

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 11
NOMOR 1
FEBRUARI 2013
ISSN: 1693-2242**

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Tel. & Fax. +62-271-663375
E-mail: unsjournals@yahoo.com
Online: <http://biosains.mipa.uns.ac.id/C/index.htm>

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2003

ISSN:

1693-2242

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan

PENYUNTING PELAKSANA:

Djoko Santoso
Ratna Setyaningsih
Solichatun
Suratman
Tetri Widiyani

PENYUNTING AHLI:

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

Perbandingan efektivitas analgesik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan aspirin dosis terapi pada mencit

Analgesic effectiveness comparison between red betel leaf extract (*Piper crocatum*) and therapy dosage of aspirin in mice

DIAN AJENG ATIKANINGRUM, ENDANG EDININGSIH, CR. SITI UTARI

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

Manuskrip diterima: 6 Oktober 2012. Revisi disetujui: 20 Desember 2012.

Abstract. Atikaningrum DA, Ediningsih E, Utari CRS. 2013. Analgesic effectiveness comparison between red betel leaf extract (*Piper crocatum*) and therapy dosage of aspirin in mice. *Biofarmasi 11*: 1-6. The aim of this research was to find out an analgesic effectiveness of red betel leaf extract (*Piper crocatum*) compared to the therapy dosage of aspirin in mice. This research used a completely randomize experimental design. The subject in this research were 30 male mice of Swiss which in age of 2-3 months with 20-30 grams weight. The subjects were divided into five treatment groups: (i) negative control group (aquadest), (ii) positive control group (aspirin), (iii) first treatment group (3.64 mg red betel leaf extract), (iv) second treatment group (7.28 mg red betel leaf extract), and (v) third treatment group (14.56 mg red betel leaf extract). Analgesic effect was determined by counting the mice jump on 42°C in hotplate during 5 minutes, 2 hours after treatment. The obtained data were tested statistically by Anova and Pos-Hoc processed by Lead Significance Difference. The Anova test showed that there were significant differences among five treatment groups, while the LSD test showed that there were significant difference between negative control group and treatment groups, and the second and third treatment groups showed no significant difference with positive control group. The red betel leaf extract had an analgesic effect when it was given orally in mice. The treatment groups that had the same efficacy with the aspirin treatment group were the second (7.28 mg red betel leaf extract) and the third groups (14.56 mg red betel leaf extract).

Keywords: Analgesic effect, aspirin, *Piper crocatum*, red betel leaf extract

PENDAHULUAN

Obat herbal telah diterima secara luas di hampir seluruh negara di dunia. Menurut WHO, negara-negara di Afrika, Asia, dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer yang diterima. Bahkan, di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat herbal untuk pengobatan primer (WHO 2003).

Sejak ribuan tahun yang lalu, pengobatan tradisional juga sudah ada di Indonesia jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern dikenal oleh masyarakat. Obat-obatan tradisional cenderung sesuai dengan kultur masyarakat Indonesia, mudah didapat, murah, dan aman dengan efek samping yang relatif kecil. Selain itu, kekayaan tumbuhan obat juga mendukung kecenderungan masyarakat saat ini untuk kembali ke alam (*back to nature*) dalam upaya mencapai kesehatan yang optimal (Wijayakusuma 2000).

Nyeri merupakan gejala penyakit yang banyak dirasakan oleh masyarakat. Nyeri pada dasarnya merupakan suatu reaksi fisiologis berupa reaksi protektif tubuh sebagai mekanisme untuk menghindari stimulus yang membahayakan bagi tubuh (Wirjoadmodjo 2000). Prevalensi nyeri pada orang dewasa mencapai 40% setiap harinya, sedangkan 89% diantaranya merasakan nyeri minimal sebulan sekali (Dwiprahasto 2002). Selama ini masyarakat banyak menggunakan obat analgesik yang

dapat dibeli secara bebas untuk meringankan atau menyembuhkan keluhan nyeri. Analgesik atau obat penghalang nyeri merupakan zat-zat yang dapat mengurangi atau melenyapkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (Tjay dan Rahardja 2007). Terdapat berbagai macam obat analgesik yang biasa digunakan oleh masyarakat, baik berupa obat sintetik maupun tradisional. Beberapa contoh obat analgesik sintetis misalnya aspirin, ibuprofen, dan asam mefenamat. Aspirin adalah salah satu jenis obat yang paling sering digunakan. Efek samping yang ditimbulkan dapat berupa efek ringan dan efek yang lebih berat. Efek ringan antara lain berupa reaksi alergi maupun *rash*, sedangkan efek yang lebih berat antara lain berupa gangguan pada sistem gastrointestinal, misalnya dispepsi, nyeri epigastrik, mual, dan muntah hingga perdarahan lambung (Soelistiono 2008).

Dilihat dari efek samping yang ditimbulkan oleh obat penghilang nyeri sintetik tersebut, berbagai cara dapat dilakukan oleh masyarakat untuk memperoleh derajat kesehatan yang optimal (Katno dan Pramono 2002). Harga obat modern yang mahal dan sulit dijangkau oleh masyarakat golongan menengah ke bawah juga merupakan salah satu alasan peranan obat tradisional sebagai obat alternatif sangat dibutuhkan (Indriani et al. 2003). Obat tradisional di Indonesia masih sangat banyak yang belum diteliti. Agar pengobatan tradisional dapat dipertanggung-

jawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan (Ning 2004).

Dari hasil kromatogram diketahui bahwa daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia berupa minyak atsiri, tanin, pulevenolad, dan flavonoid (Sudewo 2010). Senyawa flavonoid merupakan suatu senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam (Lenny 2006). Senyawa flavonoid sendiri menunjukkan lebih dari 100 jenis bioaktivitas, diantaranya efek analgesik, diuretik, antiinflamasi, antihistamin, antioksidan, membunuh bakteri, dan menurunkan kadar gula darah (Wijayakusuma 2000). Flavonoid bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase, yang merupakan langkah pertama terbentuknya prostaglandin dan tromboksan (Middleton et al. 2000). Daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan kandungan senyawa flavonoid tersebut diharapkan memiliki efek analgesik yang berperan sebagai penekan rasa nyeri. Penelitian terhadap tanaman sirih merah hingga saat ini masih sangat kurang, terutama dalam upaya pengembangan sebagai bahan baku untuk biofarmaka.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas analgesik antara ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) dengan aspirin dosis terapi pada mencit.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Universitas Setia Budi, Surakarta (USB).

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang mencit, timbangan hewan, *sputit* pencekok/oral 1 ml, *hotplate*, *beaker glass*, termometer, dan *stopwatch* digital. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan meliputi mencit galur Swiss jantan, ekstrak daun sirih merah, etanol 70 %, akuades, dan aspirin.

Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan *the post-test only control group design*, karena pengukuran hanya dilakukan pada waktu tertentu setelah pemberian perlakuan pada hewan uji (Taufiqurrohman 2004).

Subjek penelitian

Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur Swiss jantan, berumur 2-3 bulan dengan berat badan ± 20 gram yang diperoleh dari Universitas Setia Budi Surakarta. Sampel dibagi dalam 5 kelompok. Jumlah sampel dalam masing-masing kelompok dihitung

berdasarkan jumlah kelompok perlakuan menggunakan rumus Federer. Oleh karena terdapat 5 kelompok maka berdasarkan rumus Federer, jumlah sampel minimal adalah:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/4$$

$$n \geq 3,75 + 1$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

t = jumlah kelompok perlakuan

Dari hasil perhitungan, jumlah sampel yang digunakan harus lebih dari 5 ekor mencit tiap kelompok. Pada penelitian ini digunakan 6 ekor mencit setiap kelompok, sehingga sudah memenuhi syarat dalam penentuan jumlah sampel yang digunakan (Arkeman dan David 2006).

Teknik sampling

Penelitian ini menggunakan teknik acak sederhana (*simple random sampling*) dengan kriteria sebagai berikut. Kriteria inklusi yaitu mencit galur *Swiss* jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 20 gram, dan tidak terdapat kelainan anatomis. Adapun kriteria eksklusi yaitu mencit mati, berat badan menurun (kurang dari 20 gram), dan mencit tidak bergerak aktif atau sakit. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor mencit yang dipilih secara acak (Imaningrum 2010).

Metode induksi nyeri *hotplate*

Prinsip kerja

Hewan uji (mencit) diletakkan di atas *hotplate* pada suhu tertentu yang merupakan suhu hasil homogenisasi mencit pertama kali menjingkat. Stimulus nyeri berupa panas pada mencit akan menimbulkan respons dalam bentuk mengangkat atau menjingkatkan kaki depan (Husniana 2010).

Pengukuran efek analgesik

Pengukuran efek analgesik berupa reaksi mencit terhadap rangsang panas *hotplate*, yaitu frekuensi jingkatan mencit dalam 5 menit. Mencit disebut menjingkat apabila mengangkat kedua kaki depannya atau meloncat ke atas (Husniana 2010).

Hasil pengukuran

Efek analgesik dinyatakan positif jika frekuensi jingkatan mencit setelah pemberian obat atau bahan uji lebih sedikit dibandingkan sebelum pemberian (Husniana 2010).

Cara kerja

Pembuatan ekstrak daun sirih merah

Daun sirih merah didapatkan di Desa Margoagung, Seyegan, Sleman, Yogyakarta. Daun segar yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda diambil kemudian dicuci dan dibilas dengan akuades untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya daun sirih merah dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 45°C selama 24 jam kemudian dibuat serbuk. Serbuk daun sirih merah dilarutkan dalam etanol

70%, diaduk selama 30 menit, didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring. Proses tersebut diulang sebanyak 3 kali hingga diperoleh filtrat serta ampas. Filtrat diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dan pemanas *waterbath* pada suhu 70°C. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian dituang ke dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan *waterbath* sambil terus diaduk. Ekstrak kental berwujud liat pada kondisi dingin dan tidak dapat dituang dengan kandungan air sekitar 30% (Voigt 1994). Pembuatan ekstrak daun sirih merah dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.

Perlakuan ekstrak daun sirih merah

Mencit dipuaskan ±18 jam sebelum perlakuan, namun air minum tetap diberikan setelah diadaptasikan selama ±3 hari di tempat percobaan. Kemudian, mencit ditimbang berat badannya, kemudian dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor mencit. Masing-masing kelompok perlakuan terlebih dahulu dilakukan homogenisasi dengan cara diletakkan di atas *hotplate*, dicatat pada suhu berapa mencit pertama kali menjingkat, kemudian ditentukan suhu rata-rata. Hasil yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai suhu *hotplate* sesudah mencit diberi perlakuan, yang berarti pada suhu tersebut dianggap semua mencit sudah mulai menjingkat sebagai upaya menghindari dari rasa nyeri. Setelah 5-10 menit, masing-masing kelompok diberi perlakuan yaitu pemberian akuades sebagai kontrol negatif (Kelompok I), aspirin dosis 1,3 mg/20 g BB (Kelompok II), ekstrak daun sirih merah dosis I sebanyak 3,64 mg/20 g BB (Kelompok III), ekstrak daun sirih merah dosis II sebanyak 7,28 mg/20 g BB (Kelompok IV), serta ekstrak daun sirih merah dosis III sebanyak 14,56 mg/20 g BB (Kelompok V). Setelah 2 jam, mencit diletakkan di atas *hotplate*. Tiap mencit diletakkan di atas *hotplate* pada suhu hasil homogenisasi, lalu dihitung frekuensi mencit menjingkat selama 5 menit. Semua data yang diperoleh ditabulasi, dibuat rata-rata, dan dievaluasi (Ngatidjan 1991).

Penentuan dosis

Dosis aspirin

Berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan uji dari berbagai spesies dan manusia, konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg pada mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis aspirin yang dipakai untuk orang dewasa adalah 500 mg, dengan demikian dosis aspirin untuk mencit = 500 mg x (0,0026/20 g BB mencit) = 1,3 mg/20 g BB mencit (Ngatidjan 1991).

Dosis ekstrak daun sirih merah

Volume maksimal yang dapat diberikan secara per oral pada mencit adalah 1 ml/20 g BB (Ngatidjan 1991). Jadi, dalam memperkirakan dosis ekstrak daun sirih merah yang akan diujikan tidak boleh melebihi 1 ml/20 g BB. Safithri dan Fahma (2008) telah melakukan penelitian uji toksisitas dengan menggunakan ekstrak daun sirih merah dan diperoleh hasil bahwa dengan dosis 20 g/kg BB air rebusan

daun sirih merah ternyata tidak toksik bagi tubuh. Subarnas et al. (2009) telah melakukan penelitian menggunakan ekstrak daun sirih merah dengan dosis 1000 mg/kg BB. Faktor konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg pada mencit dengan berat badan 20 g adalah sebesar 0,0026, sedangkan angka 50 bertujuan untuk penyesuaian dengan berat badan rata-rata manusia dewasa di Indonesia (Ngatidjan 1991).

$$\begin{aligned} \text{Dosis uji} &= Y \text{ gram} \times 0,0026 \times (70/50) \\ &= X \text{ gram} \end{aligned}$$

Keterangan:

Y = dosis ekstrak daun sirih merah yang digunakan

X = dosis ekstrak daun sirih merah hasil konversi pada mencit

Konversi dosis ekstrak daun sirih merah pada mencit dengan berat badan 20 gr yaitu: Dosis = 1000 mg x 0,0026 x (70/50) = 3,64 mg.

Dosis yang digunakan untuk menilai pengaruh analgesik daun sirih merah dalam penelitian ini yaitu 3,64 mg, 7,28 mg, dan 14,56 mg dalam 0,5 ml larutan ekstrak daun sirih merah untuk disondekan ke mencit setiap kali pemberian.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Anova dan dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* jika terdapat perbedaan yang signifikan pada uji Anova. Persyaratan Anova yang harus dipenuhi adalah data harus terdistribusi normal dan variansinya bersifat homogen (Dahlan 2008). Sebaran (distribusi) data normal dapat dianalisis dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk. Uji Shapiro-Wilk dipilih karena jumlah sampel kurang dari 50. Varians data dianalisis menggunakan uji homogenitas *Levene Statistic*.

Uji Anova adalah uji untuk menentukan perbedaan pengaruh antarperlakuan, sedangkan pada *Post-Hoc Test* digunakan uji LSD untuk membandingkan rerata frekuensi jingkatan antara kelompok perlakuan, sehingga dapat diketahui signifikansi perbedaan antarkelompok ($\alpha=0,05$) dan perlakuan yang lebih berpengaruh. Analisis statistik diolah dengan menggunakan program *SPSS 17.0 for Windows Evaluation Version*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Setelah dilakukan penelitian eksperimental mengenai pengaruh analgesik ekstrak daun sirih merah secara per oral pada mencit, diperoleh hasil seperti yang disajikan pada Tabel 1. Suhu rata-rata sebesar 42°C, dengan demikian suhu *hotplate* yang digunakan untuk penelitian adalah sebesar 42°C.

Hasil penelitian yang diperoleh kemudian dilakukan uji statistik dengan uji Anova yang kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk menunjukkan adanya perbedaan frekuensi jingkatan antarperlakuan. Syarat yang harus dipenuhi untuk dilakukan uji Anova adalah kesamaan varians yang diperiksa dengan uji homogenitas varians dan uji normalitas.

Tabel 1. Hasil homogenisasi suhu *hotplate* (suhu saat pertama kali mencit menjingkat)

Mencit	Suhu (°C)
1	40
2	40
3	42
4	45
5	40
6	43
7	40
8	44
9	40
10	45
11	42
12	40
13	40
14	45
15	40
16	40
17	43
18	45
19	40
20	40
21	41
22	40
23	45
24	41
25	45
26	40
27	40
28	40
29	44
30	40
Jumlah	1250
Rata-rata	42

Tabel 2. Jumlah jangkitan mencit selama 5 menit pada suhu 42°C berdasarkan kelompok perlakuan

Mencit	K1	K2	K3	K4	K5
1	97	64	76	47	56
2	105	75	80	59	47
3	89	56	63	71	40
4	81	49	94	46	71
5	94	61	74	50	43
6	99	42	87	61	64
Jumlah	565	347	474	334	321
Rata-rata	94,17	57,83	79	56,67	53,5

Keterangan: K1 = Kelompok kontrol negatif (diberi akuades), K2 = kelompok kontrol positif (pemberian aspirin dosis 1,3/20 g BB), K3 = kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun sirih merah dosis 3,64 mg/20 g BB, K4 = kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun sirih merah dosis 7,28 mg/20 g BB, K5 = kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun sirih merah dosis 14,56 mg/20 g BB.

Tabel 3. Rekapitulasi hasil uji normalitas (uji Saphiro-Wilk)

Kelompok perlakuan	P
Akuades	0,959
Aspirin	0,993
Dosis 1	0,983
Dosis 2	0,437
Dosis 3	0,624

Tabel 4. Hasil perhitungan uji Anova pada perbandingan antara kelima kelompok perlakuan

Sumber Variasi	Db	DK	MK	Fh	Sig.
Antar kelompok	4	7628,467	1907,117	16,809	0,000
Dalam kelompok	25	2836,500	113,460		
Jumlah	29	10464,967			

Keterangan: Db = Derajat kebebasan, Dk = jumlah kuadrat, Mk = mean kuadrat, F_h = F_{hitung}, Sig. = signifikansi.

Tabel 5. Rekapitulasi hasil uji LSD antar kelompok perlakuan

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Beda Mean (I-J)	Standard Error	P	H ₀
Akuades	Aspirin	36,333*	6,150	0,000	Ditolak
	Dosis 1	15,167*	6,150	0,021	Ditolak
	Dosis 2	38,500*	6,150	0,000	Ditolak
	Dosis 3	40,663*	6,150	0,000	Ditolak
Aspirin	Akuades	-36,333*	6,150	0,000	Ditolak
	Dosis 1	-21,167*	6,150	0,002	Ditolak
	Dosis 2	2,167	6,150	0,728	Diterima
	Dosis 3	4,333	6,150	0,488	Diterima
Dosis 1	Akuades	-15,167*	6,150	0,021	Ditolak
	Aspirin	21,167*	6,150	0,002	Ditolak
	Dosis 2	23,333*	6,150	0,001	Ditolak
	Dosis 3	25,500*	6,150	0,000	Ditolak
Dosis 2	Akuades	-38,500*	6,150	0,000	Ditolak
	Aspirin	-2,167	6,150	0,728	Diterima
	Dosis 1	-23,333*	6,150	0,001	Ditolak
	Dosis 3	2,167	6,150	0,728	Diterima
Dosis 3	Akuades	-40,667*	6,150	0,000	Ditolak
	Aspirin	-4,333	6,150	0,488	Diterima
	Dosis 1	-25,500*	6,150	0,000	Ditolak
	Dosis 2	-2,167	6,150	0,728	Diterima

Uji normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui populasi data terdistribusi normal atau tidak (Priyanto 2009). Angka $p > 0,05$ menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji Saphiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50. Hasil uji normalitas yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan nilai probabilitas $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa populasi data terdistribusi normal.

