

STUDY OF GELATINE FROM DUCK BONE AS AN ALTERNATIVE SOURCE OF HALAL GELATINE

M. Habbib Khirzin^{*}, Mustofa Hilmi

Processing Technology of Livestock Product Department, State Polytechnic of Banyuwangi
Jl. Raya Jember KM. 13, Labanasem, Kabat, Banyuwangi, East Java

^{*}e-mail: habbibkhirzin@poliwangi.ac.id

ABSTRACT

Gelatine is a common ingredient that is often used in many fields, such as food, pharmacy, and cosmetics. It is usually extracted from pig and cow. Halal issues of gelatine sources and the outbreaks of mad cow disease encouraged people to find an alternative source of gelatine. One of the alternative sources of gelatine is duck bone. Duck bone has not been widely used as a raw material for gelatine. This research aimed to describe the physicochemical properties of duck bone gelatine, which was extracted by using the acid extraction method as an alternative source of halal gelatine. The extraction of duck bone gelatine used 5 % concentration of HCl (hydrochloric acid). The extraction process consisted of four steps; they were degreasing, defatting, demineralization, and acid extraction. The result showed that gelatine, which was extracted from duck bone, had these several characteristics: The yield of 6.24%, pH 4.0, the water content of 13.43%, the ash content of 13.42%, the protein content of 65.43%, and whiteness degree of 30.35%. Generally, gelatine, which extracted from duck bone, had similar characteristics with commercial gelatine and SNI standard. The further researcher had been suggested to reoptimized the extraction method in order to reduce ash content.

Keywords: Duck bone, Acid extraction, Halal gelatin

INTRODUCTION

Gelatine is a product of collagen hydrolysis from the skin, connective tissue, and animal bone. Gelatine is a derivative of collagen, which is functioned as a foaming agent, stabilizer, gelling agent, thickener, and emulsifier (Sari, 2017). Commercial gelatine is usually extracted from pig and cow. Nowadays, sources material of gelatine is mostly being reviewed by Moslem since Moslem is not allowed to consume pig and most gelatine are produced from pigskin. Gelatin Manufacturer Association of Asia Pacific (2007) reported that raw material that was used by gelatine producers was pigskin (46%), cow skin (28%), and cow bone (24%). Haram's status on pigskin based products and mad cow disease in some countries such as France, Japan, India, Germany, China, and Australia encourage people to find alternative sources of gelatine.

Indonesia is a country that the majority of its citizen is Moslem (87.18%) (Badan Pusat Statistik, 2010). The halal issue becomes the most critical judgment to select food and drink. Islam teaches Moslem only to consume halal food and drink and

forbid them to consume haram food and drink. As what being written in QS Al-Maidah 3 (5:3), "Forbidden to you (for food) are dead meat, blood, the flesh of swine, and that on which had been invoked the name of other than Allah SWT...." Besides that, the command to consume only halal food is also written on QS Al-Maidah 90, QS Al-An'am 145, and An-Nahl 115.

Gelatine demand in this past decade was increasing as the development of industrial food technology. Exploration of new gelatine sources as an alternative instead of using pigskin is still being reviewed. Several material sources of gelatine are poultry, seafood, and insect (Mariod, 2013). Miskahet *et al.* (2010), Jannah *et al.* (2013), and Minahet *et al.* (2016) reported that gelatine, which was extracted from poultry bone, seafood bone, and insect has similar characteristic with commercial gelatine. Poultry bones such as duck bones are easily founded in our environment. Duck bone has a potency to be developed become gelatine. Duck bone becomes an interesting study to be investigated as an alternative source of halal gelatine. The purpose of this research was to investigate the

physicochemical properties of gelatine extracted from duck bone.

MATERIAL AND METHOD

Material

The equipment used in this research were digital balance, beaker glass, Erlenmeyer flask, volumetric flask, micropipette, hotplate stirrer, vortex mixer, spoon, tray, pan, stove, oven dryer, pH meter, whiteness meter, muffle, Soxhlet apparatus, protein destructor, and distillatory. The materials used in this research were duck bone, aquadest, natrium hidroxide, hydrochloric acid, benzene, kjeldahl tablet, potassium sulfate, sulfuric acid, methylene blue, methylene red, phenolphthalein indicator, boric acid.

Method

Raw materials used in this research were duck bone, which was taken from a local restaurant in Banyuwangi, which specializes in fried duck menu. The bone used was the upper thigh. This research conducted in the Food Laboratory of Processing Technology and Livestock Product Department, Politeknik Negeri Banyuwangi. The research was divided into three steps. They were pretreatment, extraction, and analysis — pretreatment process based on Ulfa *et al.* (2015) method with slight modification. In the pretreatment process, duck bone was rinsed by water, then soaked with aquadest (1:3) w/v, and boiled at 80°C for two hours. Next, the sample was cut into small pieces (approximately 2-3 cm) and was soaked by 1 M NaOH solution (1:5) w/v for two hours. The sample was neutralized by aquadest and was soaked by 5 % HCl solution for 24 hours.

The pretreatment process produced ossein. It was a soft duck bone — extraction process based on Sirikhwatinrat *et al.* (2015) method with slight modification. Aquadest soaked the sample (1:3) w/v then was gradually boiled at 70°C and 80°C for an hour, respectively. Boiling results were filtrated with cheesecloth. Furthermore, sample was collected in beaker glass. The

sample was dried using an oven vacuum dryer overnight. The sample powder (gelatine) had been analyzed its physicochemical properties, such as yield, pH, water content, ash content, protein content, and whiteness degree.

RESULT AND DISCUSSION

Gelatine Extraction

The gelatine extraction process consisted of several steps. Gelatine was strongly bonded in bone tissue with fat, carbohydrates, and mineral such as calcium, phosphor, magnesium so that the extraction process needs a long time. The extraction process needed pretreatment to produce ossein (soft bone), so gelatine can be extracted easily. The first pretreatment process was degreasing with high temperature for two hours. The purpose of this step was to break mineral at high temperatures. The second pretreatment was defatting and deproteination with NaOH solution. NaOH is a reliable base solution so that it can bond fat tissue in bone. Deproteination could reduce the amount of non-collagen protein in animal bone.

Gelatine is a partially hydrolyzed product from collagen. When collagen boiled over 50°C, its triple helix structures will break. It can be caused by the increase of gelatine solubility in water. Gelatine extraction using hot water would cause gelatine soluble in water. This process gave residue such as mineral and a little amount of fat so that it needed to be filtered after the extraction. The drying process after filtration aimed to enhance the concentration of gelatine and shelf life. Dried gelatine should be stored in an airtight place because it is hygroscopic.

Physicochemical Properties

The physicochemical properties of gelatine, which was tested, were yield, pH, water content, ash content, and whiteness degree. The result of the research was shown in Table 3. The Gelatine yield extracted from duck bone was 6.24%. This yield was lower compared to gelatin from commercial sources. The yield was the ratio of the initial

and final weight of the sample. It was various depended on the raw material. Miskah *et al.* (2010) reported that gelatine yield, which was extracted from chicken bone, was 4-8%. On the other hand, Rapika *et al.* (2016) reported that the yield of cow skin gelatine was 23.23%. Generally, gelatine yield from animal bone was lower than from animal skin because of the animal bone harder than their skin.

Color was one of the physical analysis to determine the quality of gelatine. The whiteness degree of duck bone gelatine was 30.35%. This value fulfilled the SNI standard of gelatine, from 30 to 75%. Generally, Gelatine has a light brown and dark brown color. pH was one crucial parameter to determine the quality of gelatine. Duck bone gelatine pH was 4.0. This value still fulfilled Gelatin Manufacturer Institute of America (2012) standard, from 3.8 to 5.5, and SNI standard from 4 to 7. Huda (2013) stated that pH value of gelatine was affected by concentration of HCl and extraction time. The higher the concentration of HCl, the smaller pH of gelatine.

Water content was one of the gelatine quality standards. It affected color, taste, and shelf life. The water content of duck bone gelatine was 13.43%. This result fulfilled the SNI standard, which is a maximum of 16%. The lower the water content of gelatine, the higher its shelf life. Ash was a mineral compound in the animal bone. Generally, a mineral from bone was dominated by calcium, phosphorus, and magnesium. Ash content of duck bone gelatine was 13.42%. It was higher than the SNI standard, a maximum of 3.25%. The high ash content indicated that there were component minerals in duck bone gelatine. Sasmitaloka *et al.* (2017) stated that the ash content of gelatine could become a standard of the successful extraction process. The higher ash content of gelatine showed that the extraction process had been optimized yet because there was mineral residue. Suitable gelatine had low and bright color ash residue.

Gelatine consisted of a minimum of 50% protein. It consisted of almost all amino acids except tryptophan and cysteine. The

protein content of duck bone gelatine was 65.43%. It met the minimum standard of SNI, 50%. Jannah *et al.* (2013) reported that chicken bone gelatine extracted using acetic acid, had 86% protein content. Collagen protein was strongly bonded on incomplete tissue bone. The pretreatment process made collagen separated from tissue gradually. While extraction caused the collagen denatured (the unfolding of the tertiary structure of collagen) so that collagen changed into gelatine during the heating process. This process was irreversible, where collagen was changed into gelatine, could not be changed again into collagen.

Tabel 1. Physicochemical properties of duck bone gelatine

No	Parameter	Value	SNI
1	Yield	6.24 %	-
2	pH	4.0	4-7
3	Whiteness	30.35%	30-75%
4	Water content	13.43%	Max 16%
5	Ash content	13.42%	Max 3.2%
6	Protein content	65.43%	Min 50%

Discussion

Gelatine demand of the world continues to grow year by year. Gelatine is most widely used in many fields. The newest innovation of gelatine is the development of the edible film. This edible film can be used for packaging coating so that the product can be immediately eaten. In the functional food field, the gelatine was also developed to be peptide through the hydrolysis process. The peptide can become a scavenger agent (antioxidant) and reduce high blood pressure (antihypertensive). Gelatine peptide can be consumed safely without any side effects. So, it can become an alternative treatment for degenerative disease.

National gelatine demand is still dependent on imports from China, Brazil, and Australia. During the past ten years, many emerging issues of halal and animal diseases happened in the Asian countries. Islam teaches Muslims to be careful in choosing food. Islam recommends consuming food, which is lawful and good for health. It is stated in QS. Al-Baqarah 168

and 173. It is also re-emphasized in QS. An-Nahl 115. The exploration of gelatine sources except cows and pigs is still developed during a view decade. One of the resources is poultry.

Poultry is an animal that is bred by the majority of people in Indonesia. Poultry produced waste, one of them was bone. Bone waste was only processed to become powder for animal feed. The extraction of poultry bone, such as duck bone to produce gelatine, was one of the best ways to enhance its added value. Preliminary studies of the gelatin potential of these duck bones illustrate that gelatin can be extracted not only from cattle and pigs. The weakness of the research results is the yields are still low. The optimization of the extraction method needs to be conducted to produce better physicochemical characteristics. So, it is expected to be mass-produced. Collaboration from various disciplines is also needed to produce high-quality gelatine products. If all of this can be achieved, then halal gelatine production from local sources can compete with imported gelatin.

