingkat yang lebih tinggi. Dengan adanya hubungan antar spesies yang hidup bersama dan mengadakan kegiatan yang tidak saling mengganggu, akan terjadi kegiatan yang justru saling menguntungkan.

Penyebab lainnya yaitu kemungkinan ketiga spesies kapang tersebut memiliki karakter enzim yang berbeda dalam memecahkan senyawa hidrokarbon. Menurut [24] bahwa *A.oryzae* mempunyai enzim ferulase esterase B (FAEB) dan tanase yang membebaskan asam-asam aromatik dari senyawa polimer dan keduanya mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap senyawa-senyawa aromatik yang terdiri dari gugus hidroksi pada C₃, C₄, dan C₅ dari cincin aromatik. Menurut [25] *A. fumigatus* mempunyai enzim *p*-ethylphenol methylhydroxylase untuk mendegradasi hidrokarbon. Menurut [26] *A. parasiticus* mempunyai enzim P450 monooksigenase untuk biosintesis senyawa hidrokarbon.

Persentase degradasi berat *sludge* minyak bumi lebih dari 80% dihasilkan dari kombinasi kultur campur yang terdiri dari *A. fumigatus*, *A. niger*, dan *C. sithophila* dan yang terdiri dari *A. fumigatus*, *C. sithophila* dan *A. parasiticus*. Ini diduga adanya kemampuan kapang yang berbeda dalam memanfaatkan senyawa hidrokarbon dan menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler yang berbeda pula dalam mendegradasi komponen hidrokarbon minyak bumi. Menurut [27] *A. fumigatus* sangat efisien dalam mendegradasi senyawa aromatik termasuk PAH yang rekalsitran dan menghasilkan air yang dapat digunakan dalam mendegradasi dari akumulasi hidrokarbon di bawah sedimen. Menurut [7] *A. niger* menghasilkan enzim lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP).

Chrysonilia sithophila didalam kultur campur mampu tumbuh dan beradaptasi pada minyak bumi serta mempunyai enzim lignin peroxidase yang mampu mendegradasi hidrokarbon. Selain itu *C. sithophila* dapat toleran terhadap konsentrasi pentaklorofenol yang tinggi dan dengan strategi metabolik yang digunakan untuk mendegradasi pentaklorofenol dengan hasil yang tinggi [28]. Enzim lignin peroxidase mampu mengoksidasi berbagai senyawa xenobiotik seperti poliaromatik, pentaklorofenol dan pyren untuk dimineralisasi oleh sel kapang [7].

KESIMPULAN

1. Kapang yang dapat mendegradasi minyak bumi yang tinggi adalah *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Chrysonilia sithophila* {, dan *A. oryzae* dengan persentase degradasi masing-masing 82.74, 75.70, 73.29, 72.65 dan 72.21%.
2. Formula kultur konsorsium kapang yang mempunyai kemampuan tinggi dalam biodegradasi hidrokarbon minyak bumi yaitu kombinasi antara *Aspergillus parasiticus*, *A. fumigatus*, dan *A. oryzae*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ridho MR, Alfitri, Agussalim A, Ardikusumah H. 2005. Pengelolaan DAS Musi dan Dawas Propinsi Sumatera Selatan. *Laporan Penelitian*. Environmental Research and Management. Jakarta.
- [2] Ridho MR, Hartoni, Sari SP. 2006. Analisis Perubahan Luasan Mangrove di Pantai Timur Ogan Komering Ilir (Oki) Provinsi Sumatera Selatan Menggunakan Data Citra Landsat Tm. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan dan Sumberdaya Alam*. 1-15.
- [3] Mangkoedihardjo S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak. *Seminar Nasional Teori dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS* Surabaya: 1-9.
- [4] Syakti AD. 2005. Multi-proses remediasi dalam penanganan tumpahan minyak (*Oil Spill*) di perairan laut dan pesisir. Seminar Bioremediasi. Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman. 1-6.
- [5] Leahy JG, Colwell RR. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. *Microbial Reviews*. 53 (3): 305-315.

- [6] Lemos JLS, Rizzo AC, Millioli VS, Santos R. 2007. Petroleum Degradation by Filamentous Fungi. *Jurnal Research*. Centro de tecnologia mineral. Instituto Oswaldo Cruz. 1-6 hlm.
- [7] Bennet JW, Wunch KG, Faison BD. 2002. *Use of fungi in biodegradation*. ASM Press Washington, D.C. 1-13.
- [8] Widjajanti H, Munawar, Ridho MR. 2008. Upaya Rehabilitasi Hutan Mangrove: Studi Modeling Bioremediasi Menggunakan Agen Biologis Indigenous untuk Menurunkan Bahan Pencemar di Hutan Mangrove Wilayah Propinsi Sumatera Selatan. Laporan penelitian Hibah Bersaing Universitas Sriwijaya.
- [9] Alpentri, Juli N, Siregar S. 2001. Evaluasi kemampuan isolat jamur dari salah satu sumur minyak di Minas dalam mendegradasi minyak bumi. *Prosiding Simposium Nasional IATMI* : 1-6.
- [10] Mukred AM, Hamid AA, Hamzah A, Yusoff WMW. 2008. Development of three bacteria consortium for the bioremediation of crude petroleum-oil in contaminated water. *J. Biol. Sci.* 8 (4) : 73-79.
- [11] Sanchez O. 2006. A consortium of bacteria to degrade petrol. Departement de Genetica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona.
- [12] Widjajanti H, Ridho MR, Munawar. 2008. Upaya Rehabilitasi hutan mangrove : Studi Modeling Bioremediasi Menggunakan Agen Biologis Indigenous untuk Menurunkan Bahan Pencemar di Hutan Mangrove Wilayah Propinsi Sumatera Selatan. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Sriwijaya.
- [13] Nugroho A. 2006. Biodegradasi sludge minyak bumi dalam skala mikrokosmos : simulasi sederhana sebagai kajian awal bioremediasi land treatment. *Makara Teknologi.* 10 (2) : 82-89.
- [14] Brock TD. 1974. *Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. Hal. 263-266.
- [15] Bento FM, Camargo, FAO, Okeke B, Junior WTF. 2003. Bioremediation of Soil Contaminated by Diesel Oil. *Brazilian Journal of Microbiology.* 34 : 65-68.
- [16] Siregar, S.R. 2009. Isolasi dan Uji Potensi Khamir Pendegradasi Minyak Solar dari Air Laut Belawan. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. Medan. 62 hlm.
- [17] Adekunle AA, Adebambo OA. 2007. Petroleum hydrocarbon utilization by fungi isolated from *Detarium senegalense* (J. F Gmelin) Seeds. *J. Am. Sci.* 3 (1) : 69-76.
- [18] Atlas RM. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Environmental Perspective. Microbiol. Rev.* 45 : 180-209
- [19] Juhasz AL, Naidu R. 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons : A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration and Biodegradation* 45 : 57-88
-

- [20] Santos EO, Rosa CFC, Passos CT, Sanzo AVLS, Burkert JFM, Kalil SJ, Burkert CAV. 2008. Pre-screening of filamentous fungi isolated from a contaminated site in Southern Brazil for bioaugmentation purposes. *African Journal of Biotechnology* : 17(9) : 1314-1317.
- [21] Paulo SA, Salgado AM, Leite. 2007. Biomonitoring of the Degradation of Catechol by *Aspergillus* sp. Using Colometric Assay. *Journal. Escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro Brazil* : 1-9.
- [22] Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd. Jhon Wileys and Sons. Toronto: 467 pp.
- [23] Milic JS, Beskoski VW, Ilic MV, Ali SM, Cvijovic GDG, Vrvic MM. 2009. Bioremediation of soil heavily contaminated with crude oil and its products: composition of the microbial consortium. *J. Serb. Chem. Soc.*74 (4) : 455-460.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI ENDOFIT PADA TUMBUHAN
PIPERACEAE ASAL GUNUNG SALAK, JAWA BARAT DAN KEBUN RAYA
EKA KARYA, BALI**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI INHABITING
PIPERACEAE PLANT GROWING AT MOUNT SALAK, WEST JAVA AND EKA KARYA
BOTANICAL GARDEN, BALI**

Muhammad Ilyas

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi - LIPI, Cibinong
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Jawa Barat 16911
Telp. (021) 8765057 Faks. (021) 8765062
E-mail: ilyasmould@yahoo.com

ABSTRACT

Endophytic fungi living inside of plant living tissue are under explored group of microorganisms, however they have an important source for the production of various secondary metabolites and bioactive compounds which are useful for pharmaceutical industries, agricultures, and environmental applications. The fungal endophyte also have a remarkable diversity. Of the estimated 1.5 million fungal taxa on earth, about 1.3 million species are estimated to live as endophytes in plants. The objective of this study were to investigate endophytic fungi associated with Piperaceae plant through isolation and identification the endophytic fungi inhabiting Piperaceae plant living tissue growing at Mount Salak, West Java and Eka Karya Botanical Garden, Bali. As much as 92 fungal endophyte strains were isolated from 12 samples of Piperaceae plants, consists of 48 strains from Piperaceae Mount Salak and 44 strains from Piperaceae Eka Karya Botanical Garden, respectively. Morphology and molecular identification based on ITS rDNA revealed that 9 fungal taxa were isolated from Piperaceae plant, they were *Cercospora*, *Curvularia* (*Cochliobolus*), *Colletotrichum* (*Glomerella*), *Corynespora*, *Fusarium* (*Gibberella*), *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Phoma*, and *Phomopsis* (*Diaporthe*). Furthermore the primary results of this study can be useful to promote the screening and potential utilization of endophytic fungi from Piperaceae plant through bioprospecting activities.

Keywords: endophytic fungi, identification, isolation, ITS rDNA, Piperaceae

ABSTRAK

Fungi endofit adalah kelompok taksa mikroba yang kurang terekplorasi namun dari sedikitnya penelitian tentang fungi endofit menunjukkan bahwa mikroba tersebut memiliki potensi yang besar diantaranya sebagai penghasil bahan bioaktif dan metabolit sekunder yang penting dalam industri farmasi, bidang pertanian, dan lingkungan. Mikroba endofit khususnya fungi juga memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Dari sekitar 1,5 juta spesies fungi yang terdapat di dunia 1,3 juta spesies diantaranya diperkirakan hidup sebagai endofit dalam jaringan tumbuhan. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi fungi endofit dari sampel tumbuhan Piperaceae asal Gunung Salak Jawa Barat dan Kebun Raya Eka Karya Bedugul Bali. Dari 12 sampel tumbuhan Piperaceae asal kedua lokasi diisolasi 92 isolat fungi endofit terseleksi terdiri atas 48 isolat dari Piperaceae asal Gunung Salak dan 44 isolat dari Kebun Raya Eka Karya. Hasil

identifikasi melalui pendekatan morfologi dan molekuler berdasarkan sekuen ITS rDNA menunjukkan bahwa fungi endofit yang menempati relung tumbuhan Piperaceae tergolong ke dalam taksa *Cercospora*, *Curvularia* (*Cochliobolus*), *Colletotrichum* (*Glomerella*), *Corynespora*, *Fusarium* (*Gibberella*), *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Phoma*, dan *Phomopsis* (*Diaporthe*). Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar untuk penapisan dan pemanfaatan potensi fungi endofit indigenous tumbuhan Piperaceae melalui kegiatan bioprospeksi.

Kata kunci: *fungi endofit, identifikasi, isolasi, ITS rDNA, Piperaceae*

PENDAHULUAN

Endofit adalah organisme yang setidaknya dalam satu siklus hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tumbuhan yang menjadi inangnya [1,2]. Mikroorganisme endofit dapat berupa fungi, aktinomisetes, bakteri, dan mikoplasma [1]. Dari sekitar 1,5 juta spesies fungi yang terdapat di dunia [3], 1,3 juta spesies diantaranya diperkirakan hidup sebagai endofit dalam jaringan tumbuhan [4]. Penelitian mengenai fungi endofit telah dilakukan pada beberapa spesies tumbuhan yang hidup di daerah tropis maupun subtropis [5]. Fungi endofit telah diisolasi dari tumbuhan suku Coniferaceae, Gramineae, dan Ericaceae [6], bakau *Bruguiera gymnorhiza* [7,8], *Theobroma cacao* [9], dan *Camelia sinensis* [10,11,12]. Ditinjau dari pola hubungan atau asosiasi fungi dengan tumbuhan sebagai simbiotnya, ada yang bersifat mutualisme, komensal, saprofit, maupun parasit. Fungi endofit umumnya bersimbiosis mutualisme dengan tumbuhan inangnya [13]. Manfaat yang diperoleh tumbuhan diantaranya meningkatkan laju pertumbuhan dan meningkatkan daya tahan tumbuhan terhadap serangan hama, penyakit, dan kekeringan [14,15]. Hubungan yang erat antar keduanya tersebut juga memungkinkan adanya transfer materi genetika satu dengan lainnya [9,16,17,18].

Dalam kegiatan bioprospeksi, mikroba endofit adalah sumber yang kaya akan metabolit fungsional [13]. Beberapa potensi fungi endofit yang telah diketahui diantaranya adalah sebagai penghasil bahan bioaktif dan metabolit sekunder [19,20]. Berbagai macam metabolit sekunder dapat dihasilkan dari fungi endofit diantaranya senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, diterpen, flavonoid, fenol, senyawa alifatik, dan lainnya [13].

Hampir setiap spesies tumbuhan vaskular memiliki fungi endofit [1,4,21]. Beberapa spesies fungi endofit memiliki rentang inang yang luas [1] dan selebihnya memiliki inang yang spesifik [22] sehingga fungi endofit memiliki rentang keanekaragaman hayati yang tinggi. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi keragaman hayati isolat fungi endofit pada tumbuhan Piperaceae asal Gunung Salak dan Kebun Eka Karya, Bedugul Bali.

METODE PENELITIAN

Sampel Tumbuhan

Sampel yang digunakan adalah tumbuhan famili Piperaceae yang diambil di sekitar Gunung Salak dan Kebun Raya Eka Karya, Bedugul Bali. Sampel yang diambil terdiri atas daun, batang, buah, dan akar pada kondisi segar dan tidak menunjukkan adanya gejala penyakit. Sampel tumbuhan Piperaceae asal Gunung Salak terdiri dari

Piper aduncum L., *P. betle* L. var. 1, *P. betle* L. var. 2, *P. betle* L. var. 3, dan *P. nigrum* L. Adapun sampel tumbuhan famili Piperaceae asal Kebun Raya Eka Karya, Bali terdiri atas *Piper bantamense* Blume, *P. nigrum* L., *P. betle* L., *P. macropiper* Pennant (♀), *P. sarmentosum* Roxb., *P. macropiper* Pennant (♂), dan *P. retrofractum* L.

Isolasi Fungi

Isolasi fungi endofit menggunakan metode sterilisasi permukaan [6,8]. Sampel tumbuhan Piperaceae disterilisasi dengan larutan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian disterilisasi kembali dengan larutan sodium hipoklorit (NaOCl) 1% selama 2 menit. Sampel kemudian dibilas 2 kali dengan akuades steril, lalu diletakkan dalam kertas tisu steril dan dikeringkan selama 3-4 jam dalam *laminar air flow*. Sampel kemudian dipotong kecil-kecil ($\pm 5 \text{ mm}^2$) dan diletakkan dalam cawan Petri (diameter 9 cm) berisi media *Malt Extract Agar* (MEA). Dalam cawan Petri diletakkan 4 segmen potongan sampel, selanjutnya diinkubasi pada suhu 25° C selama 2 minggu. Selama inkubasi berlangsung koloni fungi yang tumbuh dari dalam jaringan tumbuhan diisolasi secara langsung dengan menggunakan *fine needle* di bawah *dissecting microscope*. Isolat fungi yang terisolasi dan telah murni selanjutnya dipelihara. Pemeliharaan fungi endofit dilakukan dengan mengikuti panduan yang ditetapkan oleh Federasi Kultur Koleksi Dunia (WFCC), yaitu dilakukan dengan metode penyimpanan *freezing* pada suhu -80° C dengan 10% (v/v) gliserol dan 5% (w/v) *trehalose* sebagai *cryoprotectant*. Uji viabilitas dan pemantauan kualitas isolat yang disimpan dilakukan dengan melakukan analisis *accelerated rate storage test* [23].

Karakterisasi Morfologi

Isolat fungi endofit terseleksi ditumbuhkan dalam cawan Petri berdiameter 9 cm yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Isolat diinokulasikan sebanyak tiga titik pada setiap cawan kemudian diinkubasi pada suhu 25° C selama 7-20 hari secara terbalik dan pada kondisi gelap. Untuk pengamatan mikroskopis, koloni yang ditumbuhkan pada media PDA 25° C dibuat preparat dengan menggunakan 60% (v/v) asam laktat sebagai *mounting medium*. Pengamatan mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX53 dengan pembesaran hingga 1000X menggunakan minyak imersi. Dokumentasi mikroskopis menggunakan kamera Olympus DP 26 yang terhubung dengan komputer. Identifikasi fungi endofit secara morfologi berdasarkan panduan monograf Sutton [25] dan Seifert *et al.* [26].

Identifikasi Molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan berdasarkan analisis *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) secara parsial pada lokus gen *Internal Transcribed Spacer (ITS) ribosomal DNA*. Tahapan kerja analisis *genotipe* untuk identifikasi molekuler adalah sebagai berikut:
Isolasi genom

Isolasi genom diawali dengan menumbuhkan isolat fungi endofit dalam media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan diinkubasi selama 48 jam. Biomassa berupa miselium fungi selanjutnya dipanen untuk proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA total fungi dilakukan dengan menggunakan reagen nucleon PHYTOpure (Amersham LIFE SCIENCE). Tahapan kerja ekstraksi dilakukan sesuai dengan prosedur yang disarankan oleh produsen reagen.

Amplifikasi polymerase chain reaction (PCR) gen ITS rDNA

Amplifikasi PCR dilakukan dengan volume total 25 μL terdiri dari campuran 10 μL *nuclease free water*, 12,5 μL GoTaq Green Master Mix (Promega), 0,5 μL DMSO, 0,5 μL primer (10 pmol), dan 1 μL (konsentrasi 5 hingga 10 ng/ μL) ekstrak genom DNA sebagai cetakan. Perangkat primer pada lokus ITS1, 5.8S, dan ITS2 rDNA menggunakan primer ITS 4 (5`-- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3`) dan primer ITS 5 (5`--GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G –3`) [24]. Amplifikasi PCR dilakukan dalam sebuah alat PCR TAKaRa PCR Thermal Cycler P650 (TAKARA BIO Inc.) diprogram dengan kondisi berikut: denaturasi awal pada suhu 95° C selama 3 menit, pengulangan sebanyak 35 siklus dari pembukaan untai DNA pada suhu 95° C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 55° C selama 30 detik, dan pemanjangan primer pada suhu 72° C selama 1 menit.

Elektroforesis produk PCR

Produk PCR dipisahkan dengan cara elektroforesis menggunakan *agarose gel* 1 % (w/v) pada tegangan listrik 100 V selama 30 menit dalam 1x TAE *buffer* (0,4 M Tris, 0,05 M NaAc, dan 0,01 M EDTA). Gel tersebut direndam dalam *ethidium bromide* (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) selama satu jam. Gel divisualisasi di bawah sinar UV. Selanjutnya DNA yang teramplifikasi dengan baik dimurnikan untuk proses siklus sekuensing.

Purifikasi produk PCR

Purifikasi hasil PCR dilakukan menggunakan metode *PEG precipitation* [27]. Hasil PCR yang telah dipurifikasi selanjutnya disiklus sekuensing. Hasil siklus sekuensing dipurifikasi kembali dengan *Ethanol purification method*. Analisis pembacaan urutan basa nitrogen menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer) (Applied Biosystems).