Uji homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui varian populasi bersifat homogen atau tidak. Uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene Statistic*. Nilai signifikansi lebih dari 0,05 berarti bahwa varian dari dua atau lebih kelompok data bersifat homogen (Priyanto 2009). Pada uji homogenitas, varians menunjukkan signifikansi sebesar 0,791. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 yang menunjukkan adanya variasi yang bersifat homogen.

Uji Anova

Uji Anova digunakan untuk mengetahui perbedaan *mean* dari kelompok perlakuan dan kelompok waktu pengukuran. Dengan uji Anova menggunakan *SPSS 17.0 for Windows* didapatkan hasil seperti yang disajikan pada Tabel 4. Dasar pengambilan keputusan uji Anova sebagai berikut: (i) H_0 = rata-rata populasi dari kelima kelompok perlakuan adalah sama. (ii) H_1 = rata-rata populasi kelima kelompok perlakuan adalah tidak sama. Jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak atau faktor berpengaruh, sebaliknya jika $p > 0,05$ maka H_0 diterima atau faktor tidak berpengaruh. Hasil uji yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antarkelompok, karena seluruhnya mempunyai nilai p yang lebih kecil dari 0,05.

Uji Post-Hoc

Analisis perbandingan dengan uji *post-hoc* dilakukan untuk membandingkan *mean difference* dari kelima kelompok untuk mengetahui *mean pasangan* yang berbeda di antara pasangan kelompok yang diuji. Pada penelitian ini digunakan prosedur *Least Significance Difference (LSD)*, karena subjek penelitian menunjukkan varians yang sama dalam uji homogenitas varians. Dengan uji LSD didapatkan hasil seperti yang disajikan pada Tabel 5.

Kriteria uji dari pasangan kelompok perlakuan yang diuji dikatakan terdapat perbedaan jumlah jingkitan yang nyata apabila nilai p lebih kecil dari 0,05. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol negatif; kelompok perlakuan dosis I, II, dan III menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol negatif; kelompok perlakuan dosis I menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol positif; kelompok perlakuan dosis II dan III tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol positif; kelompok perlakuan dosis I dan II menunjukkan perbedaan yang nyata satu sama lain; kelompok perlakuan dosis I dan III menunjukkan perbedaan yang nyata satu sama lain; serta kelompok perlakuan dosis II dan III tidak menunjukkan perbedaan yang nyata satu sama lain.

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui ada atau tidaknya efek analgesik ekstrak daun sirih merah serta efektivitasnya dalam menurunkan rasa nyeri dibandingkan dengan aspirin. Untuk kontrol positif digunakan aspirin, sedangkan pada kontrol negatif digunakan akuades. Pemberian aspirin yang merupakan obat analgesik oral sebagai kontrol positif bertujuan untuk melihat perbedaan pengaruh aspirin dalam menurunkan nyeri pada mencit dibandingkan dengan ekstrak daun sirih merah. Pada penelitian ini digunakan aspirin sebagai faktor pembanding, karena aspirin merupakan prototipe dan standar untuk pengujian obat sejenis (Wilmana 2007).

Flavonoid dan minyak atsiri yang terkandung dalam daun sirih merah (Sudewo 2010) menjadi dasar utama dalam penelitian ini. Pada penelitian-penelitian sebelumnya dikatakan bahwa kedua zat tersebut dapat ditemukan pada berbagai jenis tanaman serta memiliki efek analgesik. Dari

hasil penelitian-penelitian tersebut maupun penelitian sebelumnya maka diharapkan flavonoid dan minyak atsiri yang terkandung dalam daun sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini juga memiliki efek analgesik dalam menghambat terbentuknya enzim siklooksigenase, sehingga dapat menghambat sintesis prostaglandin yang merupakan mediator yang terbentuk lebih banyak dalam timbulnya rasa nyeri, menstabilisasi reseptor nyeri, dan menjadi penentu lamanya nyeri (Middleton et al. 2000).

Untuk mengetahui efektivitas pengaruh analgesik ekstrak daun sirih merah maka pada penelitian ini digunakan metode *hotplate*. Rangsangan panas yang dihasilkan *hotplate* akan menimbulkan rasa nyeri jika melampaui suatu nilai ambang nyeri, sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan dengan pembebasan mediator nyeri, misalnya prostaglandin. Mediator nyeri inilah yang menyebabkan terangsangnya reseptor nyeri. Menurut Fields (1999), nilai ambang nyeri berbeda-beda untuk masing-masing individu. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian pada Tabel 2 yang menunjukkan bahwa terdapat variasi jumlah jingkitan pada setiap mencit meskipun dalam satu kelompok perlakuan yang sama. Perbedaan tersebut terjadi karena tiap-tiap individu memiliki variasi fisik dan psikis yang berbeda seperti kondisi lambung, variasi kepekaan terhadap rangsang panas, serta adanya zat perangsang dan penghambat nyeri endogen.

Berdasarkan hasil pada Tabel 2, dapat dilihat jumlah jingkitan tiap mencit pada setiap kelompok perlakuan selama 5 menit. Jumlah jingkitan mencit menunjukkan kuat lemahnya nyeri yang dirasakan akibat panas yang diberikan. Semakin sedikit jumlah jingkitan mencit berarti nyeri yang dirasakan semakin lemah, atau dengan kata lain semakin kuat efek analgesik perlakuan yang diberikan. Secara umum, terdapat penurunan jumlah jingkitan yang nyata antara ketiga dosis ekstrak daun sirih merah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Adanya pengurangan jumlah jingkitan pada mencit dikarenakan ekstrak daun sirih merah kaya akan flavonoid dan minyak atsiri. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Begorod (2006) yang menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas analgesik pada inflamasi mukosa faringeal tikus.

Dari hasil yang diperoleh kemudian dilakukan uji statistik dengan uji Anova. Pada uji Anova didapatkan nilai $p < 0,05$. Hasil statistik tersebut menunjukkan terdapat perbedaan frekuensi jingkitan yang signifikan antara kelima kelompok perlakuan. Hasil tersebut juga didukung oleh hasil uji LSD pada Tabel 5 yang menunjukkan berbagai perbandingan antar masing-masing kelompok perlakuan. Kelompok dosis I, II, dan III memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kontrol negatif. Hal itu berarti ekstrak daun sirih merah dosis I, II, dan III memiliki efek analgesik. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Subarnas (2009) dimana pada penelitian tersebut menggunakan ekstrak daun sirih merah dan memperlihatkan efek antiinflamasi yang signifikan pada tikus dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Salah satu tanda adanya inflamasi adalah timbulnya rasa nyeri, sehingga dari penelitian Subarnas

(2009), dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki potensi dalam mengurangi nyeri atau efek analgesik (Syariefa 2006).

Kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah dosis II dan III menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap aspirin. Hal ini berarti bahwa efek analgesik ekstrak daun sirih merah dosis 7,28 mg/20 g BB dan 14,56 mg/20 g BB memiliki efektivitas yang sebanding dengan aspirin dosis 1,3 mg/20 g BB. Apabila dicermati lebih lanjut, kedua dosis tersebut juga tidak memiliki hasil yang signifikan satu sama lain. Hal tersebut diduga karena dosis II merupakan dosis yang optimal dalam menimbulkan efek analgesik, sehingga penambahan dosis tidak berpengaruh dalam menurunkan ambang nyeri dari mencit itu sendiri. Selain hal tersebut, faktor lain juga dapat mempengaruhi hasil dari penelitian ini, antara lain ekstrak daun sirih merah tidak hanya mengandung flavonoid dan minyak atsiri yang berpengaruh dalam menimbulkan efek analgesik, tetapi juga mengandung zat-zat lain yang diduga dapat mengganggu interaksi antara flavonoid dan minyak atsiri terhadap reseptor nyeri.

KESIMPULAN

Ekstrak daun sirih merah pada dosis 3,64 mg/20 g BB mempunyai efektivitas analgesik lebih lemah dibandingkan dengan aspirin dosis 1,3 mg/20 g BB pada mencit. Ekstrak daun sirih merah pada dosis 7,28 mg/20 g BB dan 14,56 mg/20 g BB mempunyai efektivitas analgesik setara dengan aspirin 1,3 mg/20 g BB pada mencit. Dosis 7,28 mg/20 g BB adalah dosis ekstrak daun sirih merah terkecil yang memiliki efektivitas setara dengan aspirin pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Arkeman H dan David D. 2006. Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok. *Universa Medisina* 25 (2): 61-66.
- Begorod BM. 2006. Analgesic and anti-inflammatory compositions and methods with flavonoid glycoside-type compounds. United States Patent Application 20080171708.
- Dahlan S. 2008. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Salemba Medika, Jakarta.
- Dwiprahasto I. 2002. Penggunaan Analgetika dan Antiinflamasi Non Steroid secara Rasional dalam Epidemiologi dan Masalah Penggunaan Analgetika dan Antiinflamasi Non Steroid. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Fields HL, Martin JB. 1999. Prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam. Volume 1. EGC, Jakarta.
- Husniana I. 2010. Efek Analgesik Air Perasan Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) pada Mencit. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Imaningrum N. 2010. Pengaruh Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) Terhadap Jumlah Geliatan Mencit Balb/C yang Diinduksi Asam Asetat. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Indriani Y.H, Herminati M.M, Lasmadiwati E. 2003. Pegagan. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Katno dan Pramono S. 2002. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Lenny S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Middleton E, Chithan K, Theoharis C. 2000. The Effects of Plants Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, Massachusetts.
- Ngatidjan. 1991. Dasar-dasar Uji Laboratorium dalam Toksikologi dalam Metode Laboratorium dalam Toksikologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Ning H. 2004. Mahkota Dewa Obat Pusaka Para Dewa. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Priyanto, Dwi. 2009. Mandiri Belajar SPSS (Statistic Product and Service Solution) untuk Analisis Data dan Uji Statistik Bagi Mahasiswa dan Umum, Cet. 3. MediaKom, Yogyakarta.
- Safithri M, Fahma F. 2008. Potency of *Piper crocatum* decoction as an antihyperglycemia in rat strain Sprague Dawley. *Hayati J Biosci* 15 (1): 45-48.
- Soelistiono. 2008. Analgesics in Dental Pain. Bagian Ilmu Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Subarnas A, Yasmiwar S, Elis M. 2009. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah Pada Tikus Putih Jantan. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjan, Sumedang.
- Sudewo B. 2010. Basmi Penyakit dengan Sirih Merah. Argomedia, Jakarta.
- Syariefa E. 2006. Resep Sirih Wulung untuk Putih Merona Hingga Kanker Ganas. *Majalah Trubus* No.434, tahun XXXVII Januari 2006: 88.
- Taufiqurohman M.A. 2004. Pengantar Metodologi Penelitian Untuk Ilmu Kesehatan. CSGF, Klaten.
- Tjay T.H. dan Rahardja K. 2007. Obat-obat Penting, Khasiat dan Penggunaannya, Edisi V. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Voigt R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- WHO. 2003. Traditional Medicine. WHO, Rome.
- Wijayakusuma H. 2000. Potensi Tumbuhan Obat Asli Indonesia Sebagai Produk Kesehatan. BATAN, Jakarta
- Wilmana P.F. 2007. Analgesik, Antipiretik, Analgesik, Anti-Inflamasi Nonsteroid, dan Obat Pirai. Dalam: Ganiswarna SG. (ed.) IV. Farmakologi dan Terapi. FKUI, Jakarta.
- Wirjoatmojo K. 2000. Anestesiologi dan Reanimasi Modul Dasar untuk Pendidikan S1 Kedokteran. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta.

Efektivitas ekstrak biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan biji bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dalam pengendalian hama buah kakao

Effectiveness of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) and bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) seed extracts for controlling fruit pest in cocoa

FAZRIA NUGRAHAENI, RETNO WIJAYANTI, Y.V. PARDJO NOTOSANDJOJO

Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 4 Juli 2012. Revisi disetujui: 8 Desember 2012.

Abstract. Nugrahaeni F, Wijayanti R, Notosandjojo YVP. 2013. Effectiveness of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) and bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) seed extracts for controlling fruit pest in cocoa. *Biofarmasi* 11: 7-12. Cocoa is one plantation commodity whose role is quite important for the national economy. Nevertheless, the agribusiness of cocoa in Indonesia still had many complex problems, such as a low productivity that caused by pest and disease. *Conopomorpha cramerella*, or known in Indonesia as Cocoa Pod Borer (CPB), is one of the major pests of the most destructive pest in cocoa. Fruit-sucking pest of *Helopeltis antonii* is a major obstacle for the cultivation of cocoa in addition to CPB in Indonesia. The using of chemical pesticides can cause negative impacts for human, such as pest resistance, toxicity and environmental pollution. This study was to determine the effect of mahkota dewa and bengkuang seed extracts against *C. cramerella* (CPB) and *Helopeltis antonii*. The research was conducted in September 2010 until January 2011 in the cocoa plantation of Wakah Village, Ngrambe Subdistrict, Ngawi. The research included the making of mahkota dewa and bengkuang seed extracts, the sample selection, and the testing of sampel. The observed variabel of research included the symptoms of CPB attack, the percentage of cocoa beans damage caused by CPB, the symptoms of *H. antonii* attack, the percentage of fruit damage, the number of nymph and imago of *H. antonii* and other pests. The observation data were analyzed descriptively and by t-test. The results showed that mahkota dewa and bengkuang seed extracts had no significant effect on the CPB and *Helopeltis antonii* attack. The damage of cocoa pods largely caused by black pod disease of *Phytophthora palmivora*.

Keywords: Cocoa, fruit pest, *Pachyrhizus erosus*, *Phaleria macrocarpa*, seed extract

PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan yang peranannya cukup penting bagi perekonomian nasional. Peranan komoditas kakao khususnya sebagai penyedia lapangan kerja, sumber pendapatan, dan devisa negara. Komoditas kakao juga berperan dalam mendorong pengembangan wilayah dan pengembangan agroindustri. Perkebunan kakao di Indonesia mengalami perkembangan pesat sejak awal tahun 1980-an. Pada tahun 2002, areal perkebunan kakao di Indonesia tercatat seluas 914.051 ha, dimana sebagian besar (87,4%) dikelola oleh rakyat, sedangkan sisanya yaitu sekitar 6,0% merupakan areal perkebunan negara dan sekitar 6,7% merupakan areal perkebunan swasta. Jenis tanaman kakao yang diusahakan di Indonesia sebagian besar adalah jenis kakao lindak dengan sentra produksi utama di Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Sulawesi Tengah (Balitbang Pertanian 2005).

Peluang pasar kakao di Indonesia cukup terbuka lebar, baik untuk ekspor maupun kebutuhan dalam negeri. Dengan kata lain, potensi industri kakao sebagai salah satu pendorong pertumbuhan dan distribusi pendapatan cukup terbuka lebar. Meskipun demikian, agribisnis kakao di Indonesia masih menghadapi berbagai masalah kompleks,

antara lain produktivitas perkebunan kakao yang masih rendah akibat serangan hama dan penyakit.

Conopomorpha cramerella, atau yang dikenal di Indonesia sebagai Penggerek Buah Kakao (PBK), merupakan salah satu hama utama yang paling merusak tanaman kakao. Serangan PBK dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi petani. Serangan PBK dapat mengakibatkan kuantitas hasil panen menurun. Kualitas hasil panen juga menurun akibat menurunnya mutu fisik biji, meningkatnya kandungan sampah dan kandungan kulit ari, serta menurunnya rendemen dan berat jenis biji kakao. Serangan PBK juga mengakibatkan biaya panen meningkat karena biji-biji yang lengket sehingga sangat sulit dipanen (Maya et al. 2006).

Hama pengisap buah *Helopeltis antonii* merupakan kendala utama selain PBK pada budi daya kakao di Indonesia. Hama tersebut menimbulkan kerusakan dengan cara menusuk dan mengisap cairan buah maupun tunas-tunas muda. Serangan pada buah muda umumnya menyebabkan kematian buah. Serangan pada buah berumur sedang mengakibatkan pertumbuhan buah yang abnormal, akibatnya daya hasil dan mutu kakao menurun.

Upaya pengendalian hama dan penyakit pada kakao pada umumnya telah dilakukan oleh petani dengan berbagai cara, namun penggunaan pestisida masih tetap

merupakan tumpuan utama. Penggunaan pestisida masih dilakukan oleh petani secara intensif dan belum sesuai dengan anjuran pengendalian hama terpadu (PHT). Hal ini dapat mengganggu kestabilan ekosistem, sehingga dapat menimbulkan ledakan serangan hama lainnya.

Penggunaan pestisida kimia memang efektif dalam membunuh organisme sasaran, akan tetapi dapat menimbulkan dampak negatif yang merugikan. Resistensi hama sasaran terhadap insektisida kimia merupakan salah satu dampak negatif yang sangat merugikan bagi manusia. Selain resistensi hama sasaran terhadap insektisida, efek negatif lainnya yaitu terjadinya resurgensi hama sasaran, terbunuhnya serangga bukan sasaran (serangga penyerbuk, parasitoid, dan predator), pencemaran lingkungan, dan keracunan pada ternak bahkan manusia. Salah satu cara untuk mengurangi dampak negatif tersebut yaitu dengan digunakannya pestisida nabati, diantaranya ekstrak daun, buah, atau biji-bijian.

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) merupakan tanaman perdu dari suku Thymelaceae yang tumbuh subur di dataran rendah hingga ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini beracun, sehingga sebagian orang memanfaatkan mahkota dewa sebagai racun ikan, terutama di daerah Indonesia Timur seperti Papua dan Kepulauan Solomon. Oleh karena efek racunnya maka mahkota dewa dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati.