CONCLUSION

Gelatine extraction was divided into two steps. They were pretreatment and extraction. Gelatine, which was extracted from duck bone, had these several characteristics: yield of 6.24%, pH 4.0, the water content of 13.43%, the ash content of 13.42%, the protein content of 65.43%, and color degree of 30.35%. Generally, gelatine, which was extracted from duck bone, had similar characteristics with commercial gelatine and SNI standard. The disadvantage of gelatine from duck bone was the yield still lower compared to gelatine from cow skin. Re-optimization of extraction methods needs to be done so that gelatin has better yield and physicochemical characteristics.

ACKNOWLEDGMENT

The author would like to thank the Directorate of Research and Community

Service Ministry of Research Technology and Higher Education for providing research funding within the framework of the beginner lecturer research program in 2019.

REFERENCES

- Badan Pusat Statistik. (2010). *Citizen Based on The District and Religion*. [Online]. Obtained from <http://www.sp2010.bps.go.id/index.php/site/tabel?tid=321>.
- Buckle, K.A., Edward R.A., Fleet G.H., & Wotton, M. (1987). *Food Science*. Jakarta: UI-Press.
- Gelatin Manufacturer Association of Asia Pacific. (2007). *Gelatin Food Science*. [Online]. Obtained from <http://www.gelatin.co.za/glt1>.
- Gelatin Manufacturer Institute of America. (2012). *Gelatin Handbook*. [Online]. Obtained from <http://www.gelatin-gmia.Com/gelatinhandbook>.
- Gelatin Manufacturer of Europe. (2000). *Monograph. Standard Method for The Testing of Edible gelatin. Version I*. [Online]. Obtained from <http://www.gelatin.org/gme.html>.
- Huda, N., Seow, E.K., Normawati, M.N., & Aisyah, N.M. (2013). Preliminary study on physicochemical properties of duck feet collagen. *International Journal of Poultry Science*, 12(10), 615-621.
- Huda, W.H., Atmaka, W., & Nurhartadi, E. (2013). The study of gelatin physicochemical properties from chicken feet with different acid concentrations and incubation time. *Journal of Food Technoscience*, 2(3), 70-75.
- Jannah, A., Maunatin, A., Windayanti, A., Findianti, Y., & Mufidah, Z. (2013). Isolation and characterization of gelatin from the chicken bone with

- acid extraction method. *Journal of Alchemy*, 2(3), 184-189.
- Mariod, A.A. (2013). Insect oil protein: Biochemistry, food, and other uses: Review. *Journal Agriculture Sciences*, 14(9B), 78-80.
- Minah, F.N., Siga, M.D.W., & Catur, P.S. (2016). Gelatin extraction from tuna bone collagen hydrolysis with different acid concentration and extraction time. National Conference on Innovation and Technology Application. Industrial Engineering Faculty. ITN Malang.
- Miskah, S., Ramadianti, I.M., & Hanif, A.F. (2010). The effect of different acetic acid concentrations, HCl solution, and soaking time on chicken feet and bone gelatin. *Journal of Chemistry engineering*, 17(1), 1-6.
- Rapika., Zulfikar, & Zumarni. (2016). Gelatin physics quality from cow skin extraction with different hydrochloric acid concentration and incubation time. *Journal of Animal Science*, 13(1), 26-32.
- Sari, D.K. (2017). *Halal gelatin production from chicken feet skin with different defatting method and its application on ice cream*. (Thesis). Bogor Agricultural University. Bogor.
- Sasmitaloka, K.S., Miskiyya, & Juniawati. (2017). Potential of dry cow skin as a basic material for halal gelatin production. *Bulletin of animal science*, 41(3), 328-337.
- Sirikhwantinrat, M., & Sila-asna. (2017). Optimization of gelatin extraction and physic-chemical properties of fish skin and bone gelatin: Its application to panna cotta formulas. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 5(3), 263-273.
- Ulfa, M., Trisunaryanti, W., Falah, I.I., & Kartini, I. (2015). Characterization of gelatin extracted from cow bone for carbon synthesis. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 8(8), 57-63.

VIABILITAS PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 SETELAH MIKROENKAPSULASI

Benni James Stepen Silaban^{1), 2)}, Lany Nurhayati^{1)*}, Apriliana Wahyu Hartanti²⁾
¹⁾Program Studi Kimia, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Nusa Bangsa,
Jl. Sholeh Iskandar Km 4, Tanah Sereal, Bogor 16166

²⁾Departemen Metabolic Engineering, PT.Dexa Laboratories of Biomolecular Sciences (DLBS),
Jl. Industri Selatan V, Blok PP No.7, Kawasan Industri Jababeka II, Cikarang 17550

* e-mail: lany@unb.ac.id

ABSTRACT

Viability of Lactobacillus acidophilus DLBSD102 after Microencapsulation

Probiotic food products began liked by the public healthy, but they have unstabil of the viability for amount of bacteria dan life time. This study was aim to select encapsulant material were maltodextrin, whey protein isolate, and inulin for the viability the *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 during the spray drying method. Since spray drying process use the high temperature, suitable encapsulation material will increase the viability of probiotic and the quality of the final product. The spray drying temperature used was 130°C (inlet) and 60°C (outlet). The quality of the fermented milk powder containing *L.acidophilus* DLBSD102 bacteria strain was evaluated by measure the bacterial viability, bacterial cell resistance from hot temperatures, bile salts (0.5%) low pH (pH 2.0), and the presence of possible pathogenic bacteria. The results showed that the additional encapsulation material of inulin yielded a good quality fermented milk powder, compared with a mixture of encapsulation materials of maltodextrin: whey protein isolate (3:1). The addition of encapsulation material in the form of inulin yielded viability of BAL with log decrease of $0.20 \pm 0,01$ log CFU/g whereas without inulin addition decreased by 0.51 ± 0.36 log CFU/g when dried. Therefore, the mixture of encapsulation materials is used in the microencapsulation process of BAL by yielding 8.93% heat resistance, bile salt resistance of 78.55%, resistance to pH 2 of 77.25%, total titrated acids by 2.38%, moisture content during storage of 4.33% (4°C) and 3.96% (25°), pH value during fermentation process was $3.59 \pm 0,35$ and no pathogenic bacteria was detected during production, packaging and storage for 4 weeks.

Keywords: *L. acidophilus* DLBSD102, microencapsulation, enkapsulation material, spray drying.

ABSTRAK

Produk pangan probiotik mulai disukai oleh masyarakat milenial, namun viabilitas mikroba yang ada sering tidak stabil dalam jumlah dan waktu penyimpanan, sehingga perlu disalut menggunakan mikroenkapsulan. Penelitian ini tentang viabilitas *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 menggunakan bahan enkapsulan yang sesuai dengan metode pengeringan semprot (*spray drying*). Tujuannya mengetahui perbandingan konsentrasi enkapsulasi yang terdiri atas maltodekstrin, whey protein isolate, serta penambahan inulin terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 setelah proses pengeringan semprot. Suhu yang digunakan adalah 130°C (*inlet*) dan 60°C (*outlet*). Bahan enkapsulan adalah campuran dari maltodekstrin:whey protein isolate:inulin (3:1:1). Evaluasi kualitas serbuk susu fermentasi yang diperoleh yaitu viabilitas, ketahanan sel bakteri terhadap suhu panas, garam empedu (0,5%), pH rendah (pH 2,0) dengan metode cawan tuang, dan evaluasi bakteri patogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan enkapsulan tambahan berupa inulin menghasilkan serbuk susu fermentasi dengan kualitas yang baik, dibandingkan dengan campuran bahan enkapsulan berupa maltodekstrin:whey protein isolate (3:1). Penambahan bahan enkapsulan berupa inulin menghasilkan viabilitas BAL dengan log penurunan sebesar $0,20 \pm 0,01$ log CFU/g, sedangkan tanpa penambahan inulin turun sebesar $0,51 \pm 0,36$ log CFU/g saat dikeringkan. Oleh sebab itu, campuran bahan enkapsulan yang digunakan dalam proses mikroenkapsulasi BAL menghasilkan ketahanan terhadap panas sebesar 8,93%, ketahanan terhadap garam empedu sebesar 78,55%, ketahanan terhadap pH 2 sebesar 77,25%, total asam tertirasi sebesar 2,38%, kadar air selama penyimpanan sebesar 4,33% (4°C) dan 3,96% (25°), nilai pH selama proses fermentasi sebesar $3,59 \pm 0,35$. Dan, serbuk susu fermentasi tidak mengandung bakteri patogen selama proses produksi, pengemasan hingga penyimpanan selama 4 minggu.

Kata kunci: Probiotik *L. acidophilus* DLBSD102, mikroenkapsulasi, bahan enkapsulan

PENDAHULUAN

Seiring dengan banyaknya konsumsi obat-obatan bagi para konsumen yang

mengeluhkan sakit seperti diare, gejala *irritable bowel syndrome* (IBS) akibat antibiotik dan gaya hidup yang tidak sehat. Hal tersebut menyebabkan mulai beralihnya

konsumsi makanan dari yang tidak sehat menjadi sehat, salah satunya dengan adanya produk-produk hasil fermentasi dari bakteri asam laktat yang bersifat menguntungkan bagi tubuh.

Berdasarkan laporan pasar yang diterbitkan oleh *Market Research Transparansi*, menyatakan bahwa pasar probiotik secara global dilihat, dari Laju Pertumbuhan Majemuk Tahunan (*Compound Annual Growth Rate*) (CAGR) mengalami peningkatan. Tingkat penjualan produk pangan probiotik, suplemen dan makanan mengalami peningkatan dari US\$ 62,6 miliar pada tahun 2014 dan akan terus meningkat sebesar 7,40% selama periode 8 tahun sebelumnya dan diperkirakan akan mencapai US\$ 96 miliar pada tahun 2020 (Pedretti, 2013).

Probiotik merupakan mikroba hidup yang berfungsi menjaga keseimbangan mikroflora usus. Efek positif probiotik terhadap kesehatan inangnya khususnya manusia telah banyak dibuktikan sebelumnya, seperti meningkatkan respon sel imun, menurunkan kadar mutagen atau karsinogen, menurunkan kadar kolesterol darah dan memperbaiki toleransi terhadap laktosa (Fuller, 1991). Untuk dapat berfungsi dengan baik, probiotik harus dapat mempertahankan viabilitasnya dalam jumlah dan waktu tertentu Salminen *et al*, (1998). Salah satu usaha dalam menjaga viabilitas bakteri selama proses produksi, pengemasan dan penyimpanan yaitu dengan metode mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi merupakan teknik penyalutan bahan inti yang dari sampel padatan ataupun cairan. Enkapsulasi bertujuan melindungi bahan inti dari kehilangan zat penting, menjaga bahan aktif, memudahkan pelepasan bahan inti dan melindungi komponen aktif dari lingkungan luar (Kondo, 1979). Bahan-bahan enkapsulasi diantaranya berbagai jenis polisakarida seperti pati, maltodekstrin, inulin, alginat, gum arab, gelatin, karagenan, dan protein seperti albumin, kasein, dan *whey protein isolate*, dan penggunaannya perlu diperhatikan, karena masing-masing bahan mempunyai karakter yang berbeda dan belum tentu cocok dengan bahan inti

yang akan dienkapsulasi (Desmond *et al*, 2002).