Reaksi sekuensing

Reaksi sekuensing dilakukan menggunakan reagen *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit* (Applied Biosystems) dengan protokol tahapan kerja sesuai dengan instruksi produsen. Reaksi sekuensing memiliki volume total 10 μL dengan tingkat pengenceran 1/8 terdiri atas campuran 1 μL *PCR product* (konsentrasi 25 to 50 ng/ μL), 0,5 μL BDT RR mix, 1,75 μL 5X *sequence buffer*, 0,5 μL primer, dan 6,25 μL *ultra pure sterile water*. Reaksi siklus sekuensing dilakukan menggunakan mesin TAKaRa PCR Thermal Cycler P650 (TAKARA BIO Inc.) dan diprogram sebanyak 25 siklus reaksi dengan tahapan denaturasi pada suhu 96° C selama 10 detik, diikuti penempelan primer pada suhu 55° C selama 5 detik dan pemanjangan primer pada suhu 60° C selama 4 menit. Selanjutnya produk sekuensing dimurnikan menggunakan metode pemurnian etanol. Sampel sekuensing yang telah murni dianalisis menggunakan mesin sekuenser ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Analisis data hasil sekuensing

Data mentah hasil sekuensing diedit menggunakan program ChromasPro version 1.5 (<http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>). Data yang telah diedit melalui *trimming* dan *assembling*, selanjutnya dikonversi ke dalam bentuk FASTA format dan di BLAST secara *online* melalui *website* pusat *database National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mencari takson dengan homologi terdekat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi fungi endofit dari sampel tumbuhan Piperaceae asal Gunung Salak yaitu *Piper aduncum* L., *Piper betle* L. var. 1, *Piper betle* L. var. 2, *Piper betle* L. var. 3, dan *Piper nigrum* L., diperoleh 48 isolat murni fungi endofit terseleksi (Tabel 1). Adapun hasil isolasi dan seleksi fungi endofit dari tumbuhan Piperaceae asal Kebun Raya Eka Karya, Bali yaitu *Piper bantamense* Blume, *Piper nigrum* L., *Piper betle* L., *Piper macropiper* Pennant (♀), *Piper sarmentosum* Roxb., *Piper macropiper* Pennant (♂), dan *Piper retrofractum* L. diperoleh 44 isolat murni fungi endofit terseleksi (Tabel 2).

Hasil identifikasi berdasarkan morfologi dan karakteristik kultur menunjukkan fungi endofit pada tumbuhan Piperaceae asal kedua lokasi didominasi oleh taksa Hypomycetes, Coelomycetes, Dematiaceae, dan beberapa isolat steril (*mycelia sterilia*). Data hasil pengamatan karakterisasi morfologi isolat disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Sebagian besar isolat fungi yang terisolasi tidak membentuk struktur reproduksi selama inkubasi pada media MEA dan PDA. Oleh karena minimnya ciri dan karakter morfologi yang dapat diamati untuk identifikasi pada tingkatan takson yang lebih rendah, 92 isolat fungi endofit yang diperoleh selanjutnya dikelompokkan ulang berdasarkan morfotipe untuk keperluan identifikasi molekuler. Dari hasil pengelompokan morfotipe terseleksi 50 isolat untuk identifikasi molekuler yang terdiri atas 27 isolat fungi endofit Piperaceae asal Gunung Salak dan 23 isolat endofit Piperaceae asal Kebun Raya Eka Karya, Bedugul Bali.

Data sekuen ITS rDNA isolat fungi endofit yang disejajarkan pada saat *online* BLAST memiliki panjang pada kisaran 550 hingga 609 pasangan basa (Tabel 3). Hasil identifikasi molekuler berdasarkan sekuen ITS rDNA terhadap 50 isolat endofit terseleksi memiliki similaritas yang tinggi pada kisaran 98-100% dengan taksa dari genus *Cercospora*, *Cochliobolus*, *Colletotrichum* (*Glomerella*), *Corynespora*, *Fusarium* (*Gibberella*), *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Phoma*, dan *Phomopsis* (*Diaporthe*) (Tabel 3).

Tabel 1 Karakterisasi morfologi isolat fungi endofit terseleksi dari sampel tumbuhan Piperaceae di sekitar kawasan Gunung Salak

No	Kode isolat	Substrat	Deskripsi morfologi koloni	Takson
1	GS 01 Da1	Daun <i>Piper betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas padat tebal berwarna hitam, bergranula, sebagian hifa tumbuh dalam media (<i>immersed</i>)	Coelomycetes
2	GS 01 Da2	Daun <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem dengan zonasi kelabu terang dan gelap, terbentuk piknidium berwarna hitam, serta tetes eksudat jingga	Coelomycetes
3	GS 01 Da3	Daun <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas padat tebal berwarna hitam, bergranula, sebagian hifa tumbuh dalam media (<i>immersed</i>)	Coelomycetes
4	GS 01 Da4	Daun <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih, hifa berseptum, sklerotium berwarna hitam	Isolat steril*
5	GS 01 Btg 1	Batang <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem dengan zonasi kelabu terang dan gelap, terbentuk piknidium berwarna hitam, serta tetes eksudat jingga	Coelomycetes
6	GS 01 Btg 2	Batang <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum, sklerotium berwarna hitam	Coelomycetes
7	GS 01 Btg 3	Batang <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih, hifa berseptum, banyak tetes eksudat, sklerotium berwarna hitam	Coelomycetes
8	GS 01 Bu1	Buah <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem dengan zonasi kelabu terang dan gelap, terbentuk piknidium berwarna hitam, serta tetes eksudat jingga	Coelomycetes
9	GS 01 Bu2	Buah <i>P. betle</i> L. var 1	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum, sklerotium berwarna hitam	Coelomycetes
10	GS 03 Da1	Daun <i>P. nigrum</i> L.	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem dengan zonasi kelabu terang dan gelap, terbentuk piknidium berwarna hitam, serta tetes eksudat jingga	Coelomycetes
11	GS 03 Da2	Daun <i>P. nigrum</i> L.	Koloni seperti kapas, berwarna kelabu tua dan hitam, hifa berseptum <i>dematiaceus</i>	Dematiaceae
12	GS 03 Da3	Daun <i>P. nigrum</i> L.	Koloni seperti kapas, berwarna ungu sedikit krem, hifa berseptum	Isolat steril*
13	GS 03 Btg1	Batang <i>P. nigrum</i> L.	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum, sklerotium berwarna hitam	Coelomycetes
14	GS 03 Btg2	Batang <i>P. nigrum</i> L.	Koloni seperti kapas, berwarna putih, hifa berseptum, sklerotium berwarna hitam	Coelomycetes

Keterangan: (*) Isolat-isolat yang selama diinkubasi pada media PDA tidak membentuk struktur reproduksi baik seksual (teleomorf) maupun aseksual (anamorf).

Tabel 2. Karakterisasi morfologi isolat fungi endofit terseleksi dari sampel tumbuhan Piperaceae asal Kebun Raya Eka Karya, Bedugul, Bali

No	Kode isolat	Substrat	Deskripsi morfologi koloni	Takson
1	P1 Da 1	Daun <i>Piper bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum	Isolat steril*
2	P1 Da 2	Daun <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna kelabu tua dan hitam, hifa berseptum <i>dematiaceus</i>	Dematiaceae
3	P1 Da 3	Daun <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum	Isolat steril*
4	P1 Da 4	Daun <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna kelabu tua dan hitam, hifa berseptum <i>dematiaceus</i>	Dematiaceae
5	P1 Da 5	Daun <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna kelabu tua dan hitam, hifa berseptum <i>dematiaceus</i>	Dematiaceae
6	P1 Bu 1	Buah <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna kelabu tua dan hitam, hifa berseptum <i>dematiaceus</i>	Dematiaceae
7	P1 Bu 2	Buah <i>P. bantamense</i> Blume	Koloni seperti kapas, berwarna putih krem, hifa berseptum, sklerotia berwarna hitam	Coelomycetes

Keterangan : (*) Isolat-isolat yang selama diinkubasi pada media PDA tidak membentuk struktur reproduksi baik seksual (teleomorf) maupun aseksual (anamorf).

Keragaman fungi endofit genus *Cercospora*, *Cohliobolus*, dan *Corynespora* masing-masing terdiri atas 1 spesies yaitu *Cercospora zebrina* (P3 Bt1), *Cohliobolus geniculatus* (GS03Da2), dan *Corynespora cassiicola* (P1 Da1, P2 Da1, P4 Ak1a, P5 Bu1, P6 Da2, P6 Da5, GS04 Bu4). Keragaman spesies yang lebih tinggi terdapat pada isolat dari genus *Colletotrichum* (*Glomerella*). Genus *Colletotrichum* dan fase teleomorfnya *Glomerella* terdiri atas *Colletotrichum* sp. (P4 Ak1b, GS01 Da2, GS01 Bt2), *C. aenigma* (GS01 Bu1), *C. boninense* (P2 Da4, GS03 Da1), *C. gloeosporioides* (P2 Da2, P4 Da1, P7 Bu2, GS03 Bt1, GS05 Da4), *Glomerella acutata* (P5 Bu3), dan *G. magna* (GS03 Da3, GS05 Da1). Genus *Fusarium* dan fase teleomorf *Gibberella* terdiri atas *Fusarium* sp. (GS04 Bt2, GS04 Bu6, GS05 Bu7), *F. avenaceum* (P4 Bt2), *F. equiseti* (P2 Ak1, GS04 Bu3), *F. oxysporum* (P3 Ak2), *F. solani* (P3 Ak3) dan *Gibberella moniliformis* (GS05 Bt1). Genus *Lasiodiplodia* terdiri atas *L. theobromae* (P6 Bu2, GS03 Bu6) dan *L. pseudotheobromae* (GS05 Bt2). Genus *Neofusicoccum* terdiri atas *Neofusicoccum* sp. (P5 Bt1) dan *N. parvum* (P6 Bu1). Genus *Phoma* terdiri atas *Phoma* sp. (GS03 Bu1) dan *P. medicaginis* (GS04 Da1). *Phomopsis* dan fase teleomorfnya *Diaporthe* terdiri atas *Phomopsis* sp. (P2 Da3, GS01 Da4, GS04 Da4), *Diaporthe* sp. (GS01 Bt3), *D. ceratoratozamia* (GS01 Bu2), dan *D. phaseolorum* (P6 Bu2, GS03 Bu3, GS04 Bu2).

Tabel 3. Daftar hasil identifikasi molekuler isolat fungi endofit Piperaceae asal Gunung Salak dan Kebun Raya Eka Karya Bedugul, Bali

No	Kode isolat	Taksa terdekat berdasarkan sekuen ITS rDNA hasil BLAST di NCBI	Homologi
1	P1 Da1	<i>Corynespora cassiicola</i>	574/575 (99%)
2	P2 Da1	<i>Corynespora cassiicola</i>	574/575 (99%)
3	P2 Da2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	589/590 (99%)
4	P2 Da3	<i>Phomopsis</i> sp.	581/595 (98%)
5	P2 Da4	<i>Colletotrichum boninense</i>	590/590 (100%)
6	P2 Ak1	<i>Fusarium equiseti</i>	562/562 (100%)
7	P3 Da1	<i>Corynespora cassiicola</i>	574/575 (99%)
8	P3 Bt1	<i>Cercospora zebrina</i>	551/552 (99%)
9	P3 Ak2	<i>Fusarium oxysporum</i>	559/559 (100%)
10	P3 Ak3	<i>Fusarium solani</i>	572/585 (98%)
11	P4 Da1	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	590/591 (99%)
12	P4 Bt2	<i>Fusarium avenaceum</i>	577/580 (99%)
13	P4 Ak1a	<i>Corynespora cassiicola</i>	574/576 (99%)
14	P4 Ak1b	<i>Colletotrichum</i> sp.	551/557 (99%)
15	P5 Bt1	<i>Neofusicoccum</i> sp.	594/596 (99%)
16	P5 Bu1	<i>Corynespora cassiicola</i>	574/575 (99%)
17	P5 Bu3	<i>Glomerella acutata</i>	599/601 (99%)
18	P6 Da2	<i>Corynespora cassiicola</i>	573/575 (99%)
19	P6 Da5	<i>Corynespora cassiicola</i>	573/575 (99%)
20	P6 Bu1	<i>Neofusicoccum parvum</i>	592/593 (99%)
21	P6 Bu2	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	592/592 (100%)
22	P7 Bu1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	556/556 (100%)
23	P7 Bu2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	589/591 (99%)
24	GS01 Da2	<i>Colletotrichum</i> sp.	590/590 (100%)
25	GS01 Da4	<i>Phomopsis</i> sp.	587/597 (98%)
26	GS01 Bt2	<i>Colletotrichum</i> sp.	590/590 (100%)
27	GS01 Bt3	<i>Diaporthe</i> sp.	591/594 (99%)
28	GS01 Bu1	<i>Colletotrichum aenigma</i>	589/589 (100%)
29	GS01 Bu2	<i>Diaporthe ceratozambiae</i>	583/592 (98%)
30	GS03 Da1	<i>Colletotrichum boninense</i>	609/610 (99%)
31	GS03 Da2	<i>Cochliobolus geniculatus</i>	603/604 (99%)
32	GS03 Da3	<i>Glomerella magna</i>	586/586 (100%)
33	GS03 Bt1	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	589/590 (99%)
34	GS03 Bt2	<i>Diaporthe</i> sp.	592/595 (99%)

35	GS03 Bu1	<i>Phoma sp.</i>	550/550 (100%)
36	GS03 Bu3	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	594/596 (99%)
37	GS03 Bu6	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	558/559 (99%)
38	GS04 Da1	<i>Phoma medicaginis</i>	555/556 (99%)
39	GS04 Da4	<i>Phomopsis sp.</i>	568/572 (99%)
40	GS04 Bt1	<i>Dothideales</i>	550/550 (100%)
41	GS04 Bt2	<i>Fusarium sp.</i>	562/562 (100%)
42	GS04 Bu2	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	586/593 (99%)
43	GS04 Bu3	<i>Fusarium equiseti</i>	560/563 (99%)
34	GS04 Bu4	<i>Corynespora cassiicola</i>	575/576 (99%)
45	GS04 Bu6	<i>Fusarium sp.</i>	562/562 (100%)
46	GS05 Da1	<i>Glomerella magna</i>	586/586 (100%)
47	GS05 Da4	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	591/591 (100%)
48	GS05 Bt1	<i>Gibberella moniliformis</i>	574/574 (100%)
49	GS05 Bt2	<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	558/558 (100%)
50	GS05 Bu7	<i>Fusarium sp.</i>	569/572 (99%)

Seluruh taksa fungi endofit Piperaceae yang teridentifikasi tersebut di atas tergolong ke dalam kelompok Ascomycetes dan fungi imperfekti Deuteromycetes. Dalam banyak kasus, fungi endofit Ascomycetes, Deuteromycetes, dan Basidiomycetes banyak ditemukan dan mampu tumbuh dengan baik sebagai endofit dalam jaringan tumbuhan [1,28]. Beberapa taksa fungi endofit yang terisolasi di atas seperti genus *Fusarium*, *Colletotrichum* (*Glomerella*), *Phoma* dan *Phomopsis* (*Diaphorthe*) secara umum dinyatakan sebagai saprob [29,30] maupun parasit lemah [31]. Namun beberapa spesies dari genus tersebut dapat bertindak sebagai endofit mutualistik [32].

Penelitian mengenai endofit umumnya ditujukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bahan bioaktif yang dihasilkan oleh fungi endofit [19,20]. Lebih lanjut penelitian tersebut dilakukan untuk penapisan isolat potensial yang mampu menghasilkan senyawa antibiotik, antivirus, antikanker, immunomodulator, dan antioksidan [13]. Isolasi dan identifikasi fungi endofit dilakukan sebagai langkah awal untuk menyeleksi isolat endofit unggulan yang mampu menghasilkan senyawa metabolit dan bahan bioaktif. Penelitian lanjutan terhadap 92 isolat endofit Piperaceae terseleksi perlu dilakukan untuk isolasi, identifikasi, dan penapisan metabolit dan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat-isolat fungi endofit tersebut.

KESIMPULAN

Sebanyak 48 dan 44 isolat fungi endofit telah diperoleh, masing-masing dari sampel tumbuhan famili Piperaceae asal Gunung Salak dan Kebun Raya Eka Karya. Hasil identifikasi molekuler berdasarkan sekuen ITS rDNA isolat endofit yang diperoleh memiliki similaritas yang tinggi pada kisaran 98-100% dengan taksa dari genus *Cercospora*, *Cochliobolus*, *Colletotrichum* (*Glomerella*), *Corynespora*, *Fusarium* (*Gibberella*), *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Phoma*, dan *Phomopsis* (*Diaporthe*). Isolat yang diperoleh adalah fungi endofit yang secara umum dapat hidup sebagai saprob dan parasit lemah. Penelitian lanjutan terhadap isolat endofit terseleksi perlu dilakukan untuk penapisan isolat unggulan yang mampu menghasilkan metabolit sekunder dan senyawa bioaktif potensial.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Petrini, O. 1986. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. *In*: Microbiology of the phyllosphere. Fokkema, N.J. and J. van den Heuvel. (eds). Cambridge University Press, England: 175-187.
- [2] Bacon, C.W. and J.F. White. 2000. *An overview of endophytic microbes: Endophytism definition, microbial endophyte*. Marcel Dekker, New York.
- [3] Hawksworth, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: The 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105: 1422-1432.
- [4] Dreyfuss, M.M. and I.H. Chapela. 1994. Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals. *In*: The discovery of natural products with therapeutic potential. V.P. Gullo (ed.). Butter-worth-Heinemann, London, United Kingdom. pp. 49-80.
- [5] Banerjee, D. 2011. Endophytic fungal diversity in tropical and subtropical plants. *Research Journal of Microbiology* 6(1): 54-62.
- [6] Okane, I., A. Nakagiri, and T. Ito. 2001a. Identity of *Guignardia* sp. inhabiting ericaceous plants. *Canadian Journal of Botany*. 79(1): 101--109.
- [7] Okane, I., A. Nakagiri, and T. Ito. 2001b. *Surculiseries rugispora* gen. et sp. nov., a new endophytic mitosporic fungus from leaves of *Bruguiera gymnorrhiza*. *Mycoscience*. 42: 115--122.
- [8] Okane, I., A. Nakagiri, and T. Ito. 2001c. Assemblages of endophytic fungi on *Bruguiera gymnorrhiza* in the Shiira river basin, Iriomoto island. *IFO Research Communications*. 20: 41--49.
- [9] Rubini, M.R., R.T. Silva-Ribeiro, A.W.V. Pomella, C.S. Maki, W.L. Araujo, D.R. dos Santos, and J.L. Azedev. 2005. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches broom disease. *International Journal of Biological Sciences*. 1: 24--33.
- [10] Agusta, A., S. Maehara, K. Ohashi, P. Simanjuntak and H. Shibuya. 2005. Stereo selective oxidation at C-4 of flavans by endophytic fungus *Diaporthe* sp. from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 53(12): 1565--1569.