Sementara itu, biji bengkung (*Pachyrhizus erosus*) sangat beracun karena mengandung rotenon. Racun tersebut sering dipakai untuk membunuh serangga atau menangkap ikan. Meskipun beracun, biji bengkung dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat atau pestisida nabati.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji mahkota dewa dan ekstrak biji bengkung dengan berbagai konsentrasi terhadap serangan *Conopomorpha cramerella* (PBK), serta mengetahui pengaruh ekstrak biji mahkota dewa dan ekstrak biji bengkung dengan berbagai konsentrasi terhadap serangan *Helopeltis antonii*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta dan kebun kakao milik petani di Desa Wakah, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur dengan ketinggian tempat 400 m dpl., pada bulan September 2010 sampai Januari 2011.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak biji mahkota dewa, ekstrak biji bengkung, buah kakao varietas lindak, dan akuades. Sementara itu, alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, timbangan, gelas ukur, saringan, *hand sprayer*, penggaris, kertas label, alat tulis, gunting, dan kamera.

Cara kerja

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan pengaruh pemberian pestisida nabati dengan kontrol. Penelitian ini menggunakan dua macam pestisida nabati yaitu ekstrak biji bengkung dan ekstrak biji mahkota dewa dengan berbagai konsentrasi (Tabel 1). Masing-masing perlakuan diulang lima kali, sehingga diperlukan 50 sampel buah.

Tahapan penelitian

Biji mahkota dewa diperoleh dengan cara mengupas buah mahkota dewa. Biji mahkota dewa dan biji bengkung masing-masing diblender dengan penambahan air sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian didiamkan selama 24 jam, disaring dengan saringan tahu, lalu ditambahkan 1 ml sabun cair/liter larutan sampel sebelum diaplikasikan.

Penentuan sampel dilakukan dengan memilih buah kakao dari varietas yang sama. Buah dipilih dengan ukuran panjang 10-15 cm. Buah yang dipilih yaitu buah yang tidak mengalami kerusakan atau mengalami kerusakan akibat serangan hama maksimal 10%.

Aplikasi ekstrak perlakuan pada sampel dilakukan dengan penyemprotan setiap minggu sejak buah kakao berukuran 10-15 cm hingga panen. Pengamatan dilakukan setiap minggu sebelum aplikasi hingga panen.

Variabel pengamatan

Variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu penggerek kakao, *Helopeltis*, serangan hama lain (kutu putih, ulat bulu), dan pengaruh pestisida pada buah. Pengamatan pada penggerek kakao meliputi gejala serangan PBK (jumlah lubang masuk, adanya pra-pupa, pupa, telur, imago); serta persentase kerusakan biji kakao akibat PBK (saat panen). Adapaun pengamatan pada *Helopeltis* meliputi gejala kerusakan (bercak cokelat kehitaman); persentase kerusakan buah; serta jumlah nimfa/imago yang ditemukan.

Analisis data

Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dan dengan menggunakan uji-t.

Tabel 1. Pemberian pestisida nabati ekstrak biji mahkota dewa dan ekstrak biji bengkung dengan berbagai konsentrasi

Jenis pestisida nabati	Konsentrasi ekstrak pestisida nabati				
	0%	1,5%	3%	4,5%	6%
Biji mahkota dewa	P1	P2	P3	P4	P5
Biji bengkung	P6	P7	P8	P9	P10

Keterangan:

P1 = Ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 0%

P2 = Ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 1,5%

P3 = Ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 3%

P4 = Ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 4,5%

P5 = Ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 6%

P6 = Ekstrak biji bengkung konsentrasi 0%

P7 = Ekstrak biji bengkung konsentrasi 1,5%

P8 = Ekstrak biji bengkung konsentrasi 3%

P9 = Ekstrak biji bengkung konsentrasi 4,5%

P10 = Ekstrak biji bengkung konsentrasi 6%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi lahan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di kebun kakao milik petani yang berada di pekarangan masing-masing petani di Desa Wakah, Kecamatan Ngrambe, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur dengan ketinggian tempat 400 m dpl. Jenis kakao yang ditanam oleh sebagian besar petani adalah kakao lindak (*bulk*) yang mempunyai prospek untuk dikembangkan sebagai komoditas perkebunan rakyat, karena mempunyai sifat cepat menghasilkan dan produktivitas tinggi. Pada penelitian ini digunakan sampel kakao lindak. Kakao ini mempunyai ciri habitus sedang, warna *flush* merah, bentuk buah agak bulat, ujung buah meruncing, warna buah muda merah cerah, dan warna buah masak merah jingga.

Kondisi lahan pertanaman kakao mempunyai tajuk yang rapat, karena jarang dilakukan pemangkasan, dengan sanitasi yang kurang baik, sehingga kelembapan udara cukup tinggi (Gambar 1).

Penggerek Buah Kakao (PBK)

PBK tergolong dalam ordo Lepidoptera, yaitu microlepidoptera. Meskipun PBK merupakan jenis serangga berukuran mikro, serangga tersebut memiliki daya rusak yang cukup luas karena bagian tanaman yang dirusak adalah buah kakao yang secara langsung mempengaruhi produksi dan mutu biji kakao. Serangan PBK mengakibatkan biji tidak berkembang dan satu sama lain sulit dipisahkan dengan kulit buah (Gambar 2).

Gejala serangan

Serangan PBK ditandai dengan gejala yang khas yaitu buah yang terserang PBK akan masak muda dengan pemasakan (warna kuning) tidak merata, dan pada kulit buah terdapat lubang-lubang kecil berdiameter 1 mL. Apabila buah terserang PBK dibelah maka akan tampak tanda-tanda yang khas bekas gerakan larva, seringkali larva masih dapat ditemukan di dalam buah yang terserang PBK. Biji-biji kakao pada buah yang terserang PBK akan lengket satu sama lain (Baharudin 2005).

Pada penelitian ini ditemukan gejala serangan PBK yaitu adanya lubang gerakan sebesar 1 milimeter pada sampel tanaman dengan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa konsentrasi 3% pada ulangan ke-5, perlakuan ekstrak biji bengkuang konsentrasi 4,5% pada ulangan ke-5, perlakuan ekstrak biji bengkuang konsentrasi 3% pada ulangan ke-2 dan 3, dan perlakuan ekstrak biji bengkuang konsentrasi 1,5% pada ulangan ke-5. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa serangan PBK terjadi secara acak terhadap masing-masing sampel. Perlakuan dengan pemberian ekstrak biji mahkota dewa maupun ekstrak biji bengkuang tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan gejala serangan PBK.

Saat penelitian dilakukan, serangan PBK tergolong rendah. Hal ini terjadi diduga akibat sering terjadi hujan. Populasi PBK umumnya rendah pada musim hujan (Lim 1984; Depparaba 2002).

Tingkat kerusakan buah/biji kakao (saat panen)

Kerusakan buah/biji kakao dapat dilihat saat buah sudah dipanen. Pada saat buah yang terserang PBK dibelah, biji-bijinya saling melekat dan berwarna kehitaman (Gambar 2). Biji tidak berkembang dan ukurannya lebih kecil. Selain itu, buah kakao yang terserang PBK jika digoyang tidak berbunyi. Serangan PBK menyebabkan kematian pada jaringan plasenta biji, sehingga biji tidak dapat berkembang sempurna dan menjadi lengket. Serangan pada buah muda dapat mengakibatkan kehilangan hasil yang lebih besar karena buah akan mengalami masak dini, sehingga buah tidak dapat dipanen.

Pada hasil panen ditemukan beberapa sampel yang rusak akibat serangan PBK. Serangan yang ditemukan pada sampel menunjukkan tingkat kerusakan yang berbeda (Tabel 2). Pemberian ekstrak biji mahkota dewa tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kerusakan biji buah kakao akibat serangan PBK. Dari data pada Tabel 2, kerusakan terbesar terjadi pada sampel dengan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa pada konsentrasi 3% (P3) dengan rata-rata kerusakan 22%, dan buah yang terinfeksi PBK hanya 2 sampel yaitu dari perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 3% (P3) pada ulangan pertama dan kelima. Sebelum panen, gejala PBK juga ditemukan pada perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 3% (P3) pada ulangan ke-5 dan kontrol. Pada penelitian ini, terdapat sebagian buah rusak 100% yang disebabkan oleh aktivitas organisme lain, yaitu terserang penyakit busuk buah akibat infeksi *Phytophthora palmivora*. Sampel kontrol terserang oleh penyakit busuk buah, sehingga tidak dapat diketahui pengaruh pemberian ekstrak biji mahkota dewa terhadap buah kakao.

Pemberian ekstrak biji bengkuang tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kerusakan biji buah kakao akibat serangan PBK. Dari data pada Tabel 2, kerusakan terbesar terjadi pada sampel dengan perlakuan ekstrak biji bengkuang pada konsentrasi 3% (P8) dengan rata-rata kerusakan 42%. Sebelum dipanen, gejala PBK juga ditemukan pada perlakuan ekstrak biji bengkuang 3% (P8) pada ulangan ke-2 dan ke-3. Serangan PBK hanya terjadi pada sampel pada perlakuan P8, sehingga belum dapat menunjukkan pengaruh nyata pemberian ekstrak biji bengkuang terhadap serangan PBK. Serangan PBK hanya terjadi pada sampel perlakuan P8, hal ini diduga akibat pengambilan sampel di lokasi yang berdekatan. Diduga pada lokasi tersebut, terdapat inang hama PBK, sehingga menyerang sampel yang terdapat di lokasi tersebut. Pada penelitian ini, sebagian buah rusak akibat penyakit busuk buah akibat infeksi *P. palmivora*.

Helopeltis

Gejala kerusakan

Kepik *Helopeltis* (Gambar 3) termasuk hama penting yang menyerang buah kakao dan pucuk/ranting muda. Serangan *Helopeltis* pada buah tua tidak terlalu merugikan, tetapi sebaliknya pada buah muda. Buah muda yang terserang *Helopeltis* akan mengering lalu rontok, meskipun tetap tumbuh maka permukaan kulit buah retak dan terjadi perubahan bentuk. Pada buah tua yang terserang, buah tampak penuh bercak-bercak cekung berwarna cokelat

kehitaman, selain itu kulitnya mengeras dan retak. Serangan pada pucuk atau ranting dapat menyebabkan pucuk layu dan mati, serta ranting mengering dan meranggas (Direktorat Perlindungan Perkebunan 2002).

Perbandingan rata-rata kontrol dan perlakuan terhadap kerusakan buah

Tabel 3 menunjukkan nilai perbandingan antara kontrol (P1) dengan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 1,5% (P2) sebesar 0,295, nilai perbandingan P1 dan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 3% (P3) sebesar 0,584, nilai perbandingan P1 dan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 4,5% (P4) sebesar 1,000, serta nilai perbandingan P1 dan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa 6% (P5) sebesar 0,078. Data tersebut berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol dan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa.

Sementara itu, pada perlakuan ekstrak biji bengkung, nilai perbandingan antara kontrol (P6) dengan perlakuan ekstrak biji bengkung 1,5% (P7) sebesar 0,427, nilai perbandingan P6 dan perlakuan ekstrak biji bengkung 3% (P8) sebesar 0,417, nilai perbandingan P6 dan ekstrak biji bengkung 4,5% (P9) sebesar 0,482, serta nilai perbandingan P6 dan perlakuan ekstrak biji bengkung 6% (P10) sebesar 0,806. Data tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol dan perlakuan ekstrak biji bengkung.

Tabel 2. Data kerusakan biji buah kakao setelah panen dengan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa dan bengkung

Perlakuan	Konsentrasi ulangan ke- (%)					
	1	2	3	4	5	6
Mahkota dewa						
P1	-	-	-	-	-	-
P2	0	-	0	0	0	0
P3	20	0	0	0	90	22
P4	0	0	0	0	0	0
P5	0	0	-	0	0	0
Bengkung						
P6	0	-	-	-	-	0
P7	0	-	0	-	0	0
P8	10	70	90	-	40	42
P9	0	-	0	0	-	0
P10	0	-	-	0	-	0

Keterangan: P1-P10 merujuk pada Tabel 1

Tabel 3. Perbandingan rata-rata kontrol dan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa dan ekstrak biji bengkung terhadap kerusakan buah kakao

Perlakuan	Nilai perbandingan	N
P1∞P2	0,295	5
P1∞P3	0,584	5
P1∞P4	1,000	5
P1∞P5	0,078	5
P6∞P7	0,427	5
P6∞P8	0,417	5
P6∞P9	0,482	5
P6∞P10	0,805	5

Keterangan: P1-P10 merujuk pada Tabel 1



Gambar 1. Lahan kebun kakao petani



Gambar 2. Kerusakan biji kakao akibat serangan PBK



Gambar 3. Hama *Helopeltis*: nimfa (kiri) dan imago (kanan)



Gambar 4. Kakao terserang penyakit buah busuk.

Perkembangan kerusakan buah akibat serangan *Helopeltis antonii*

Buah yang terserang *H. antonii* menunjukkan bekas tusukan berupa bercak-bercak hitam pada permukaan buah. Pada serangan berat, seluruh permukaan buah dipenuhi oleh bekas tusukan berwarna hitam dan kering (Atmadja 2003).

Gambar 5 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji mahkota dewa dapat menghambat serangan *H. antonii*. Perkembangan serangan *H. antonii* pada sampel yang diberi perlakuan lebih rendah dibandingkan sampel kontrol. Secara deskriptif, faktor konsentrasi larutan tidak berpengaruh terhadap perkembangan serangan *H. antonii*. Pada Gambar 5 belum menunjukkan konsentrasi yang paling efektif, masing-masing konsentrasi menunjukkan tingkat perkembangan kerusakan yang hampir sama.

Biji mahkota dewa mengandung senyawa beracun kuat. Biji tersebut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol, dan saponin (Winarto 2003). Senyawa polifenol dan saponin berfungsi sebagai *antifeedant*. Di antara senyawa-senyawa alkaloid tersebut, terdapat dopamin, serotonin, dan asetilkolin yang berfungsi mirip *neurotransmitter* pada sistem saraf. Kandungan senyawa racun yang terkandung dalam biji mahkota dewa diduga dapat menghambat serangan *H. antonii*.

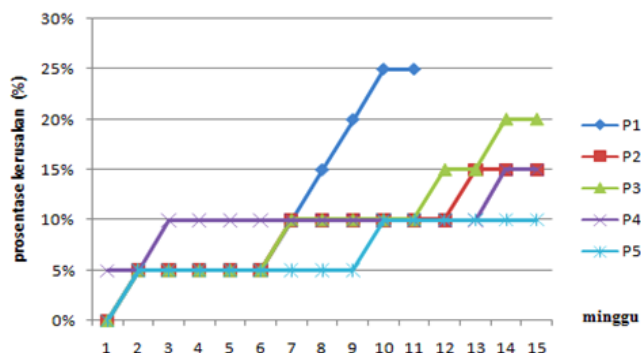
Gambar 6 menunjukkan tingkat perkembangan serangan *H. antonii* pada masing-masing konsentrasi. Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa tingkat konsentrasi ekstrak kurang berpengaruh terhadap serangan *H. antonii*. Hal ini diduga karena pada saat penelitian sering terjadi hujan sehingga menyebabkan pengaruh pemberian insektisida tidak berlangsung lama.

Pada penelitian ini, sampel terserang penyakit busuk buah *P. palmivora*. Hal ini menyebabkan waktu panen yang tidak dapat serempak. Sampel kontrol yang terserang penyakit busuk buah mengalami kerusakan mencapai

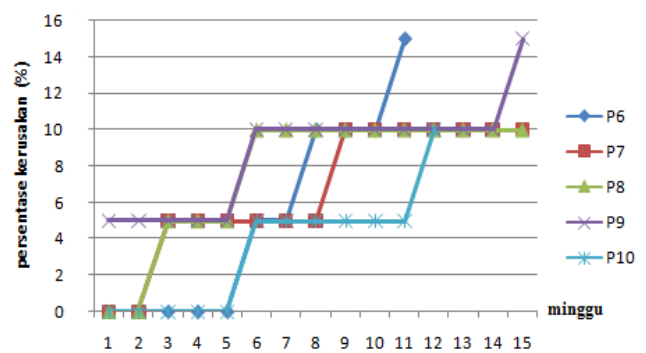
100%, sehingga buah dipanen lebih awal. Penyakit busuk buah terjadi akibat infeksi *P. palmivora*. Penyakit ini sangat cepat berkembang pada musim penghujan. Pada saat penelitian dilakukan, sering terjadi hujan, sehingga memacu perkembangan dan penyebaran penyakit busuk buah. Buah sakit yang tidak dibuang atau dimusnahkan dapat menjadi sumber inokulum yang dapat menular ke buah yang masih sehat. *Helopeltis* merupakan salah satu vektor penularan penyakit busuk buah. Aktivitas *Helopeltis* yang berpindah dari satu buah ke buah yang lain menyebabkan buah yang sehat tertular penyakit busuk buah.

Jumlah nimfa/imago yang ditemukan

Helopeltis antonii termasuk dalam ordo Hemiptera, famili Miridae. Serangga ini bertubuh kecil dan ramping dengan tanda spesifik yaitu adanya tonjolan berbentuk jarum pada mesoskutelum (Atmadja 2003). Telur *H. antonii* berwarna putih dan berbentuk lonjong, diletakkan pada tangkai buah, jaringan kulit buah, tangkai daun muda, atau ranting. Nimfa mempunyai 5 instar. *Helopeltis antonii* dewasa mampu bertelur hingga 200 butir. Kehidupan *H. antonii* dipengaruhi oleh cahaya, sehingga apabila terlalu panas, nimfa muda akan berpindah ke pupus tanaman, sedangkan fase dewasanya akan berlindung ke sela-sela daun yang berada di sebelah dalam (Direktorat Perlindungan Perkebunan 2002). Dari hasil pengamatan yang dilakukan setiap seminggu sekali, hanya sekali ditemukan seekor nimfa yaitu pada perlakuan ekstrak biji benguang pada konsentrasi 3% (P8). Diperkirakan pada saat pengamatan, nimfa *H. antonii* berada di sela-sela daun. *Helopeltis antonii* merusak tanaman pada pagi atau sore hari. Pada siang hari atau saat intensitas cahaya matahari tinggi, *H. antonii* bersembunyi di balik daun atau tempat yang tersembunyi lainnya, sehingga pada saat pengamatan jarang ditemukan nimfa atau imago *H. antonii*.



Gambar 5. Perkembangan kerusakan buah akibat serangan *Helopeltis* dengan perlakuan ekstrak biji mahkota dewa



Gambar 6. Perkembangan kerusakan buah akibat serangan *Helopeltis* dengan perlakuan ekstrak biji benguang.