Berbagai penelitian mengenai pengaruh mikroenkapsulasi, telah dilakukan sebelumnya dengan bahan enkapsulan yang berbeda-beda dan hasil yang beragam. Penelitian oleh Sultana *et al*, (2000) dan Soukoulis *et al*, (2013) menemukan bahwa mikroenkapsulasi menggunakan kombinasi alginat-pati atau *whey protein* mampu meningkatkan viabilitas dan ketahanan *L.acidophilus*.

Penelitian Yonekura *et al*, (2013) menyatakan bahwa enkapsulasi menggunakan *hydroxypropyl methyl cellulose* (HPMC) tidak berpengaruh signifikan terhadap viabilitas dan ketahanan terhadap panas selama proses pengeringan semprot. Umumnya enkapsulasi menggunakan bahan protein diketahui mampu meningkatkan ketahanan penyimpanan setelah dienkapsulasi (Soukoulis *et al*, (2013) dan Jiang *et al*, (2016), sedangkan enkapsulasi menggunakan polisakarida berpengaruh pada tekstur dan ketahanan didalam saluran pencernaan.

Maltodekstrin dengan rumus umum $[(C_6H_{10}O_5)_n H_2O]$ merupakan bahan dari hasil hidrolisis pati dengan ikatan glikosidik (1-4) α -D-glukosa. Maltodekstrin dihasilkan melalui proses hidrolisis dengan bantuan enzim (α -amilase) atau asam (Kennedy *et al*, 1995), memiliki *Dextrose Equivalent* (DE) kurang dari 20. DE menunjukkan persentase dari dextrose murni dalam produk kering.

Whey protein isolate merupakan protein nonkasein yang berasal dari total protein susu skim. *Whey protein isolate* banyak digunakan karena mampu melindungi dinding sel bakteri, menjaga kestabilan dan ketahanan protein terhadap suhu panas pada proses enkapsulasi dengan metode pengeringan semprot (Young *et al*, 1993).

Inulin merupakan serat pangan dengan komposisi berupa oligosakarida (monomer berupa fruktosa) berasal dari umbi-umbian, memiliki kandungan serat tinggi dan banyak digunakan, karena mampu mengurangi resiko kanker usus besar dan menormalkan kadar gula darah pada tubuh. Inulin merupakan serat pangan sulit

dihidrolisis oleh enzim tubuh manusia, tapi dapat difermentasi di saluran usus dengan bantuan mikroflora, dan membantu kinerja dari usus dan lemak darah. Proses fermentasi inulin dengan bantuan *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* mampu menghasilkan asam lemak rantai pendek berupa asam asetat, propionat, L-laktat, butirir yang bermanfaat bagi tubuh manusia dengan perbandingan bahan enkapsulasi 3:1:1 (Young *et al*, 1993). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbandingan konsentrasi enkapsulasi yang terdiri atas maltodekstrin, *whey protein isolate*, serta penambahan inulin yang berpengaruh terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 setelah proses pengeringan semprot (*spray drying*).

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari kultur starter bakteri *L. acidophilus* DLBSD102 koleksi dari Laboratorium Metabolic Engineering DLBS, air *reverse osmosis* (RO), instan skim milk powder, sukrosa, maltodekstrin, inulin dan *whey protein isolate*, larutan novobiocin, de Man rogosa sharpe broth (MRSB), de Man rogosa sharpe agar (MRSA), *sodium peptone broth* (Merck), NaCl 0,85% (Oxoid), *polysorbate* (Tween 80), *tryptic soy broth* (TSB), *macconkey broth* (MCB), *rappaport vassiliadis salmonella enrichment broth* (RVS), *xylose lysine deoxycholate agar* (XLDA), *cetrimide agar* (CA), *mannitol salt phenol red agar* (MSA).

Alat-alat yang digunakan terdiri peralatan gelas, *autoclave* Hirayama, shaker inkubator Innova 40, sentrifuga Kubota 7780, *scanning electron microscope* (SEM) JSM-6510, kemasan aluminium foil berlapis *low density polyethylene* (LDPE), mikropipet Eppendorf, *sealer vacuum*, neraca analitik Mettler Toledo AB-245, pengering semprot (*spray dryer*) CNK-5000-3, *laminar air flow* Airegard, *biosafety cabinet* Thermo Scientific, pH meter Toledo, fermentor New Brunswick dan spektrofotometer Biorad.

Penentuan Kurva Pertumbuhan Kultur *L.acidophilus* DLBSD102 (Apriyantono *et al*, 1989) dengan modifikasi

Pengukuran kurva pertumbuhan *L.acidophilus* DLBSD102 dilakukan pada dua jenis media yaitu media MRS broth (*de Man Rogosa Sharpe Broth*) dan media susu 100 mL. Pengukuran pertumbuhan pada kedua media dilakukan berdasarkan perhitungan koloni dengan metode cawan tuang menggunakan media MRS agar. Kekeruhan yang diukur λ 600 nm untuk media MRS broth. Pengukuran dilakukan setiap dua jam sekali selama 24 jam. Kultur bakteri yang digunakan dikondisikan pada viabilitas yang tinggi, sehingga diperoleh jumlah populasi setelah dalam bentuk serbuk minimal 10^7 CFU/g.

Kurva pertumbuhan tersebut digunakan untuk penentuan fase-fase pertumbuhan kultur starter, sehingga dapat diperoleh kondisi kultur yang optimal untuk digunakan sebagai starter. Berdasarkan hasil penentuan waktu inkubasi yang optimum, lalu dilakukan perbanyakan bakteri *L.acidophilus* DLBSD102 untuk dipanen sel-selnya sebagai bahan baku pembuatan kultur starter susu fermentasi. Kurva pertumbuhan pada MRS broth dilakukan dengan menginokulasikan 1 mL indukan *L.acidophilus* DLBSD102 ke dalam 10 mL MRS broth dan diinkubasi suhu 37 °C, agitasi 200 rpm. Diukur kekeruhannya (OD) pada λ 600 nm dan viabilitas bakteri dihitung dengan cawan tuang.

Kurva pertumbuhan pada media susu 100 mL dilakukan dengan cara, sebanyak 1 mL indukan *L.acidophilus* DLBSD102 hasil dari inkubasi pada MRS broth ditabung berbeda disentrifugasi pada 8000 rpm selama 10 menit pada 4°C, kemudian dicuci satu kali menggunakan NaCl 0,85% (Oxoid) dengan cara disentrifugasi kembali (8000 rpm, 10 menit, 4°C) untuk mendapatkan pelet bakteri. Pelet bakteri yang diperoleh kemudian diinokulasikan pada media susu 100 mL, dan diinkubasi pada suhu 37 °C dengan agitasi 200 rpm, lalu diukur nilai pH dan viabilitas bakteri dengan cawan tuang pada pengenceran 10^{-6} - 10^{-8} menggunakan media MRS agar. Sampling dilakukan pada rentang waktu setiap 2 jam sekali selama 24 jam.

Persiapan kultur probiotik dan produksi biomassa

Persiapan kultur probiotik dan produksi biomassa menggunakan isolat bakteri probiotik diregenerasi kedalam dua tabung reaksi, yang masing-masing berisi 10 mL media MRS *broth* (Merck) dari *research cell bank* (RCB) koleksi Lab Metabolic Engineering (MTE). Isolat diinkubasi pada suhu 37°C selama 22 jam. Biomassa dipanen dengan cara diambil sebanyak 15% dari kedua tabung reaksi lalu diambil pelet bakteri menggunakan alat sentrifugasi pada 8000 rpm selama 10 menit pada 4°C, kemudian dicuci satu kali menggunakan NaCl 0,85% (Oxoid) dengan cara disentrifugasi kembali (8000 rpm, 10 menit, 4°C).

Pembuatan Kultur Starter dengan Probiotik Terenkapsulasi dalam Bentuk Serbuk

Pembuatan kultur diawali dengan menginokulasi bakteri *Lactobacillus acidophilus* DLBSD102 masing-masing sebanyak 1 mL indukan bakteri kedalam dua tabung reaksi yang berisi 10 mL media MRS *broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 22 jam sesuai fase stasioner. Selesai waktu inkubasi, selanjutnya media *broth* diambil pelet bakteri di sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit pada 4°C. Pelet bakteri kemudian dicuci dengan NaCl 0,85% (Oxoid) dan disentrifugasi kembali. Pelet bakteri kemudian ditambahkan ke media susu steril 100 mL dalam Erlenmeyer yang berisi larutan skim milk 12%, sukrosa 6% dan (ekstrak ragi 2% yang ditambahkan setelah inokulum dimasukkan). Selanjutnya, media susu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 22 jam dan diaduk dengan agitasi 200 rpm. Selesai masa inkubasi 22 jam kultur 100 mL kemudian, ditumbuhkan pada media susu bervolume 1.000 mL di dalam fermentor yang dilengkapi dengan *probe* termometer, *dissolved oxygen*, agitasi dan pH meter.

Hasil 1.000 mL dimasukkan ke dalam fermentor yang berisi media susu 10.000 mL dan diinkubasi kembali (seluruh proses inkubasi menggunakan suhu 4°C, dengan kecepatan putaran 200 rpm selama 22 jam). Selesai inkubasi 22 jam maka

bahan enkapsulan ditambahkan berupa malto deks -trin:*whey protein isolates*:inulin (3:1:1) dengan perbandingan kultur dan bahan enkapsulan (3:1), yang sudah disterilkan dan dicampur selama 10±20 menit agar homogen dan selanjutnya siap dipanen, dan dilakukan pengeringan semprot menggunakan *spray dryer* dengan suhu *inlet* 130°C dan suhu *outlet* 60 °C.

Kombinasi bahan enkapsulan dilakukan dengan menggunakan perbandingan (3:1:1), dengan mencampurkan karbohidrat dan protein sebagai bahan penyusunnya. Hasil terbaik didapat dari berbagai parameter uji, seperti viabilitas BAL dan uji ketahanan. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi bahan enkapsulan berupa malto-dekstrin:*whey protein isolates*:inulin (3:1:1) paling cocok untuk mikroenkapsulasi *L.acidophilus* DLBS D102. Hal ini disebabkan viabilitas mikroenkapsulasi *L.acidophilus* DLBSD102 sangat tinggi dan paling stabil dibandingkan jika menggunakan bahan campuran lain.

Penyimpanan dan Evaluasi Kualitas Serbuk Hasil Pengeringan Semprot serta Aplikasinya

Serbuk hasil pengeringan kering menggunakan *spray dryer* dikemas menggunakan kemasan *aluminium foil* berlapis plastik *low density polyethylene* (LDPE). Produk yang telah dikemas selanjutnya disimpan selama 4 minggu pada suhu 4 C (suhu kulkas) dan suhu kamar (25°C). Kondisi ruangan penyimpanan memiliki kelembaban 60–66 % dengan suhu berkisar 27-29°C. Pengujian viabilitas kultur starter bakteri dalam serbuk yaitu meliputi penghitungan populasi bakteri asam laktat (BAL), *L. acidophilus* DLBS D102. Pengamatan hasil aplikasi serbuk meliputi aspek fisik-kimia dan mikrobiologi.