- [11] Agusta, A., K. Ohashi and H. Shibuya. 2006. Composition of the endophytic filamentous fungi isolated from tea plant *Camellia sinensis*. *Journal of Natural Medicines*. 60(3): 268--272.
- [12] Agusta, A. 2006. Bioproduksi (+)- epiepoksidon oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. yang diisolasi dari tanaman teh. *Berita Biologi*. 8(3): 209--214.
- [13] Tan, R.X. and W.X. Zou. 2001. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*. 18: 448--459
- [14] Webber, J. 1981. A natural control of Dutch elm disease. *Nature* 292: 449-451.
- [15] Clay, K. and C. Schardl. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *The American Naturalist*. 160: S99-S127.
- [16] Strobel, G.A., H.M. Hess, E. Frod, R.S. Sidhu and X. Yang. 1996. Taxol from fungal endophytes and issue of biodiversity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 17(5-6): 417-423.
- [17] Li, J-Y., G. Strobel, R. Sindhu, W.M. Hess and E.J. Ford. 1996. Endophytic taxol-producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology* 142(8): 2223-2226.
- [18] Tanaka, M. H. Sukiman, M. Takebayashi, K. Saito, M.S. Prana, and F. Tomita. 1999. Isolation, screening, and phylogenetic identification of endophytic plants in Hokkaido and Java Indonesia. *Microbes and Environments*. 14(4): 237--241.
- [19] Strobel, G.A. 2003. Endophytes as source of bioactive products. *Microbes and Infection*. 5: 535-544.
- [20] Strobel, G.A. and B. Daisy. 2003. Endophytes are sources of bioactive products. *Microbes and Infections* 5: 535-544.
- [21] Zhang H.W. ,Y.C.Song, & R.X.Tan. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*. 23 (5): 753--771.
- [22] Cohen, S.D.,2004. Endophytic-host selectivity of *Discula umbrinella* on *Quercus alba* and *Quercus rubra* characterized by infection, pathogenicity and mycelia compatibility. *European Journal of Plant Pathology*. 110: 713-721.
- [23] Nakagiri, A. 2005. Preservation of fungi and freezing methods. *Dalam: Workshop on Preservation of Microorganisms*. Biotechnology Center-NITE & Research and Development Center for Biotechnology-LIPI, Cibinong: 17--18 Oktober 2005.
- [24] White, T.J., T.D. Bruns, S.B. Lee, & J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. *Dalam: Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky & T.J. White. (eds.). 1990. PCR protocols*. Academic Press, San Diego: 315-322.
- [25] Sutton, B.C. 1980. *The Coelomycetes*. Common-wealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England.
- [26] Seifert, K., G. Morgan-Jones, W. Gams and B. Kendrick. 2011. *The Genera of Hyphomycetes*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
-

- [27] Hiraishi, A., Y. Kamagata & N. Nakamura. 1995. Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes from methanogens. *Journals of Fermentation Bioengineering* 79: 523-529.
- [28] Dayle, E.S., N.O. Polans, D.S. Paul and R.D. Melvin. 2001. Angiosperm DNA contamination by endophytic fungi: Detection and methods of avoidance. *Plant Molecular Biology Report*. 19: 249-260.
- [29] Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hypomycetes*. Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England.
- [30] Boddy, L. and G.S. Griffith. 1989. Role of endophytes and latent invasion in the development of decay communities in sapwood of Angiospermous trees. *Sydowia*. 41: 41--73.
- [31] Ou, S.H. 1985. *Rice Diseases*. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute. Kew, England.
- [32] Carroll, G.C. and F.E. Carroll. 1978. Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany*. 56: 3032-3043.
- [33] Vries RP, Vankuyk, PA, Kester, HCM., Visser, J. 2002. The *Aspergillus niger* faeB gene encodes a second feruloyl esterase involved in pectin and xylan degradation and is specifically induced in the presence of aromatic compounds. *Biochem.J.* 363 : 377-386.
- [34] Wohlbrand L, Wilkes H, Halder T, Rabus R, 2008. Anaerobic degradation of *p*-ethylphenol by *Aromatoleum aromaticum* strain EbN1: Pathway, regulation, and involved proteins. *J.Bacteriol.*190(16):5699-5709.
- [35] Duetz WA, Beilen JBV, Witholt B. 2001. Using Proteins in Their Natural Environment: Potential and Limitations of Microbial Whole-Cell Hydroxylations in Applied Biocatalysis. *Biotechnology Journal. Institute of Biotechnology, Switzerland* : 12 : 419-425.
- [36] Okoro CO, Amund OO. 2010. Biodegradation of produced water hydrocarbons by *Aspergillus fumigatus*. *J.Am.Sci.* 6 (3) : 143-149.
- [37] Romao MVS. 2009. Biological diversity preservation as a challenge - The role of microbiological cork colonisation a short review. *Ciência Téc.Vitiv.*24 (2):81-90.

EKSPLORASI SIANOBAKTERIA PLANKTONIK PADA PERAIRAN PAYAU DI EKOSISTEM MANGROVE CAGAR ALAM PULAU DUA SERANG-BANTEN

(EXPLORATION OF PLANKTONIC CYANOBACTERIA IN BRACKISH WATERS OF MANGROVE ECOSYSTEM AT CAGAR ALAM PULAU DUA SERANG-BANTEN)

Wineng Siti Rohmah, Siti Gia Syauqiah Fitri, Rida Oktorida Khastini

Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang
Jl. Raya Jakarta KM. 04 Pakupatan Serang, Banten 42122
Email : syauqiyahfitri@gmail.com

ABSTRACT

A study aimed to explore planktonic Cyanobacteria in the brackish waters of mangroves ecosystem at Cagar Alam Pulau Dua Serang-Banten was conducted from October to December 2013. Samples were taken from three different stations using planktonet. Sampling stations was determined by squares-transect method. Station I is located on 6°1'6, 6 "LS and 106°11'47, 9" BT. Station II is located on 6°0'59, 6 "and 106°11'39 LS, 8" BT. Station III is located on 6°1'009 "LS and 106°11'519" BT. Cyanobacteria was cultured in BG-11 medium and incubated for 14 days at 25°C under continuous illumination with fluorescent white lamps at intensity of < 500 lux. Planktonic Cyanobacteria that was obtained consisted of 13 genera which where *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, *Coelosphaerium*, *Myxosarcina*, *Dermocarpa*, *Chroococciopsis*, *Lyngbya*, *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc* and *Calothrix*. Seven genera were observed are unicellular colony, 4 genera are nonheterocystous filamentous forms and the other of genera are heterocystous filamentous forms.

Key words: Brackish waters, Banten, Cagar Alam Pulau Dua, Cyanobacteria, Mangroves Ecosystem.

ABSTRAK

Penelitian yang bertujuan untuk mengeksplorasi sianobakteria planktonik pada perairan payau di ekosistem mangrove Cagar Alam Pulau Dua Serang-Banten telah dilakukan pada bulan Oktober sampai dengan Desember 2013. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga stasiun berbeda menggunakan planktonet. Stasiun pengambilan sampel ditentukan dengan metode kuadrat transek. Stasiun I terletak pada 6°1'6,6" LS dan 106°11'47,9" BT. Stasiun II terletak pada 6°0'59,6" LS dan 106°11'39,8" BT. Stasiun III terletak pada 6°1'009" LS dan 106°11'519" BT. Sianobakteria dikulturkan pada media BG-11, diinkubasi selama 14 hari pada suhu 25°C di bawah pencahayaan lampu fluorescent putih dengan intensitas cahaya < 500 lux. Sianobakteria planktonik yang ditemukan sebanyak 13 genus, yaitu *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, *Coelosphaerium*, *Myxosarcina*, *Dermocarpa*, *Chroococciopsis*, *Lyngbya*, *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc* dan *Calothrix*. Sebanyak 7 genus merupakan sianobakteria uniseluler yang hidup berkoloni, 4 genus sianobakteria berfilamen tanpa heterosista dan genus lainnya merupakan sianobakteria berfilamen dengan heterosista.

Kata kunci: Air Payau, Banten, Cagar Alam Pulau Dua, Ekosistem Mangrove, Sianobakteria

PENDAHULUAN

Sianobakteria merupakan organisme prokariotik yang sebelumnya dikenal dengan sebutan alga hijau-biru. Sianobakteria termasuk bakteri gram negatif yang memiliki pigmen fotosintetik berupa klorofil- a, β - karoten, xantofil dan biliprotein (fikosianin dan fikoeritrin) yang tersimpan dalam tilakoid. Organisme ini dapat berfotosintesis seperti tumbuhan menggunakan fotosistem I dan fotosistem II [1]. Morfologi sel sianobakteria bervariasi, mulai dari uniseluler, membentuk koloni hingga yang multiseluler berbentuk filamen [1, 2,]. Sianobakteria dapat ditemukan sebagai plankton, epifit atau bentos [3, 4]. Sianobakteria epifitik dan bentik dapat terlepas dari substratnya karena terkena arus air, sehingga berubah sifat menjadi planktonik, begitu pun sebaliknya [3].

Sianobakteria tergolong organisme kosmopolit yang dapat ditemukan di berbagai macam habitat, seperti di perairan, tanah, akar tumbuhan, permukaan batu bahkan di lingkungan yang ekstrim [1, 2]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sianobakteria dapat ditemukan di ekosistem mangrove baik sianobakteria yang hidup seperti plankton, menempel pada permukaan pneumatofor (epifitik) atau pada sedimen mangrove (Bentik) [5, 6, 7, 8, 9]. Sianobakteria dapat hidup pada perairan payau di ekosistem mangrove karena telah teradaptasi dengan lingkungan perairan yang mengandung kadar garam cukup tinggi. Sianobakteria merupakan salah satu mikroorganisme yang berperan penting dalam penyediaan unsur hara di ekosistem mangrove. Beberapa sianobakteria selain dapat berfotosintesis juga dapat memfiksasi nitrogen bebas (N_2) dari atmosfer dan mengubahnya menjadi amonia sehingga menyediakan sumber nitrogen bagi lingkungannya [1, 6].

Penelitian mengenai sianobakteria di perairan payau pada ekosistem mangrove, belum banyak dilakukan di Indonesia. Di Banten, Cagar Alam Pulau Dua (CAPD) merupakan salah satu ekosistem mangrove yang potensial dan perlu dijaga kelestariannya. Namun, hingga saat ini keberadaan sianobakteria sebagai komponen utama penyusun ekosistem mangrove di CAPD belum dieksplorasi secara mendalam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman sianobakteria di perairan payau CAPD dan mengetahui pengaruh faktor lingkungan terhadap keberadaannya di ekosistem tersebut.

METODE PENELITIAN

Penentuan stasiun pengambilan sampel

Stasiun pengambilan sampel ditentukan dengan metode kuadrat transek. Stasiun I terletak pada $6^{\circ}1'6,6''$ LS dan $106^{\circ}11'47,9''$ BT. Stasiun II terletak pada $6^{\circ}0'59,6''$ LS dan $106^{\circ}11'39,8''$ BT. Stasiun III terletak pada $6^{\circ}1'009''$ LS dan $106^{\circ}11'519''$ BT.

Koleksi sampel, isolasi dan identifikasi

Sampel sianobakteria diambil dengan menggunakan planktonet di setiap stasiun. Isolasi sianobakteria dilakukan dengan mengkultur sianobakteria dalam media BG-11, diinkubasi selama 14 hari pada suhu $25^{\circ}C$ di bawah pencahayaan dengan intensitas cahaya < 500 lux [10, 11]. Isolasi sianobakteria dilakukan dengan metode cawan sebar. Sianobakteria diidentifikasi menggunakan mikroskop dan dengan panduan buku identifikasi [11, 12] sampai tingkat genus berdasarkan karakteristik morfologi selnya.

Pengukuran parameter lingkungan

Suhu air, DO dan salinitas diukur dilokasi penelitian. Suhu air dan nilai DO diukur dengan menggunakan *Oxygen Meter Lutron DO-5510*. Salinitas air diukur menggunakan refraktometer. Nilai pH, kadar nitrat, dan kadar fosfat, diukur di Laboratorium Pendidikan Biologi Untirta dengan menggunakan *Hanna Instrument HI 83203 Multiparameter Bench Photometer for Aquaculture*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran parameter lingkungan meliputi suhu air, kedalaman air, salinitas, DO (Oksigen terlarut), nutrisi (nitrat dan fosfat) dan pH secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Parameter lingkungan di setiap stasiun

Parameter	Stasiun		
	I	II	III
Suhu air (°C)	33,1-33,4	34,3-34,7	32-34
Kedalaman Air (m)	0,11-0,2	0,06-0,12	0,09-0,14
Salinitas (‰)	35-43	45-47	50
DO (mg/L)	7,1-15,4	7,7-13,8	6,7-11
Nitrat (mg/L)	2-8,9	3,1-9,5	1-12,5
Fosfat (mg/L)	2,7-18,6	5,9-21,8	8,1-24
pH	7,1-7,8	7,8-8,2	8,2-8,5

Suhu di perairan CAPD berkisar antara 32-34,7°C, merupakan suhu yang memungkinkan untuk keberadaan sianobakteria. Nilai DO berkisar antara 6,7-15,4 mg/L. Nilai tersebut jauh diatas nilai minimum DO yang dibutuhkan oleh sianobakteria untuk hidup yaitu sebesar 2 mg/L [13]. Berdasarkan kandungan nitrat (5-50 mg/L) dan fosfatnya (0,031-0,1 mg/L), perairan CAPD termasuk ke dalam jenis perairan eutrofik dengan nilai pH berkisar antara 7,1-8,5. Perairan CAPD merupakan tipe perairan yang dangkal dengan kedalaman antara 0,06-0,2 m dan memiliki nilai salinitas yang berkisar antara 35-50 ‰. Berdasarkan nilai salinitasnya, perairan tersebut tergolong perairan hipersalin, karena mempunyai nilai rata-rata salinitas > 35 ‰ [14]. Sianobakteria yang ditemukan di perairan payau CAPD merupakan mikroorganisme halofilik, karena dapat beradaptasi dengan lingkungan hipersalin [1].

Sebanyak 13 genus sianobakteria berhasil diidentifikasi (Tabel 2). Sianobakteria tersebut dikelompokkan ke dalam 4 ordo berdasarkan ciri morfologi, yaitu dilihat dari perbedaan bentuk tubuh. Sianobakteria yang memiliki bentuk tubuh berupa uniseluler (non-filamen) dikelompokkan dalam ordo Chroococcales atau Pleurocapsales, sedangkan

yang memiliki bentuk tubuh filamen dikelompokkan dalam ordo Oscillatoriales atau Nostocales. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa sianobakteria yang ditemukan di tiga stasiun CAPD cukup bervariasi dalam jumlah dan ragam genusnya. Jumlah genus yang ditemukan di stasiun II dan III lebih banyak dibandingkan dengan stasiun I (Tabel 2). Sianobakteria yang ditemukan di stasiun II sebanyak 9 genus, yaitu *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, *Coelosphaerium*, *Chroococciopsis*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Phormidium* dan *Nostoc*. Sianobakteria yang ditemukan di stasiun III sebanyak 9 genus, yaitu *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, *Chroococciopsis*, *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc* dan *Calothrix*. Sianobakteria yang ditemukan di stasiun I sebanyak 6 genus yaitu, *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Myxosarcina*, *Dermocarpa*, *Spirulina*, dan *Oscillatoria*.

Tabel 2 Sianobakteria air payau di ekosistem mangrove CAPD

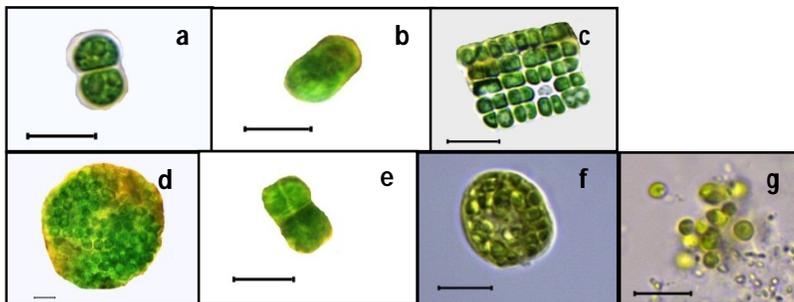
Ordo	Genus	Stasiun		
		I	II	III
Chroococcales	<i>Chroococcus</i>	√	√	√
	<i>Synechococcus</i>	√	√	√
	<i>Merismopedia</i>	-	√	√
	<i>Coelosphaerium</i>	-	√	-
Pleurocapsales	<i>Myxosarcina</i>	√	-	-
	<i>Chroococciopsis</i>	-	√	√
	<i>Dermocarpa</i>	√	-	-
Oscillatoriales	<i>Lyngbya</i>	-	√	-
	<i>Spirulina</i>	√	-	√
	<i>Oscillatoria</i>	√	√	√
	<i>Phormidium</i>	-	√	√
Nostocales	<i>Nostoc</i>	-	√	√
	<i>Calothrix</i>	-	-	√

√ = ada, - = tidak ada.

Salah satu faktor yang dapat menyebabkan keragaman sianobakteria adalah kadar fosfat di stasiun II dan III lebih tinggi dari stasiun I. Kadar fosfat dapat berpengaruh terhadap kelimpahan sianobakteria di suatu perairan karena fosfat merupakan nutrisi penting yang dibutuhkan sianobakteria. Sumber fosfat di stasiun II dan III sebagian besar diduga berasal dari kotoran burung, karena kedua stasiun ini merupakan tempat berkembang biak burung air [15]. Proses fisiologis dalam tubuh sianobakteria tidak terganggu walaupun kadar fosfat di kedua stasiun tinggi, karena kadar tersebut masih dalam rentang nilai yang dapat ditoleransi oleh sianobakteria. Sianobakteria dapat mentoleransi kadar fosfat dalam perairan hingga 25 mg/L [16].

Anggota ordo Chroococcales mempunyai sel berbentuk bulat atau oval, hidup dalam bentuk sel tunggal (soliter) atau membentuk koloni [11, 12]. Gambar 1 memperlihatkan ciri morfologi dari empat genus yang termasuk ke dalam ordo Chroococcales yaitu *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, dan *Coelosphaerium*. Anggota genus *Chroococcus* (Gambar 1.a) mempunyai bentuk sel bulat, setengah bulat atau tidak beraturan. Hidup secara soliter atau dalam bentuk koloni agregat yang terdiri dari 2, 4, 16-32 sel [11, 12, 17]. Anggota genus *Synechococcus* (Gambar 1.b) mempunyai bentuk sel oval atau lonjong dengan ukuran 1-22 μm [11, 12], panjang sel lebih besar dari diameter selnya. Hidup secara soliter atau dalam bentuk koloni sederhana tanpa diselubungi kapsul berlendir. Anggota genus *Merismopedia* (Gambar 1.c) hidup dalam bentuk koloni yang kompak atau longgar, tersusun secara teratur dalam baris melintang dan longitudinal dalam kapsul berlendir. Koloni tersebut terlihat seperti bangun persegi atau persegi panjang dalam kapsul. Satuan sel penyusun koloni berbentuk bulat atau bulat telur. Genus *Coelosphaerium* (Gambar 1.d) tersusun dalam koloni berlubang karena sel penyusun koloni bergerombol ke bagian samping [11, 12].

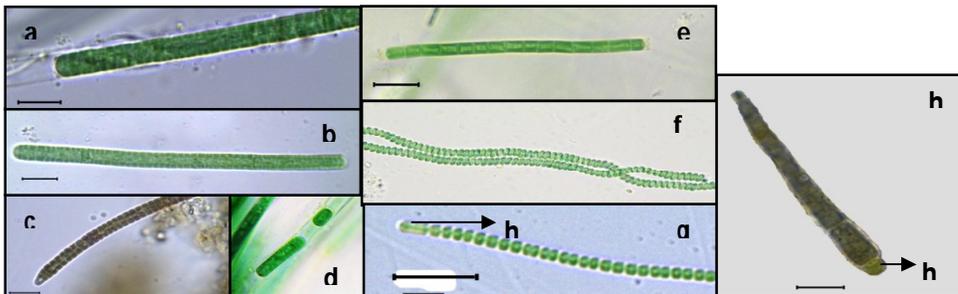
Anggota ordo Pleurocapsales mempunyai ciri hampir sama dengan anggota ordo Chroococcales, yang membedakan yaitu dalam koloninya sel vegetatif anggota ordo ini selalu tertutup oleh lapisan berserat tambahan yang kuat dari lapisan membran luar. *Myxosarcina*, *Chroococcidiopsis* dan *Dermocarpa* merupakan genus yang termasuk dalam ordo Pleurocapsales. Anggota genus *Myxosarcina* (Gambar 1.e) mempunyai sel yang padat, berbentuk hampir bulat atau tidak teratur. Hidup dalam bentuk koloni hingga 32 sel. Bentuk koloni menyerupai kubus atau bulat dan sedikit datar [14]. Anggota genus *Chroococcidiopsis* (Gambar 1.f) mempunyai satuan sel penyusun koloni berbentuk elips atau bulat yang dilapisi oleh kapsul yang tipis. Permukaan koloni tidak rata dan mengandung sel-sel dengan kapsul individu. Anggota genus *Dermocarpa* (Gambar 1.g) mempunyai satuan sel penyusun koloni berbentuk bulat atau bulat telur. Koloni dilindungi oleh kapsul yang tidak berwarna namun sulit teramati [11, 12].