Hama lain

Pada penelitian ini, ditemukan aktivitas organisme lain yaitu kutu putih dan ulat bulu, namun tidak begitu berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan buah kakao. Pada penelitian ini, ditemukan penyakit busuk buah (Gambar 4). Penyakit ini disebabkan oleh jamur *P. palmivora*. Penyakit busuk buah menyerang sebagian besar buah kakao, termasuk sampel penelitian. *Phytophthora palmivora* mengakibatkan buah busuk pada kakao. Buah yang terserang mempunyai bagian yang menghitam. *Phytophthora palmivora* ditularkan antar buah oleh serangga berupa semut dan kumbang, atau akibat kelembapan udara yang tinggi misalnya oleh tetesan air hujan (Konam et al. 2009). Buah yang terserang nampak bercak-bercak cokelat kehitaman, biasanya dimulai dari pangkal, tengah, atau ujung buah (Gambar 4). Apabila kondisi kebun lembap maka bercak-bercak tersebut akan meluas dengan cepat ke seluruh permukaan buah, sehingga buah menjadi busuk, kehitaman, dan apabila ditekan dengan jari akan terasa lembek dan basah (Direktorat Perlindungan Perkebunan 2002).

Penyakit busuk buah sangat cepat menyebar. Pada penelitian ini, kerusakan buah akibat busuk buah *P. palmivora* merupakan penyebab kerusakan buah yang paling besar. Hal ini diperkirakan disebabkan karena saat penelitian dilakukan sering terjadi hujan. Selain itu, penularan infeksi juga dapat disebabkan oleh adanya aktivitas serangga seperti *H. antonii* yang menjadi vektor penularan penyakit. Buah yang sakit atau telah terinfeksi juga dapat menjadi sumber inokulum. Oleh karena itu, buah yang terinfeksi penyakit busuk buah harus segera dimusnahkan agar tidak menular ke buah yang lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak biji mahkota dewa dan ekstrak biji bengkung tidak menunjukkan pengaruh terhadap tingkat serangan PBK dan *H. antonii*. Kerusakan buah kakao sebagian besar disebabkan oleh penyakit busuk buah akibat infeksi *P. palmivora*.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmadja WR. 2003. Status *Helopeltis antonii* sebagai hama pada beberapa tanaman perkebunan dan pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian* 22(2): 57-63
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. Prospek dan arah pengembangan agribisnis kakao di Indonesia. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Baharudin. 2005. Pengendalian hama penggerek buah kakao. *Buletin Teknologi dan Informasi Pertanian* 8-12.
- Depparaba F. 2002. Penggerek buah kakao (*Conopomorpha cramerella*) dan penanggulangannya. *Jurnal Litbang Pertanian* 21(2): 69-74.
- Direktorat Perlindungan Perkebunan. 2002. Musuh alami, hama dan penyakit tanaman kakao. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Konam J, Namaliu Y, Daniel R et al. 2009. Pengelolaan hama dan penyakit terpadu untuk produksi kakao berkelanjutan: Panduan pelatihan untuk petani dan penyuluh. Monograf ACIAR No. 131A, ACIAR, Canberra, Australia.
- Lim GT. 1984. The behavioral studies on cocoa podborer *Acrocercops cramerella* (Snellen). Ninth International Cocoa Research Conference, Togo.
- Maya DIT, Priyono, Ruzelfin et al. 2006. Pedoman teknis pengendalian hama Penggerek Buah Kakao (PBK) pada tanaman kakao. Dirjen Perkebunan, Departemen Pertanian.
- Winarto WP. 2003. Mahkota dewa budidaya dan pemanfaatan untuk obat. Penebar Swadaya, Jakarta.

Penambahan berbagai jenis madu sebagai alternatif pemanis minuman sari buah naga putih (*Hylocereus undatus*)

Addition of various types of honey as alternative sweetener in white dragon (*Hylocereus undatus*) juice drink

SOLEH PURWONO AJI, R. BASKARA KATRI ANANDITO, EDHI NURHARTADI

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

Manuskrip diterima: 10 Juli 2012. Revisi disetujui: 4 November 2012.

Abstract. Aji SP, Anandito BK, Nurhartadi E. 2013. Study of addition of various types of honey as alternative sweetener in white dragon (*Hylocereus undatus*) juice drink. *Biofarmasi* 11: 13-18. Indonesia is a tropical country, so people tend to consume lots of water to refresh the body. Along with the development of technology and the desire of people to come back to healthy life, it is necessary to manufacture beverage that have functional value. Dragon fruit has a large nutritional content. Dragon fruit contains several bioactive components, such as: anthocyanin, vitamin C, beta-carotene and soluble fiber in the form of pectin. Therefore, the processing of dragon fruit into juice that contains bioactive components is potential. In general, fruit juice beverage use a sweetener based on sucrose, therefore in this study it was used honey as an alternative sweetener that has a functional value. This research aimed to study the making of white dragon juice (*Hylocereus undatus*) using honey sweetener types of rambutan, kelengkeng and randu, and to analyze its chemical characteristic (vitamin C and antioxidant) and sensory properties (taste, color, aftertaste, overall). In this study, it was used white dragon fruit and various types of honey such as randu honey, rambutan honey and kelengkeng honey with the concentrations of 5%, 10% and 15%, respectively. The results showed that dragon fruit juice with the addition of rambutan honey contained vitamin C and antioxidant greater than the addition of randu and kelengkeng honey. The addition of honey with the different concentrations (5%, 10%, 15%) could also increase vitamin C and antioxidant contents in the produced functional beverage. The higher concentration of honey that added, the higher produced vitamin C and antioxidant contents. Meanwhile, the sensory test results of color, taste, aftertaste and overall parameters for dragon fruit juice samples with the addition of rambutan, rambutan and kelengkeng honey, the average of panelists gave a like score. But, the higher concentration of honey that added, the sensory results indicated the panelist preference decreased. According to the results of the panelist study showed the level of fondness in all types of honey at a concentration of 10%.

Keywords: Antioxidant, fruit dragon juice, honey, *Hylocereus undatus*, vitamin C

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis, sehingga masyarakat cenderung mengonsumsi banyak air untuk menyegarkan tubuh. Seiring dengan perkembangan teknologi dan keinginan masyarakat untuk kembali hidup sehat maka diperlukan pembuatan minuman yang mempunyai nilai fungsional. Salah satu contoh minuman fungsional tersebut adalah minuman sari buah. Minuman ini memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi dan komponen bioaktif yang diketahui berfungsi sebagai antioksidan.

Buah naga mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi. Buah naga mengandung beberapa komponen bioaktif, seperti antosianin, vitamin C, beta-karoten, dan serat larut berupa pektin. Oleh karena itu, pengolahan buah naga menjadi sari buah yang mengandung komponen bioaktif cukup potensial, sehingga memudahkan masyarakat dalam memenuhi kebutuhan gizi dan air. Saat ini, Vietnam dan Thailand merupakan pemasok buah naga terbesar di dunia. Namun, permintaan yang dapat dipenuhi baru sekitar 50% saja. Sementara itu di pasar lokal, meskipun ketersediannya masih sedikit, buah naga lokal

telah mampu bersaing dengan buah naga impor. Buah naga sekarang mulai tersedia di toko buah dan pasar swalayan dan sejumlah perkebunan melirik komoditas ini, karena budi dayanya mudah serta memiliki prospek ke depan yang cerah dibanding buah lainnya.

Buah naga disebut juga sebagai kaktus manis atau kaktus madu. Buah naga termasuk dalam keluarga kaktus dengan karakteristik memiliki duri pada setiap ruas batang. Terdapat empat jenis buah naga, yaitu buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*), buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*), buah naga daging super merah (*Hylocereus costaricensis*), dan buah naga kulit kuning daging putih (*Selenicereus megalanthus*) (Pratomo 2009). Menurut Pratomo (2009), buah naga mempunyai komponen bioaktif seperti antosianin, vitamin C, dan β -karoten yang berfungsi sebagai antioksidan, selain itu buah naga juga memiliki kandungan serat larut berupa pektin.

Madu merupakan salah satu jenis pemanis yang masih jarang digunakan dalam campuran minuman sari buah, biasanya madu hanya dikonsumsi secara langsung. Madu merupakan cairan alami yang umumnya memiliki rasa manis, dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman

(*floral nectar*) atau bagian lain dari tanaman (*extra floral nectar*), atau hasil ekskresi serangga yang berkhasiat dan bergizi tinggi. Madu tersusun atas beberapa senyawa gula seperti glukosa dan fruktosa, serta sejumlah mineral seperti magnesium, kalium, kalsium, natrium, klor, belerang, besi, dan fosfat. Madu juga mengandung vitamin B1, B2, C, B6, dan B3 yang komposisinya berbeda-beda sesuai dengan kualitas nektar dan serbuk sari. Di samping itu, dalam madu juga terdapat sejumlah kecil tembaga, yodium, dan seng serta beberapa jenis hormon (Yahya 2003). Hasil penelitian Yanagimoto (2004) menunjukkan indeks glikemik madu yang rendah sehingga dapat mengurangi risiko kekurangan gula (hipoglikemi). Hal ini menunjukkan bahwa madu sangat baik dikonsumsi, terutama untuk aktivitas yang menuntut stamina tinggi (Suranto 2007). Di Indonesia, terdapat beberapa jenis madu yang sering dikonsumsi oleh masyarakat, diantaranya madu rambutan, madu kelengkeng, madu hutan, dan madu randu.

Dari uraian tersebut maka dapat diketahui bahwa madu memiliki senyawa bioaktif yang cukup tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan minuman sari buah yang berbahan dasar buah naga putih (*H. undatus*). Pada umumnya, minuman sari buah menggunakan pemanis berbahan dasar sukrosa, oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan madu sebagai pemanis alternatif yang memiliki nilai fungsional. Dalam penelitian ini digunakan buah naga putih dan berbagai jenis madu seperti madu randu, madu rambutan, dan madu kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penambahan jenis madu rambutan, randu, dan kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15% dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga terhadap peningkatan kapasitas antioksidan dan kandungan vitamin C minuman fungsional buah naga putih, serta untuk mengetahui penerimaan konsumen terhadap minuman fungsional buah naga putih dengan penambahan jenis madu rambutan, randu, dan kelengkeng pada konsentrasi yang berbeda-beda.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Pangan dan Gizi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta, serta Laboratorium Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2010.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam pembuatan minuman fungsional buah naga adalah buah naga daging putih (*H. undatus*), madu randu, madu rambutan, dan madu kelengkeng. Bahan kimia untuk analisis kadar vitamin C yaitu larutan amilum 1%, iodine, dan akuades. Bahan kimia

untuk uji aktivitas antioksidan yaitu larutan DPPH dan etanol.

Sementara itu, alat yang digunakan dalam pembuatan minuman fungsional buah naga yaitu *juicer*, gelas beker, dan kain saring. Alat untuk analisis kadar vitamin C yaitu pipet volume 25 ml, pipet volume 5 ml, pipet 1 ml, labu takar 100 ml, dan Erlenmeyer 250 ml. Alat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu timbangan, *vortex*, tabung reaksi, pipet volume, gelas ukur, dan spektrofotometer.

Cara kerja

Penelitian pendahuluan

Tahap ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi pemanis berupa gula dan madu dalam pembuatan minuman fungsional buah naga. Dengan demikian didapatkan konsentrasi gula dan madu yang paling disukai oleh konsumen. Adapun konsentrasi yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 1.

Pembuatan minuman fungsional buah naga

Langkah-langkah dalam pembuatan minuman fungsional buah naga menurut SNI 01-3719-1995 adalah sebagai berikut.

Pencucian. Buah naga yang telah disortir selanjutnya dilakukan pencucian. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang tidak dikehendaki.

Ekstraksi. Pada pembuatan sari buah naga ini, proses ekstraksi dilakukan dengan *power juicer*.

Filtrasi. Filtrasi atau penyaringan hasil ekstrak yang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan kain saring. Dari tahap ini dihasilkan sari buah naga putih.

Pasteurisasi. Sari buah dituang ke dalam botol kemudian dilakukan pasteurisasi dalam *waterbath* pada suhu 80°C selama 1 menit.

Pendinginan. Setelah dipasteurisasi, sari buah didinginkan pada suhu ruang sebelum dilakukan penyimpanan dingin.

Penyimpanan. Sari buah yang telah disimpan dalam botol selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C supaya minuman fungsional buah naga dapat lebih tahan lama.

Tabel 1. Jenis perlakuan

Kode	Jenis perlakuan
P1	Kontrol (sari buah naga 100%)
P2	Sari buah naga + madu rambutan 5%
P3	Sari buah naga + madu rambutan 10%
P4	Sari buah naga + madu rambutan 15%
P5	Sari buah naga + madu randu 5%
P6	Sari buah naga + madu randu 10%
P7	Sari buah naga + madu randu 15%
P8	Sari buah naga + madu kelengkeng 5%
P9	Sari buah naga + madu kelengkeng 10%
P10	Sari buah naga + madu kelengkeng 15%

Tabel 2. Metode analisis dalam pembuatan minuman fungsional buah naga

Jenis uji	Metode
Vitamin C	Iodometri (Sudarmadji et al. 1997)
Antioksidan	DPPH (Osawa 1981)
Sifat sensoris (warna, rasa, kenampakan, dan <i>aftertaste</i>)	Tes kesukaan (skoring) (Setyaningsih et al. 2010)

Analisis data

Metode analisis dalam penelitian ini dapat dilihat dalam Tabel 2. Perancangan penelitian untuk data kapasitas antioksidan dan vitamin C menggunakan analisis deskriptif. Sedangkan untuk hasil organoleptik menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan metode analisis variance (Anova). Bila ada perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji lanjut dengan Duncans Multiple Range Test (DMRT) pada taraf signifikan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat kimia sari buah naga

Vitamin C

Berdasarkan Tabel 3, dengan penambahan jenis madu dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga dapat meningkatkan kandungan vitamin C dalam minuman yang dihasilkan. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan berbagai jenis madu, seperti rambutan, randu, dan kelengkeng, dapat meningkatkan kandungan vitamin C dari minuman sari buah naga yang dihasilkan. Berdasarkan Tabel 3, dengan penambahan madu rambutan, minuman sari buah naga yang dihasilkan memiliki kandungan vitamin C yang lebih besar dibandingkan dengan penambahan madu randu dan kelengkeng. Hal ini diduga disebabkan karena kandungan senyawa kimia pada madu rambutan dipengaruhi oleh jenis nektar/sari bunga.

Berdasarkan Tabel 3, kandungan vitamin C yang paling besar terdapat pada sampel sari buah naga yang ditambahkan madu rambutan 15%, yaitu sebesar 16,3%. Untuk kandungan vitamin C yang paling rendah diperoleh dari sampel sari buah naga 100% (kontrol) tanpa penambahan madu, yaitu sebesar 11,22%. Pada pembuatan minuman fungsional sari buah naga putih, terdapat proses pasteurisasi dengan menggunakan *waterbath*, sehingga menyebabkan penurunan kandungan vitamin C, hal ini disebabkan oleh sifat vitamin C yang mudah rusak akibat proses pemanasan. Sementara itu, penambahan madu dengan konsentrasi yang berbeda-beda juga dapat meningkatkan kandungan vitamin C dalam minuman fungsional yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi madu yang ditambahkan maka semakin tinggi kadar vitamin C yang dihasilkan.

Antioksidan

Minuman fungsional buah naga adalah salah satu produk makanan fungsional yang banyak dihasilkan dalam industri pangan. Melalui minuman, komponen-komponen

fungsional dapat dengan mudah diformulasikan serta dapat diserap dengan cepat oleh tubuh setelah dikonsumsi. Meskipun demikian, hanya komponen-komponen yang kelarutannya tinggi atau dapat didispersikan secara merata yang dapat diformulasikan ke dalam minuman fungsional buah naga. Buah naga putih merupakan salah satu jenis buah yang mengandung banyak komponen bioaktif, seperti antosianin, vitamin C, dan beta-karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Selain itu, buah naga putih juga memiliki kandungan serat larut berupa pektin.

Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak. Meskipun demikian, antioksidan juga dapat digunakan untuk melindungi komponen lain, seperti vitamin dan pigmen, yang juga mengandung ikatan rangkap di dalam strukturnya (Medikasari 2000).

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode tersebut merupakan metode yang secara umum digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan, karena relatif lebih sederhana, efektif, dan hasilnya akurat. Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Osawa 1981).

Dalam penelitian ini digunakan madu dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Konsentrasi ini diperoleh dari penelitian pendahuluan yang diujikan kepada beberapa panelis. Menurut panelis, penambahan madu dengan konsentrasi 20% sudah tidak dapat diterima, dan konsentrasi yang paling mendapatkan respons yang cukup diterima adalah konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Menurut Pratomo (2009), buah naga mengandung zat aktif dengan konsentrasi yang termasuk dalam kategori pangan fungsional. Zat aktif tersebut adalah antioksidan yang tersebar dalam betakaroten (bakal vitamin A), vitamin C, dan antosianin. Mekanisme antioksidasi antosianin adalah dengan pemberian atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil. Adapun mekanisme antioksidasi vitamin C adalah dengan mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen (Trilaksani 2003).

Berdasarkan Tabel 3, dengan adanya penambahan jenis madu dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam minuman yang dihasilkan. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan berbagai jenis madu, seperti rambutan, randu, dan kelengkeng, dapat meningkatkan jumlah antioksidan dari minuman sari buah naga yang dihasilkan. Berdasarkan Tabel 3 dengan penambahan madu rambutan memiliki jumlah antioksidan lebih besar dibandingkan dengan penambahan madu randu dan kelengkeng. Hal ini diduga disebabkan karena kandungan senyawa kimia pada madu dipengaruhi oleh jenis nektar atau sari bunga. Berdasarkan Tabel 3, kandungan antioksidan yang paling besar terdapat pada sampel sari buah naga yang ditambahkan madu rambutan 15%, yaitu sebesar 32,341%. Kandungan antioksidan yang paling rendah diperoleh dari sampel sari buah naga 100%

(kontrol) tanpa penambahan madu, yaitu sebesar 6,74%. Adapun penambahan madu dengan konsentrasi yang berbeda-beda juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam minuman fungsional yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi madu yang ditambahkan maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Uji sensoris sari buah naga

Rasa

Flavour atau rasa didefinisikan sebagai rangsangan yang ditimbulkan oleh bahan yang dikonsumsi, yang dirasakan oleh indra pengecap atau pembau, serta rangsangan lainnya seperti perabaan dan penerimaan derajat panas oleh mulut. Rasa merupakan sensasi yang terbentuk dari hasil perpaduan antara bahan pembentuk dan komposisinya pada suatu produk makanan yang ditangkap oleh indra pengecap. Oleh sebab itu, rasa suatu produk makanan sangat dipengaruhi oleh komposisi bahan penyusun dalam makanan. Rasa merupakan atribut mutu dari suatu produk sebagai salah satu faktor penting bagi konsumen dalam memilih produk.