Uji Kualitas Fisik Serbuk Kultur Starter Nilai pH (AOAC, 1994)

Pengukuran nilai pH media susu menggunakan pH meter yang dikalibrasi dan harus distandardisasi dengan larutan buffer pH 4, 7 dan 10 sebelum digunakan. Sampel sebanyak 5-10 mL diambil, kemudian elektroda dibilas dengan air akuades. Elektroda dikeringkan dengan kertas tisu

lalu dicelupkan kedalam sampel. Elektoda dibiarkan beberapa saat. Nilai pH yang dibaca adalah saat pH meter dalam keadaan stabil.

Total Asam Titrasi (Fardiaz, 1992)

Pengukuran total asam titrasi menggunakan prinsip metode titimetri asam basa. Sampel sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian ditambahkan 2-3 tetes indikator fenolftalein 1%. Sampel dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda dan tidak hilang dalam waktu 30 detik. Kemudian dihitung jumlah total asam titrasi yang didapat.

$$\text{Total Asam Titrasi (\%)} = \frac{(V \times N) \text{ NaOH} \times \left(\frac{90}{1000}\right)}{\text{volume sampel} \times \text{FP}} \times 100$$

Pengujian Kadar Air menggunakan Moisture Analyzer

Pengujian kadar air dari serbuk menggunakan prinsip metode gravimetri menggunakan alat *Moisture Analyzer* Mettler Toledo tipe HR 83. Alat diposisikan dalam keadaan hidup dan pans penampung sudah tersedia dalam keadaan bersih dan sudah ditera. Sampel serbuk sebanyak ± 2 gram dimasukan kedalam pans lalu ditekan tombol *start*. Pengukuran didasarkan pada prinsip metode Gravimetri.

Pengujian Bentuk dan Ukuran Serbuk (Lian et al, 2002)

Bentuk dan diameter dari serbuk diperiksa menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM), dengan cara serbuk ditempatkan merata pada *aluminium stubs* yang berupa lempeng berdiameter 6 mm, kemudian divakum dengan gas argon sampai stabil dan dilapisi emas dengan *sputter coater* selama 20 detik. Selanjutnya *aluminium stubs* yang berisi sampel dimasukkan pada alat *electron microscope* dan diamati diameter serbuk serta bentuk mikroskopis dari serbuk.

Penentuan Jumlah Koloni Kultur Starter dan Bakteri Probiotik

Penentuan jumlah koloni kultur starter dan bakteri probiotik ditentukan dengan menggunakan metode hitungan

cawan. Penghitungan dan pengambilan data populasi dilakukan saat awal akan dilakukan proses pemindahan kultur starter dari media (MRS *broth*) ke media susu sampai proses penerangan semprot. Pengukuran viabilitas bakteri dilakukan dengan pengenceran bertingkat yakni sebanyak 1 mL inokulum dipipet ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan fisiologis *sodium peptone broth* steril. Penentuan viabilitas bakteri dengan metode cawan tuang

Uji Mikrobiologi

Uji Ketahanan Probiotik terhadap Panas Selama Proses Pengeringan Semprot (Lian et al, 2002)

Uji ketahanan probiotik selama pengeringan semprot dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses pengeringan semprot dan bahan enkapsulasi terhadap jumlah probiotik yang masih tetap bertahan hidup. Ketahanan probiotik ditentukan dengan membandingkan jumlah sel sesudah pengeringan semprot dan jumlah sel sebelum pengeringan semprot. Penghitungan kuantitatif jumlah probiotik dilakukan dengan metode *plate count* (Lian et al, 2002). Ketahanan probiotik selama proses pengeringan semprot dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Ketahanan panas (\%)} = \frac{\text{Log } \bar{X} \text{ sel sesudah pengeringan}}{\text{Log } \bar{X} \text{ sel sebelum pengeringan}} \times 100$$

Uji Ketahanan Probiotik terhadap pH 2 (Lian et al, 2003)

Ketahanan probiotik pada pH 2 dinyatakan dalam persen jumlah yang tahan terhadap pH 2 dibandingkan jumlah pada kondisi normal (pH 7). Pengujian ketahanan terhadap pH 2 dilakukan menurut metode Lian et al. (2003), dengan cara sebanyak 1 gram serbuk dan 1 mL kultur dalam MRS *broth* yang sudah berumur 24 jam dimasukkan dalam 10 mL MRS *broth* kontrol dan MRS *broth* asam yang diatur pada pH 2 menggunakan HCl 37%, kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 jam.

Selanjutnya dibuat seri pengenceran dengan metode cawan tuang. Ketahanan terhadap asam dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh pada

kontrol dengan perlakuan. Semakin kecil selisih semakin tahan kultur bakteri asam laktat yang diuji terhadap pH 2. Ketahanan terhadap asam dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Ketahanan (\%)} = \frac{\text{Log } \Sigma \text{ sel pada media pada pH 2}}{\text{Log } \Sigma \text{ sel pada media normal}} \times 100$$

Uji Ketahanan Probiotik terhadap Garam Empedu (Lian et al, 2003)

Uji terhadap garam empedu dilakukan menurut Lian *et al.* (2003), dan konsentrasi garam empedu yang digunakan 0,5% dengan penentuan akhir menggunakan metode hitungan cawan. Serbuk sebanyak 1 g dan 1 mL kultur dalam MRS broth yang sudah berumur 22 jam, dimasukkan dalam 10 mL MRS broth (kontrol) dan MRS broth yang berisi garam oxgal 0,5% (b/v) kemudian diaduk dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3 jam, selanjutnya dibuat seri pengenceran dan dituang kedalam cawan petri dengan metode cawan tuang.

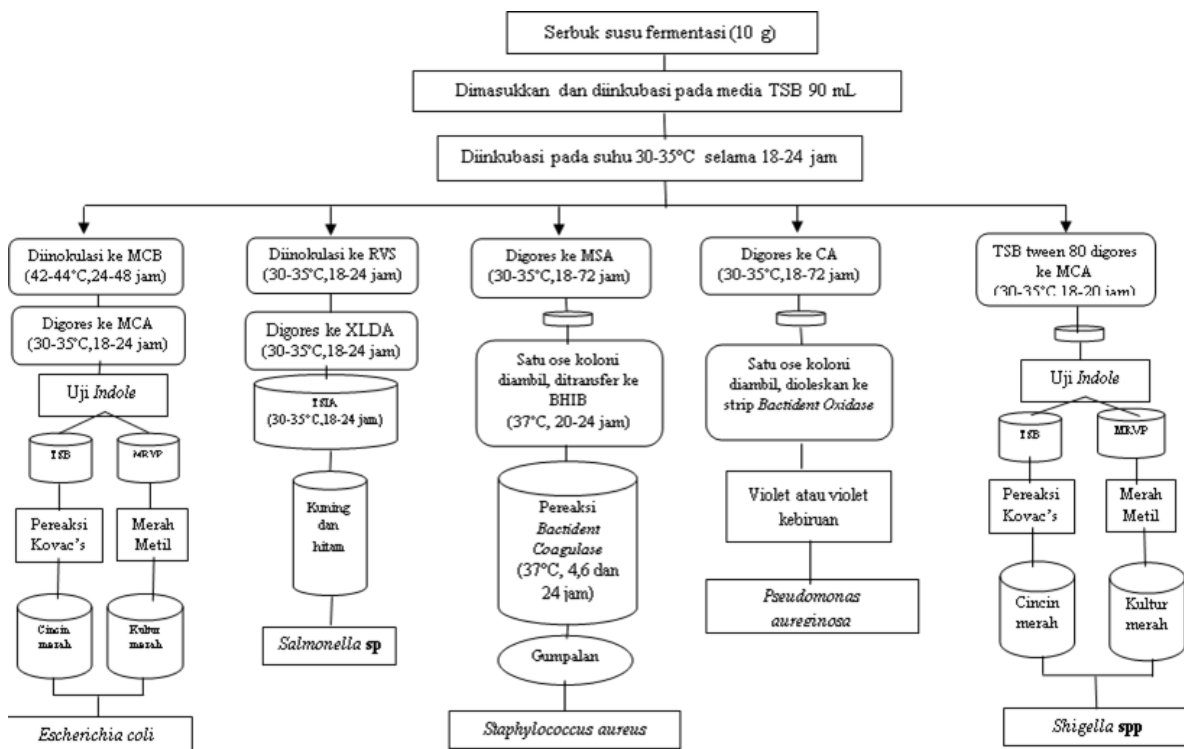
$$\text{Ketahanan (\%)} = \frac{\text{Log } \Sigma \text{ sel yang tumbuh pada media uji}}{\text{Log } \Sigma \text{ sel yang tumbuh pada media normal}} \times 100$$

Total Bakteri Asam Laktat (IKU/M 32/05-08)

Sampel serbuk hasil pengeringan semprot dtimbang 25 gram secara aseptis kedalam *Erlenmeyer* yang berisi larutan *sodium peptone broth* yang ditambah Tween 80 steril, hingga diperoleh pengenceran 1:10. Larutan kemudian diaduk selama 20-30 menit menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen kemudian dilakukan pengenceran hingga 1:10⁸. Suspensi dipipet sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran, kedalam cawan petri steril, selanjutnya dilakukan dengan metode cawan tuang.

Deteksi Bakteri Pencemar pada Produk Enkapsulasi

1. Bagan Pengujian Bakteri Pencemar pada Produk, sbb:

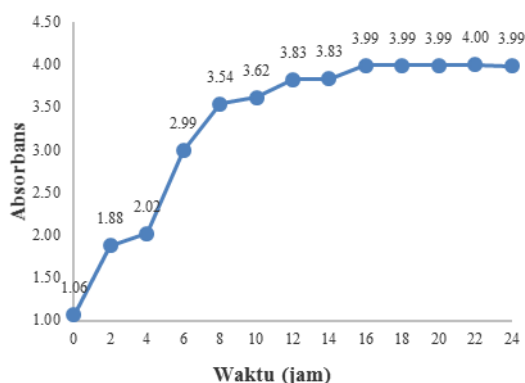


Gambar 1. Bagan Pengujian Bakteri Pencemar pada Produk

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan Kultur Starter Bakteri Asam Laktat (BAL)

Kurva pertumbuhan mikroba menggunakan media MRS *broth* dan media susu selama 26 jam ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3. Populasi awal kultur starter adalah antara 10^5 - 10^7 CFU/mL. Hasil pengamatan diperoleh jumlah populasi bakteri kultur starter saat fase stasioner adalah antara 10^8 - 10^{10} CFU/mL, sesuai dengan persyaratan populasi mikroba kultur starter menurut Sultana *et al*, (2000), yaitu sebanyak 10^7 CFU/g di dalam produk akhir.