Gambar 1. a: *Chroococcus*; b: *Synechococcus*; c: *Merismopedia*; d: *Coelosphaerium*; e: *Myxosarcina*; f: *Chroococcidiopsis*; g: *Dermocarpa*. Skala bar 10 μm .

Sianobakteria berfilamen yang ditemukan terbagi ke dalam dua kelompok, yaitu sianobakteria berheterosista dan tidak berheterosista. Ordo Oscillatoriales merupakan jenis sianobakteria yang tidak berheterosista sedangkan ordo Nostocales pada umumnya berheterosista [11, 12]. Gambar 2 memperlihatkan ciri morfologi dari anggota ordo Oscillaoriales dan Nostocales yaitu *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, dan *Spirulina*.

Genus *Lyngbya* (Gambar 2.a), *Oscillatoria* (Gambar 2b-d), *Phormidium* (Gambar 2e) merupakan sianobakteria berfilamen dengan trikum lurus dan bersifat isopolar. Sedangkan *Spirulina* (Gambar 2f) merupakan sianobakteria dengan tipe trikum terpilin. Genus *Lyngbya* (Gambar 2.a) dan *Phormidium* (Gambar 2.e) mempunyai kapsul yang selalu terlihat, sedangkan pada anggota genus *Oscillatoria*, kapsul hanya terlihat pada saat pembentukan hormogonia (Gambar 2.d). Anggota ordo Nostocales yaitu *Nostoc* (Gambar 2.g) dan *Calothrix* (Gambar 2.h). Anggota genus *Nostoc* dan *Calothrix* mempunyai heterosista yang terletak di bagian ujung/dasar. Genus *Calothrix* mempunyai ciri khas dibandingkan genus lainnya, yaitu mempunyai trikum yang bersifat heteropolar [11, 12].



Gambar 2. a: *Lyngbya*; b: *Oscillatoria*; c: *Oscillatoria*; d: *Oscillatoria*; e: *Phormidium*; f: *Spirulina*; g: *Nostoc*, h: heterosista; h: *Calothrix*, h: heterosista. Skala bar 10 μ m.

Ordo Chroococcales dan Oscillatoriales merupakan dua ordo yang paling banyak ditemukan di perairan payau CAPD. Hal serupa telah dilaporkan, bahwa ordo Chroococcales dan Oscillatoriales merupakan dua ordo yang paling banyak ditemukan pada perairan payau di estuari Cochin India dan pada sedimen mangrove di pantai tenggara India [17, 18]. Hasil eksplorasi ini lebih banyak menemukan sianobakteria yang tidak memiliki heterosista dibandingkan dengan sianobakteria berheterosista. Hal ini diduga karena keberadaan sianobakteria berheterosista dipengaruhi salah satunya oleh kadar salinitas [17]. Hasil penelitian juga menunjukkan ada beberapa genus yang dapat dijumpai di setiap stasiun dan ada beberapa genus yang hanya ditemukan di satu atau dua stasiun penelitian. Hal ini diduga karena kemampuan adaptasi setiap genus yang berbeda.

Semua genus yang ditemukan bersifat planktonik, yaitu sianobakteria yang hidup melayang bebas di perairan seperti plankton [3]. Beberapa genus juga diketahui bersifat epifitik dan bentik seperti *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Phormidium*, dan *Calothrix* [5, 19, 20,]. Genus *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Phormidium*, dan *Calothrix* yang ditemukan pada perairan payau CAPD dapat berasal dari sianobakteria yang mengkolonisasi pneumatofor *A. marina* atau *Rhizophora* sp. serta sedimen di ekosistem mangrove CAPD. Sianobakteria tersebut diduga terlepas dari substratnya dan terbawa oleh arus air, sehingga dapat hidup sebagai sianobakteria yang bersifat planktonik [3].

SIMPULAN DAN PROSPEK

Sianobakteria planktonik yang ditemukan pada perairan payau CAPD berjumlah 13 genus, yaitu *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Merismopedia*, *Coelosphaerium*, *Myxosarcina*, *Chroococciopsis*, *Dermocarpa*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Phormidium*, *Nostoc* dan *Calothrix*. Keberadaan sianobakteria tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti suhu, pH, salinitas, DO dan nutrisi (fosfat dan nitrat). Beberapa sianobakteria berheterosista dapat memfiksasi nitrogen bebas (N₂) dari atmosfer dan mengubahnya menjadi amonia sehingga menyediakan sumber nitrogen bagi lingkungannya di ekosistem mangrove. Perlu dilakukan eksplorasi lebih jauh untuk mengetahui seberapa besar peran sianobakteria pemfiksasi nitrogen dalam menyumbang sumber nitrogen bagi lingkungannya di ekosistem mangrove tersebut.

PUSTAKA

- [1] Lee RE. 2008. *Phycology*. New York: Cambridge University Press.
- [2] Trivedi PC, Pandey S & Bhadauria S. 2010. *Text Book of Microbiology*. India: Aaviscar Publishers.
- [3] Prihantini NB, Wardhana W, Hendrayanti D, Widyawan A, Ariyani Y & Sugumar RR. 2008. Biodiversitas cyanobacteria dari beberapa situ/danau di kawasan Jakarta-Depok-Bogor, Indonesia. *Makara, sains*. 12(1): 44--54.
- [4] Puri ER. 2006. *Isolasi, karakterisasi, dan Penapisan Sianobakteria Sebagai Pakan Larva Aedes aegypti*. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- [5] Toledo G, Bashan Y, & Soeldner A. 1995. Cyanobacteria and black mangrove in Northwestern Mexico: colonization, and diurnal and seasonal nitrogen fixation on aerial roots. *Can. J. Microbial*. 49: 999--1011.
- [6] Kathiresan K & Bingham BL. 2001. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology*. 40: 81--251.
- [7] Kyaruzi JJ, Kyewalyanga MS & Muroke MHS. 2003. Cyanobacteria composition and impact of seasonality on their in situ nitrogen fixation rate in a mangrove ecosystem adjacent to Zanzibar Town. *Western Indian ocean J. Mar. Sci.* 2(1): 35--44.
- [8] Nedumaran T, Rajasekar KT & Perumal P. 2008. Mangrove associated cyanobacteria at Pichavaram, Tamilnadu. *Seaweed res. Utiln.* 30(Special Issue): 77--85.
- [9] Thajuddin N & Subramanian G. 2005. Cyanobacterial Biodiversity and Potensial Application in Biotechnology. *Current Science* 89(1): 47--55.
- [10] Allen MM & Stanier RY. 1968. Selective Isolation of Blu-green Algae from Water and Soil. *J. Gen. Microbiol.* 51: 203--209.
- [11] Rippka R, Dervelles J, Waterbury JB, Herdman M & Stainer RY. 1979. Generic Assignment, Strain Histories and Properties of Pure Culture of Cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*. 110(2): 1--61.

- [12] Prescott GW. 1951. *Algae of the western great lakes area*. United States of America: WM. C. Brown Company Publishers Dubuquedowa.
- [13] Indriyani T. 2000. *Struktur Komunitas Fitoplankton dan Indikator Tingkat Kesuburan di Situ Rawa Besar Depok*. Skripsi (Tidak Dipublikasikan). Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- [14] Odum EP. 1998. Dasar-dasar Ekologi. Edisi Ketiga Terj. dari *Fundamental of Ecology*. 3rd ed. oleh Samingan T, Yogyakarta: Penerbit Gajah Mada University Pres.
- [15] Tomassen HBM, Smolders AJP, Lamers LPM & Roelofs JGM. 2005. How bird dropping can affect the vegetation composition of ombrothopic bogs. *Can. J. Bot.* 83: 1048--1056.
- [16] Tin WY, Mei LY, & Chun CY. 2011. *A Guide to Phytoplankton in Singapore Reservoirs*. Singapore: PUB.
- [17] Sakhtivel K & Kathiresan K. 2013. Cyanobacteria Diversity from Mangrove Sediment of South East Coast of India. *Asian Journal of Biodiversity*. 4(303): 190--203.
- [18] Joseph S & Saramma AV. 2004. Seasonal and Spatial Distribution of Cyanobacteria in Cochin Estuary and Nearshore Water. *Proceedings of MBR 2004 Natinal seminar on New Frontiers in Marine Bioscience Reasearch*: 459--468.
- [19] Hicks BJ & Silvester WB. 1985. Nitrogen Associated with the New Zealand Mangrove (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Var. *resinifera* (Forst. F.) Bakh.). *Applied and Environmental Microbiologi*. 49(4): 955--959.
- [20] Silambarasan G, Ramanathan T & Kathiresan K. 2012. Diversity of Marine Cyanobacteria from Three Mangrove Environment in Tamil Nadu Coast, South East Coast of India. *Current Research Journal of Biological Sciences*. 4(3): 235--238.

UJI VIABILITAS BAKTERI AMILOLITIK DARI INOKULUM PROBIOTIK UNTUK PAKAN TERNAK PADA BERBAGAI JENIS KEMASAN

VIABILITY ASSAY OF AMYLOLYTIC BACTERIA FROM PROBIOTICS INOCULUM FOR ANIMAL FEED IN VARIOUS TYPES OF PACKAGING

Shofia Rodiah^{1*} dan Sumardi²

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung^{1*}
<http://FMIPA.Unila.ac.id-Telp.0721-704625-Fax.0721-704625>

E-mail: shofiarodiah@rocketmail.com

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung²

ABSTRACT

This study aimed to know the durability of viable amylolytic bacteria from probiotic inoculums towards various types of packaging and to find out the most appropriate packaging that used as storage of probiotic inoculums. This study used the Randomization of Design which called Full of Randomization Design (RAL) and the design of factorial treatment is 2 x 4 x 4. The A factor is the storage at the room temperature and the temperature is 37 °C. B factor are 4 types of packaging, that is aluminum foil, brown paper, heat resistant plastic, and zipack bag plastic. The long-term storage C factor is 0, 1, 2, and 3 months. Each treatment was done by as much as 3 repeats times. Study results of the four types of packaging showed that there are colony of amylolytic bacteria. The fourth of packaging can be used as a probiotic inoculums storage because it is able to maintain the durability of the viable in amylolytic bacteria (10^4 - 10^6 sel/g). It is result by analysis of Varian (ANOVA) in 5% significant level did not show any noticeable difference.

Keywords: durability, viability, probiotic inoculums, amylolytic bacteria, packaging.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas bakteri amilolitik dari inokulum probiotik terhadap berbagai jenis kemasan dan mengetahui kemasan yang paling tepat digunakan sebagai penyimpanan dari inokulum probiotik. Penelitian ini menggunakan rancangan pengacakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan rancangan perlakuan faktorial 2 x 4 x 4. Faktor A adalah penyimpanan pada suhu ruang dan suhu 37 °C. Faktor B adalah 4 jenis kemasan yaitu aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, dan plastik zipack. Dan faktor C adalah lama penyimpanan yaitu 0, 1, 2, dan 3 bulan. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Hasil penelitian pada keempat jenis kemasan menunjukkan adanya bakteri amilolitik. Keempat kemasan tersebut dapat digunakan sebagai penyimpanan inokulum probiotik karena mampu menjaga daya tahan viabilitas bakteri amilolitik (10^4 - 10^6 sel/g). Hasil analisis ragam dengan taraf signifikansi 5% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

Kata kunci : daya tahan, viabilitas, inokulum probiotik, bakteri amilolitik, kemasan.

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan mikroba hidup yang diberikan langsung pada ternak dengan tujuan meningkatkan keseimbangan mikroba dalam pencernaan dan mengurangi mikroba yang bersifat patogen. Mekanisme probiotik ini dalam usus adalah dengan mempertahankan keseimbangan, mengeliminasi mikroba yang tidak diharapkan atau bakteri patogen dari induk semang, memproduksi asam laktat, memproduksi metabolit penghambat, dan kolonisasi pada saluran pencernaan.

Salah satu sumber probiotik yang dapat digunakan sebagai campuran untuk pakan ternak adalah inokulum. Inokulum mengandung bahan pengikat mikroba dan mengandung mikroorganisme yang melakukan fermentasi. Mikroorganisme yang digunakan di dalam inokulum umumnya terdiri atas berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang). Bakteri amilolitik merupakan salah satu mikroorganisme yang berasal dari inokulum probiotik yang memiliki peran penting pada saluran pencernaan ternak. Bakteri amilolitik memiliki kemampuan dalam memecah pati menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat membantu proses pencernaan pada ternak dan dapat menghasilkan enzim amilase, amilase merupakan kelompok enzim yang digunakan dalam memecah pati dan berperan penting dalam industri pangan, terutama banyak digunakan dalam proses hidrolisis pati menjadi [1].

Untuk mempertahankan viabilitas bakteri amilolitik dari inokulum probiotik agar tetap terjaga, maka perlu dilakukan penyimpanan dengan kemasan yang tepat. Pengemasan dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan pada bahan pangan dan menambah lama umur simpan.

Tujuan dalam penelitian ini adalah mengetahui daya tahan viabilitas bakteri amilolitik dari inokulum probiotik terhadap berbagai jenis kemasan dan mengetahui kemasan yang paling tepat digunakan sebagai penyimpanan dari inokulum probiotik

METODE PENELITIAN

Metode

Penelitian ini disusun dengan menggunakan Metode Rancangan Pengacakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dan Rancangan Perlakuan Faktorial $2 \times 4 \times 4$, yaitu suhu (suhu ruang dan 37°C), jenis kemasan (aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, plastik zipack) dan lama penyimpanan (0, 1, 2, 3 bulan) dengan tiga kali pengulangan. Data berupa jumlah bakteri amilolitik dengan koloni yang membentuk zona jernih. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan Analisis Ragam. Perlakuan yang terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf 5%.

Uji Daya Tahan Viabilitas Bakteri Amilolitik

Pengujian daya tahan viabilitas bakteri amilolitik dilakukan dengan menyimpan inokulum probiotik sebanyak 5 g menggunakan jenis kemasan yang berbeda yaitu aluminium foil, kertas kopi, plastik tahan panas, dan plastik zipack. Setiap kemasan dibuat 3 kali pengulangan. Keempat jenis kemasan tersebut masing-masing disimpan pada suhu 27°C dan suhu 37°C selama 3 bulan. Perlakuan ketiga, setiap bulan inokulum probiotik yang disimpan dihitung pertumbuhan bakteri amilolitiknya.

Penentuan Jumlah Bakteri Amilolitik

Penentuan jumlah bakteri amilolitik dilakukan dengan menggunakan metode *Standart Plate Counts* (SPC) yang dilakukan oleh Fardiaz (1992)^[4] yaitu dengan cara hitungan cawan. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni. Untuk menghitung jumlah bakteri amilolitik, dilihat dari koloni bakteri yang menghasilkan zona jernih disekitar koloni. Sebanyak 1 ml suspensi dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan media spesifik amilosa dan dibiarkan hingga padat. Setelah media padat, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi berakhir, kultur bakteri ditetesi dengan larutan *iodin* 0,1 %. Koloni-koloni yang membentuk zona jernih menunjukkan adanya aktivitas bakteri amilolitik. Untuk menghitung jumlah koloni yang membentuk zona jernih digunakan *colony counter*. Jumlah bakteri yang didapat hasilnya dirata-rata sehingga diperoleh data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji daya tahan viabilitas bakteri amilolitik dari inokulum probiotik pada berbagai jenis kemasan dan lama penyimpanan di suhu ruang diperoleh kisaran rata-rata 6,18-6,59 log CFU/g. Hasil rata-rata viabilitas bakteri amilolitik tertinggi terdapat pada kemasan plastik zipack yaitu 6,59 log CFU/g (Tabel 1).

Tabel 1. Transformasi log (Y) jumlah sel hidup/g bakteri amilolitik di suhu ruang

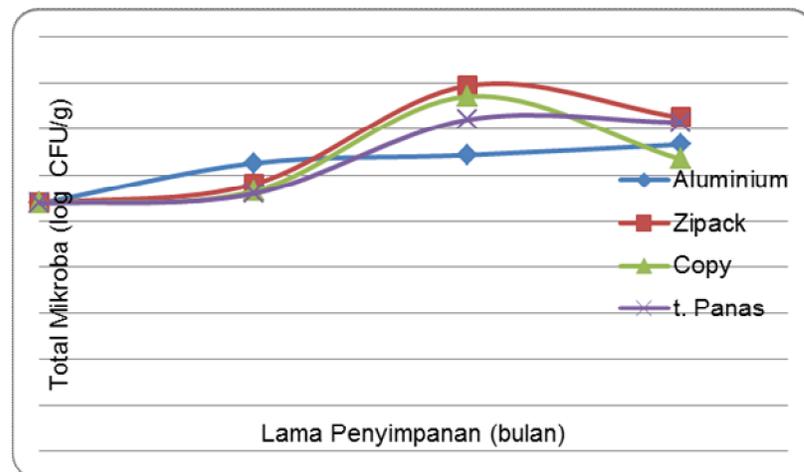
No	Kemasan	Transformasi log (Y) jumlah sel hidup/g bulan ke-				Total mikroba (log CFU/g)	Rata-rata (log CFU/g)
		0	1	2	3		
		1	Aluminium Foil	5,38	6,26		
2	Plastik Zipack	5,38	5,80	7,94	7,26	26,37	6,59
3	Kertas kopi	5,38	5,64	7,71	6,34	25,07	6,27
4	Plastik Tahan Panas	5,38	5,59	7,20	7,15	25,32	6,33

Pada suhu 37 °C, rata-rata viabilitas bakteri amilolitik tertinggi terdapat pada kemasan plastik tahan panas yaitu 6,43 log CFU/g. Rata-rata viabilitas bakteri amilolitik pada keempat jenis kemasan berada pada kisaran 5,81-6,43 log CFU/g (Tabel 2).

Sebagai media penyimpanan dari inokulum probiotik, kemasan aluminium foil, plastik zipack, kertas kopi, dan plastik tahan panas mampu menjaga daya tahan bakteri amilolitik selama 3 bulan pada suhu ruang dan suhu 37 °C. Walaupun terjadi peningkatan dan penurunan jumlah sel bakteri amilolitik, namun tidak mempengaruhi viabilitas dari bakteri amilolitik (Gambar 1 dan 2).

Tabel 2. Transformasi log (Y) jumlah sel hidup/g bakteri amilolitik di suhu 37 °C

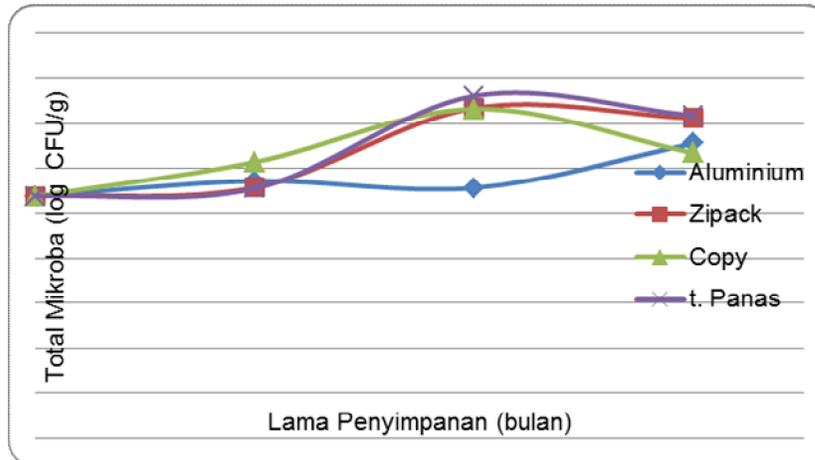
No	Kemasan	Transformasi log (Y) jumlah sel hidup/g bulan ke-				Total mikroba (log CFU/g)	Rata-rata (log CFU/g)
		0	1	2	3		
1	Aluminium Foil	5,38	5,72	5,57	6,56	23,23	5,81
2	Plastik Zipack	5,38	5,58	7,34	7,11	25,42	6,35
3	Kertas kopi	5,38	6,15	7,32	6,34	25,19	6,30
4	Plastik Tahan Panas	5,38	5,56	7,61	7,18	25,73	6,43



Gambar 1. Total bakteri amilolitik (log CFU/g) di suhu ruang pada berbagai jenis kemasan dan lama penyimpanan

Data yang telah dianalisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata yaitu $F_{hitung} < F_{tabel}$. Hal ini membuktikan bahwa penyimpanan bakteri amilolitik dari inokulum probiotik pada kemasan aluminium foil, plastik zipack, kertas kopi, dan plastik tahan panas dapat menjaga viabilitas bakteri amilolitik selama 3 bulan (Tabel 3).