Tabel 3. Kadar vitamin C dan antioksidan pada minuman fungsional sari buah naga dengan penambahan berbagai jenis madu pada konsentrasi berbeda

Jenis perlakuan	Vitamin C (%)	Antioksidan (%)
P1	11,22	6.74
P2	16,08	17.39
P3	16,16	23.73
P4	16,30	32.34
P5	13,51	9.17
P6	13,89	13.66
P7	14,06	17.19
P8	14,51	15.53
P9	15,46	22.52
P10	15,94	30.64

Keterangan: P1-P10 merujuk pada Tabel 1

Tabel 4. Hasil uji sensoris pada sari buah naga dengan penambahan berbagai jenis madu

Jenis perlakuan	Rasa	Warna	Aftertaste	Keseluruhan
P1	3,20 ^{ab}	3,05 ^{ab}	3,10 ^{ab}	3,05 ^{ab}
P2	4,40 ^c	4,25 ^c	4,15 ^c	4,20 ^c
P3	4,30 ^c	4,15 ^c	4,10 ^c	4,15 ^c
P4	3,40 ^b	3,35 ^b	3,40 ^b	3,40 ^b
P5	3,20 ^{ab}	3,05 ^{ab}	3,05 ^{ab}	3,26 ^{ab}
P6	3,15 ^{ab}	3,05 ^{ab}	3,05 ^{ab}	3,05 ^{ab}
P7	2,75 ^a	2,70 ^a	2,75 ^a	2,85 ^a
P8	3,60 ^b	3,50 ^b	3,55 ^b	3,55 ^b
P9	4,45 ^c	4,60 ^c	4,60 ^c	4,70 ^d
P10	4,25 ^c	4,30 ^c	4,35 ^c	4,45 ^{cd}

Keterangan: Huruf di belakang angka yang berbeda menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$); nilai 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak suka, 4 = suka, 5 = amat suka. P1-P10 merujuk pada Tabel 1

Berdasarkan data hasil analisis varian (Anova) dengan menggunakan SPSS dapat diketahui bahwa penambahan berbagai jenis madu dengan konsentrasi yang berbeda dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter rasa sari buah yang dihasilkan. Pada Tabel 4, penilaian panelis terhadap rasa sampel sari buah naga yang dihasilkan dengan penambahan berbagai jenis madu berkisar antara 4,45-2,75, yaitu suka sampai tidak suka. Berdasarkan Tabel 4, untuk parameter rasa menunjukkan bahwa penggunaan madu rambutan, randu, dan kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%, memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan kontrol. Untuk sampel sari buah naga 100% (kontrol) menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan madu randu 5%, 10%, dan 15%. Adapun sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 5% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel yang ditambahkan dengan madu jenis rambutan 10%, serta madu kelengkeng 10% dan 15%. Untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 15% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan madu jenis kelengkeng 5%, serta madu randu 5% dan 10%.

Berdasarkan Tabel 4, penilaian panelis terhadap rasa sari buah naga paling tinggi ditunjukkan pada sampel sari buah naga dengan penambahan madu kelengkeng 10% karena rasa yang dihasilkan manis dan tidak hambar. Adapun untuk penilaian panelis terhadap rasa sari buah naga paling rendah ditunjukkan pada sampel dengan penambahan madu randu 15% karena rasa yang dihasilkan agak pahit, sehingga panelis kurang menyukainya.

Warna

Warna adalah faktor yang paling menentukan menarik tidaknya suatu produk makanan. Warna merupakan atribut kualitas yang paling penting. Bersama-sama dengan tekstur dan rasa, warna berperan dalam penentuan tingkat penerimaan konsumen terhadap suatu makanan. Meskipun suatu produk bernilai gizi tinggi, rasa enak, dan tekstur baik namun jika warnanya tidak menarik maka akan menyebabkan produk tersebut kurang diminati oleh konsumen.

Berdasarkan hasil analisis varian (Anova) dengan menggunakan SPSS dapat diketahui bahwa penambahan berbagai jenis madu pada konsentrasi yang berbeda dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter warna sari buah yang dihasilkan.

Pada Tabel 4, penilaian panelis terhadap warna sampel sari buah naga dengan penambahan berbagai jenis madu berkisar antara 4,60-2,70, yaitu sangat suka sampai tidak suka. Berdasarkan Tabel 4, untuk parameter warna menunjukkan bahwa penggunaan madu rambutan, randu, dan kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%, memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan kontrol. Pada sampel sari buah naga 100% (kontrol) menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata apabila dibandingkan dengan sampel sari buah naga yang

ditambahkan madu randu 5%, 10%, dan 15%. Adapun untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 5% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel yang ditambahkan dengan madu jenis rambutan 10%, serta madu kelengkeng 10% dan 15%. Untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 15% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan madu jenis kelengkeng 5%, dan madu randu 5% dan 10%.

Berdasarkan Tabel 4, penilaian panelis terhadap warna sari buah naga paling tinggi ditunjukkan pada sampel sari buah naga dengan penambahan madu kelengkeng 10%, karena warna yang dihasilkan berwarna cokelat muda, sehingga membuat panelis lebih tertarik berdasarkan warna yang dihasilkan apabila dibandingkan dengan kontrol yang berwarna putih. Adapun penilaian panelis terhadap warna sari buah naga paling rendah ditunjukkan pada sampel dengan penambahan madu randu 15%, karena produk yang dihasilkan berwarna cokelat tua atau lebih hitam, sehingga panelis kurang menyukainya.

Aftertaste

Berdasarkan data hasil analisis varian (Anova) dengan menggunakan SPSS dapat diketahui bahwa penambahan berbagai jenis madu dengan konsentrasi yang berbeda dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter *aftertaste* sari buah yang dihasilkan.

Pada Tabel 4, penilaian panelis terhadap *aftertaste* sampel sari buah naga dengan penambahan berbagai jenis madu berkisar antara 4,60-2,75, yaitu sangat suka sampai tidak suka. Berdasarkan Tabel 4, untuk parameter *aftertaste* menunjukkan bahwa penggunaan madu rambutan, randu, dan kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, dan 15%, memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan kontrol. Untuk sampel sari buah naga 100% (kontrol) menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan madu randu 5%, 10%, dan 15%. Adapun untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 5% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel yang ditambahkan dengan madu jenis rambutan 10%, serta madu kelengkeng 10% dan 15%. Untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 15% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan madu jenis kelengkeng 5%, dan madu randu 5% dan 10%.

Berdasarkan Tabel 4, penilaian panelis terhadap *aftertaste* sari buah naga paling tinggi ditunjukkan pada sampel sari buah naga dengan penambahan madu kelengkeng 10%. Adapun untuk penilaian panelis terhadap *aftertaste* sari buah naga yang paling rendah ditunjukkan pada sampel dengan penambahan madu randu 15%.

Keseluruhan

Tingkat kesukaan dan penerimaan konsumen terhadap suatu produk diduga tidak hanya dipengaruhi oleh satu faktor, akan tetapi juga dipengaruhi oleh berbagai macam

faktor, sehingga menimbulkan penerimaan yang utuh. Atribut keseluruhan ini hampir sama dengan kenampakan suatu produk secara keseluruhan, yang berfungsi untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen.

Berdasarkan hasil analisis varian (Anova) dengan menggunakan SPSS dapat diketahui bahwa penambahan berbagai jenis madu dengan konsentrasi yang berbeda dalam pembuatan minuman fungsional sari buah naga memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter keseluruhan sari buah yang dihasilkan.

Pada Tabel 4, penilaian panelis terhadap parameter secara keseluruhan pada sampel sari buah naga dengan penambahan berbagai jenis madu berkisar antara 4,70-2,85, yaitu sangat suka sampai tidak suka. Berdasarkan Tabel 4, untuk parameter secara keseluruhan menunjukkan bahwa penambahan madu rambutan, randu, dan kelengkeng dengan konsentrasi masing-masing 5%, 10%, 15% memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan kontrol. Untuk sampel sari buah naga 100% (kontrol) menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata apabila dibandingkan dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan madu randu 5%, 10%, dan 15%. Adapun untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 5% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel yang ditambahkan dengan madu jenis rambutan 10% dan madu kelengkeng 15%. Untuk sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan jenis madu rambutan 15% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan sampel sari buah naga yang ditambahkan dengan madu kelengkeng 5%, dan madu randu 5% dan 10%. Untuk sampel sari buah naga dengan penambahan madu kelengkeng 10% menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan penambahan madu kelengkeng 15%.

Berdasarkan Tabel 4, penilaian panelis secara keseluruhan terhadap sari buah naga paling tinggi ditunjukkan pada sampel sari buah naga dengan penambahan madu kelengkeng 10%. Adapun untuk penilaian panelis terhadap rasa sari buah naga yang paling rendah ditunjukkan pada sampel dengan penambahan madu randu 15%.

KESIMPULAN

Penambahan jenis madu rambutan, kelengkeng, dan randu dapat meningkatkan kandungan antioksidan dan vitamin C dalam sari buah naga. Minuman fungsional sari buah naga putih dengan penambahan madu jenis rambutan mempunyai kandungan antioksidan dan vitamin C yang lebih besar dibandingkan dengan sampel penambahan madu randu, kelengkeng, dan kontrol (sari buah 100%). Semakin tinggi konsentrasi madu yang ditambahkan maka semakin tinggi kandungan antioksidan dan vitamin C sari buah naga yang dihasilkan. Hasil uji sensoris untuk parameter warna, rasa, *aftertaste*, dan keseluruhan untuk sampel sari buah naga dengan penambahan madu rambutan dan madu kelengkeng dengan berbagai konsentrasi dapat diterima oleh panelis dengan penilaian suka.

DAFTAR PUSTAKA

- Medikasari. 2000. Bahan tambahan makanan, fungsi dan penggunaannya dalam makanan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Osawa T, Namiki MA. 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus leaves*. *Agric Biol Chem* 45: 735-739.
- Pratomo. 2009. Superioritas jambu biji dan buah naga. www.unika.ac.id. [24 Maret 2010].
- Setyaningsih D, Apriyanto A, Sari MP. 2010. Analisis sensori untuk industri pangan dan agro. IPB Press, Bogor.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. Analisa bahan makanan dan pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Suranto. 2005. Khasiat dan manfaat madu herbal. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Trilaksani W. 2003. Antioksidan: Jenis, sumber, mekanisme kerja dan peran terhadap kesehatan. wini_trilaks@plasa.com. [10 Maret 2009].
- Yahya H. 2003. Lebah madu. Pembuat Sarang yang Sempurna. In: Rijzaani H (ed). Global Cipta Publishing, Jakarta.
- Yanagimoto K, Ochi H, Lee KG et al. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *J Agric Food Chem* 52: 592-596.

Uji aktivitas sinbiotik ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen pada ayam broiler secara *in vitro*

The activity test of synbiotic between extract of noni leaf (*Morinda citrifolia*) and lactic acid bacteria against pathogenic bacteria in broiler chicken *in vitro*

AINUNNI'MAH ZEN, TJAHHADI PURWOKO, HARDI JULENDRA

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

Manuskrip diterima: 8 Desember 2011. Revisi disetujui: 15 Februari 2013.

Abstract. Zen A, Purwoko T, Julendra H. 2013. The activity test of synbiotic between extract of noni leaf (*Morinda citrifolia*) and lactic acid bacteria against pathogenic bacteria in broiler chicken *in vitro*. *Biofarmasi* 11: 19-23. The breeders of broiler chicken usually provide the commercial rations to increase the business of chicken livestock because the commercial rations have met the standard needs of the substances of feed that been appointed. The commercial rations that often used as broiler feed are currently using a low-dose antibiotic that will give a harmful effect on human health in the long-term if it continues to be consumed. Therefore, it needs to use bioadditive to replace the antibiotic. One bioadditive is a symbiosis between probiotic and phytophotic that it is expected to inhibit the growth of pathogenic bacteria in poultry. This study was conducted to determine the presence of inhibition of noni leaf extract against BAL and the pathogenic bacteria, and to determine the effect of symbiosis between the noni leaf extract and BAL against the pathogenic bacteria *in vitro*. This study included the selection of noni leaf extract based on the highest yield and the water content measurement. Thereafter, an antibacterial test was performed by using the selected leaf extract, the neutral supernatant from *Pseudococcus acidilactici* as BAL, and the synbiotics of both against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella pullorum* bacteria by using the Kirby-Bauer diffusion method. From the results, it was selected the noni leaf extract by ethanol 40% which had a yield value of 20.8% with the water content of 18.9%. The selected noni leaf extract was then tested on BAL and the pathogenic bacteria. The results of antibacterial test showed the smallest inhibition on *P. acidilactici* occurred in the noni leaf extract with the concentration of 250 mg/mL, while the highest inhibition of noni leaf extract to *E. coli* was 5.42 mm, *S. aureus* 3.76 mm and *S. pullorum* 3.45 mm. The inhibition after the synbiotic against *E. coli* was 4.75 mm, *S. aureus* was 3.83 mm, while *S. pullorum* was 3.58 mm.

Keywords: Broiler chicken, Lactic acid bacteria (BAL), *Morinda citrifolia* L., symbiotic

PENDAHULUAN

Ayam pedaging merupakan bagian penting dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani bagi masyarakat Indonesia. Permintaan terhadap daging ayam semakin bertambah seiring dengan meningkatnya penghasilan dan kesadaran masyarakat akan pentingnya protein hewani.

Dalam pengembangan usaha ternak ayam pedaging, pada umumnya peternak memberikan ransum komersial, karena ransum komersial telah memenuhi standar kebutuhan zat-zat makanan yang telah ditetapkan. Di dalam ransum komersial tersebut, terkandung pakan tambahan (*feed additive*) yang bertujuan untuk meningkatkan daya simpan ransum dan memacu pertumbuhan ternak. *Feed additive* adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pakan, biasanya dalam jumlah sedikit dan bukan sebagai sumber zat gizi, yang dapat mempengaruhi karakteristik pakan, meningkatkan kinerja, kesehatan, dan/atau kualitas produk ternak/hewan (SNI 2006). Salah satu *feed additive* yang sudah digunakan dalam pakan ternak adalah antibiotik dosis rendah, seperti tetrasiklin, prokain, penisilin, teramisin, dan tilosin.

Penggunaan antibiotik yang terus-menerus ternyata dapat mengakibatkan munculnya residu antibiotik dapat tubuh ternak (Rusiana dan Iswarawanti 2004). Residu antibiotik tersebut akan memberikan dampak yang dapat membahayakan bagi kesehatan manusia dalam jangka panjang apabila terus dikonsumsi.

Untuk mengatasi hal tersebut, penggunaan bioaditif sebagai bahan tambahan pada pakan ternak merupakan alternatif untuk mengurangi akumulasi residu antibiotik dalam daging karena tidak menimbulkan efek yang berbahaya bagi kesehatan manusia sebagai konsumen. Bioaditif dapat berupa fitobiotik, probiotik, prebiotik, ataupun sinbiotik.

Salah satu bahan alam fitobiotik yang berpotensi mempunyai aktivitas sebagai antibakteri adalah daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), karena pada daun mengkudu terkandung minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan antrakuinon (Mursito 2002). Antrakuinon merupakan salah satu senyawa yang bersifat sebagai antibakteri pada *Salmonella* dan *Shigella* (Rukmana 2002).

Probiotik merupakan contoh lain dari agens yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan probiotik yang memiliki peranan penting bagi manusia, baik melalui keterlibatannya dalam fermentasi makanan maupun sebagai bagian dari mikroflora normal pada saluran pencernaan. BAL yang secara normal tumbuh dalam saluran pencernaan dapat memberikan efek positif bagi kesehatan tubuh melalui kemampuannya dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen penyebab diare serta menstimulasi sistem imun. Probiotik dapat memacu keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan, sehingga mikroflora normal dapat sedini mungkin dimiliki oleh ayam. Ayam dengan kondisi mikroflora yang seimbang akan memiliki resistensi atau daya tahan tubuh yang lebih kuat, khususnya terhadap serangan bakteri patogen usus (Carvalho dan Hansen 2005).

Penelitian mengenai fitobiotik dan probiotik sudah banyak dilakukan, tetapi penelitian tentang sinbiosis antara fitobiotik dan probiotik sendiri belum banyak dilakukan. Dalam penelitian ini dilakukan sinbiosis ekstrak etanol daun mengkudu sebagai fitobiotik dengan supernatan netral (SN) dari BAL sebagai probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan ayam broiler secara *in vitro*. Sinbiotik tersebut diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan hanya menggunakan salah satu dari keduanya dalam upaya menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan ayam, seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* (Abun 2008), dan *Staphylococcus aureus* (Tabbu 2000). Dengan demikian, peternak dapat beralih menggunakan bioaditif sebagai pakan ayam.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai Desember 2011, di Laboratorium Mikrobiologi, Unit Pelaksana Teknis, Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (UPT. BPPTK, LIPI) Yogyakarta dan Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, inkubator, *laminar airflow cabinet*, Bunsen burner, *vortex*, *driglasky*, *petri dish*, *microtube*, pinset, dan kamera digital. Sementara itu, bahan yang digunakan meliputi ekstrak etanol daun mengkudu, isolat *Pediococcus acidilactici* R01, *Escherichia coli* FNCC 194, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, dan *Salmonella pullorum*, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), *De Man Rogosa Sharpe* (MRS) *broth*, etanol, akuades steril, kertas cakram (*blank*, streptomisin 10 mcg, penisilin 10 mcg), *syringe* 10 ml, dan *milipore* 0,20 µm.

Cara kerja

Isolat *P. acidilactici*, *S. pullorum*, *E. coli*, dan *S. aureus* diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi UPT.

BPPTK, LIPI, Yogyakarta. Aktivitas ekstrak daun mengkudu terhadap *P. acidilactici*, *S. pullorum*, *E. coli*, dan *S. aureus* diujikan dengan menggunakan metode dilusi cair, dengan parameter tingkat kekeruhan yang terbentuk pada media, sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak yang optimal sebagai antibakteri pada bakteri patogen, tetapi tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). Setelah itu, dilakukan uji aktivitas ekstrak daun mengkudu pada BAL dan bakteri patogen, serta sinbiotik ekstrak daun mengkudu dengan BAL terhadap bakteri patogen menggunakan metode difusi agar *Kirby-Bauer*. Berdasarkan hasil uji pendahuluan digunakan ekstrak daun mengkudu dengan konsentrasi 100 mg/mL, 150 mg/mL, 200 mg/mL, dan 250 mg/mL.