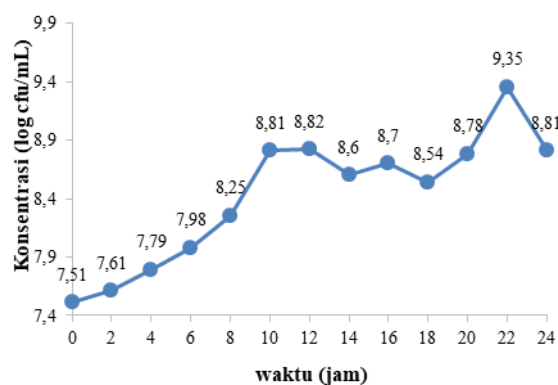
Gambar 2. Kurva Pertumbuhan BAL DLBSD102 dengan MRS *broth*

Pemanenan kultur starter pada fase stasioner bertujuan untuk mempersingkat waktu adaptasi kembali kultur starter pada saat akan diaplikasikan pada pembuatan produk, sehingga aktivitas metabolismenya diharapkan berlangsung dalam waktu yang relatif bersamaan. Pemanenan pada waktu 22 jam dilakukan saat viabilitas bakteri sangat tinggi, sebelum memasuki fase kematian.

Hal ini dilakukan karena bakteri ini mampu bertahan pada keadaan nutrisi mulai habis dan metabolit sekunder yang dihasilkan berupa asam laktat mampu menyeleksi bakteri yang tahan terhadap asam, sehingga saat difermentasikan dalam media susu, fase logaritmik akan berlangsung cepat karena jumlah bakteri yang digunakan sangat tinggi. Hasil yang didapat menunjukkan, pemanenan pada fase stasioner menghasilkan probiotik yang tahan

terhadap kondisi suhu panas, pH rendah, radiasi dan bahan kimia.

Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut dapat ditentukan waktu panen untuk menghasilkan kultur starter yang banyak yaitu pada waktu inkubasi 22 jam. Jumlah populasi *L.acidophilus* DLBSD102 yang dihasilkan sebesar $10,13 \pm 1,10$ log CFU/mL. Pola pertumbuhan *L.acidophilus* DLBSD102 menghasilkan jumlah populasi awal (jam 0) sebesar 8,19 log CFU/mL, dengan konsentrasi sel 5.36×10^8 sel/mL menggunakan media MRS *broth* dan 7,51 log CFU/mL pada media susu.



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan BAL DLBSD102 dengan Media Susu

Fase stasioner akhir dicapai pada 22 jam dari kedua media pertumbuhan yang digunakan. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut dapat ditentukan waktu panen untuk menghasilkan kultur starter kering berupa serbuk susu fermentasi yaitu pada 22 jam inkubasi, dengan populasi bakteri *L.acidophilus* DLBSD102 dengan jumlah populasi sebesar $10,91$ log CFU/mL dengan jumlah konsentrasi sel sebesar $2,0 \times 10^9$ sel/mL (media MRS *broth*) dan $9,35$ log CFU/mL (media susu).

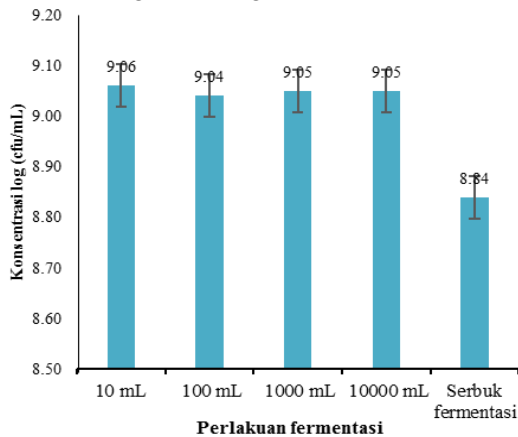
Perbedaan populasi bakteri *L.acidophilus* DLBSD102 diawal dan diakhir dari kedua media yang digunakan, disebabkan perbedaan komposisi media pertumbuhan yang digunakan. Bakteri tumbuh lebih cepat pada media MRS *broth* karena media ini merupakan media yang cocok untuk jenis bakteri *Lactobacillus*, sehingga bakteri yang ditumbuhkan mampu

berkembang secara optimum (Cowan, 1981).

Pembuatan dan Pengeringan Kultur Starter Probiotik Hasil Fermentasi

Viabilitas bakteri dari serbuk susu dipertahankan dengan penambahan bahan enkapsulan. Menurut Kennedy *et al*, (1995), mikroenkapsulasi menggunakan maltodekstrin berfungsi sebagai bahan pengisi dan pembentuk tekstur yang dapat menyebabkan viskositas yang tinggi, sehingga mampu mengurangi kehilangan air selama dan setelah proses pengeringan. Selain itu, maltodekstrin mudah larut dan membantu proses penyebaran, sehingga bahan yang dikeringkan tidak lengket pada permukaan dinding mesin *spray dryer*.

Menurut Anal dan Singh (2007), untuk meningkatkan viabilitas bakteri selama proses pengeringan semprot, pengemasan dan penyimpanan, dapat ditambahkan bahan enkapsulan berupa prebiotik seperti polidektrosa, maltodekstrin, trehalosa, inulin, *wehey protein isolate*, pati, xanthan gum, gum arab, fruktooligosakarida (FOS) dan galaktooligosakarida (GOS).



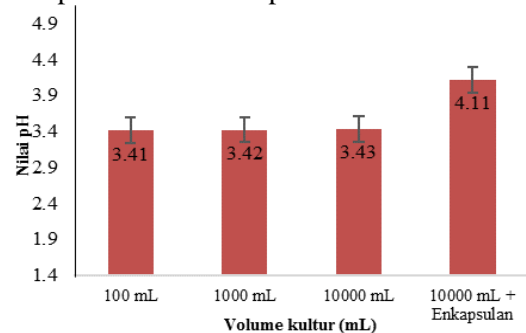
Gambar 4. Diagram Pertumbuhan BAL DLBSD102

Kombinasi bahan enkapsulan malto-dekstrin:*wehey protein isolate*:inulin (3:1:1) yang ditambahkan dalam mikroenkapsulasi mampu mempertahankan viabilitas bakteri, dan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan campuran bahan enkapsulan maltodekstrin: *wehey protein isolate* (3:1). Penggunaan bahan enkapsulan tambahan berupa inulin mampu mempertahankan

viabilitas sel bakteri, dapat dilihat bahwa jumlah bakteri yang paling tinggi terdapat pada kultur yang ditambahkan campuran bahan enkapsulan malto-dekstrin:*wehey protein isolate*:inulin (3:1:1), kemudian dikeringkan dan penurunan viabilitas bakteri cukup rendah sebesar $0,20 \pm 0,01$ log CFU/g dibandingkan dengan penambahan bahan enkapsulan berupa maltodekstrin: *wehey protein isolate* (3:1), penurunannya sebesar $0,51 \pm 0,36$ log CFU/g.

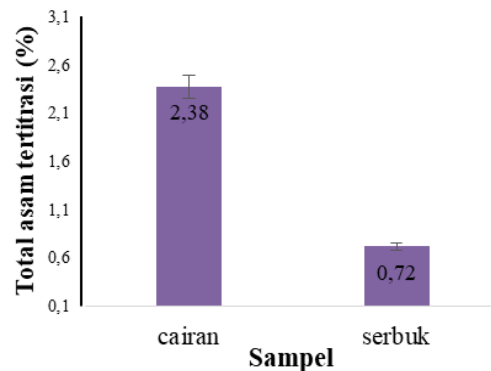
Pengaruh Nilai pH dan Kadar Total Asam Tertitiasi terhadap Hasil Fermentasi

Nilai pH selama proses fermentasi dapat berubah karena aktivitas kultur starter bakteri, ketika proses fermentasi selesai, dan penambahan enkapsulan.



Gambar 5. Perubahan pH selama proses fermentasi

Menurut Nuraida *et al* (2012), proses penguraian karbohidrat menjadi asam laktat yang dapat meningkatkan nilai keasaman, sehingga menyebabkan terjadinya perubahan nilai pH.



Gambar 6. Pengukuran kadar Total Asam Tertitiasi (TAT)

Bakteri probiotik mengubah laktosa sebagai sumber karbohidrat menjadi asam laktat yang menurunkan nilai pH, sehingga kadar asam susu menjadi relatif tinggi dan terbentuk gumpalan (*curd*).

Total asam tertitrisasi dinyatakan sebagai persen asam laktat. Asam laktat adalah komponen asam terbesar yang terbentuk pada saat fermentasi susu berlangsung. Asam laktat ($C_3H_6O_3$) mudah terdisosiasi menjadi ion H^+ dan $CH_3CHOHCOO^-$. Kadar total asam laktat yang didapat dari sampel sebelum dan sesudah pengeringan semprot didapat bahwa kadar asam laktat dari sampel cairan yaitu sebesar 2,38 % atau sebelum pengeringan lebih tinggi, dibandingkan dengan sampel serbuk yaitu 0,72% setelah proses pengeringan. Hal ini dikarenakan komponen yang diukur dari total asam tertitrisasi yang ada dalam bentuk cairan lebih banyak sebelum dikeringkan, seperti air yang mengikat senyawaan asam, senyawa organik yang saling larut dan berikatan satu sama lain.

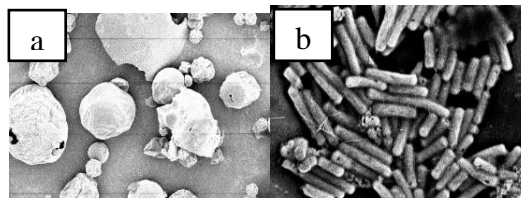
Pengaruh Penambahan Bahan Enkapsulan terhadap Kadar Air dari Susu Fermentasi

Kelangsungan hidup BAL banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor selama proses pengemasan dan penyimpanan. Salah satunya adalah ketersediaan air dan oksigen (Anal dan Singh, 2007). Pada a_w rendah adalah kondisi air di dalam sel terikat sangat kuat, dan air tidak dapat digunakan dalam reaksi-reaksi kimia, sehingga aktivitas metabolisme tidak berjalan, dan mikroorganisme dalam kondisi dorman. Kadar air dan a_w yang tinggi, menyebabkan struktur sel rusak dan sel yang lisis meningkat. Jika kultur kering yang ditumbuhkan kembali pada media sesuai, maka aktivitas sel akan kembali berlangsung.