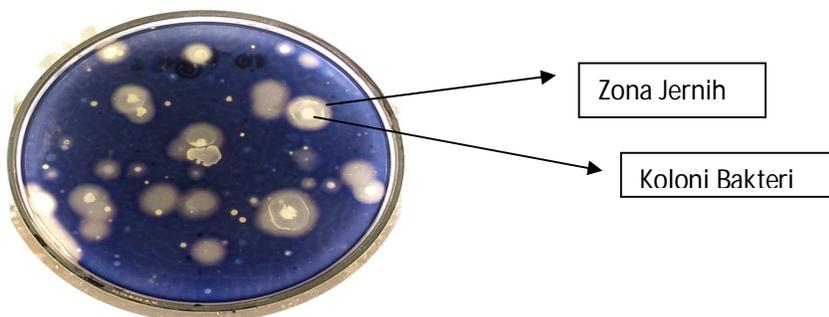
Adanya aktivitas bakteri amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar koloni, setelah ditetesi dengan indikator larutan yang digunakan pada uji amilolitik yaitu larutan iodine. Pati yang tidak terhidrolisis setelah ditetesi iodine akan membentuk warna biru. Hal ini disebabkan karena struktur molekul pati yang berbentuk spiral, sehingga akan mengikat molekul iodine dan terbentuklah warna biru (Gambar 3).



Gambar 2. Total bakteri amilolitik (log CFU/g) di suhu 37 °C pada berbagai jenis kemasan dan lama penyimpanan

Tabel 3. Analisa ragam bakteri amilolitik dari inokulum probiotik pada berbagai jenis kemasan

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	1,93	0,27	0,01	2,66	4,03
Galat	16	243,46	15,21			
Total	23	245,39				



Gambar 3. Koloni bakteri yang membentuk zona jernih oleh aktivitas bakteri amilolitik

Dari inokulum probiotik pada kemasan plastik tahan panas menggunakan media *nutrient agar* yang disuplementasi dengan 1% amilum pada suhu ruang penyimpanan bulan kedua.

Koloni yang menghasilkan warna jernih disekeliling koloni setelah ditetesi iodin menunjukkan bahwa koloni tersebut menghasilkan amilase. Amilase akan memecah amilum yang merupakan polisakarida menjadi maltosa (alfa dan beta) ataupun glukosa (gluko amilase).

Kemasan bahan pangan sangat mempengaruhi sterilitas atau keawetan dari bahan pangan yang sudah disterilisasi, diiradiasi atau dipanaskan. Permeabilitas kemasan terhadap gas akan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, terutama terhadap mikroorganisme yang anaerob patogen. Untuk melindungi bahan pangan yang dikemas terhadap kontaminasi mikroorganisme, maka perlu dipilih jenis kemasan yang dapat melindungi bahan dari serangan mikroorganisme. Aluminium foil digunakan sebagai pembungkus kemasan pangan karena memiliki ketahanan yang tinggi terhadap gas dan uap air serta memiliki ketahanan terhadap sinar ultraviolet [6]. Penggunaan kertas sebagai kemasan karena kertas mudah terdegradasi di alam sehingga tidak menimbulkan dampak pencemaran. Kertas kopi merupakan kertas yang dibuat dengan bahan baku alami dari pulp kayu yang tidak menggunakan pemutih kertas sehingga aman untuk dijadikan sebagai kemasan. Penggunaan plastik sebagai pengemas adalah untuk melindungi produk terhadap cahaya, udara atau oksigen, perpindahan panas, kontaminasi dan kontak dengan bahan-bahan kimia [2].

Keempat kemasan yang digunakan sebagai penyimpanan inokulum probiotik memiliki aktivitas amilolitik positif. Hal ini disebabkan karena sebagian bahan dasar dari pembuatan inokulum probiotik mengandung pati, yaitu terdapat pada tepung beras yang memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Bakteri amilolitik yang terdapat pada inokulum probiotik memiliki kemampuan dalam memecah pati menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa [4].

Kemampuan yang dimiliki oleh bakteri amilolitik ini dapat digunakan untuk membantu proses pencernaan pada ternak dan enzim amilase yang dihasilkan dari bakteri amilolitik, memiliki peranan penting dalam industri pangan, salah satunya adalah pakan ternak. Enzim Amilase adalah suatu komponen yang sangat penting saat proses pencernaan makanan. Tanpa adanya enzim ini karbohidrat yang dikonsumsi tidak dapat berubah menjadi gula yang menghasilkan ATP yang sangat penting dalam metabolisme makhluk hidup. Bakteri amilolitik juga memiliki potensi untuk melakukan kolonisasi bakteri di usus pada saluran pencernaan ternak. Winarni [7] mengatakan bahwa kolonisasi pada sistem pencernaan dengan prinsip *competitive* akan dapat mengeluarkan mikroba patogen dari dalam tubuh ternak. Selain bakteri amilolitik, bakteri probiotik dari genus *Bacillus* juga dapat menghasilkan enzim amilase yaitu *Bacillus subtilis* [3], *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus stearothermophilus*[5].

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh kesimpulan yaitu kemasan aluminium foil, plastik zipack, kertas kopi, dan plastik tahan panas dapat digunakan sebagai kemasan inokulum probiotik karena mampu menjaga viabilitas bakteri amilolitik

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahmad, I., 2006. *Effect of Probiotic on broilers performance*. International Journal of Poultry Science 5 (6): 593-597.
- [2] Coles, R., D. M. Dowell, M. J. Kirwan. 2003. *Food Packaging Technology*. CRC Press. London
- [3] Dheeran, P., Kumar, S., Jaiswal JY., Adhikari, DK. 2009. *Characterization of hyperthermostable α -amylase from Geobacillus sp.* IIPITN. Appl Microbiol Biotechnol
- [4] Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- [5] Lestari, P, N. Richana, D.S. Damardjati, A.A. Darwis, K. Syamsu. 2001. Analisis gula reduksi hasil hidrolisis enzimatis pati ubi kayu oleh α -amilase termotabil dari *Bacillus stearothermophilus* TII12. *Jurnal Mikrobiologi* 6(1): 23-26.
- [6] Sugiyarto, Kristian H. 2001. *Kimia Anorganik II*. Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY. Yogyakarta
- [7] Winarni, Sri. 2011. *Kompetisi Pertumbuhan Bakteri Bacillus sp. Terhadap*
- [8] *Escherichia coli*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung.

**PENGGUNAAN SISTEM INFORMASI GEOGRAFIS (SIG) UNTUK KAJIAN
TUTUPAN LAHAN HABITAT ALAMI GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus
sumatranus*) DI TAMAN NASIONAL BUKIT BARISAN SELATAN**

**THE USE OF GEOGRAPHIC INFORMATION SYSTEM (GIS) FOR THE STUDY OF
COVERAGE AREA FOR SUMATRAN ELEPHANT (*Elephas maximus sumatranus*)
NATURAL HABITAT IN BUKIT BARISAN SELATAN NATIONAL PARK**

Suci Natalia^{1*}, Jani Master¹, Yob Charles², Elly L. Rustiati¹, Agus Prayitno²

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Lampung, Bandarlampung^{1*}
email korespondensi: sucinlatief@gmail.com, Jl. Prof. DR. Soemantri Brojonegoro 1,
Bandarlampung 35145
World Wide Fund for Nature-Indonesia (WWF-Indonesia), Bandarlampung²

ABSTRACT

Sumatran elephant is one of endangered mammals that needs wide area for its daily activity. Forest clearings cause the degradation of its habitat. In collaboration with WWF-Indonesia and Bukit Barisan Selatan National Park, Geographic Information System (GIS) was applied to learn its natural habitat coverage area in Resort Pemerihan BBSNP, on December 2013-February 2014. The habitats include bushes, primary forest, secondary forest, open area and also agricultur area. The primary forest is the largest land coverage in Resort Pemerihan, 12,862 ha (80.16%). Of 2.95% its natural habitat becomes open and agricultur area.

Key words: Sumatran elephant, Elephas maximus sumatranus, habitat, Geographic Information System (GIS), Bukit Barisan Selatan National Park

ABSTRAK

Gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan mamalia besar dan statusnya saat ini terancam punah. Gajah membutuhkan area yang luas untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Pembukaan hutan akan menyebabkan penurunan kualitas dari habitat alami gajah. Bekerja sama dan di bawah program WWF-Indonesia dan Balai Besar TNBBS, Sistem Informasi Geografis (SIG) telah digunakan pada bulan Desember 2013-February 2014 untuk mempelajari tutupan lahan habitat alami gajah di Resort Pemerihan, TNBBS. Habitat gajah sumatera mencakup semak belukar, hutan primer, hutan sekunder, lahan terbuka, dan dapat ditemukan di lahan agrikultur. Hutan primer merupakan tutupan lahan terluas di Resort Pemerihan, yakni 12.862 ha (80,16%). Sebesar 2,95 % habitat alami gajah sumatera di Resort Pemerihan telah menjadi lahan terbuka dan lahan agrikultur.

Kata kunci: Gajah sumatera, *Elephas maximus sumatranus*, habitat, Sistem Informasi Geografis (SIG), Taman Nasional Bukit Barisan Selatan

PENDAHULUAN

Gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan satwa terancam punah [1] yang dapat di temukan di salah satu habitat alaminya, Taman Nasional Bukit Barisan Selatan. Penebangan liar, konversi hutan menjadi lahan perkebunan, lahan pertanian, dan permukiman menjadi ancaman bagi kelangsungan hidup gajah di habitatnya. Sebagai mamalia besar, gajah sumatera membutuhkan wilayah yang luas untuk daerah jelajahnya. Laju deforestasi hutan yang semakin cepat menurunkan kualitas habitat alami dari gajah sumatera.

Sebelum tahun 1972 tutupan hutan seluas 46.100 ha (13%) dari luas hutan di TNBBS telah hilang. Rata-rata laju deforestasi TNBBS sejak 1972-2006 yakni 0,64% per tahun. Dari 310.670 ha hutan pada tahun 1972, hanya tersisa 67.225 ha pada tahun 2006. Laju deforestasi tertinggi terjadi pada hutan pebukitan (9,01 km²/tahun), hutan dataran rendah (7,55 km²/tahun), dan hutan pegunungan (3,43 km²/tahun) [2].

Salah satu kawasan taman nasional yang menjadi habitat bagi beberapa populasi gajah di TNBBS yakni Resort Pemerihan. Resort Pemerihan merupakan kawasan taman nasional yang terletak di bagian selatan TNBBS. Kawasan ini mampu mewakili tipe habitat dataran rendah di TNBBS. Bagian barat dan selatan dari TNBBS, memiliki kemiringan yang relatif datar (3-5%) [3]. Resort ini memiliki topografi yang sesuai bagi habitat gajah sumatera. Adanya alih fungsi lahan yang terjadi dapat menyebabkan berkurangnya habitat alami gajah dan memicu gajah keluar dari dalam kawasan. Habitat dengan kualitas yang baik akan dapat menghasilkan kualitas kehidupan satwa liar yang baik [4].

Terdapat beberapa metode untuk mengetahui kondisi dari habitat alami satwa liar, yakni dengan melakukan analisa habitat berdasarkan kondisi ekologi (analisa vegetasi) dan analisa menggunakan Sistem Informasi Geografis (SIG). SIG merupakan teknologi yang dapat digunakan dalam kegiatan pengumpulan, penataan, pengolahan, hingga proses analisa data spasial dan dapat memperoleh informasi mengenai kondisi suatu permukaan bumi [5]. Dengan sistem yang dimilikinya, SIG dapat memberikan informasi mengenai keadaan penutupan lahan pada suatu kawasan, sehingga dapat membantu dalam pengelolaan habitat dari gajah sumatera. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari penggunaan SIG dalam kajian tutupan lahan habitat alami gajah sumatera.

BAHAN DAN METODE

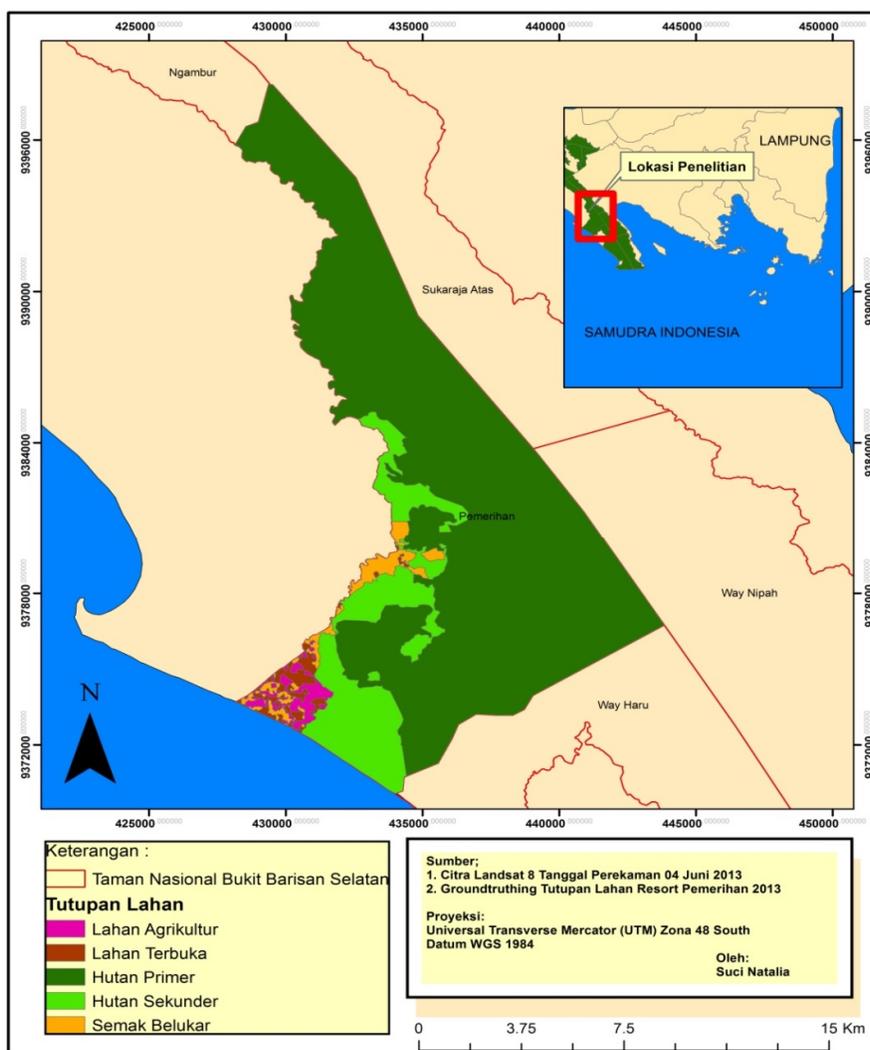
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013-Februari 2014 di Resort Pemerihan TNBBS, berkerja sama dan di bawah program World Wide Fund for Nature Indonesia (WWF-Indonesia) Bukit Barisan Selatan Project dan Balai Besar TNBBS. Sebagai objek dalam penelitian ini adalah habitat gajah sumatera wilayah Resort Pemerihan. Sedangkan alat yang digunakan adalah perangkat lunak ERDAS Imagine 9.1, perangkat lunak arcGIS 10, *Global Positioning System* (GPS) Garmin 78S, dan kamera digital Cannon IXUS 132.

Metode penelitian yang digunakan meliputi pemetaan dan pendekatan deskriptif yang secara garis besar bentuk analisisnya adalah menggunakan teknologi Sistem Informasi Geografis (SIG). Untuk menentukan lokasi dan batasan penelitian dilakukan survei pendahuluan mencakup studi literatur dan survei langsung. Dalam survei

langsung dilakukan pengamatan kondisi lapangan dan *groundtruthing* secara umum pada lokasi yang menjadi daerah jelajah gajah sumatera. *Groundtruthing* merupakan proses pencocokan akan hasil klasifikasi citra yang telah diinterpretasi dengan keadaan tutupan lahan di lapangan [6]. Peta citra landsat 8 yang digunakan adalah peta pada tanggal 04 Juni 2013 yang terbebas dari awan. Peta tersebut selanjutnya diolah dengan menggunakan perangkat lunak ERDAS Imagine 9.1. Pembuatan peta tutupan lahan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak arcGIS 10.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis citra landsat tanggal perekaman 04 Juni 2013 kolom ke 124 dan baris ke 064, diperoleh peta tutupan lahan Resort Pemerihan TNBBS 2013. Adapun hasil klasifikasi tutupan lahan yang menjadi habitat alami gajah sumatera dibagi menjadi semak belukar, hutan primer, hutan sekunder, lahan terbuka, dan dapat ditemukan di lahan agrikultur (Gambar 1).



Gambar 1. Tutupan Lahan Resort Pemerihan TNBBS 2013

Analisa SIG menunjukkan bahwa 80,16 % habitat gajah sumatera masih merupakan hutan primer. Dan 2,95 % habitat gajah sumatera telah menjadi lahan terbuka dan lahan agrikultur (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase Luas Tutupan Lahan Habitat Gajah Sumatera di Resort Pemerihan TNBBS

Tutupan Lahan	Luas (ha)	%
Semak Belukar	392,034	2,44
Hutan Primer	12.862,35	80,16
Hutan Sekunder	2.318,01	14,45
Lahan Terbuka	233,759	1,46
Lahan Agrikultur	240,25	1,49
Jumlah	16.046,41	100

Luas tutupan lahan hutan primer pada Resort Pemerihan sebesar 12.862 ha. Tutupan lahan ini, merupakan kawasan habitat alami dari gajah sumatera yang paling luas. Kawasan lain yang menjadi habitat alami dari gajah sumatera yakni hutan sekunder (2.318 ha), semak belukar (392 ha), lahan terbuka (234 ha), dan agrikultur (240 ha).

Sistem Informasi Geografis (SIG) mampu memberikan informasi mengenai kondisi tutupan lahan yang menjadi salah satu habitat alami dari gajah sumatera yakni Resort Pemerihan TNBBS. Dengan SIG, dapat dilakukan analisa dengan informasi geografis lainnya.

Saat ini tutupan lahan agrikultur menjadi salah satu kawasan yang sering dikunjungi gajah. Pada musim panen, maka gajah liar akan lebih sering memasuki lahan agrikultur milik masyarakat. Gajah datang ke lahan pertanian masyarakat pada bulan November, Desember, dan Januari bersamaan dengan musim panen padi [7]. Di Resort Pemerihan terdapat lahan perkebunan dan lahan pertanian. Sebagian besar lahan agrikultur di resort ini terdapat pada Desa Sumber Sari. Tanaman perkebunan yang ditanam yakni kopi, lada, coklat, dan karet. Sementara tanaman pertanian yang terdapat di Desa Sumber Sari adalah jagung dan padi.