Bagian BAL yang digunakan sebagai antibakteri adalah supernatan netral (SN) dari *P. acidilactici* setelah diinokulasi selama 24 jam. Sebanyak 10 ml inokulum bakteri di-*sentrifuge* pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang telah terpisah dari *pellet* dipindahkan ke Erlenmeyer, kemudian diukur pH-nya. Supernatan tersebut dinetralkan hingga didapatkan pH 6,7 dengan menggunakan larutan NaOH 0,5 N. Supernatan netral disaring menggunakan *milipore*, sehingga didapatkan supernatan netral steril.

Media NA dibuat dengan melarutkan 23 g media NA dalam 1 L akuades di atas *hotplate* dengan panas sedang dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Inokulum bakteri berumur 18-24 jam sebanyak 100 µl ditumbuhkan di atas permukaan media agar NA yang sudah memadat menggunakan *driglasky*. Ekstrak etanol daun mengkudu yang telah diencerkan pada akuades steril dan bakteriosin netral *P. acidilactici* dihomogenkan dalam *microtube* dengan perbandingan volume masing-masing 1:1 (masing-masing sebanyak 0,5 ml) kemudian kertas cakram direndam dalam *microtube* tersebut selama ±3 menit. Kertas cakram diletakkan di atas permukaan media agar yang telah ditumbuhi bakteri patogen, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji antibakteri dari ekstrak daun mengkudu serta antibiotik penisilin G dan streptomisin terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. pullorum* dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh menunjukkan penghambatan oleh ekstrak daun mengkudu lebih rendah dibandingkan dengan penghambatan oleh penisilin G dan streptomisin. Hasil tersebut dikarenakan dalam ekstrak daun mengkudu terdapat banyak senyawa aktif dengan mekanisme penghambatan yang berbeda-beda. Hal tersebut menyebabkan kerja senyawa-senyawa yang diinginkan tidak dapat bekerja secara optimal, akibat adanya pengaruh dari senyawa aktif lain yang terkandung dalam ekstrak daun mengkudu.

Mekanisme kerja penisilin yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida. Oleh karena sintesis dinding sel terganggu maka bakteri tidak akan mampu mengatasi perbedaan

tekanan osmosis di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan bakteri mati.

Peningkatan daya hambat ekstrak daun mengkudu seharusnya semakin besar seiring dengan semakin besarnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Namun dalam penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak tidak selalu menghasilkan daya hambat yang lebih besar meskipun perbedaan tersebut tidak terlalu jauh. Menurut Dewi (2010), tidak stabilnya penghambatan ekstrak etanol daun mengkudu diduga disebabkan karena ekstrak yang digunakan merupakan ekstrak kasar yang kelarutan senyawa antibakterinya belum maksimal, sehingga aktivitasnya belum maksimal.

Berdasarkan hasil analisis statistik pada taraf kepercayaan 95%, tidak ada beda nyata untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun mengkudu, baik pada *E. coli*, *S. aureus*, ataupun *S. pullorum*. Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan, dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz et al. 2005). Menurut Ruiz et al. (2006), *outer membrane* (OM) pada bakteri gram negatif bersifat *selective barrier* yang mencegah masuknya molekul ke dalam sel, sehingga senyawa antibakteri lebih sulit menembus bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif.

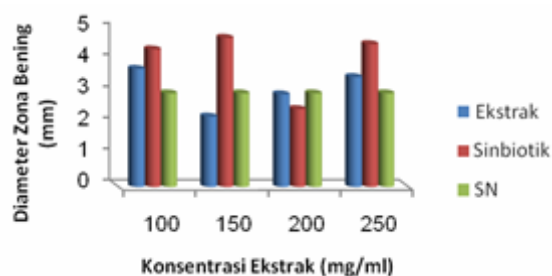
Bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, serta memiliki dua lapis membran yaitu membran luar dan membran dalam yang mengapit lapisan tipis peptidoglikan. Dua lapis membran berfungsi sebagai pertahanan selektif terhadap senyawa-senyawa yang keluar-masuk sel dan menimbulkan efek toksik. Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), lipopolisakarida (lapisan luar), serta tersusun atas lipid A yang bersifat nonpolar (Dewi 2010).

Efek penghambatan ekstrak daun mengkudu diduga berkaitan dengan senyawa fenol dan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Senyawa fenol yang terdapat dalam ekstrak mengkudu diantaranya adalah antrakuinon, akubin, dan alizarin. Ketiga senyawa tersebut dilaporkan mengandung zat antibiotik (Bangun dan Sarwono 2002). Fenol dapat berperan sebagai senyawa antibakteri karena dapat menurunkan tegangan permukaan membran sel bakteri kemudian mendenaturasi protein dan mengganggu fungsinya (Fitri 2005), yang diduga menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan pada *E. coli* dan *S. pullorum* yang merupakan kelompok bakteri gram negatif. Dalam penelitian ini, efek penghambatan diduga dilakukan oleh senyawa antrakuinon terhadap *E. coli* yang lebih besar dibandingkan dengan efek penghambatan terhadap *S. pullorum*. Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu (2006) menunjukkan hasil yang sama, yaitu *E. coli* sensitif terhadap senyawa antrakuinon yang terkandung dalam *Aloe barbadensis* Miller dan *Aloe chinensis* Baker, sedangkan *Salmonella thyphimurium* tidak sensitif terhadap senyawa antrakuinon tersebut. Perbedaan penghambatan yang terjadi terhadap kedua jenis bakteri gram negatif tersebut masih belum diketahui.

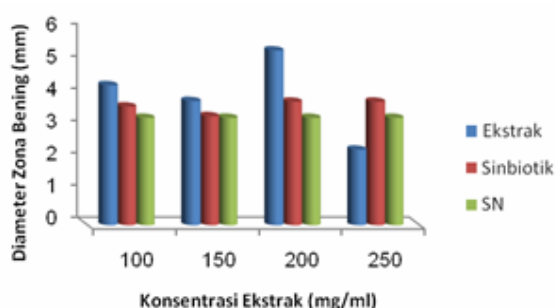
Kandungan flavonoid dalam daun mengkudu merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang bersifat nonpolar. Dengan

demikian, senyawa tersebut dapat menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif *P. acidilactici* lebih besar dibandingkan pada aktivitas penghambatan pada bakteri gram negatif. Penghambatan ekstrak daun mengkudu pada *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih kecil dibandingkan penghambatan pada *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Aktivitas penghambatan terhadap kedua jenis bakteri tersebut masih belum diketahui penyebabnya dengan pasti karena setiap jenis bakteri memiliki respons penerimaan yang berbeda-beda terhadap antibakteri.

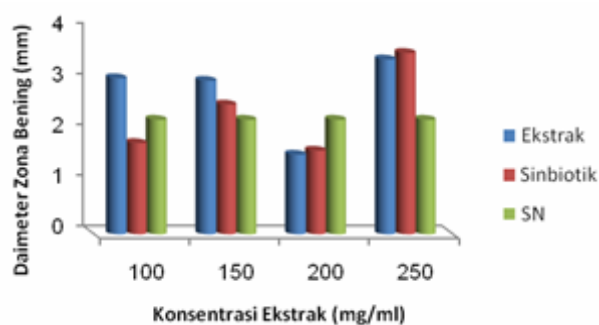
Dari data tersebut dapat dibuat grafik pengaruh ekstrak daun mengkudu, supernatan netral, dan sinbiotik keduanya terhadap pertumbuhan setiap jenis bakteri, seperti yang disajikan pada Gambar 1-3.



Gambar 1. Diameter zona bening pada uji antibakteri ekstrak daun mengkudu, sinbiotik, dan supernatan netral (SN) pada bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 2. Diameter zona bening pada uji antibakteri ekstrak daun mengkudu, sinbiotik, dan supernatan netral (SN) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 3. Diameter zona bening pada uji antibakteri ekstrak daun mengkudu, sinbiotik, dan supernatan netral (SN) pada bakteri *Salmonella pullorum*.

Tabel 1. Diameter zona bening pada pemberian beberapa konsentrasi ekstrak daun mengkudu, penisilin, dan streptomisin terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella pullorum*

Perlakuan	Diameter zona bening (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pullorum</i>	<i>P. acidilactici</i>
Ekstrak daun 100 mg/mL	4,34 ^a	3,76 ^a	3,08 ^a	5,87
mengkudu 150 mg/mL	3,85 ^a	2,24 ^a	3,03 ^a	3,98
200 mg/mL	5,42	2,95	1,57	3,40
250 mg/mL	2,34 ^a	3,50 ^a	3,45 ^a	2,99
Penisilin G10 mcg	8,43	6,61	11,60	
Streptomisin 10 mcg	8,48	4,10	5,20	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji *GLM Univariate* pada taraf kepercayaan 95%.

Tabel 2. Diameter zona bening pada pemberian supernatan netral (SN) dan sinbiotik antara SN dan ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella pullorum*

Konsentrasi ekstrak	Diameter zona bening (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pullorum</i>
100 mg/mL + SN	4,38 ^a	3,68 ^b	1,80 ^b
150 mg/mL + SN	4,75 ^a	3,38 ^b	2,56 ^b
200 mg/mL + SN	2,48 ^a	3,83 ^b	1,65 ^b
250 mg/mL + SN	4,55 ^a	2,83 ^b	3,58 ^b
Supernatan Netral (SN)	2,98	3,33	2,26

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada setiap kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji *GLM Univariate* pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil uji antibakteri terhadap *E. coli* menunjukkan adanya efek penghambatan oleh sinbiotik antara ekstrak daun mengkudu dan supernatan netral yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian ekstrak daun mengkudu atau supernatan netral secara terpisah, dan efek penghambatan oleh ekstrak daun mengkudu lebih besar dibandingkan supernatan netral.

Hasil uji antibakteri juga menunjukkan pemberian ekstrak daun mengkudu pada *S. aureus* menghasilkan diameter zona bening yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian ekstrak bersama dengan supernatan netral ataupun supernatan netral secara terpisah (Tabel 2). Hal ini berarti ekstrak daun mengkudu memiliki efek penghambatan relatif lebih besar pada *S. aureus*. Efek penghambatan terbesar terjadi pada pemberian ekstrak 200 mg/mL dan mengalami penurunan cukup drastis pada konsentrasi ekstrak 250 mg/mL. Adapun pemberian ekstrak daun mengkudu dengan penambahan supernatan netral pada setiap konsentrasi menghasilkan efek penghambatan yang relatif sama.

Pemberian ekstrak daun mengkudu pada *S. pullorum* menunjukkan efek penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan penghambatan oleh sinbiotik atau supernatan netral secara terpisah. Pada konsentrasi ekstrak 200 mg/mL, efek penghambatan mengalami penurunan dan kembali meningkat secara drastis pada konsentrasi ekstrak

250 mg/mL. Pada konsentrasi yang sama, sinbiotik menunjukkan efek penghambatan yang sedikit lebih besar.

Berdasarkan hasil analisis statistik pada taraf kepercayaan 95%, tidak ada beda nyata untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun mengkudu dan sinbiotik pada *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. pullorum*. Hal ini dibuktikan dengan nilai $p < 0,05$. Secara garis besar, efek penghambatan oleh sinbiotik relatif sama dengan penghambatan yang dilakukan oleh ekstrak daun mengkudu, sehingga diduga dalam sinbiotik, efek penghambatan hanya dilakukan oleh ekstrak daun mengkudu saja. Hasil tersebut diduga disebabkan karena kerja supernatan netral dihambat oleh ekstrak, sehingga peran dari supernatan netral pada sinbiotik tidak optimal.

Dengan demikian, pemberian ekstrak daun mengkudu tidak dapat diberikan bersamaan dengan supernatan netral, karena dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, penghambatan lebih disebabkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun mengkudu saja. Jadi, pemberian ekstrak daun mengkudu lebih baik diberikan secara terpisah pada bakteri patogen. Hal ini diduga dalam sinbiotik, ekstrak daun mengkudu tidak hanya melakukan aktivitas penghambatan pada bakteri, tetapi juga pada supernatan netral.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun mengkudu 200 mg/mL memberikan penghambatan terbesar pada pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter zona bening sebesar 5,42 mm. Pemberian ekstrak daun mengkudu 100 mg/mL memberikan penghambatan terbesar pada *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 3,76 mm. Pemberian ekstrak daun mengkudu 250 mg/mL memberikan penghambatan terbesar pada *Salmonella pullorum* sebesar 3,45 mm. Penghambatan terbesar sinbiosis ekstrak daun mengkudu dengan supernatan netral *Pediococcus acidilactici* terjadi pada bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi ekstrak 250 mg/mL dengan zona bening sebesar 4,75 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abun. 2008. Hubungan mikroflora dengan metabolisme dalam saluran pencernaan unggas dan monogastrik. Makalah Ilmiah. Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Bangun AP, Sarwono B. 2002. Khasiat dan manfaat mengkudu. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Carvalho N, Hansen S. 2005. Prospect for probiotic in broiler. Feed International 26, 10 November/December.
- Dewi FK. 2010. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri pembusuk daging segar. Laporan Penelitian. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Fitri DN. 2005. Studi tentang daya hambat ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophyla* secara in vitro. Laporan Penelitian. Jurusan Perikanan, Fakultas Peternakan Perikanan, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. Mikrobiologi kedokteran. Diterjemahkan oleh: Nugroho E, Maulany. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.

- Mursito B. 2002. Ramuan tradisional untuk pengobatan jantung. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rahayu ID. 2006. *Aloe barbadensis* Miller dan *Aloe chinensis* Baker sebagai antibiotik dalam pengobatan etnoveteriner unggas secara in vitro. Jurnal Protein 13(1): 31-34.
- Rukmana. 2002. Mengkudu budidaya dan prospek agribisnis. Kanisius, Yogyakarta.
- Ruiz, Kahne ND, Silhavy TJ. 2006. Advances in understanding bacterial outer membrane biogenesis. Nat Rev Microbiol 4: 57-66.
- Rusiana, Iswarawanti. 2004. 85% daging ayam broiler mengandung antibiotik. Senior Edisi 236, 23-29 Januari.
- SNI [Standar Nasional Indonesia]. 2006. Pakan ayam ras pedaging masa akhir (*Broiler finisher*). SNI 01-3931-2006.
- Tabbu CR. 2000. Penyakit ayam dan penanggulangannya. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Efek antifungi minyak atsiri rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap *Microsporium gypseum* secara in vitro

The antifungal effect of essential oil of *Alpinia galanga* rhizome on *Microsporium gypseum* in vitro

AYU INDRASARI, RUBEN DHARMAWAN, SUTARMIADJI DJUMARGA

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

Manuskrip diterima: 3 Januari 2012. Revisi disetujui: 20 Februari 2013.

Abstract. Indrasari A, Dharmawan R, Djumarga S. 2013. The antifungal effect of essential oil of *Alpinia galanga* rhizome on *Microsporium gypseum* in vitro. *Biofarmasi* 11: 24-30. This study aimed to determine the effect of essential oil of ginger rhizome on *Microsporium gypseum* in vitro. The study was performed as an experimental kuasi laboratory. The object of study was *M. gypseum* which took by a purposive sampling standardized by McFarland technique (equivalent with 0.5 McFarland turbidity). The study used the colonies of *M. gypseum* on 21 Sabouraud Dextrose Agar plates which containing cloramphenikol. Each plate had two or four holes. Every hole was filled by etanol 70% as a negative control (K1), miconazole 5 mg as a positive control (K2) and various concentrations of ginger rhizome extract by K3-K10 (0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5% and 4%). The plates were incubated on the temperature of 30°C in an incubator for 6 days and measured the diameter of inhibition zone. The data were collected and analyzed by Kruskal-Wallis Test and Mann-Whitney Test by the program of SPSS 16.0 for Windows. The results of study showed that the means of the diameter of inhibition zone (K1) was 6 mm, K2 = 24.4 mm, K3 = 27.2 mm, K4 = 23.5 mm, K5 = 25.3 mm, K6 = 22.7 mm, K7 = 23.1 mm, K8 = 21.14 mm, K9 = 21.14 mm and K10 = 19 mm. The result of Kruskal-Wallis Test showed that there was the difference of the diameter of inhibition zone means between all of group (K1-K10) significantly ($p < 0.05$). The result of Mann-Whitney Test showed that there was the difference between a negative control and all of various concentrations of ginger rhizome extract ($p < 0.05$). The study was concluded that there was an antifungal effect of essential oil of ginger rhizome on *M. gypseum* in vitro.

Keywords: Antifungal, essential oil of ginger rhizome, *Microsporium gypseum*

PENDAHULUAN

Minyak atsiri merupakan unsur organik berbau harum yang berasal dari tumbuhan. Minyak atsiri memperlihatkan sifat antifungi. Mekanismenya yaitu dengan mengubah struktur dinding sel dan morfologi dari beberapa organ seluler fungi (Abad et al. 2007) melalui aktivitas penghambatan terhadap sintesis senyawa ergosterol (Pinto Dias et al. 2006). Salah satu jenis tumbuhan penghasil minyak atsiri yaitu lengkuas (*Alpinia galanga* L.). Bagian dari lengkuas yang sering digunakan sebagai obat adalah rimpangnya (Parwata dan Dewi 2008), karena kandungan minyak atsiri pada rimpang lengkuas bermanfaat sebagai antifungi (Dian dan Wien 2001). Minyak atsiri pada rimpang lengkuas diantaranya mengandung metil-sinamat 48%, sineol 20-30%, dan eugenol. Selain itu, rimpang lengkuas juga mengandung flavonoid (galangin, kaempferide), acrid resin, galangol, fenol, dan terpenoid (Dalimartha 2009; Parwata dan Dewi 2008).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa lengkuas dapat berfungsi sebagai antifungi terhadap infeksi *Trichophyton mentagrophytes* (Gholib dan Darmono 2008). Eugenol bermanfaat dalam membasmi *Microsporium gypseum* (Lee et al. 2006). Selain itu, minyak atsiri lengkuas juga dapat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, seperti *Candida albicans*,

Penicillium sp., *Neurospora* sp. (Yuharmen et al. 2002), *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Parwata dan Dewi 2008). Menurut Chusnie dan Lamb (2005), flavonoid dapat berfungsi sebagai antifungi dengan cara menghambat germinasi spora (pertumbuhan spora).