Karakterisasi Hasil Enkapsulasi *L.acidophilus* DLBSD102

Berdasarkan hasil SEM dengan perbesaran 2200x untuk bahan enkapsulan, dan 370x untuk sel bakteri, didapat bentuk yang seragam sedangkan untuk serbuk hasil mikroenkapsulasi berbentuk sedikit kasar

(*crumble*) dan seragam. Hal ini disebabkan oleh pencampuran bahan enkapsulan dengan ukuran partikel yang berbeda, yang menyebabkan ketika proses pengadukan seluruh bahan tercampur dan partikel yang paling besar akan menyalut partikel kecil seperti sel bakteri. Sel bakteri berada didalam bahan enkapsulan, sehingga tidak terlihat bila sudah dikeringkan.



keterangan:

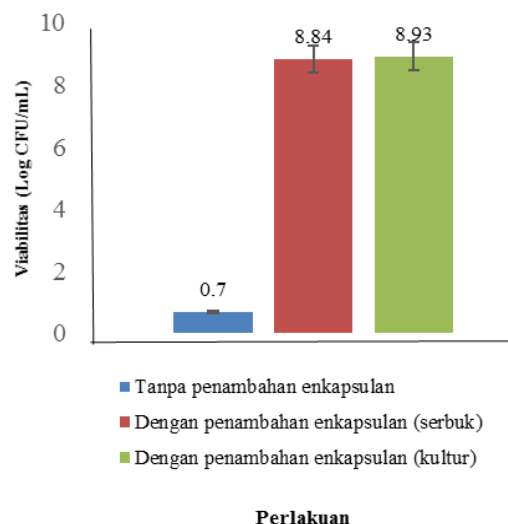
a : Serbuk susu fermentasi

b: Sel bebas *L.acidophilus* DLBSD102

Gambar 7. Hasil SEM berbagai bahan penyusun susu fermentasi

Pengaruh Penambahan Bahan Enkapsulan pada BAL Terenkapsulasi terhadap Suhu Panas, Garam Empedu dan pH 2

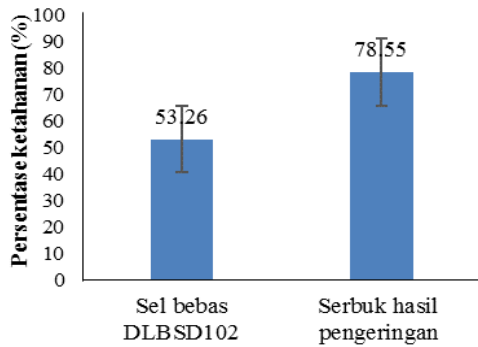
Hasil pengujian ketahanan probiotik terenkapsulasi terhadap panas, selama proses pengeringan semprot dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Ketahanan Probiotik terhadap Suhu Panas

Setelah dilakukan pengeringan pada suhu *inlet* 130°C jumlah probiotik mengalami penurunan sebesar 0,09 ±0,03

log CFU/mL dari jumlah awal kultur sebesar 8,93 log CFU/mL menjadi 8,84 log CFU/mL. Selisih tersebut sangat kecil karena penurunannya tidak sampai 1 log CFU/ mL dan viabilitas bakteri masih > 7 log CFU/mL.



Sampel

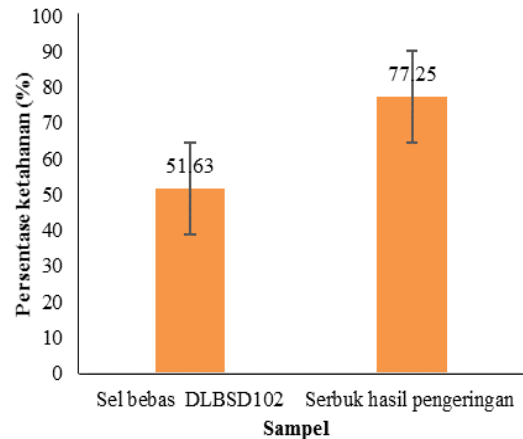
Gambar 9. Diagram Ketahanan Probiotik terhadap Garam Empedu (*Bile Salt*)

Menurut Smet *et al*, (1995) golongan *Lactobacillus* memiliki enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang mampu mengkonjugasi garam empedu tinggi, sehingga tidak bersifat racun bagi BAL. Konsentrasi garam empedu yang tinggi menyebabkan jumlah sel *Lactobacillus* yang mati juga akan meningkat (Ngatirah *et al*, 2000; Kusumawati, 2002). Penambahan bahan enkapsulan mampu melindungi probiotik pada kondisi pH 2.

Bahan enkapsulan yang menghasilkan proteksi yang paling baik adalah kombinasi bahan enkapsulan maltodekstrin: *whey protein isolate*:inulin (3:1:1) dengan penurunan hanya sebesar 0,20±0,01 log CFU/g, dibandingkan dengan campuran bahan enkapsulan maltodekstrin: *whey protein isolate* sebesar 0,51±0,36. log CFU/g. Mikroenkapsulasi meningkatkan kemampuan ketahanan sel probiotik dibandingkan sel probiotik bebas terhadap garam empedu (0,5%). Pada sel bebas, jumlah sel mengalami penurunan cukup besar yakni sebesar 3,87±0.19 log CFU/mL, sedangkan viabilitas sel yang dimikroenkapsulasi dapat bertahan dan mengalami penurunan jumlah sel yang lebih sedikit, yakni 1,65±0,31 log CFU/mL. Bahan enkapsulan yang menghasilkan

proteksi terhadap garam empedu yang paling baik adalah kombinasi dari bahan enkapsulan maltodekstrin: *whey protein isolate*:inulin (3:1:1).

Menurut Roberfroid (2007), prebiotik merupakan bahan pangan fungsional, yang sulit dicerna (*indigestible*) dalam usus halus. Kriteria prebiotik untuk mikroenkapsulasi, diantaranya tidak dapat dihidrolisis atau diabsorpsi oleh sistem pencernaan bagian atas, dapat difermentasi pada usus besar oleh bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan, mampu mengatur komposisi mikroflora pada usus besar inangnya, dengan cara meningkatkan jumlah bakteri menguntungkan dan menurunkan jumlah bakteri patogen (Kolida, 2007).



Gambar 10. Diagram Ketahanan Probiotik terhadap pH 2

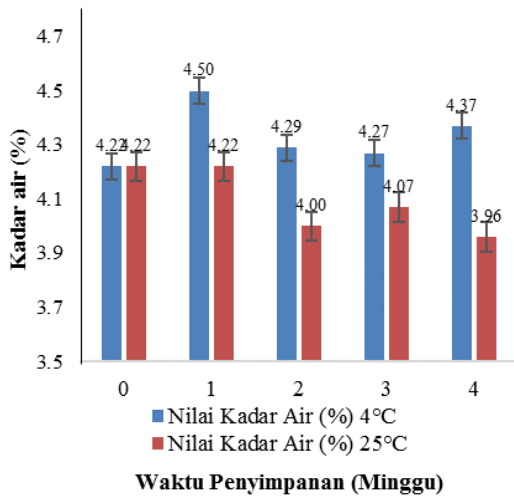
Ketahanan probiotik terhadap pH 2 dan garam empedu lebih baik ketika sel dimikroenkapsulasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Reddy *et al*, (2009) yang menyatakan bahwa maltodekstrin yang ditambahkan sebagai bahan enkapsulan selama proses mikroenkapsulasi, mampu mempertahankan viabilitas dan sifat probiotik *L. plantarum* terhadap asam dan ketahanan terhadap garam empedu.

Pengaruh Penambahan Bahan Enkapsulan terhadap Penyimpanan

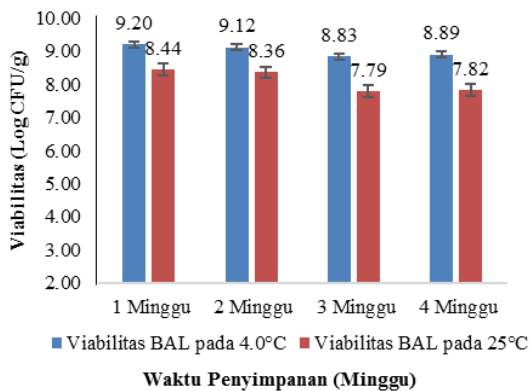
Penyimpanan sampel pada suhu 4°C dan 25°C mampu mempertahankan viabilitas bakteri, dengan jumlah BAL melebihi batas yang ditetapkan oleh *International Dairy Federation* sebesar log

7,0 CFU/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan 4°C lebih baik digunakan untuk jangka panjang, dalam mempertahankan viabilitas BAL.

Penyimpanan sampel pada suhu 4°C dan 25°C mampu mempertahankan viabilitas bakteri, dengan jumlah BAL melebihi batas yang ditetapkan oleh *International Dairy Federation* (IDF) sebesar log 7,0 CFU/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan 4°C lebih baik digunakan untuk jangka panjang dalam mempertahankan viabilitas BAL. Bila dibandingkan pada suhu 25°C, reaksi-reaksi enzimatik, kimiawi dan biokimia sel dapat terhambat. Untuk pemeliharaan dan penyimpanan bakteri *Lactobacillus* dianjurkan pada suhu 4-7°C.



Gambar 11. Diagram Kadar Air Selama Proses Penyimpanan



Gambar 12. Diagram Viabilitas BAL Selama Penyimpanan pada (4°C/5%) dan suhu (25°C/60%)

Menurut Desmond *et al*, (2002) menyatakan bahwa viabilitas serbuk probiotik akan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya suhu penyimpanan. Pada penyimpanan panas terjadi dehidrasi sel, sel menderita *shock osmotik* dan lisis. Suhu panas merusak berbagai struktur sel seperti membran sel, ribosom, DNA, RNA dan enzim. Oleh karena itu, penyimpanan pada suhu tinggi tidak dianjurkan pada produk probiotik, baik dalam bentuk cair ataupun kering. Menurut IDF, jumlah minimal sel probiotik hidup yang berperan dalam meningkatkan kesehatan pencernaan adalah sebanyak 10⁶-10⁷ CFU/g.

Suhu penyimpanan 25°C pada sampel, tetap memberikan manfaat kesehatan, seperti meningkatnya sistem imun saluran pencernaan selama disimpan 4 minggu. Namun, untuk konsumsi dibutuhkan dosis 3 kali lebih banyak jika disimpan pada suhu 25°C dibandingkan dengan 4°C. Satu sifat penting dari kultur yang digunakan sebagai tambahan pangan adalah organisme tersebut harus tetap hidup selama penyimpanan sebelum dikonsumsi.

Evaluasi Bakteri Pencemar terhadap Kualitas Serbuk Susu Fermentasi

Pengujian terhadap mikroba pencemar dilakukan terhadap susu fermentasi, bakteri-bakteri pencemar yang diidentifikasi merupakan bakteri yang tergolong Famili Enterobacteriaceae (*E.coli*, *Salmonella* sp dan *Shigella* spp) dan bakteri *P.aureginosa*, *S.aureus*. Adanya bakteri pencemar pada bahan pangan mengindikasikan adanya mikroorganisme enteropatogenik atau enterotoksi-genik yang berbahaya bagi kesehatan serta proses sanitasi yang kurang baik.

Kontaminasi mikroba-mikroba berbahaya bisa saja berasal dari tempat, pekerja dan lingkungan selama proses produksi, pengemasan, penyimpanan dan proses analisis yang tidak higienis dan tidak aseptis. Hal ini sangat penting untuk diperhatikan, karena susu fermentasi sebagai bahan pembuatan serbuk susu fermentasi merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba patogen. Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh bahwa tidak ada koloni bakteri patogen ketika di inkubasi

pada media agar selektif, dan tidak perlu dilakukan proses pengayaan dengan media selektif lainnya, karena tidak ada pertumbuhan koloni bakteri patogen dari media uji yang selektif dan spesifik.

KESIMPULAN

Proses mikroenkapsulasi menggunakan perbandingan bahan enkapsulan dari maltodekstrin: *whey protein isolate*:inulin (3:1:1) metode pengeringan semprot pada produk serbuk susu fermentasi, mampu menjaga dan mempertahankan viabilitas *L.acidophilus* DLBSD102. Perbandingan bahan enkapsulan mampu menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi sebesar $8,84 \pm 0,03$ log CFU/mL, dibandingkan dengan serbuk susu fermentasi yang dienkapsulasi tanpa penambahan inulin seperti malto-dekstrin:*whey protein isolate* (3:1) sebesar $8,48 \pm 0,51$ log CFU/mL dengan selisih penurunan viabilitas sebesar $0,31 \pm 0,24$ log CFU/mL. Proses mikroenkapsulasi mampu meningkatkan ketahanan sel probiotik *L. acidophilus* DLBSD102 terhadap panas, garam empedu, pH 2. Viabilitas bakteri mampu bertahan selama proses produksi, penyimpanan dan sampai ke saluran pencernaan dengan hasil parameter memenuhi syarat SNI-01-2970-2006 tentang susu serbuk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada PT *Dexa Laboratories of Biomolecular Sciences* (DLBS) yang telah memberikan kesempatan untuk belajar, bekerja dan melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Anal, A.K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted deliver. *Trends Food Sci Technol* 18:240-252. DOI :10.1016/j.tifs.2007.01.004.