Adanya tanaman pakan gajah pada lahan agrikultur menyebabkan gajah sumatera sering kali menjelajah pada kawasan tersebut. Tanaman jagung, padi, dan coklat adalah beberapa tanaman masyarakat yang disenangi gajah. Jenis padi dan palawija adalah tanaman yang sering dimakan oleh gajah [7]. Keberadaan gajah sumatera di lahan agrikultur berhubungan dengan daerah jelajahnya. Meskipun daerah jelajah gajah telah berubah menjadi lahan agrikultur dan lahan terbuka, gajah akan tetap bergerak ke kawasan yang telah menjadi jalur jelajahnya. Daerah jelajah merupakan rute tetap pergerakan gajah dari pergerakan gajah yang konstan dan akan terus berjalan secara periodik [8].

Permukiman, lahan pertanian dan perkebunan dapat menyebabkan fragmentasi habitat. Fragmentasi habitat mengakibatkan daerah jelajah gajah menjadi sempit dan gajah akan cenderung keluar dari habitat alaminya [9]. Hilangnya tutupan hutan di TNBBS disebabkan berbagai faktor termasuk penebangan liar, konversi hutan menjadi lahan pertanian, perkebunan, dan permukiman, serta kebakaran hutan [10].

Sementara di daerah Resort Pemerihan, penyebab deforestasi adalah adanya penebangan ilegal [11]. Hal ini memicu terjadinya konflik antara gajah dan manusia. Pada bulan Juli 2006 sebanyak dua dari enam ekor gajah pada kelompok gajah Sekincau, ditemukan mati yang diduga diracun di Ulu Semong [12].

Sebagai mamalia besar, gajah sumatera membutuhkan wilayah yang luas untuk daerah jelajahnya. Tutupan hutan yang terus menurun karena meningkatnya aktivitas manusia, menyebabkan gajah keluar dari kawasan untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Habitat gajah sumatera merupakan satu kesatuan ekosistem yang luas. Berkurangnya luas habitat juga mampu memicu terjadinya konflik. Konversi hutan menjadi areal perkebunan dan transmigrasi juga menjadi awal tekanan-tekanan terhadap habitat gajah [4].

KESIMPULAN

1. Sistem Informasi Geografis (SIG) dapat digunakan untuk mengetahui kondisi tutupan lahan yang menjadi habitat alami gajah sumatera di Resort Pemerihan TNBBS.
2. Tutupan lahan yang menjadi habitat alami dari gajah sumatera di Resort Pemerihan adalah semak belukar, hutan primer, hutan sekunder, lahan terbuka, dan dapat ditemukan di lahan agrikultur.
3. Hutan primer merupakan tutupan lahan terluas, yakni seluas 12.862 ha (80,16%).
4. Sebesar 2,95 % habitat alami gajah sumatera di Resort Pemerihan telah menjadi lahan terbuka dan lahan agrikultur.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). 2013. IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org>. Diakses Tanggal 26 Maret 2013. Pukul 12.36 WIB
- [2] Suyadi. 2011. Deforestation in Bukit Barisan Selatan National Park, Sumatra, Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia* 7 (2): 195-206
- [3] Taman Nasional Bukit Barisan Selatan. 2011. *Penataan Zonasi*. <http://www.tnbbs.or.id/>. Diakses pada tanggal 10 November 2013 pukul:10.16 WIB
- [4] Alikodra H. 2002. *Pengelolaan Satwa Liar (Jilid 1)*. Bogor. Institut Pertanian Bogor
- [5] Lubis MI. 2008. Pemodelan Spasial Habitat Katak Pohon Jawa (*Rhacophorus javanus* Boettger, 1893) Dengan Menggunakan Sistem Informasi Geografis dan Penginderaan Jarak Jauh Di Taman Nasional Gunung Gede Pangrango Jawa Barat. *Skripsi*. Bogor. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor
- [6] Sukojo BM, Susilowati D. 2003. *Informasi Geografis Untuk Analisa Perubahan Penggunaan Lahan (Studi Kasus Wilayah Kali Surabaya)*. Surabaya. Fakultas Teknik Sipil Institut Sepuluh November.
- [7] Purastuti EM. 2010. Kajian Konflik Manusia-Gajah (Analisis Keruangan Wilayah Jelajah Gajah Sekincau, Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Lampung). *Tesis*. Jakarta. Universitas Indonesia

- [8] Febriani R. 2009. Pemetaan Daerah Rawan Konflik Gajah Menggunakan Sistem Informasi Geografis Di Taman Nasional Gunung Leuser. *Skripsi*. Medan. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara
- [9] Sinaga WH. 2000. *Pelestarian Gajah Sumatera, Antara Harapan Dengan Kenyataan*. Laporan Utama Alam Semesta dan Pembangunan. III (10):16-20.
- [10] Holmes DA. 2002. The predicted extinction of lowland forests in Indonesia. Pages 7-13 In E. Wickramanayake, Dinerstein C, Loucks CJ, Olson DM, Morrison J, Lamoreux J, McKnight M, Hedao P, editors. *Terrestrial ecoregions of the Indo-Pacific: a conservation assessment*. Washington, D.C. Island Press.
- [11] Suyadi, Gaveau DLA. 2007. Akar Penyebab Deforestasi di Sekitar Sungai Pemerihan, Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Lampung Barat. *Jurnal Berita Biologi* 8(4): 279-290
- [12] World Wide Fund for Nature. 2012. *Performance Elephant Patrol Bukit Barisan Selatan, Camp Pemerihan Setelah 30 Bulan Beroperasi*. Lampung. WWF-Indonesia.

PENINGKATAN KUALITAS BIJI KAKAO MELALUI PROSES FERMENTASI OLEH MIKROBA LOKAL ASAL SULAWESI TENGGARA

IMPROVEMENT OF COCOA BEAN QUALITY THROUGH FERMENTATION PROCESS BY LOCAL MICROBIAL FROM SOUTHEAST SULAWESI

Nur Arfa Yanti¹, Jamili¹ dan Prima Endang Susilowati²

¹ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo, Kendari 93232
arfayanti73@yahoo.com, Laboratorium Mikrobiologi, Biologi FMIPA UHO
² Jurusan Kimia FMIPA Universitas Halu Oleo, Kendari 93232

ABSTRACT

The purpose of this study were to determine cocoa bean quality after fermentation process and shorten the fermentation time cocoa bean using local microbial inoculum. The mixed microbial inoculum used consisted of yeast (*Saccharomyces* sp. KLK4), lactic acid bacteria (*Lactobacillus* sp. KSL2) and acetic acid bacteria (*Acetobacter* sp. KLK1) which were isolated from cocoa bean fermented at the cocoa farm in Kolaka Regency, Southeast Sulawesi. The fermentation was conducted in the fermentation box of 2 kg wet cocoa bean for 5 days and sampling was done at every 24 hours and it was done at laboratory scale. The fermentation conditions were designed as spontaneous fermentation (without any inoculums addition) and fermentation added with mixed microbial inoculums. The quality parameters measured were physical characteristics of cocoa bean based on the Indonesian cocoa bean standard, consisted of moisture content, unfermented beans content, moldy beans, germinated beans and number of dried beans per 100 g. The result showed that addition of the local mixed microbial inoculums could increase the cocoa bean quality than spontaneous fermentation. Cocoa bean fermented with local mixed microbial inoculums might also shorten the fermentation time of the beans from 5 days to 3 days and the cocoa beans quality is the same as the Indonesian cocoa bean standard. Therefore, the fermentation process of cocoa bean by local microbial inoculums can improve cocoa bean quality and shortened the fermentation time.

Keywords : *Cocoa bean, fermentation, local microbial*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas biji kakao setelah proses fermentasi dan mempersingkat waktu fermentasi biji kakao menggunakan inokulum mikroba lokal. Inokulum mikroba lokal yang digunakan adalah khamir (*Candida* sp. KLK4), bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp. KSL2) dan bakteri asam asetat (*Acetobacter* sp. KLK1) yang diisolasi dari biji kakao yang difermentasi di kebun rakyat di Kabupaten Kolaka, Sultra. Fermentasi biji kakao dilakukan pada skala laboratorium dengan menggunakan 2 kg biji kakao basah di dalam kotak fermentasi selama 5 hari dan pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam. Kondisi fermentasi ada 2 perlakuan, yaitu fermentasi spontan (tanpa penambahan inokulum) dan fermentasi dengan penambahan inokulum mikroba lokal. Parameter kualitas biji kakao merupakan kualitas secara fisik berdasarkan standar Nasional Indonesia (SNI) yang meliputi kadar air, kadar biji tidak terfermentasi, kadar biji berjamur, kadar biji berkecambah dan jumlah biji per 100 g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan inokulum mikroba campuran lokal dapat meningkatkan kualitas biji kakao dibandingkan fermentasi spontan (tanpa penambahan inokulum). Berdasarkan penelitian ini juga diperoleh informasi bahwa penambahan inokulum lokal dapat mempersingkat waktu fermentasi dari 5 hari menjadi 3 hari dengan kualitas biji kakao

yang sesuai dengan SNI. Dengan demikian, proses fermentasi biji kakao dengan penambahan inokulum lokal dapat meningkatkan kualitas biji kakao dengan waktu fermentasi yang lebih singkat.

Kata Kunci : Biji kakao, Fermentasi, mikroba lokal

PENDAHULUAN

Produksi biji kakao Indonesia secara signifikan terus meningkat. Di Sulawesi Tenggara tahun 2011 produksi biji kakao mencapai 131.73 ton dengan luas areal perkebunan rakyat sebesar 208.009 ha, yang tersebar pada beberapa kabupaten, terutama Kabupaten Kolaka Utara, Kolaka, Konawe, dan Konawe Selatan. Namun demikian peningkatan produksi biji kakao, masih mengalami beberapa masalah antara lain rendahnya kualitas biji kakao yang dihasilkan oleh sebagian besar petani [11].

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kualitas biji kakao adalah fermentasi. Proses fermentasi merupakan tahapan pengolahan biji kakao yang penting dan mutlak dibutuhkan untuk menghasilkan citarasa maupun aroma coklat yang baik [6]. Fermentasi juga sangat berperan dalam pengurangan rasa sepat dan pahit serta memperbaiki kenampakan biji kakao. Selain itu, fermentasi dapat menghambat proses perkecambahan, kulit biji menjadi longgar dan pulp biji hancur sehingga akan mempermudah proses pengeringan [2]. Proses fermentasi yang salah menyebabkan kerusakan cita rasa yang tidak dapat diperbaiki melalui modifikasi pengolahan selanjutnya. [12].

Proses fermentasi biji kakao dilakukan oleh aktivitas mikroba. Pulp pada biji kakao merupakan media yang cocok untuk tumbuhnya mikroba. Selama fermentasi aktivitas mikroba dalam pulp akan memproduksi alkohol, asam, dan membebaskan panas (reaksi eksothermal). Adanya reaksi eksothermal ini menyebabkan difusi zat-zat metabolit tersebut ke dalam biji, akibatnya biji mati dan selanjutnya terjadi reaksi enzimatik pembentukan flavor, aroma dan warna [7]. Oleh karena itu, fermentasi sangat menentukan mutu produk akhir biji kakao.

Petani kakao di Sulawesi Tenggara sebagian besar tidak melakukan proses fermentasi pada biji kakaonya sehingga mengakibatkan kualitas biji kakao yang diproduksi masih sangat rendah. Salah satu alasan petani kakao tidak melakukan proses fermentasi karena membutuhkan waktu yang lama. Proses fermentasi yang berlangsung secara alami membutuhkan waktu 5-6 hari. Oleh karena itu, diperlukan suatu upaya yang dapat mempersingkat waktu fermentasi dengan kualitas biji kakao yang memenuhi standar mutu. Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini difokuskan pada upaya peningkatan kualitas biji kakao melalui proses fermentasi dengan waktu yang singkat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan mikroba campuran lokal asal Sulawesi Tenggara dalam meningkatkan kualitas biji kakao serta mengetahui waktu fermentasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan kualitas biji kakao sesuai standar mutu Indonesia. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan oleh petani kakao untuk meningkatkan mutu kakaonya sehingga dapat meningkatkan pendapatan mereka.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan kakao varietas *Lindak* yang berasal dari kebun kakao rakyat di desa Ladongi, Kabupaten Kolaka Timur, Sulawesi Tenggara. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo. Biakan murni yang digunakan adalah khamir (*Candida* sp. KLK4), bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp. KSL2) dan bakteri asam asetat (*Acetobacter* sp. KLK1) yang diisolasi dari biji kakao yang difermentasi secara alami di Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara. Inokulum campuran ditumbuhkan pada media TYGKCC [8] yang terdiri atas tryptone (0.5%), ekstrak khamir (0.5%), d-glucose (0.1%), K₂HPO₄ (0.1%), CaCO₃ (0.1%), dan pulp biji kakao (1.0%).

Perlakuan yang dilakukan yaitu variasi fermentasi yang terdiri atas: (1) fermentasi alami atau tanpa penambahan mikroba dan (2) fermentasi terkontrol dengan penambahan inokulum mikroba lokal campuran secara bersamaan yang ditambahkan pada awal fermentasi. Penambahan mikroba masing-masing sebanyak 10⁸ CFU/g biji kakao. Fermentasi dilakukan dalam kotak fermentasi berkapasitas 3 kg dengan menggunakan biji kakao segar 2 kg, pada suhu ruang (33-35°C), selama 5 hari. Sampling dilakukan setiap 24 jam. Proses fermentasi dilanjutkan dengan tahap pengeringan biji (penjemuran di bawah sinar matahari) selama 2 hari.

Variabel yang diamati meliputi mutu fisik biji kakao sesuai dengan standar Nasional Indonesia (SNI, 2323:2008) seperti kadar air, jumlah biji per 100 g biji kering, kadar biji berjamur, kadar biji berkecambah. Selain itu juga dilakukan analisis kimia berupa kadar air dengan metode gravimetri [3] dan Uji Belah (Cut Test) selama fermentasi. Uji belah dilakukan untuk mengetahui kadar biji tak terfermentasi dan terfermentasi. Uji Belah (Cut Test) mengikuti prosedur yang ditentukan oleh *the International Organization for Standard (ISO)*, [7;9] dengan metode sebagai berikut: sebanyak 100 sampel biji kakao dibelah memanjang dengan pisau tajam untuk menampakkan seluruh permukaan kotiledon. Warna kedua belahan biji diamati secara visual dalam cahaya matahari (daylight). Warna abu-abu (slaty) bila biji belum terfermentasi, ungu (violet) bila terfermentasi sebagian (belum sempurna), dan warna coklat penuh bila fermentasi sempurna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penampakan biji kakao fermentasi

Hasil pengamatan penampakan biji kakao kering yang telah difermentasi secara spontan maupun yang difermentasi dengan penambahan inokulum mikroba lokal, secara umum menunjukkan bahwa biji kakao yang semakin lama difermentasi akan menghasilkan biji kakao kering yang bersih tanpa pulp menempel pada kulit biji (Gambar 1). Hal ini disebabkan karena pulp yang mengandung karbohidrat dan senyawa pektin akan diurai oleh kelompok khamir selama proses fermentasi. Buamah *et al.* [4] menyatakan bahwa khamir memfermentasi karbohidrat pada pulp menjadi alkohol dalam kondisi oksigen terbatas serta menghasilkan pektinase untuk mengurai pektin sehingga viskositas pulp menurun dan terjadi aerasi. Towaha dkk. [12] juga menyatakan bahwa selama proses fermentasi terjadi penguraian karbohidrat pulpa. Semakin lama proses fermentasi, proses penguraian akan semakin sempurna sehingga sisa pulpa yang masih menempel pada kulit akan semakin sedikit.



A

B

Gambar 1. Penampakan luar biji kakao kering selama proses fermentasi. **A.** Fermentasi spontan/alami, **B.** Fermentasi dengan penambahan inokulum mikroba lokal

Mutu biji kakao kering selama proses fermentasi

Hasil analisis mutu fisik biji secara umum menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi spontan/alami dan fermentasi dengan penambahan inokulum mikroba lokal terhadap semua parameter mutu fisik biji kakao kering selama proses fermentasi berbeda. Nilai-nilai parameter memperlihatkan bahwa biji kakao hasil fermentasi oleh inokulum mikroba lokal lebih baik daripada fermentasi spontan/alami.

Kadar Air

Hasil pengamatan kadar air biji kakao kering yang diperoleh dari penelitian ini ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar air (%) biji kakao kering yang difermentasi dan syarat mutu biji kakao berdasarkan SNI 2323 : 2008

Perlakuan Fermentasi	Waktu Fermentasi (hari)						Syarat Mutu (maks)
	0	1	2	3	4	5	
Fermentasi alami	8.9	8,3	7.9	7.6	6.7	5.5	7,5
Fermentasi dengan inokulum mikroba lokal	7,7	6.8	6.2	6.0	5.3	4.7	

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh data yang menunjukkan bahwa kadar air biji kakao yang difermentasi secara alami/spontan masih lebih besar dari 7,5 % namun setelah difermentasi selama 4 hari, kadar airnya sudah kurang dari 7,5 %, sedangkan kadar air biji kakao kering yang difermentasi oleh inokulum mikroba lokal, lebih kecil dari 7,5 % sejak fermentasi hari ke-1 hingga hari ke-5. Dengan demikian, kadar air biji kakao

kering hasil fermentasi oleh inokulum mikroba lokal telah memenuhi mutu kualitas biji kakao sesuai yang ditetapkan oleh SNI 2323 :2008, yang mensyaratkan kadar air biji kakao maksimal 7,5 % (Tabel 2). Doume dkk. [6] dan Towaha dkk. [12] menyatakan bahwa kadar air biji kakao yang lebih dari 8% menyebabkan biji mudah diserang jamur dan serangga, sehingga meningkatkan risiko terhadap kerusakan biji, akan tetapi bila kadar air biji kurang dari 5% akan menyebabkan biji mudah pecah.

Kadar Biji Tak Terfermentasi

Hasil pengamatan kadar biji tak terfermentasi ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar biji kakao tak terfermentasi (%) dan syarat mutu biji kakao berdasarkan SNI 2323 : 2008

Perlakuan Fermentasi	Waktu Fermentasi (hari)						Standar Mutu		
	0	1	2	3	4	5	I	II	III
Fermentasi alami	100	87	64	46	32	20	3	8	20
Fermentasi dengan inokulum mikroba lokal	100	63	42	18	10	7	3	8	20

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi akan menghasilkan kadar biji tak terfermentasi semakin sedikit, pada kedua perlakuan fermentasi. Kadar biji tak terfermentasi dari biji kakao yang difermentasi secara alami tidak memenuhi kualitas mutu biji kakao setelah difermentasi hingga 4 hari, namun setelah difermentasi selama 5 hari kadar biji yang tidak terfermentasi adalah sebanyak 20 % (Tabel 2) dan memenuhi standar mutu biji kakao kategori III, yaitu sebanyak 20 % (Tabel 2). Kadar biji tak terfermentasi untuk biji kakao yang difermentasi menggunakan inokulum mikroba lokal menunjukkan nilai yang lebih kecil dibandingkan kadar biji tak terfermentasi dari biji kakao yang difermentasi secara alami. Jika dibandingkan dengan standar mutu biji kakao yang ditetapkan oleh SNI (2008) pada Tabel 2, maka diperoleh hasil bahwa kadar biji tak terfermentasi dari biji kakao yang difermentasi oleh inokulum mikroba lokal selama 3 hari yaitu 18 %, telah memenuhi standar mutu biji kakao kategori III yaitu maksimal 20 % dan setelah difermentasi selama 5 hari sebanyak 7 %, telah memenuhi standar mutu biji kakao kategori II yaitu maksimal 8 %. Dengan demikian, biji kakao yang difermentasi oleh inokulum mikroba lokal dapat mempercepat proses fermentasi serta mengurangi jumlah biji kakao yang tidak terfermentasi. Biji kakao yang tidak terfermentasi akan menyebabkan timbulnya rasa sepat dan pahit serta aroma yang kurang tajam pada produk olahan kakao [6].