Penyakit kulit akibat infeksi jamur yang paling banyak dijumpai di Indonesia adalah dermatofitosis (Harahap 2000). Romano et al. (2008) menyatakan bahwa di Siena, Italia, pada tahun 2005-2006, 14 kasus dermatofitosis yang disebabkan *M. gypseum* merupakan 6,8% dari seluruh kasus dermatofitosis yang dilaporkan. Menurut staf pengajar Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia (2009), di Indonesia dermatofitosis cukup banyak ditemukan, baik pada laki-laki maupun perempuan. Namun, angka tepatnya insiden dermatomikosis di Indonesia belum ada (Adiguna 2004).

Di Medan, pasien penderita tinea kapitis sekitar 0,4% (tahun 1996-1998) dari kasus dermatofitosis dan biasanya terjadi musiman. Di FKUI/RSCM, kasus tinea kapitis pada tahun 1989-1992 berkisar antara 0,61-0,87% dari seluruh kasus jamur kulit. Di Manado, pada tahun 1990-1991 insiden tinea kapitis mencapai 1,2-6,0% dari seluruh kasus dermatofitosis. Di RSUP H. Adam Malik dan RSUD dr. Pringadi, Medan, jumlah penderita dermatomikosis pada tahun 1996-1998 sebanyak 4.162 orang dari 20.951 penderita baru penyakit kulit (Nasution et al. 2001). Pada

tahun 2002, penyakit dermatofitosis merupakan penyakit kulit yang menduduki urutan pertama dibandingkan dengan penyakit kulit yang lain (Nasution 2006).

Pengobatan dermatofitosis dapat dilakukan secara topikal dan sistemik. Pilihan obat untuk dermatofitosis antara lain mikonazol, ketokonazol, griseofulvin, dan itrakonazol. Obat dermatofitosis mempunyai kekurangan, antara lain menimbulkan efek samping dan resistensi. Ketokonazol bersifat hepatotoksik. Griseofulvin sudah menimbulkan resistensi (Budimulja 2007). Berdasarkan kondisi tersebut maka pada penelitian ini ingin diketahui efek minyak atsiri pada lengkuas terhadap *Microsporum gypseum* secara in vitro.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek antifungi minyak atsiri rimpang lengkuas terhadap *M. gypseum* secara in vitro, serta mengetahui konsentrasi optimal minyak atsiri rimpang lengkuas untuk kemudian dibandingkan dengan daya hambat mikonazol sebagai antifungi terhadap *M. gypseum*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

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

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri berdiameter 10 cm, ose, alat pembuat sumur berdiameter 6 mm, inkubator, autoclave, lampu spiritus, tabung reaksi, Erlenmeyer 1000 ml, gelas ukur, pipet, mikropipet, penggaris, spreader, dan timbangan digital.

Sementara itu, bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biakan *M. gypseum*, Sabouraud Dextrose Agar (SDA), minyak atsiri dari rimpang lengkuas, kloramfenikol, mikonazol krim, NaCl 0,9%, etanol 70%, dan akuades steril.

Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuasi laboratorium dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design* (Arief 2004).

Subjek penelitian

Biakan subkultur *M. gypseum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Teknik sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dari media subkultur yang telah distandardisasi. *Purposive sampling* merupakan pendekatan pencuplikan sampel dengan memilih kasus-kasus dengan maksud (*purpose*) untuk mendapatkan sebuah sampel yang mewakili berbagai macam proses yang terlibat dalam penelitian (Murti 2010).

Cara kerja

Pembuatan minyak atsiri rimpang lengkuas

Pembuatan minyak atsiri dilaksanakan di LPPT Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pembuatan minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap air (*water and steam destillation*). Rimpang lengkuas dicuci dengan air mengalir, diiris dengan ketebalan ± 3 mm kemudian ditimbang. Selanjutnya, irisan rimpang dimasukkan ke dalam dandang destilasi yang telah diisi dengan air, dirangkai dengan pendingin air dan penampung destilat. Rimpang diletakkan di atas piringan atau plat besi berlubang seperti ayakan yang terletak beberapa sentimeter di atas permukaan air. Selanjutnya, sampel dipanaskan dengan kompor LPG dengan api sedang. Saat air mendidih, uap yang terbentuk akan melewati ayakan dan melewati celah-celah bahan. Minyak atsiri dalam bahan akan terikut bersama uap panas melalui pipa menuju ketel kondensor. Selanjutnya, uap air dan minyak atsiri akan mengembun dan ditampung dalam penampung destilat. Pemisahan air dan minyak atsiri dilakukan berdasarkan berat jenis. Pemanasan dihentikan setelah 6 jam dari destilat pertama menetes kemudian destilat didinginkan. Minyak atsiri yang dihasilkan diukur volumenya. Rimpang lengkuas yang digunakan seberat 11971 gr dan diperoleh sebanyak 12 ml minyak atsiri.

Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas yang digunakan pada penelitian.

Pembuatan media Sabouraud Dextrose Agar. Sebanyak 11,7 g Sabouraud Dextrose Agar dilarutkan dalam 180 ml akuades kemudian diaduk dan dipanaskan sampai larut sempurna. Diasumsikan 30 ml larutan agar untuk satu cawan petri berdiameter 10 cm.

Pembuatan larutan kloramfenikol. Setiap 1000 ml Sabouraud Dextrose Agar cair memerlukan 400 mg kloramfenikol. Dengan demikian, kloramfenikol yang diperlukan untuk membuat 180 ml Sabouraud Dextrose Agar yaitu sebanyak:

$$= \frac{180 \text{ ml} \times 400 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = 72 \text{ mg}$$

$$1000 \text{ ml}$$

Sebanyak 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9%, dengan demikian:

$$\text{NaCl } 0,9 \% \text{ yang diperlukan} = \frac{72 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}}{250 \text{ mg}} = 2,88 \text{ ml}$$

$$250 \text{ mg}$$

Larutan kloramfenikol ditambahkan ke dalam Sabouraud Dextrose Agar cair untuk mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri kontaminan (Bridson 1998). Sabouraud Dextrose Agar cair disterilkan bersamaan dengan alat-alat yang akan digunakan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pada setiap cawan petri dituang sebanyak 30 ml Sabouraud Dextrose Agar cair dan dibiarkan hingga dingin.

Penanaman *Microsporum gypseum*. Biakan jamur *M. gypseum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi,

Universitas Setia Budi, Surakarta. *Microsporium gypseum* yang diperoleh merupakan biakan subkultur umur 6 hari dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* miring. Biakan diambil dengan menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan 0,5 standar McFarland. Sampel cair *M. gypseum* diinokulasikan sebanyak 0,2 ml ke dalam tiap-tiap cawan petri yang berisi *Sabouraud Dextrose Agar*. Cawan petri digoyang untuk meratakan sampel *M. gypseum* (Savitri 2010).

Pengenceran minyak atsiri rimpang lengkuas. Pengenceran minyak atsiri dilakukan dengan cara mengambil 0,2 ml minyak atsiri rimpang lengkuas dan ditambah dengan 9,8 ml etanol 70%, sehingga didapatkan konsentrasi 2%. Hal ini juga diberlakukan untuk konsentrasi yang lain yaitu 4%, 6%, 8%, dan 10%. Pada setiap cawan petri yang berisi media dibuat sumuran dengan diameter 6 mm, tiga sampai empat sumuran pada setiap cawan petri.

Persiapan mikonazol. Pada tahap ini, sebanyak 5 mg mikonazol krim ditimbang, dimana krim tidak diencerkan. Pada 5 mg mikonazol krim mengandung 87 µg mikonazol nitrat dengan perhitungan sebagai berikut: $2\% \times (\text{berat molekul mikonazol/berat molekul mikonazol nitrat}) \times 5 \text{ mg} = (0,02) \times (416/479) \times 5 \text{ mg} = 0,087 \text{ mg} = 87 \text{ µg}$.

Pada setiap sumuran diberikan 5 mg mikonazol krim 2% sebagai kontrol positif, 0,05 ml etanol 70% sebagai kontrol negatif, dan 0,05 ml minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Semua cawan petri selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 30°C. Zona bening di sekeliling sumuran diukur dengan menggunakan penggaris.

Tahap penelitian

Penentuan jumlah sampel. Penentuan besar ulangan dihitung berdasarkan rumus Federer sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Oleh karena pada penelitian ini digunakan 10 kelompok perlakuan maka:

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

$$(n-1)(10-1) > 15$$

$$9n > 24$$

$$n > 2,7$$

Dengan demikian, untuk setiap kelompok perlakuan, jumlah sampel harus lebih dari 2,7. Dalam penelitian ini digunakan 7 kali ulangan dalam setiap kelompok.

Pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar*. Sebanyak 40,95 g *Sabouraud Dextrose Agar* dilarutkan dalam 630 ml akuades kemudian diaduk dan dipanaskan sampai larut sempurna. Diasumsikan 30 ml larutan agar untuk satu cawan petri berdiameter 10 cm.

Pembuatan larutan kloramfenikol. Setiap 1000 ml *Sabouraud Dextrose Agar* cair diperlukan 400 mg kloramfenikol, dengan demikian kloramfenikol yang diperlukan untuk 630 ml *Sabouraud Dextrose Agar* yaitu:

$$= 630 \text{ ml} \times 400 \text{ mg} = 252 \text{ mg}$$

$$\frac{252 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9%, dengan demikian:

$$\text{NaCl } 0,9\% \text{ yang diperlukan} = 252 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 10,08 \text{ ml}$$

$$\frac{10,08 \text{ ml}}{250 \text{ mg}}$$

Larutan kloramfenikol ditambahkan ke dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* cair untuk mencegah tumbuhnya jamur dan kuman kontaminan (Bridson 1998). *Sabouraud Dextrose Agar* cair disterilkan bersama dengan alat-alat yang akan digunakan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pada setiap cawan petri dituang sebanyak 30 ml *Sabouraud Dextrose Agar* cair dan dibiarkan hingga dingin.

Penanaman *Microsporium gypseum*. Biakan jamur diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Setia Budi, Surakarta. *Microsporium gypseum* yang diperoleh merupakan biakan subkultur umur 6 hari dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* miring. Biakan diambil dengan menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% hingga dicapai kekeruhan yang ekuivalen dengan 0,5 standar McFarland. Sampel cair *M. gypseum* diinokulasikan sebanyak 0,2 ml ke dalam tiap-tiap cawan petri yang berisi media *Sabouraud Dextrose Agar*. Cawan petri digoyang untuk meratakan sampel *M. gypseum* (Savitri 2010).

Pengenceran minyak atsiri rimpang lengkuas. Minyak atsiri rimpang lengkuas diencerkan dengan etanol 70%, sehingga diperoleh konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4%.

Persiapan mikonazol. Sebanyak 5 mg mikonazol krim ditimbang, dimana krim tidak diencerkan. Mikonazol yang digunakan sebanyak 5 mg pada setiap sumuran. Pada 5 mg mikonazol krim mengandung 87 µg mikonazol dengan perhitungan sebagai berikut: $2\% \times (\text{berat molekul mikonazol/berat molekul mikonazol nitrat}) \times 5 \text{ mg} = (0,02) \times (416/479) \times 5 \text{ mg} = 0,087 \text{ mg} = 87 \text{ µg}$.

Uji minyak atsiri rimpang lengkuas, etanol 70%, dan mikonazol. Pada setiap cawan petri dibuat sumuran-sumuran dengan diameter 6 mm dimana masing-masing sumuran diisi dengan 0,05 ml etanol 70%, 5 mg mikonazol krim 2%, dan 0,05 ml minyak atsiri dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4%.

Analisis data

Data berupa diameter zona hambatan dianalisis dengan menggunakan uji statistik parametrik *One-Way Anova* kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD). Data selanjutnya diolah dengan Program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) for Windows release 16.0*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji pendahuluan, ditetapkan sebanyak 8 konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas yang

selanjutnya digunakan pada tahap penelitian. Penetapan konsentrasi tersebut berdasarkan pada perbandingan diameter zona hambatan antara minyak atsiri rimpang lengkuas pada berbagai konsentrasi dibandingkan dengan diameter hambatan yang dihasilkan pada kontrol positif. Konsentrasi maksimal minyak atsiri rimpang lengkuas yang digunakan yaitu sebesar 4%, karena pada uji pendahuluan konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah yang memiliki efek antifungi melebihi kontrol positif. Dengan demikian, konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas yang digunakan pada tahap penelitian yaitu 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4%.

Hasil penelitian tentang pengaruh minyak atsiri rimpang lengkuas terhadap pertumbuhan *M. gypseum* secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 dapat diketahui adanya perbedaan rata-rata (*mean*) diameter zona hambatan yang menunjukkan perbedaan efek antifungi pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan dengan menggunakan etanol 70% (kontrol negatif) tidak terdapat zona hambatan, dimana 6 mm merupakan diameter sumuran, bukan diameter zona hambatan. Hal ini menunjukkan bahwa etanol 70% tidak mempunyai efek antifungi. Adapun pada kelompok perlakuan kontrol positif, rata-rata diameter zona hambatan sebesar 24,4 mm yang menunjukkan adanya efek antifungi. Pada kelompok minyak atsiri rimpang lengkuas terlihat efek antifungi yang bervariasi terhadap *M. gypseum*.

Pada kelompok minyak atsiri rimpang lengkuas konsentrasi 0,5% diperoleh rata-rata diameter zona hambatan sebesar 27,2 mm, pada konsentrasi 1% rata-rata diameter zona hambatan 23,5 mm, pada konsentrasi 1,5% diperoleh rata-rata diameter zona hambatan 25,3 mm, pada konsentrasi 2% rata-rata diameter zona hambatan 22,7 mm, pada konsentrasi 2,5% rata-rata diameter zona hambatan 23,1 mm, pada konsentrasi 3% dan 3,5% rata-rata diameter zona hambatannya 21,14 mm, dan pada konsentrasi 4% rata-rata diameter zona hambatan 19 mm.

Uji Normalitas dan Homogenitas Varians

Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas data. Uji normalitas terhadap data hasil penelitian dilakukan untuk mengetahui sebaran data penelitian. Oleh karena jumlah sampel pada penelitian ini lebih dari 50 sampel maka dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan adanya sebaran data penelitian yang tidak terdistribusi normal. Hal ini dapat dilihat pada kelompok perlakuan minyak atsiri 1% dan 3%.

Hasil uji homogenitas varians data penelitian menunjukkan nilai probabilitas, yaitu sebesar 0,003 ($p < 0,05$). Hal ini berarti bahwa variasi data sampel penelitian tidak homogen. Dengan demikian, analisis data dengan uji Anova tidak dapat dilakukan karena syarat uji analisis Anova tidak terpenuhi untuk distribusi dan homogenitas varians data. Oleh karena itu, analisis data penelitian dilakukan dengan uji alternatif yang lain, yaitu uji Kruskal-Wallis.

Uji Kruskal-Wallis

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis yang dilakukan terhadap seluruh kelompok perlakuan diperoleh nilai probabilitas sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan di antara kesepuluh kelompok perlakuan. Kemudian, untuk mengetahui letak perbedaan yang signifikan di antara kelompok perlakuan, dilanjutkan analisis data dengan menggunakan uji Mann-Whitney.

Uji Mann-Whitney

Dari hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif diperoleh nilai probabilitas sebesar 0,001 ($p < 0,05$). Demikian juga hasil uji Mann-Whitney terhadap kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan minyak atsiri pada berbagai konsentrasi diperoleh nilai probabilitas 0,001 ($p < 0,05$). Artinya, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kesembilan kelompok perlakuan yang lain.

Dari hasil analisis data dengan uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dan kelompok konsentrasi 1% dan 4% diperoleh nilai probabilitas sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok konsentrasi minyak atsiri 1% dan 4%.

Pada kelompok kontrol positif yang dibandingkan dengan kelompok 0,5 %, 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 %, dan 3,5 % menunjukkan nilai $p > 0,05$, artinya tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan minyak atsiri rimpang lengkuas 0,5% dan 3,5%, kelompok 0,5% dan 4%, kelompok 1% dan 4%, serta kelompok 1,5% dan 4% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$. Adapun pada kelompok minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 0,5-4% yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan $p > 0,05$ yaitu kelompok 0,5% dengan kelompok 1-3%, kelompok 1,5% dengan kelompok 0,5-3,5%, kelompok 2% dengan kelompok 0,5-4%, kelompok 2,5% dengan kelompok 0,5-4%, kelompok 3% dengan kelompok 0,5-4%, serta kelompok 3,5% dengan kelompok 1-4%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 1,5% = 2% = 2,5% = 3%.

Pembahasan

Pada tahap persiapan, sebelum penelitian dilakukan uji pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas yang akan digunakan dalam penelitian. Pada uji pendahuluan, konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas dibuat dalam lima taraf konsentrasi yaitu 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Diameter zona hambatan hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Selanjutnya, data hasil uji pendahuluan minyak atsiri rimpang lengkuas dibandingkan dengan efek antifungi mikonazol 5 mg. Perbandingan awal ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga dari berbagai konsentrasi tersebut diharapkan terdapat efek antifungi yang tidak berbeda secara signifikan dengan efek

antifungi kontrol positif atau memiliki efek antifungi yang setara.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari minyak atsiri yang dapat menimbulkan diameter zona hambat yang setara dengan kontrol positif. Pada uji pendahuluan, konsentrasi minyak atsiri 4% merupakan konsentrasi terkecil yang menghasilkan efek antifungi melebihi kelompok kontrol positif, sehingga konsentrasi 4% dijadikan sebagai konsentrasi maksimal yang akan digunakan dalam uji penelitian. Oleh karena itu, konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi 0,5% hingga 4% dengan interval 0,5%.

Pada tahap uji penelitian, biakan *M. gypseum* dibagi dalam sepuluh kelompok yang masing-masing diberi perlakuan yang berbeda. Kelompok pertama diberi perlakuan dengan etanol 70% sebagai kontrol negatif, kelompok kedua diberikan mikonazol krim 5 mg sebagai kontrol positif, kelompok ketiga sampai kesepuluh masing-masing diberi minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4%.