AOAC. (1994). *Official Method of Analysis*. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemistry International, Gaithersburg.

Cowan, S.T. (1981). *Manual for Identification of Medical Bacteria*. USA: Cambridges University Press.

Desmond, C., Stanton, C., Collins, G.F.K & Ross, R.P. (2002). Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray dried powders containing gum acacia. *J Appl Microbiol*, 93, 1003-1012.

Fardiaz, S. (1992). *Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

Fuller, R. (1991). Probiotics in human medicine. *Gut*. 32, 439-442.

Jiang, Y., Zheng, Z., Zhang, T., Hendricks, G. & Guo, M. (2016). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCFM using polymerized whey proteins as wall material. *University of Vermont, Burlington USA: Food Sciences and Nutrition*. Taylor and Francis Publishers.

Kennedy, J.F. Knill, C.J & Taylor, D.W. (1995). Dalam Keasley, M.W., Dziedzic, S.Z. (Eds), *Handbook of Hydrolysis Product and Their Derivatives Maltodextrins* London: Blackie Academic and Profesional. Hlm 65-82.

Kondo. (1979). *Microcapsule Processing and Technology*. New York: Marcel Dekker.

Kolida, S., and Gibson, G.R. (2007). Prebiotic capacity of inulin- type fructans. *Journal of Nutrition*, 137, 2503S-2506S.

- Kusumawati, N. (2002). *Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai genus probiotik dengan kemampuan mempertahankan keseimbangan mikroflora feses dan mereduksi kolesterol serum darah tikus*. (Tesis). Ilmu Pangan. Program Pasca Sarjana. IPB, Bogor.
- Lian, W.C., Hsio, H.C. and Chou, C.C. (2002). Survival of *Bifidobacterium longum* after spray drying. *Int J Food Microbiol*, 74,79– 86.
- Lian, W.C., Hsio, H.C. & Chou, C.C. (2003). Viability of microencapsulated *Bifidobacteria* in simulated gastric juice and bile solution. *Int J Food Microbiol*, 86, 293-301.
- Ngatirah, E., Harmayani, E.S., Rahayu & Utami, T. (2000). Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol. *Prosidium Seminar Nasional* (63-78).
- Nuraida, L., Hana, A.W., Hartanti, & Prangdimurti E. (2012). Potensi *Lactobacillus* yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare. *J Teknologi dan Industri Pangan XXIII* (2). DOI :10.6066/JTIP.2012.23.2.158.
- Pedretti, S. (2013). Probiotic market: up or down?. *Nutrafoods* 12:N18-N19. DOI 10.1007/s13749-013-0006-x.
- Reddy, K.B.P.K., Madhu, A.N. and Prapulla, S.G. (2009). Comparative survival and evaluation of functional probiotics properties of spray-dried lactic acid bacteria: Original Research. *Int J of Dairy Technology*, 62, 240-248.
- Roberfroid, M.B. (2007). Inulin-type fructans: functional food ingredients. *The Journal of Nutrition*, 137 (11), 2493S-2502S.
- Salminen, S., and von Wright, A. (1998). *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Edisi ke -2. New York: Marcel Dekker Inc.
- Smet, I.D., Hoorde, L. V., Woestyne, M.V., Christiaens, H., dan Verstraete. (1995). Significance of bile salts hydrolytic activities of *Lactobacilli*. *Journal Applied Bacteriology*, 79,292-301.
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., and Kailasapath, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastro intestinal condition and in yoghurt. *Int J Food Microbiol*, 62, 47-55.
- Soukoulis, C., Jobbehdar, S.B., Yonekura, L., Parmenter, C. & Fisk, I. (2013). Impact of Milk Protein Type on the Viability and Storage Stability of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 using Spray Drying. *United Kingdom: Food Bioprocess Technol*, 7, 1255-1268.
- Yonekura, L., Sun, H., Soukoulis, C. & Fisk, I. (2013). Microencapsulation of *Lactobacillus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. *United Kingdom: Functional Foods. Elsevier Sciences Publishers*.
- Young, S.L., Sarda, X. & Rosenberg, M. (1993). Microencapsulation Properties of Whey Proteins. 1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *Journal of Dairy Science*, 76, 2868-2877.

EFEKTIVITAS KONSENTRASI EKSTRAK BIJI SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.) TERHADAP MORTALITAS RAYAP TANAH (*Coptotermes curvignathus* Holmgren, Rhinotermitidae)

Agus Ismanto^{1)*}, Moerfiah²⁾, Achmad Supriadi¹⁾, Muhamad Nizar Zulfikar²⁾

¹⁾Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan

Jalan Gunung Batu No. 5, Bogor 16610

²⁾Program Studi Biologi - FMIPA, Universitas Pakuan

Jalan Pakuan PO Box 452, Bogor 16143

*e-mail: ismanto_agus@yahoo.com

ABSTRACT

*The Effectiveness of The Concentration of Mountain Soursop Extract (*Annona montana* macf.) on The Mortality of Subterranean Termite (*Coptotermes curvignathus* Holmgren, Rhinotermitidae)*

Termites cause a lot of harm. Termites can damage the building components and the contents of the building in the form of furniture, books, cloth, and even securities. One example of a termite species that is dangerous as a pest is *Coptotermes curvignathus*. Mountain soursop seeds have bioactive compounds that are very cytotoxic, so they have potential as insecticides. This research Used a Completely Randomized Design (CRD) consisting of controls and 5 treatments (P1) 20%, (P2) 40%, (P3) 60%, (P4) 80% (P5) 100% mountain soursop seed extract. The parameters observed were retention, termite mortality, and weight reduction in the test sample. Mountain soursop seed extract is effective as an insecticide against subterranean termites. The concentration of mountain soursop seed extract 40% (P2) causes termite mortality of 100% and a decrease in sample weight by 0.43%. Mountain soursop seed extract has the potential to be developed as an anti-termite species *C. curvignathus* Holmgren. The retention value shows that the mountain soursop seed extract with a concentration of 20% (P1) meets the standard retention of interior wood use, while extracts with a concentration of 40% (P2) meet the standard of retention of exterior wood use.

Keywords: Mountain soursop seeds, Retention, mortality, weight decrease, Subterranean Termite

ABSTRAK

Rayap banyak menimbulkan kerugian. Rayap dapat merusak komponen bangunan beserta isi bangunannya seperti furnitur, kertas, bahan kain dan lain-lain. Salah satu contoh spesies rayap yang berbahaya sebagai hama adalah *Coptotermes curvignathus*. Biji sirsak gunung memiliki senyawa bioaktif bersifat sitotoksik yang sangat kuat, sehingga memiliki potensi sebagai insektisida. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 6 perlakuan yaitu (P1) 20%, (P2) 40%, (P3) 60%, (P4) 80% (P5) 100% dan kontrol. Parameter yang diamati meliputi retensi, mortalitas rayap, dan penurunan berat sampel. Ekstrak biji sirsak gunung efektif sebagai insektisida terhadap rayap tanah. Konsentrasi ekstrak biji sirsak gunung 40% (P2) menyebabkan mortalitas rayap sebesar 100% dan penurunan berat contoh uji sebesar 0,43%. Ekstrak biji sirsak gunung berpotensi dikembangkan sebagai anti rayap tanah jenis *C. curvignathus* Holmgren. Nilai retensi menunjukkan bahwa ekstrak biji sirsak gunung dengan konsentrasi 20% (P1) memenuhi standar retensi penggunaan kayu interior, sementara ekstrak dengan konsentrasi 40% (P2) memenuhi standar retensi penggunaan kayu eksterior.

Kata kunci: Biji sirsak gunung, retensi, mortalitas, penurunan berat, rayap tanah

PENDAHULUAN

Intensitas serangan rayap pada bangunan semakin tinggi dan meluas sehingga menimbulkan peningkatan kerugian tiap tahun (Savitri *et al.*, 2016). Kerugian ekonomis yang diakibatkan oleh serangan rayap pada tahun 1995 mencapai Rp. 1,67 triliun, tahun 2000 mencapai Rp. 2,79

trilyun, tahun 2010 mencapai Rp. 5,17 triliun, dan tahun 2015 Rp. 8,68 triliun (Nandika *et al.*, 2015). Salah satu contoh spesies rayap yang berbahaya sebagai hama adalah *Coptotermes curvignathus* (Nandika *et al.*, 2015). Rayap banyak menimbulkan kerugian bagi manusia seperti rusaknya komponen. Komponen bangunan yang harus diganti akibat kerusakan kayu oleh

organisme perusak menimbulkan pemborosan sumber daya hutan (Barly & Ismanto, 2008). Untuk mengatasi hal tersebut kayu diawetkan sehingga pemakaiannya lebih tahan lama (Toleng *et al.*, 2014).

Sampai saat ini, hampir semua pengawet kayu merupakan bahan sintesis yang dapat berdampak negatif terhadap lingkungan. Untuk menekan dampak negatif ini, diperlukan cara pengendalian yang lebih ekonomis dan tidak mencemari lingkungan. Oleh sebab itu, dibutuhkan cara pengawetan yang ramah lingkungan, seperti penggunaan pestisida nabati (Ismanto *et al.*, 2009). Gerakan penggunaan pestisida alami yang ramah lingkungan mendorong masyarakat kembali melirik produk-produk alami (Rizal *et al.*, 2005). Beberapa jenis tumbuhan telah banyak digunakan sebagai pestisida nabati karena bahan aktifnya.

Saat ini banyak dikaji penggunaan bahan pengawet alami ekstrak berbagai tanaman untuk pengawet kayu (Toleng *et al.*, 2014). Pemanfaatan senyawa alami tumbuhan yang memiliki sifat racun serangga, khususnya untuk rayap, dapat diperoleh salah satunya dari famili Annonaceae. Famili Annonaceae memiliki produk metabolit sekunder dengan aktivitas insektisida tinggi (Ribeiro *et al.*, 2016). Biji sirsak gunung memiliki produk metabolit sekunder alkaloid dan asetogenin. Asetogenin adalah senyawa bioaktif bersifat sitotoksik yang sangat kuat, sehingga memiliki potensi sebagai insektisida (Blessing *et al.*, 2010). Bandeira *et al.*, (2017) menyatakan bahwa ekstrak biji sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dapat menyebabkan mortalitas pada hama kutu daun (*Aphis craccivora* Koch.) 96,64%. Oleh karena itu dalam penelitian ini ekstrak biji sirsak gunung akan diuji sebagai pestisida nabati rayap tanah (*Coptotermes curvignathus* Holmgren)

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah contoh uji kayu pinus (*Pinus merkusii*), pasir, ekstrak biji sirsak gunung (*A. montana*),

aquades, tween 80, dan serangga uji rayap tanah (*C. curvignathus*) jenis pekerja dan prajurit.