Kadar Biji Berjamur

Hasil pengamatan kadar biji kakao berjamur yang diperoleh dari penelitian ini, ditampilkan pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 diperoleh data yang menunjukkan bahwa biji kakao yang difermentasi secara alami menunjukkan biji berjamur dimulai pada fermentasi hari kedua dengan kadar biji berjamur yang semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Hasil yang berbeda pada biji kakao yang difermentasi menggunakan inokulum mikroba lokal yang menunjukkan kadar biji kakao berjamur adalah 0 hingga 5 hari fermentasi.

Tabel 3. Kadar biji berjamur (%) dan syarat mutu biji kakao berdasarkan SNI 2323 : 2008

Perlakuan Fermentasi	Waktu Fermentasi (hari)						Standar Mutu		
	0	1	2	3	4	5	I	II	III
Fermentasi alami	0	0	37	78	83	90	2	4	4
Fermentasi dengan inokulum mikroba lokal	0	0	0	0	0	0	2	4	4

Gambar 1 juga menunjukkan bahwa penampakan luar biji kakao kering yang difermentasi secara alami/spontan (tanpa penambahan inokulum mikroba) dan yang difermentasi dengan penambahan inokulum mikroba lokal menunjukkan hasil yang berbeda. Biji kakao yang difermentasi secara spontan/alami nampak berjamur setelah 2 hari fermentasi sedangkan biji kakao yang difermentasi oleh inokulum mikroba lokal tidak berjamur hingga 5 hari fermentasi. Tidak ditemukannya biji yang berjamur pada biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal disebabkan karena terdapatnya bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. pada inokulum mikroba campuran dan bakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan jamur. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sony & Susijahadi [10] yang menemukan beberapa jenis bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao menghasilkan senyawa anti jamur (anti kapang) dan mampu menghambat pertumbuhan kapang yang tumbuh pada biji kakao yang berjamur. Berdasarkan kadar biji berjamur, diperoleh informasi bahwa biji kakao yang difermentasi secara alami tidak memenuhi syarat mutu kakao yang ditetapkan oleh SNI 2323 :2008, sedangkan biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal memenuhi syarat mutu kakao. Dengan demikian, fermentasi biji kakao dengan penambahan inokulum mikroba lokal mampu meningkatkan kualitas biji kakao dengan menghambat pertumbuhan jamur/kapang yang mungkin menghasilkan mikotoksin.

Kadar Biji Berkecambah

Hasil pengamatan mengenai kadar biji kakao yang berkecambah dari penelitian ini ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar biji berkecambah (%) dan syarat mutu biji kakao berdasarkan SNI 2323 : 2008

Perlakuan Fermentasi	Waktu Fermentasi (hari)						Standar Mutu		
	0	1	2	3	4	5	I	II	III
Fermentasi alami	0	0	0	0	0	0	2	3	3
Fermentasi dengan inokulum mikroba lokal	0	0	0	0	0	1	2	3	3

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa biji kakao yang difermentasi secara alami tidak ditemukan biji yang berkecambah namun biji kakao yang difermentasi oleh inokulum mikroba lokal ditemukan biji berkecambah setelah 5 hari difermentasi dengan kadar biji berkecambah adalah 1%. Syarat mutu kakao untuk karakteristik ini adalah maksimal 2 % untuk kategori I dan 3 % untuk kategori II dan III, dengan demikian kualitas biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal masih memenuhi syarat mutu kakao untuk kategori I.

Kadar biji berkecambah yang tidak ditemukan pada biji kakao difermentasi, menunjukkan bahwa biji kakao telah mengalami kematian biji. Tidak ditemukannya biji berkecambah pada biji kakao yang difermentasi secara alami, mungkin disebabkan karena biji tersebut telah berjamur (Tabel 3) dan hal ini mengindikasikan bahwa jamur (kapang) yang tumbuh pada biji tersebut dapat mematikan keping biji. Sedangkan biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal dimatikan oleh aktivitas bakteri asam asetat *Acetobacter* sp. yang terdapat dalam campuran inokulum mikroba. Berdasarkan hasil penelitian Kustyawati & Setyani [7] diperoleh informasi bahwa bakteri asam asetat berperan dalam pembentukan asam, peningkatan suhu dalam substrat fermentasi dan difusi asam ke dalam kotiledon sehingga menyebabkan kematian biji. Dengan demikian, proses fermentasi mampu mencegah biji kakao berkecambah sehingga dapat meningkatkan kualitas biji kakao.

Jumlah biji per 100 g

Hasil penentuan jumlah biji per 100 gram terhadap biji kakao kering yang dihasilkan pada penelitian ini ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Jumlah biji/100 g biji kakao kering dan syarat mutu biji kakao berdasarkan SNI 2323 : 2008

Perlakuan fermentasi	Waktu Fermentasi (hari)						Syarat Mutu				
	0	1	2	3	4	5	AA	A	B	C	S
Fermentasi alami	119	117	107	92	89	86	85	86 - 100	101 - 110	111 - 120	>120
Fermentasi dengan inokulum mikroba lokal	117	112	88	83	78	72	85	86 - 100	101 - 110	111 - 120	>120

Tabel 5 menunjukkan bahwa jumlah biji per 100 g dari biji kakao yang difermentasi secara alami memenuhi standar mutu golongan C (111-120) pada fermentasi hari ke-0 hingga hari ke-1, pada fermentasi hari ke-3 termasuk standar mutu golongan B (101-110), sedangkan pada fermentasi hari ke-4 dan hari ke-5 termasuk golongan A (86-100). Jumlah biji per 100 g dari biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal, memenuhi standar mutu golongan C (111-120) pada fermentasi hari ke-0 hingga hari ke-1, pada fermentasi hari ke-2 termasuk golongan A (86-100) dan pada fermentasi hari ke-3 hingga hari ke-5 termasuk golongan AA (min. 85). Hal ini menunjukkan bahwa, fermentasi biji kakao, baik secara alami maupun dengan inokulum mikroba lokal dapat meningkatkan mutu biji kakao berdasarkan jumlah biji per 100 g, namun demikian fermentasi dengan inokulum mikroba lokal dapat memenuhi standar ekspor lebih cepat yaitu setelah 2 hari fermentasi. Menurut Agung [1] dan Widyotomo *et al.* [13] ukuran biji kakao yang memenuhi kriteria standar ekspor adalah AA, A dan B.

Berdasarkan hasil analisis kualitas/mutu kakao dari penelitian ini, diperoleh informasi bahwa secara keseluruhan, biji kakao yang difermentasi dengan inokulum mikroba lokal dapat meningkatkan kualitas biji kakao dengan kualitas yang memenuhi standar mutu kakao Indonesia sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI 2323 :2008). Towaha dkk. [12] menyatakan bahwa dengan mutu biji kakao yang baik akan dihasilkan mutu produk turunan yang baik pula, karena untuk mendapatkan hasil pengolahan yang optimal diperlukan bahan baku biji kakao yang telah difermentasi sempurna.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Fermentasi biji kakao dengan penambahan inokulum mikroba lokal dapat meningkatkan kualitas biji kakao dibandingkan biji kakao yang difermentasi secara alami/spontan.
2. Fermentasi biji kakao dengan penambahan inokulum mikroba lokal dapat mempersingkat waktu fermentasi dengan kualitas yang sesuai dengan persyaratan mutu SNI 2323 : 2008.

PUSTAKA

- [1] Agung, I.G.N. 1997. Memperpendek Masa Fermentasi Biji Kakao dengan Pemberian Ragi Tape. *Gitayana* **3** (1) : 27-30.
 - [2] Afoakwa, E. O, Kongor, J. E., Takrama, J. F. and Budu, A. S. 2013. Changes in acidification, sugars and mineral composition of cocoa pulp during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal*. **20** (3) : 1215-1222.
 - [3] AOAC. 1990. Official Methods of Analytical Chemist. Washington, DC.
 - [4] Buamah, R., Dzogbefia, V.P. and Oldham, J.H. 1997. Pure yeast culture fermentation of cocoa (*Theobroma cacao* L): effect on yield of sweatings and cocoa bean quality. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **13** 457-462.
-

- [5] BSN, 2008. *Standar Nasional Indonesia Biji Kakao. SNI 2323:2008*. Badan Standardisasi Nasional.
- [6] Doume, Z. S.Y., Rostiati, dan Hutomo, G.S. 2013. Karakteristik Kimia dan Sensoris Biji Kakao Hasil Fermentasi pada Tingkat Petani dan Skala Laboratorium. *e-J. Agrotekbis* **1** (2) : 145-152.
- [7] Kustyawati, M. E. dan Setyani, S. 2008. Pengaruh Penambahan Inokulum Campuran terhadap Perubahan Kimia dan Mikrobiologi Selama Fermentasi Coklat. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* **13** (2) : 73-84.
- [8] Schwan, R.F. 1998. Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculums. *Appl. Environ. Microbiol.* **64** (4) : 1477-1483
- [9] Senanayake, M., R.J. Errol, and K.A. Buckle. 1996. Effect of different mixing intervals on the fermentation of cocoa beans. *J. Sci. Food Agric.* **74**: 42-48.
- [10] Sony, S. dan Susijahadi. 2007. *Eksplorasi Agens Antikapang Dari Bakteri Asam Laktat Pada Fermentasi Kakao : Potensinya Untuk Meningkatkan Kualitas Komoditi Kakao Ekspor*. Laporan Penelitian, Pusat dokumentasi dan Informasi Ilmiah-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (PDII-LIPI).
- [11] Statistik Perkebunan, 2012. *Potensi Kakao di Sulawesi Tenggara*. Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta.
- [12] Towaha, J., Anggraini, D.A. dan Rubiyo. (2012) Keragaan mutu biji kakao dan produk turunannya pada berbagai tingkat fermentasi: Studi kasus di Tabanan, Bali. *Pelita Perkebunan* **28** : 166-183.
- [13] Widyotomo, S.; Sri-Mulato & Handaka (2004). Mengenal lebih dalam teknologi pengolahan biji kakao. *Warta Litbang Pertanian* **26**, 5-6.

IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF ASAL TANAH BERDASAR ANALISA PROFIL ASAM LEMAK METIL ESTER DAN SEKUEN GEN 16S rRNA

IDENTIFICATION OF GRAM POSITIVE BACTERIA BASED ON CELLULAR FATTY ACID METHYL ESTERS (FAMES) ANALYSES AND 16S rRNA GENE SEQUENCE

Tri Ratna Sulistiyani

Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
Jalan Raya Bogor-Jakarta Km. 46, Cibinong 16911 Indonesia
E-mail: trilisty01@gmail.com

ABSTRACT

The cellular fatty acid compositions are recognized as a valuable chemotaxonomic tool for classification and identification of bacteria. Classification was done by compared the fatty acid compositions and major components belonging to Gram positive bacteria. The bacteria studied were isolated from soil in Lombok island and checked with KOH test. Five Gram positive bacteria were analysed based on fatty acids methyl ester (FAME) profile by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Bacteria which were examined contain normal and branched fatty acids, without hidroxy fatty acids 10:0 3OH, 12:0 3OH, an/or 14:0 3OH. The major components of Gram positive bacteria were iso-C15 and anteiso-C15. In addition to FAMES analyses, 16S rRNA gene analyses was also done and identified as *Bacillus cereus*, *Bacterium antarctica*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, and *Arthrobacter crystallopoietes*, respectively.

Keywords: identification, bacteria, fatty acids methyl esters (FAMES), Gram positive

ABSTRAK

Komposisi asam lemak merupakan salah satu alat kemotaksonomi yang sangat berharga untuk klasifikasi dan identifikasi bakteri. Klasifikasi bakteri berdasar profil asam lemak dilakukan dengan membandingkan komposisi asam lemak dan komponen utama yang terdapat di antara bakteri Gram positif. Bakteri yang digunakan berasal dari tanah yang telah dicek melalui reaksi gram uji KOH. Lima bakteri Gram positif dianalisis profil asam lemak metil ester menggunakan kromatografi gas-spektrofotometri massa (GC-MS). Lima bakteri tersebut memiliki asam lemak rantai normal dan rantai bercabang, tanpa asam lemak yang mengandung gugus hidroksi seperti asam lemak 10:0 3OH, 12:0 3OH, dan/atau 14:0 3OH. Dari hasil analisis menunjukkan bahwa asam lemak utama dari bakteri Gram positif adalah asam lemak iso-C15 dan anteiso-C15. Selain analisis FAME, untuk meyakinkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri Gram positif, dilakukan sekuensing berdasar gen 16S rRNA dan teridentifikasi berturut-turut sebagai *Bacillus cereus*, *Bacterium antarctica*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, and *Arthrobacter crystallopoietes*.

Kata kunci: identifikasi, bakteri, asam lemak metil ester, Gram positif

PENDAHULUAN

Identifikasi dan karakterisasi suatu mikroba merupakan bagian yang sangat penting untuk terwujudnya koleksi kultur mikroba yang maju dan dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Identifikasi bakteri menggunakan metode konvensional yang berdasar pada pengamatan fenotif seperti pewarnaan gram, pengamatan morfologi dan uji biokimia akhir-akhir ini sudah mulai ditinggalkan. Banyaknya waktu dan bahan kimia yang dibutuhkan membuat identifikasi saat ini beralih ke metode molekuler dan metode kemotaksonomi.

Analisa pola asam lemak adalah salah satu metode kemotaksonomi yang dapat digunakan untuk mengklasifikasi dan mengidentifikasi bakteri [1, 2, 3]. Analisis kemotaksonomi telah berhasil diaplikasikan pada penelitian taksonomi yang berkaitan dengan lingkungan, klinis atau kesehatan dan bioteknologi yang relevan dengan spesies. Pada bakteri Gram positif, asam lemak terutama terdapat pada bagian membran sitoplasma yang berkonstituen dengan fosfolipid dan lipopolisakarida pada bagian membran luar. Asam lemak dapat diperoleh melalui ekstraksi kultur sel bakteri dan keberadaan asam lemak metil ester dapat dianalisis menggunakan kromatografi gas [4]. Klasifikasi atau identifikasi bakteri berdasarkan perbedaan komposisi dan jumlah asam lemak dilakukan dengan membandingkan profil asam lemak dari isolat yang dianalisis dengan asam lemak standar [5]. komponen asam lemak utama bakteri Gram positif adalah asam lemak iso-C15 dan anteiso-C15 dan ditandai dengan tidak ditemukannya asam lemak 10:0 3OH, 12:0 3OH, dan/ atau 14:0 3OH [6].

Metode molekuler dengan gen 16S rRNA seakan-akan membuka jalur penelitian menjadi lebih cepat dan efisien. Sekuen gen 16S rRNA adalah analisis yang umum digunakan untuk mengetahui identitas bakteri dikarenakan: (i) keberadaannya di hampir semua bakteri, sering ada sebagai multigen atau operon, (ii) masing-masing spesies bakteri memiliki sekuen 16S rDNA yang unik, (iii) fungsi dari sekuen 16S rDNA konstan, tidak berubah dari waktu ke waktu, menunjukkan bahwa perubahan urutan acak yang lebih akurat (evolusi yang lama), dan (iv) sekuen 16S rDNA yang berukuran sekitar 1.500 pb cukup besar untuk tujuan informatika [7, 8, 9, 10].

Pentingnya mikroba dalam sebuah kultur koleksi teridentifikasi dengan akurat dan dapat dipercaya, maka penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri Gram positif melalui analisis profil asam lemak metil ester yang dikandungnya dan secara molekuler dengan sekuensing gen 16S rRNA.

BAHAN DAN METODE

Sampel bakteri

Bakteri yang digunakan merupakan bakteri tanah. Lima isolat bakteri (A5, A7, C4, D2, D3) kemudian dicek melalui reaksi Gram uji KOH. Lima isolat bakteri Gram positif dianalisis komposisi asam lemak metil esternya dan diidentifikasi berdasar sekuen gen 16S rRNA.

Analisa Kemotaksonomi Asam Lemak Metil Ester

Sebelum dilakukan analisa asam lemak, terlebih dahulu bakteri ditumbuhkan pada media *Pseudomonas Agar* di cawan petri dengan metode gores kuadran, kemudian

diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Pada hari ke-7, bakteri dipanen untuk dianalisa komposisi asam lemak yang terkandung di dalamnya.

Asam lemak terhadap turunan metil esternya dalam bakteri dianalisis menggunakan alat *Gas Chromatography Mass Spectroscopy* (GC-MS). Sebanyak 40 mg sel bakteri basah dipanen dari media agar dan ditempatkan pada tabung kaca. Asam lemak dalam bakteri kemudian disaponifikasi dengan menambahkan reagen 1 (3.75 N NaOH dalam methanol). Tabung selanjutnya dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit, divortek, dipanaskan kembali selama 30 menit pada air mendidih, kemudian didinginkan. Setelah proses saponifikasi, campuran dimetilasi dengan penambahan reagen 2 (3.25 N HCl dalam metanol). Tabung kemudian dipanaskan pada suhu 80 °C selama 10 menit. Selanjutnya tabung didinginkan dan ekstraksi asam lemak metil esternya dilanjutkan menggunakan reagen 3 (metil-t-butyl eter dalam heksana) dengan cara membolak-balikkan tabung selama 10 menit. Fase yang terdapat pada bagian bawah diambil dan asam lemak yang terdapat pada fase organik dicuci menggunakan larutan 0.3 N NaOH. Tabung dibolak-balik selama 5 menit dan fase organik diambil untuk selanjutnya dianalisis [11].

GC-MS dioperasikan secara *autosampler* dalam kondisi : temperatur awal 170°C dan naik 5°C/menit sampai 260°C dan kemudian naik lagi 40°C/menit sampai 310°C. Hidrogen digunakan sebagai pembawa dengan laju 0.4mL/menit. Profil asam lemak metil ester dari masing-masing bakteri diidentifikasi dengan membandingkan data asam lemak yang diperoleh dengan asam lemak standar.

Identifikasi Bakteri Berdasar Metode Molekuler

Setelah diperoleh isolat murni, tahap selanjutnya adalah identifikasi. Identifikasi dilakukan dengan sekuensing gen 16 rRNA [12].

Ekstraksi DNA bakteri

Sel dipanen dan dicuci menggunakan 1 mL bufer TE dan disentrifus 1000 rpm selama 15 menit. Sel yang telah dipanen selanjutnya dipecah menggunakan 50 µL lisozim (50µg/mL). Dikocok hingga homogen dan inkubasi 37°C, 30 menit. Ke dalam larutan ditambahkan pereaksi GES sebanyak 250 µL, dihomogenkan dan diinkubasi 10 menit pada suhu ruang. Dilanjutkan dengan penambahan 125 µL ammonium asetat 7.5 M dan ditempatkan dalam es selama 10 menit.

Pemisahan DNA dari protein dan polisakarida dilakukan dengan penambahan kloroform sebanyak 500 µL, dibolak-balik 50 kali dan disentrifus pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan setengah volume isopropanol, kemudian dibolak-balik sampai terlihat benang-benang DNA. Disentrifus pada kecepatan 10000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya endapan dicuci dengan etanol 70 % dingin. Disentrifus kembali dan supernatan dibuang. DNA dikeringanginkan selama 10 menit, dilarutkan dalam 100 µL 0.2X bufer TE, dan selanjutnya konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm.

Amplifikasi PCR gen 16S rRNA

Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan menggunakan sepasang primer 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3') [13,

14]. Komposisi amplifikasi gen 16S rRNA terdiri dari *Ultrapure water*, *GoTaq Green Master Mix 2x*, primer 27F (10 μ M), primer 1492R (10 μ M), DMSO, dan sampel DNA dengan total volume 25 μ L. Amplifikasi dilakukan dengan kondisi PCR : *initial* denaturasi 95°C selama 90 detik, dilanjutkan (95°C, 30 detik denaturasi; 50°C, 30 detik *annealing*; 72°C, 90 detik elongasi) selama 30 siklus dan *final extension* pada 72°C selama 5 menit, 4°C selama 20 menit.

Elektroforesis.