Menurut Jawetz et al. (1996), ukuran zona penghambatan pertumbuhan bervariasi sesuai dengan ciri khas molekuler dari berbagai obat. Dengan demikian, ukuran zona suatu obat tidak dapat dibandingkan dengan ukuran zona obat lain yang bereaksi terhadap organisme yang sama. Namun, untuk setiap obat, ukuran zona dapat dibandingkan dengan suatu standar, asal perbenihan, ukuran inokulum, dan kondisi lain yang diatur secara seksama. Pada penelitian ini, minyak atsiri dibandingkan dengan standar mikonazol krim. Akan tetapi, banyak kekurangan pada penelitian ini yang tidak sesuai dengan pernyataan.

Penggunaan McFarland sebagai standar tidak benar. Menurut Hukum Beer-Lambert, jika sebuah berkas cahaya dilewatkan ke dalam larutan maka ada sebagian cahaya yang akan diserap, sebagian dilewatkan dan sebagian kecil lainnya dipantulkan. Selain itu, Hukum Beer-Lambert juga menyatakan bahwa absorpsi cahaya berbanding lurus dengan konsentrasi larutan dan ketebalan bahan/medium (Basset et al. 1994). Contohnya pada larutan gula, saat konsentrasi larutan gula ditambah dengan cara menambah massa gula, daya sinar yang ditransmisikan akan semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa transmisi semakin kecil, sehingga absorpsi semakin besar.

Pada penelitian ini, partikel yang dibandingkan jelas berbeda. McFarland berisi asam sulfat dan barium klorida berupa suspensi, sedangkan *M. gypseum* yang digunakan berupa hifa. Ketebalan medium juga berbeda karena tabung McFarland dan *M. gypseum* berbeda jenis. Oleh karena itu, penggunaan McFarland sebagai standar kekeruhan tidaklah benar.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Berdasarkan hasil uji pendahuluan pada Tabel 1 dan uji penelitian pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada kelompok pertama yang menggunakan etanol 70% sebagai kontrol negatif tidak terdapat zona hambat. *Microsporium gypseum* dapat tumbuh dengan baik di sekitar sumuran. Hal ini berarti etanol 70% tidak memiliki efek antifungi terhadap *M. gypseum*.

Tabel 1. Diameter zona hambat hasil uji pendahuluan

Ulangan	Kontrol negatif	Diameter zona hambat (mm)					Kontrol positif
		Konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas					
		2%	4%	6%	8%	10%	
1	6	11	26,5	33,5	37,5	36,5	22,5
2	6	10	34,5	40,0	41,5	41,0	21,0
3	6	10	39,0	38,5	41,0	38,5	23,0
Rata-rata	6	10,33	33,33	37,33	40,00	38,67	22,17

Keterangan: Pengukuran diameter zona hambat, termasuk diameter sumuran (6 mm).

Tabel 2. Diameter zona hambat hasil uji penelitian pada hari ke-4.

Ulangan	Kontrol negatif	Diameter zona hambat (mm)					Kontrol positif
		Konsentrasi minyak atsiri rimpang lengkuas					
		2%	4%	6%	8%	10%	
1	6	27,5	33,5	30,5	21,0	32,5	27,0
2	6	32,0	22,0	20,5	24,5	22,5	19,0
3	6	32,5	19,0	21,0	26,0	32,5	30,0
4	6	18,5	20,0	26,0	16,0	19,0	19,0
5	6	27,5	23,5	24,0	17,5	23,0	19,0
6	6	27,5	23,0	27,5	28,0	17,0	17,5
7	6	25,0	23,5	27,5	27,0	15,5	16,5
Rata-rata	6	27,2	23,5	25,3	22,7	23,1	21,14

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikonazol krim 5 mg. Mekanisme antifungi mikonazol yaitu menghambat sintesis sterol pada membran sel fungi, akibatnya permeabilitas dinding sel meningkat dan komponen-komponen intrasel dapat keluar. Hal ini menyebabkan kematian sel jamur. Mikonazol merupakan derivat azol yang berkhasiat sebagai fungisida kuat dengan spektrum kerja lebar (Tjay dan Rahardja 2007).

Pada penelitian ini, kontrol positif tidak dilarutkan tetapi langsung diletakkan pada sumuran. Seperti halnya penelitian yang dilakukan oleh Gholib dan Darmono (2008). Dari hasil penelitian Gholib dan Darmono (2008), kontrol positif dengan rata-rata diameter zona hambat 30 mm. Adapun penelitian yang dilakukan oleh Gholib dan Kusumaningtyas (2007) dengan menggunakan krim ketokonazol 2% yang dicairkan dengan cara dipanaskan terlebih dahulu dihasilkan diameter zona hambat 14 mm.

Kriteria efek antifungi pada penelitian ini merujuk pada interpretasi diameter zona sensitivitas oleh Pakshir et al. (2009). Penggunaan 5 mg salep dikarenakan pada uji pendahuluan 5 mg menimbulkan efek antifungi. Efek antifungi pada kontrol positif dari uji pendahuluan dan penelitian tidak jauh berbeda yaitu 22,17 mm dan 24,4 mm.

Faktor yang berpengaruh terhadap kontrol positif antara lain mikonazol yang digunakan bukan preparat khusus untuk penelitian, melainkan obat generik sehingga kualitasnya kurang. Selain itu, krim merupakan sediaan setengah padat yang mengandung air (Arief 2004), sehingga memudahkan zat aktif berdifusi. Faktor lainnya yaitu metode yang digunakan tidak tepat karena digunakan

timbangan digital, akibatnya kadar kontrol positif dapat berbeda pada tiap sumuran yang akan mempengaruhi efek antifungi. Kadar mikonazol akan lebih tepat jika diambil dengan menggunakan mikropipet. Kriteria efek antifungi dilakukan dengan menggunakan kriteria zona sensitivitas menurut Pakshir et al. (2009), sedangkan kadar mikonazol yang digunakan tidak sama dengan penelitian Pakshir et al. (2009). Pakshir et al. (2009) menggunakan kadar mikonazol 10 µg/petri. Sementara itu, penelitian ini menggunakan mikonazol 87 µg/sumuran. Hal ini menjadi kekurangan pada penelitian ini karena tidak ada mikonazol standar.

Pada uji pendahuluan, minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 2% sudah dapat menghasilkan diameter zona hambatan. Hal ini berarti minyak atsiri rimpang lengkuas mulai konsentrasi 2% memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *M. gypseum*. Peningkatan konsentrasi minyak atsiri diikuti dengan peningkatan efek antifungi hingga konsentrasi 8%. Perlu diperhatikan juga pada konsentrasi tertentu yang semakin meningkat dapat saja zona hambatan tersebut tidak meningkat, tetapi menurun karena mengalami kejenuhan. Hal inilah yang diduga terjadi pada konsentrasi 10%. Pada uji pendahuluan, efek antifunginya menurun.

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan efek antifungi yang bervariasi diantara kelompok minyak atsiri. Pada konsentrasi 0,5% diperoleh rata-rata diameter zona hambatan 27,2 mm. Pada konsentrasi 1%, efek antifungi menurun yaitu sebesar 23,5 mm, sedangkan pada konsentrasi 1,5% rata-rata diameter zona hambatan meningkat menjadi 25,3 mm, kemudian menurun kembali pada konsentrasi 2% yaitu sebesar 22,7 mm. Pada konsentrasi 2,5%, rata-rata diameter zona hambatan sebesar 23,1 mm. Pada konsentrasi 3% dan 3,5% diperoleh rata-rata diameter zona hambatan yang sama yaitu sebesar 21,14 mm. Adapun pada konsentrasi 4%, rata-rata diameter zona hambatan sebesar 19 mm.

Menurut Jawetz et al. (1996), sel-sel yang terletak di atas perbenihan padat tidak dapat bergerak. Oleh karena itu, apabila beberapa sel fungsi diletakkan pada perbenihan padat, tiap sel akan tumbuh dan membentuk koloni yang terpisah. Zat ideal untuk sebagian besar perbenihan padat adalah agar-agar. Jika sudah memadat, agar-agar tidak akan mencair kembali, kecuali apabila dipanaskan pada suhu di atas 80°C. Pada penelitian ini, sampel cair *M. gypseum* diinokulasikan di atas media padat dan diduga sel-sel fungsi tersebut akan tumbuh dan membentuk koloni secara terpisah, sehingga efek antifungi bervariasi akibat sebaran koloni yang tumbuh tidak merata.

Menurut Hostettmann (2001), penentuan aktivitas antimikroba dari suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan apabila memenuhi persyaratan yang salah satunya yaitu ekstrak tanaman harus dapat kontak dengan dinding sel mikroorganisme. Penelitian ini menggunakan metode sumuran, dimana zat uji berupa minyak atsiri dimasukkan ke dalam sumuran pada media. Minyak atsiri dalam sumuran yang terletak di bawah belum tentu dapat berdifusi hingga mencapai bagian atas/permukaan dari media SDA, sehingga diduga efek antifungi minyak atsiri

yang timbul hanya dari bagian atas yang terjadi kontak dengan dinding sel jamur.

Selanjutnya, data hasil uji penelitian (Tabel 2) dinalisis dengan menggunakan Program *SPSS for Windows release 16.0*. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan diameter zona hambatan yang signifikan pada 10 kelompok perlakuan maka dilakukan analisis dengan menggunakan uji Anova. Untuk menggunakan uji Anova, terdapat beberapa syarat yang harus dipenuhi, yaitu varian data harus sama dan data yang diperoleh harus homogen (Dahlan 2008). Namun, data yang diperoleh tidak memenuhi syarat-syarat tersebut, sehingga analisis data dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Uji Kruskal-Wallis digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter zona hambatan yang signifikan pada kesepuluh kelompok perlakuan. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambatan pada kesepuluh kelompok perlakuan berbeda secara signifikan dengan $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang lengkuas mempunyai pengaruh yang berbeda pada setiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *M. gypseum* secara in vitro.

Hal ini sesuai dengan hipotesis awal yang menyebutkan bahwa minyak atsiri rimpang lengkuas memiliki efek antifungi terhadap *M. gypseum* secara in vitro. Menurut Buchauf (2003), minyak atsiri rimpang lengkuas mengandung senyawa eugenol, sineol, dan metil sinamat. Zona hambatan pada perlakuan minyak atsiri terbentuk karena minyak atsiri rimpang lengkuas mengandung eugenol. Eugenol tersebut diduga memberikan efek antifungi terhadap jamur *M. gypseum* seperti pada penelitian Lee et al. (2007) bahwa eugenol dapat membasmi jamur *M. gypseum*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Gholib dan Darmono (2008) menunjukkan bahwa ekstrak lengkuas yang mengandung minyak atsiri dapat berfungsi sebagai antifungi terhadap infeksi *Trichophyton mentagrophytes*.

Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan yang berbeda secara signifikan dengan kelompok lain maka dilakukan *Post-hoc Test*, yaitu dengan menggunakan uji Mann-Whitney (Riwidikdo 2008). Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif menunjukkan nilai probabilitas sebesar 0,001 ($p < 0,05$). Demikian juga uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan minyak atsiri pada berbagai konsentrasi diperoleh nilai probabilitas 0,001 ($p < 0,05$). Artinya, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kesembilan kelompok perlakuan yang lain.

Analisis data dengan uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 1% dan 4% diperoleh nilai probabilitas yaitu sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok 1% dan 4%. Pada kelompok kontrol positif yang dibandingkan dengan kelompok 0,5%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, dan 3,5% menunjukkan nilai $p > 0,05$, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Pada kelompok perlakuan minyak atsiri rimpang lengkuas 0,5% dan 3,5%, kelompok 0,5% dan 4%, kelompok 1% dan 4%, serta kelompok 1,5% dan 4% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$. Adapun kelompok minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 0,5-4% yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan $p > 0,05$, yaitu kelompok 0,5% dengan kelompok 1-3%, kelompok 1,5% dengan kelompok 0,5-3,5%, kelompok 2% dengan kelompok 0,5-4%, kelompok 2,5% dengan kelompok 0,5-4%, kelompok 3% dengan kelompok 0,5-4%, kelompok 3,5% dengan kelompok 1-4%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 1,5% = 2% = 2,5% = 3%.

Secara statistik, konsentrasi 0,5%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, dan 3,5% memiliki efek antifungi yang tidak berbeda secara signifikan dalam menghambat pertumbuhan *M. gypseum* secara in vitro.

KESIMPULAN

Minyak atsiri rimpang lengkuas memiliki efek antifungi terhadap *M. gypseum* secara in vitro. Secara statistik, minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 0,5%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, dan 3,5% menunjukkan efek antifungi yang tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif atau memiliki efek antifungi yang setara. Minyak atsiri rimpang lengkuas dengan konsentrasi 0,5% dan 1,5% memiliki efek antifungi yang lebih besar dari 5 mg mikonazol krim.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad M, Ansuategui M, Bermeja P. 2007. Active antifungal substances from natural sources. *ARKICOV* 7: 116-145.
- Adiguna MS. 2004. Epidemiologi dermatomikosis superfisialis. Dalam: Budimulja U (ed.). *Dermatomikosis Superfisialis*. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Arief M. 2004. Prinsip umum dan dasar farmakologi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Bassett J, Denney RC, Jeffery GH et al. 1994. Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik. Edisi ke-4. EGC, Jakarta.
- Bridson EY. 1998. The oxid manual, 8th edition. Oxoid Limited, Hampshire, UK.
- Buchbauer G. 2003. Original research paper. *Acta Pharm* 53 : 73-81
- Budimulja U. 2007. Mikosis. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Edisi V. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Chusnie TPT, Lamb AJ. 2005. Riview antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26: 343-356.
- Dahlan MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. 2008. Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Dalimartha S. 2009. Lengkuas dalam atlas tumbuhan obat Indonesia, jilid 6. Pustaka Bunda, Jakarta.
- Gholib D, Darmono. 2008. Pengaruh ekstrak lengkuas putih [*Alpinia galangal* (L) Willd] terhadap infeksi trichophyton mentagrophytes pada kelinci. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 6:57-62.
- Gholib D, Kusumaningtyas E. 2007. Uji daya hambat ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* SW) dan daun sirih (*Piper betel* L.) terhadap kapang dermatofit secara in vitro dan in vivo. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 21-22 Agustus 2007. Puslitbang Peternakan, Bogor.
- Harahap M. 2000. Ilmu Penyakit Kulit. Hipokrates, Jakarta.
- Hostettmann K, Wolfender JL, Terreaux C. 2001. Modern screening techniques for plant extracts. *Pharm Biol* 39 Suppl 1: 18-32.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1996. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20. EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Lee SJ, Han JI, Lee GS, et al. 2007. Antifungal effect of eugenol and nerolidol against *Microsporium gypseum* in a guinea pig model. *Biol Pharmaceut Bull* 30 (1): 184-188.
- Murti B. 2006. Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan. GMU Press, Yogyakarta.
- Nasution MA, Muis K, Rusmawardiana. Tinea Capitis. Dalam: Budimulya U, et al. (ed). *Dermatomikosis Superfisialis*. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Nasution MA. 2006. Mikologi dan Mikologi Kedokteran: Beberapa Pandangan Dermatologis. Dalam Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin pada Fakultas Kedokteran USU, Medan.
- Pakshir K, Bahaedinie L, Rezaei Z, Sodaifi M, Zomorodian K. 2009. In vitro activity of six antifungal drugs against clinically important dermatophytes. *Jundishapur J Microbiol* 2 (4): 158-163.
- Parwata OA, Dewi FS. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak. Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.). Universitas Udayana, Badung, Bali.
- Pinto Dias JC 2006. The treatment of Chagas disease (South American trypanosomiasis). *Ann Intern Med* 144: 772-774.
- Riwidikdo, H., 2008, Statistik Kesehatan, Mitra Cendikia Press, Yogyakarta
- Romano C, Massai L, Gallo A, Fimiani M. 2009. *Microsporium gypseum* infection in the Siena area in 2005-2006. *Mycoses* 52 (1):67-71.
- Savitri FR. 2010. Efek Antifungi Ekstrak Biji Jinten Hitam. (*Nigella Sativa*) Terhadap Pertumbuhan *Microsporium Gypseum* Secara In Vitro. [Skripsi], Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta,
- Sundari D, Winarno MW. 2001. Informasi tumbuhan obat sebagai antifungi. *Cermin Dunia Kedokteran* 130: 28-34.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya. Edisi ke VI. PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Yuharmen Y, Eryanti Y, Nurbalatif. 2002. Uji Aktivitas Antimikrobia Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*). *Jurnal Nature Indonesia* 4 (2): 17.

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tata nama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butilat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telah disesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian, dan metode-metode khusus yang digunakan.

Pendahuluan (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka, dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telah ada tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto

sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa penulis, nama penulis diurutkan berdasarkan kebaruan pustaka. Pada naskah yang ditulis oleh dua penulis, nama keduanya disebutkan, sedangkan pada naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, hanya nama penulis pertama yang ditulis diikuti et al. atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto et al. 1998; Baker and Manwell 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy 1991 *cit* Coward 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto S, Gough KH, Shukla DD et al. 1998. Coat protein sequence of Krish-infecting strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. Arch Virol 143: 1015-1020.

Buku:

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

Bab dalam buku:

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

Abstrak:

Liu Q, Salih S, Ingersoll J et al. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science. Lake Buena Vista, FL, 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra HS. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. In: Setyawan AD, Sutarno (eds). Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko T. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai. [Tesis]. Universitas Indonesia, Jakarta.

Informasi dari Internet:

Rosauer D. 1998. Forest disturbance and succession. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , χ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjajaran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok masih memegang hak cipta (*copyright*) dan mempertahankan hak penerbitan tanpa pembatasan atas naskah yang diterbitkan *Biofarmasi*. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

- Perbandingan efektivitas analgesik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan aspirin dosis terapi pada mencit** 1-6
- DIAN AJENG ATIKANINGRUM, ENDANG EDININGSIH, CR. SITI UTARI
- Efektivitas ekstrak biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan biji bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) dalam pengendalian hama buah kakao** 7-12
- FAZRIA NUGRAHAENI, RETNO WIJAYANTI, Y.V. PARDJO NOTOSANDJOJO
- Penambahan berbagai jenis madu sebagai alternatif pemanis minuman sari buah naga putih (*Hylocereus undatus*)** 13-18
- SOLEH PURWONO AJI, R. BASKARA KATRI ANANDITO, EDHI NURHARTADI
- Uji aktivitas sinbiotik ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen pada ayam broiler secara in vitro** 19-23
- AINUNNI'MAH ZEN, TJAHHADI PURWOKO, HARDI JULENDRA
- Efek antifungi minyak atsiri rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap *Microsporum gypseum* secara in vitro** 24-30
- AYU INDRASARI, RUBEN DHARMAWAN, SUTARMIADJI DJUMARGA