Produk PCR sebanyak 3 μ l dianalisis menggunakan gel agarosa 1% dengan aliran listrik bertegangan 100 V selama 25 menit. Setelah selesai, gel direndam dalam larutan *ethidium bromide* 5 μ g/mL selama 30 menit dan dibilas menggunakan bufer TAE 1x. Hasil elektroforesis dilihat menggunakan alat UV *transilluminator*. DNA teramplifikasi apabila hasil elektroforesis diperoleh 1 pita tunggal berukuran \approx 1500 pb.

Cycle sequencing

Tahap selanjutnya adalah *cycle sequencing* menggunakan primer 520 F dan 920 R, dengan program 96 °C selama 1 menit, 40 siklus (96 °C, 10 detik denaturasi; 50 °C, 5 detik *annealing*; 60°C, 90 detik elongasi) dan 4 °C, 10 menit. Hasil *cycle sequencing* dipurifikasi kembali dengan *ethanol purification method*.

Sekuensing gen 16S rRNA, analisis bioinformatika dan konstruksi pohon filogeni.

Produk PCR yang sudah dipurifikasi disekuensing menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 *Genetic Analyzer*) (*Applied Biosystems*). Data hasil sekuensing selanjutnya diolah dengan program Bioedit. Homologi sekuen 16S rDNA dicari menggunakan BLASTN pada website NCBI. Menurut Stackebrandt dan Rainey [15] hasil dari sekuensing sebanyak 400-600 pb sudah cukup digunakan dalam taksonomi. Sekuen referensi diperoleh dari bank data DNA *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi asam lemak pada spesies yang berbeda akan bervariasi dan pola spesifik asam lemak suatu mikroba mengindikasikan kondisi fisiologis dan nutrisi dari bakteri tersebut [1, 16]. Hal ini dikarenakan komposisi asam lemak sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor penting antara lain temperatur inkubasi, lama inkubasi, ketersediaan nitrogen, ketersediaan oksigen, keterbatasan jumlah karbon, dan pH [1, 17]. Waktu inkubasi dan jenis media juga merupakan faktor yang sangat penting. Perubahan kondisi pertumbuhan akan sangat berpengaruh terhadap profil asam lemak dari bakteri tersebut. Pada penelitian ini, bakteri ditumbuhkan pada media *Pseudomonas Agar* dan diinkubasi selama 7 hari. Apabila dilakukan pengecekan ulang profil asam lemak dari bakteri tersebut, maka bakteri harus ditumbuhkan pada media dan masa inkubasi yang sama dengan pertumbuhan semula, yaitu media *Pseudomonas agar* dan diinkubasi selama 7 hari.

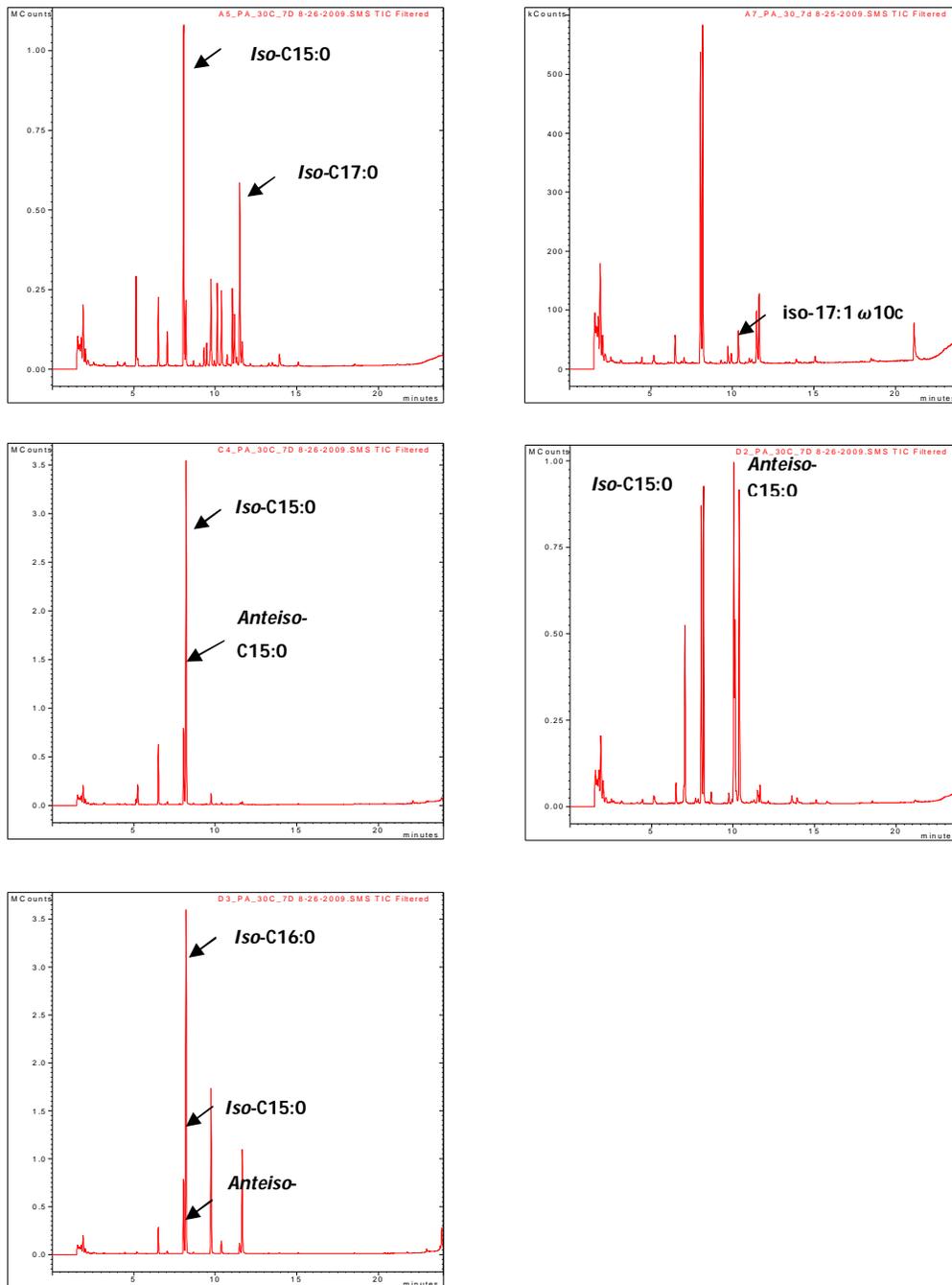
Asam lemak bakteri pada penelitian ini dianalisis menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS) (Gambar 1). Hasil analisis berdasarkan waktu retensinya menunjukkan bahwa persentase asam lemak bercabang lebih banyak dibandingkan

dengan asam lemak utama. *B. cereus* memiliki asam lemak normal 9:0, 10:0, 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, *B. antarctica* adalah 9:0, 16:0, dan 18:0, *M. luteus* adalah 9:0, 10:0, 13:0, 14:0, 15:0, dan 16:0, *B. megaterium* adalah 9:0, 10:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 19:0, dan *A. crystallopoietes* adalah 9:0, 10:0, 14:0, 15:0, 16:0, dan 18:0 (Tabel 1). Asam lemak utama pada setiap bakteri memiliki persentase yang kecil. Hal ini dikarenakan asam lemak tersebut merupakan asam lemak yang harus ada dalam setiap mikroba. Persentase terbesar kandungan asam lemak pada bakteri Gram positif adalah asam lemak rantai lurus dan rantai bercabang. Hampir 50% asam lemak pada genus *Bacillus*, *Micrococcus*, dan *Staphylococcus* adalah asam lemak bercabang, sedangkan asam lemak tak jenuh hanya beberapa persen.

Tabel 1 Komposisi asam lemak metil ester pada lima bakteri gram positif

Kode isolat	Komposisi asam lemak (%)									
	Normal					Iso			Anteiso	
	n-14	n-15	n-16	n-17	n-18	i-15	i-16	i-17	a-15	a-17
A5 (<i>B. Cereus</i>)	2.47	0.40	5.62	1.19	0.26	24.36	7.42	13.95	-	1.97
A7 (<i>Bacterium Antarctic-14</i>)	-	-	3.92	-	0.65	-	-	-	-	-
C4 (<i>M. Luteus</i>)	1.33	0.60	0.94	-	-	32.92	5.05	-	15.15	-
D2 (<i>B. Megaterium</i>)	9.16	0.65	17.99	0.15	0.36	15.94	0.64	0.71	16.27	1.11
D3 (<i>A. crystallopoites</i>)	0.56	-	0.01	-	0.30	16.66	36.28	-	7.95	-

Asam lemak rantai cabang yang mempunyai satu gugus iso- atau anteiso- jarang ada sebagai konstituen utama pada beberapa organisme. Akan tetapi keberadaan gugus iso- dan anteiso- merupakan karakteristik utama bakteri Gram positif termasuk *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, dan *B. cereus* [2], genus *Cytophaga* dan *Flavobacterium* [18], sedangkan asam lemak cyclopropyl umum ditemukan pada bakteri Gram negatif dan beberapa bakteri Gram positif anaerob [19]. Berdasarkan pada data Tabel 1, asam lemak anteiso (anteiso-C15 dan anteiso-C17) merupakan asam lemak yang selalu ada dalam setiap bakteri Gram positif, terkecuali *B. antarctica*. *B. antarctica* tidak memiliki asam lemak anteiso, akan tetapi bakteri ini memiliki asam lemak iso-17:1 ω 10c dan iso-15:0 3OH yang hanya ditemukan dalam jumlah kecil. Kedua asam lemak ini dapat digunakan sebagai penanda bakteri Gram positif. *B. cereus* memiliki persentase asam lemak iso- dalam jumlah paling tinggi jika dibandingkan dengan bakteri yang lain. *B. cereus* terkarakterisasi memiliki asam lemak iso-C15:0, iso-C13:0, iso-C17:0, iso-C14:0, anteiso-C15:0, dan anteiso-C13:0 [3]. Profil asam lemak dari *B. cereus* adalah unik yaitu konsisten dengan asam lemak iso-17:1 ω 10c dan 17:1 anteiso- [11]. Asam lemak iso- dan anteiso-pentadekanoat (14.5 dan 14.7) merupakan asam lemak utama, dan menurut Druckerd dan Owen, asam lemak isopentadekanoat ditemukan dalam jumlah yang cukup tinggi pada *B. cereus* [17].



Gambar 1 Hasil analisis komponen asam lemak utama bakteri gram positif (iso- dan anteiso-) menggunakan GC-MS.

B. cereus dan *B. megaterium* merupakan bakteri yang berada dalam genus yang sama. Asam lemak dominan pada genus *Bacillus* adalah n 16:0, iso-15:0, iso-13:0, dan iso-17:0. Perbedaan asam lemak antar kedua bakteri tersebut adalah proporsi anteiso-C15 dan anteiso-C17. Iso-C15 merupakan komponen asam lemak tertinggi pada *B. cereus*, berbeda dengan *B. megaterium* yang komponen asam lemak tertingginya adalah anteiso-C15. Hal ini diduga bakteri yang termasuk dalam satu genus akan memiliki asam lemak tak jenuh yang relatif sama. *B. megaterium* memiliki asam lemak tak jenuh yang lebih sedikit dibanding *B. cereus*. Asam lemak normal seperti miristat (C14:0) dan palmitat (C16:0) merupakan asam lemak yang paling banyak ditemui, akan tetapi pada umumnya hanya sedikit pada genus *Bacillus* [2].

Komposisi asam lemak *M. luteus* secara kualitatif sama dengan asam lemak dari golongan family Micrococcaceae. *M. luteus* memiliki komponen asam lemak dominan iso-C15 dan anteiso-C15 [20]. Hal ini sesuai dengan data pada Tabel 1 bahwa isolat C4 yang teridentifikasi secara molekuler sebagai *M. luteus*, memiliki persentase asam lemak iso-C15 dan anteiso-C15 sebesar 32.92% dan 15.15%.

Hasil analisa asam lemak menunjukkan bahwa asam lemak dominan berbeda-beda untuk masing-masing bakteri (Gambar 1). Isolat A5 (*B. cereus*) memiliki asam lemak dominan iso-15:0 dan iso-17:0, isolat A7 (*B. antarctica*) memiliki asam lemak dominan 16:0 dan iso-17:1 w10c, isolate C4 (*M. luteus*) memiliki asam lemak dominan iso-14:0, iso-15:0, anteiso-15:0, isolat D2 (*B. megaterium*) memiliki asam lemak dominan iso-15:0, anteiso-15:0 dan 16:0, sedangkan isolat D3 (*A. crystallopoietes*) memiliki asam lemak dominan iso-15:0, iso-16:0, iso-17:1 w10c (Tabel 1). Berdasar analisis profil asam lemak metil ester, bakteri Gram positif ditandai dengan tidak ditemukannya asam lemak 10:0 3OH, 12:0 3OH, dan/ atau 14:0 3OH [6]. Hal ini berbeda dengan bakteri gram negatif yang selalu memiliki asam lemak 10:0 3OH, 12:0 3OH, dan/ atau 14:0 3OH. Hal ini sesuai dengan hasil analisis yaitu tidak ditemukannya asam lemak dengan gugus hidroksi dari lima isolat bakteri Gram positif.

Identifikasi melalui pendekatan molekuler dengan sekuensing gen 16S rRNA menunjukkan bahwa bakteri Gram positif tersebut berturut-turut adalah *B. cereus*, *B. antarctica*, *M. luteus*, *B. megaterium* dan *A. crystallopoietes* dengan homologi berturut-turut 97%, 98%, 99%, 97%, dan 96% (Tabel 2). Masing-masing bakteri memiliki tingkat homologi yang berbeda mulai dari 96-99%. Identifikasi berdasar gen 16S rRNA dapat diterima apabila tingkat homologi berkisar $\geq 97\%$. Hasil analisa sekuen gen 16S rRNA isolat D3 menunjukkan homologi sebesar 96% dengan *A. crystallopoietes*. Hasil ini dapat dipercaya apabila dilengkapi data-data pendukung lainnya yang memperkuat bahwa isolat tersebut adalah *A. crystallopoietes*, seperti pengamatan morfologi, uji biokimia, data kemotaksonomi profil asam lemak, hibridisasi DNA-DNA, analisa kandungan GC, dan uji pendukung lainnya. *A. crystallopoietes* dan beberapa spesies lainnya tidak termasuk dalam genus *Arthrobacter* dikarenakan oleh ketidaksesuaian antara sekuen gen 16S rRNA dengan data fenotif. Akan tetapi jika prioritas ini diberikan pada karakteristik kemotaksonomi, beberapa spesies tersebut dapat ditempatkan dalam grup *Arthrobacter* [21]. Komposisi asam lemak *A. crystallopoietes* terdiri dari anteiso-C15:0, iso-C16:0, C16:0, dan anteiso C17:0 [22].

Tabel 2 Identifikasi bakteri Gram positif berdasar gen 16S rRNA

Kode isolat	Identitas kesamaan terdekat dengan bank data NCBI	Nomor asesi	Homologi
A5	<i>Bacillus cereus</i>	EU161997	97%
A7	<i>Bacterium antarctica-14</i>	EF667987	98%
C4	<i>Micrococcus luteus</i>	KC634107	99%
D2	<i>Bacillus megaterium</i>	HF584855	97%
D3	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>	NR026189	96%

KESIMPULAN

Lima bakteri merupakan bakteri Gram positif yang diindikasikan oleh hasil uji KOH dan ditemukannya komponen utama asam lemak iso- dan anteiso-. Selain itu juga tidak ditemukannya asam lemak hidroksi 10:0 3OH, 12:0 3OH, dan/atau 14:0 3OH pada hasil kromatografi. Secara molekuler lima isolat bakteri (A5, A7, C4, D2, D3) teridentifikasi berturut turut sebagai *B. cereus*, *B. antarctica*, *M. luteus*, *B. megaterium*, dan *A. crystallopoietes*, dengan homologi berkisar 96-99%. Isolat A5 (*B. antarctica*) dan D3 (*A. crystallopoietes*) memerlukan karakterisasi lebih lanjut untuk memastikan identitas bakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Able K, De Schmertzin H, Peterson JI. 1963. Classification of micro-organisms by analysis of chemical constitution. I. feasibility of using gas liquid chromatography. *Journal of Bacteriology* 85:1039-1044.
- [2] Kaneda T. 1967. Fatty acids in the genus Bacillus, I. Iso- and anteiso- fatty acids as characteristic constituents of lipids in 10 species. *Journal of Bacteriology* 93:894-903.
- [3] Welch DF. 1991. Applications of cellular fatty acid analysis. *Clinical Microbiology Reviews* 4:422-438.
- [4] Kaneda T. 1968. Fatty acids in the genus Bacillus, II. Similarity in the fatty acid compositions of *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus cereus*. *Journal of Bacteriology* 95:2210-2216.
- [5] Busse HJ, EBM Denner, W Lubitz. 1996. Classification and identification of bacteria: current approaches to and old problem. Overview of methods used in bacterial systematic. *Journal of Biotechnology* 47:35-38.

- [6] Kunitsky C, G Osterhout, M Sasser. 2006. Identification of Microorganisms using Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Analysis and the MIDI Sherlock Microbial Identification System. USA [www.pda.org/bookstore].
- [7] Patel JB. 2001. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Molecular Diagnose* 6:313-321.
- [8] Coenye T, Vandamme P. 2003. Intragenomic heterogeneity between multiple 16s ribosomal RNA operons in sequenced bacterial genomes. *FEMS Microbiology Letter* 228:45-49.
- [9] Xiang YH. 2006. *Bacterial Identification Based on 16S Ribosomal RNA Gene Sequence Analysis*. Di dalam *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. USA: Springer.
- [10] Sun L, F Qiu, X Zhang, X Dai. 2008. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology* 55:415-424.
- [11] Whittaker P, FS Fry, SK Curtis, SF AL-Khaldi, MM Mossoba, MP Yurawecs, VC Dunkel. 2005. Use of fatty acid profiles to identify food-borne bacterial pathogens and aerobic endospore-forming Bacilli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:3735-3742.
- [12] Pitcher DG, NA Saunders, RJ Owen. 1989. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidin thiocyanate. *Journal of Applied Microbiology* 8:151-156.
- [13] Palaniappan P, Chauhan PS, Saravanan VS, Anandham R, Sa T. 2010. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacterial isolates from root nodule of *Lespedeza* sp. *Biology Fertilizer Soils* 46:807–816.
- [14] Zhang W, Li Zhiyong, Miao X, Zhang F. 2009. The screening of antimicrobial bacteria with diverse novel nonribosomal peptide synthase (NRPS) genes from South China sea sponges. *Mar Biotechnol* 11:346-355.
- [15] Ulrich K, Ulrich A, Ewald D. 2008. Diversity of endophytic bacterial communities in poplar grown underfield conditions. *FEMS Microbiology Ecology* 63:169-180.
- [16] Piotrowska-Seget Z, A. Mroziak. 2003. Signature lipid biomarker (SLB) analysis in determining changes in community structure of soil microorganisms. *Polish Journal of Environmental Studies* 12:669-675.
- [17] Drucker B, Owen. 1973. Chemotaxonomic fatty acid fingerprints of bacteria grown with and without aeration. *Canadian Journal of Microbiology* 19:247-250.
- [18] Haack SK, H Garchow, DA Odelson, LJ Forney, MJ Klug. 1994. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities. *Applied of Environmental Microbiology* 60:2483.
- [19] Ratledge C, G Wilkinson. 1988. Microbial lipids. Academic Press, London.
- [20] Morrison SJ, TG Tornabene, WE Kloos. 1971. Neutral lipids in the study of relationships of family Micrococcaceae. *Journal of Bacteriology* 108:353-358.
-

- [21] Whitman WB, M Goodfellow, P Kämpfer, HJ Busse, ME Trujillo, K Suzuki, W Ludwig. 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. Springer, USA.
- [22] Shaw N, Stead D. 1971. Lipid composition of some species of *Arthrobacter*. *Journal of Bacteriology* 107:130-133.