Alat-alat yang digunakan yaitu alat tulis, alat dokumentasi, gelas piala, gelas ukur, pipet, jangka sorong, bulu ayam, timbangan, dan jampot/botol kaca.

Metode

Persiapan Contoh Uji Kayu

Contoh uji kayu pinus dipotong dengan ukuran panjang 2,5 cm x lebar 2,5 cm x tebal 0,5 cm, berdasarkan acuan pada SNI 01.7207-2006. Jumlah contoh uji yang dibuat sebanyak 30 buah, terdiri dari 5 buah contoh uji sebagai kontrol dan masing-masing 5 buah contoh uji untuk setiap perlakuan dengan lima kali ulangan (25 contoh uji).

Pembuatan Larutan

Larutan ekstrak diencerkan dengan menggunakan aquades dan ditambahkan 1 mL tween 80 sebagai *emulsifier* untuk dibuat konsentrasi tertentu (0, 20, 40, 60, 80, 100%) (Oktapiani, 2018).

Proses Pengawetan Rendaman Dingin dan Retensi

Cara pengawetan rendaman dingin dan pengujian retensi mengacu pada SNI 03-3233-1992 (BSN, 1992). Contoh uji kayu pinus (*Pinus merkusii*) dikering udarakan hingga mencapai <14% (B_0), kemudian contoh uji dikeringkan dalam oven, selanjutnya contoh uji direndam dengan larutan ekstrak biji sirsak gunung selama 48 jam. Setelah direndam selama 48 jam, contoh uji diangkat dan ditiriskan dan kemudian ditimbang (B_1). Retensi dihitung berdasarkan perbandingan selisih berat kayu berat kayu dengan volume kayu dalam satuan (kg/m^3) (Karlinasari *et al.*, 2010). Retensi larutan ekstrak menggunakan rumus berikut:

$$R = \frac{B_1 - B_0}{V} \times K$$

Keterangan:

R = Retensi bahan pengawet (kg/m^3)

B_0 = Berat contoh uji sebelum diawetkan (kg)

B_1 = Berat contoh uji setelah diawetkan (kg)

V = Volume contoh uji (m^3)

K = Konsentrasi bahan pengawet (%)

Uji Ketahanan Kayu Terhadap Rayap Tanah

Tata cara pengujian ketahan kayu terhadap rayap tanah berdasarkan pada SNI 01.7207-2006. Nilai mortalitas rayap setelah pengumpanan rayap tanah (*C. curvignathus*) dihitung menggunakan rumus berikut:

$$MR = \frac{N_2}{N_1} \times 100\%$$

Keterangan:

MR = mortalitas rayap (%)

N₁ = jumlah rayap sebelum pengumpanan (ekor)

N₂ = jumlah rayap mati setelah pengumpanan (ekor)

Nilai penurunan berat contoh uji kayu dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$P = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = penurunan berat (%);

W₁ = berat kering kayu sebelum diumpankan (kg)

W₂ = berat kering kayu setelah diumpankan (kg)

Penentuan ketahanan kayu berdasarkan penurunan berat terhadap rayap tanah, sesuai dengan SNI 01.7207-2006 (BSN, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Retensi

Bahan pengawet yang masuk ke dalam kayu ditentukan dengan pengukuran retensi (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata Retensi

Perlakuan	Retensi (kg/m ³)
P1 (20%)	10,36 ± 1,88 ^a
P2 (40%)	49,69 ± 7,87 ^b
P3 (60%)	194,74 ± 11,14 ^c
P4 (80%)	284,07 ± 21,59 ^d
P5 (100%)	386,49 ± 19,90 ^e

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf superskrip berbeda pada kolom/baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (p<0,05)

Pengamatan untuk mengetahui nilai retensi ekstrak biji sirsak gunung pada contoh uji kayu dapat diketahui setelah 2 hari masa perendaman. Nilai rata-rata retensi bahan pengawet pada berbagai tingkat konsentrasi menunjukkan semakin

meningkat, seiring dengan meningkatnya konsentrasi bahan pengawet. Nilai rata-rata terendah ditunjukkan pada konsentrasi 20% (P1) sebesar 10,36 kg/m³ dan nilai retensi tertinggi pada konsentrasi 100% (P5) sebesar 386,49 kg/m³. Menurut (Prawira *et al.*, 2013) hal ini dikarenakan resapan bahan pengawet terhadap kayu lebih banyak daripada konsentrasi rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai retensi ekstrak biji sirsak gunung berdasarkan perbedaan konsentrasi mempunyai nilai retensi yang berbeda. Sejalan dengan penelitian Mariana *et al.* (2013), pada pengawetan kayu durian (*Durio zibethinus*) dengan menggunakan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) pada tingkat konsentrasi 0,09%, dapat menghasilkan nilai retensi terendah sebesar 0,926 g/cm³ dan konsentrasi 23,07% dapat menghasilkan nilai retensi tertinggi sebesar 2,408 g/cm³. Menurut (Mariana *et al.*, 2013), besarnya konsentrasi bahan pengawet sebanding dengan nilai retensi yang akan dicapai. Meskipun demikian, retensi dapat dihasilkan berbeda pada konsentrasi yang sama karena factor ukuran dan volume kayu (Barly *et al.*, 2010). Konsentrasi tinggi mengandung zat ekstrak lebih banyak kemudian mengendap di dalam sel-sel kayu (Sukarya, 2015).

Nilai Retensi minimum yang disyaratkan pada SNI 01-5010.1-1999 untuk pemakaian di dalam bangunan (interior) dan di luar bangunan (eksterior) adalah 8,2 dan 11,3 kg/m³. Contoh uji P1 sudah memenuhi standar SNI untuk pemakaian kayu pada gedung/bangunan dibawah atap, tetapi belum memenuhi nilai retensi yang dipersyaratkan untuk digunakan di luar atap. Contoh uji P2 sudah memenuhi standar SNI untuk pemakaian dalam maupun luar gedung/bangunan yaitu >8,2 kg/m³ untuk interior dan 11,3 kg/m³ untuk eksterior

Mortalitas Rayap

Mortalitas rayap merupakan tingkat kematian rayap yang terjadi selama 4 minggu pegujian. Mortalitas rayap ini memberikan gambaran seberapa besar tingkat toksisitas zat ekstrak terhadap kematian rayap tanah. Nilai mortalitas rayap dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Mortalitas Rayap

Perlakuan	Mortalitas Rayap (%)
Kontrol	21 ± 4,73 ^a
P1 (20%)	94,80 ± 2,14 ^b
P2 (40%)	100 ± 0 ^c
P3 (60%)	100 ± 0 ^c
P4 (80%)	100 ± 0 ^c
P5 (100%)	100 ± 0 ^c

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf superskrip berbeda pada kolom/baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

Nilai mortalitas rayap semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi bahan pengawet yang disertai jumlah senyawa toksik yang meningkat (Hidayatullah *et al.*, 2017). Persentase mortalitas rayap terendah (21%) terdapat pada kontrol, sedangkan mortalitas tertinggi mencapai 100% ditunjukkan pada konsentrasi seluruh perlakuan. Konsentrasi pengawet yang tinggi mengakibatkan kelangsungan hidup rayap rendah (Oktapiani, 2018). Bandeira *et al.* (2017) melaporkan ekstrak biji *A. montana* yang semakin tinggi memberikan dampak besarnya nilai mortalitas *Aphis craccivora*.

Senyawa pada ekstrak biji sirsak gunung tidak secara langsung menyebabkan kematian rayap. Mortalitas rayap tersebut diduga karena bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak biji sirsak gunung berfungsi dengan baik sebagai insektisida, *repellent*, dan *anti feedant* (Oktapiani, 2018). Bandeira *et al.* (2017) melaporkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung pada biji sirsak gunung terdiri dari asetogenin dan alkaloid.

Kematian rayap oleh senyawa bioaktif pada ekstrak biji sirsak dapat melalui beberapa kemungkinan mekanisme. Arif *et al.* (2007) menyatakan, kemungkinan pertama adalah, terganggunya enzim selulase akibat matinya protozoa yang merupakan simbiosis di dalam perut rayap. Rusaknya enzim selulase berdampak pada pencernaan makanan oleh rayap sehingga rayap tidak mendapatkan energi dan pada akhirnya mati. Senyawa tersebut kontak atau masuk ke dalam tubuh serangga, asetogenin bereaksi melalui kontak atau konsumsi, menghambat kompleks mitokondria I dan

mengganggu saluran natrium yang diatur oleh tegangan, mengubah keseimbangan natrium dan kalium, hal ini mencegah transmisi saraf normal dan menyebabkan kelumpuhan diikuti oleh kematian ("Knockdown") (Colom *et al.*, 2007). Kemungkinan mekanisme kematian lainnya yaitu rusaknya sistem saraf yang disebabkan senyawa bioaktif.

Penurunan Berat Contoh Uji

Penurunan berat contoh uji merupakan berkurangnya berat kayu yang diakibatkan oleh rayap tanah yang memakan contoh uji. Penurunan berat adalah parameter dalam menentukan ketahanan contoh uji terhadap serangan organisme perusak.

Tabel 3. Rata-rata Penurunan Berat Contoh Uji

Perlakuan	Penurunan Berat (%)
Kontrol	10,37 ± 3,65 ^a
P1 (20%)	3,39 ± 0,65 ^b
P2 (40%)	0,43 ± 0,18 ^c
P3 (60%)	0,20 ± 0,20 ^c
P4 (80%)	0,07 ± 0,04 ^c
P5 (100%)	0,04 ± 0,01 ^c

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf superskrip berbeda pada kolom/baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

Penurunan berat contoh uji yang mengandung ekstrak biji sirsak gunung lebih kecil dibandingkan dengan bobot contoh uji kayu yang tidak mengandung ekstrak (Tabel 3) rata-rata penurunan berat yang paling besar yaitu sebesar 10,37 %. Menurut Toleng *et al.* (2014) hal tersebut karena tidak terdapat bahan beracun pada perlakuan contoh uji kontrol, sehingga rayap memakan kayu tidak terhalangi. Rayap akan lebih leluasa memakan seluruh bagian kayu tanpa ada bahan pelapis maupun pelindung baik pada permukaan kayu maupun dalam kayunya (Mariana *et al.*, 2013).

Pada contoh uji yang diawetkan mengalami penurunan berat pada contoh uji P1 (20%), sedangkan pada contoh uji P2 hingga P5 contoh uji tidak mengalami penurunan berat. Arbaiatusholeha *et al.* (2016) melakukan uji menggunakan ekstrak

tembakau diperoleh hasil konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan perubahan bobot kertas umpan. Toleng *et al.*, (2014), menyatakan bahwa kualitas kayu semakin baik dengan konsentrasi pengawet yang lebih tinggi. Serangan rayap tanah lebih efektif dicegah dengan campuran bahan pengawet yang pekat (Futariana & Darmono, 2014)

Senyawa *antifeedant* berfungsi menghambat daya makan serangga. Ekstrak dengan toksisitas yang semakin tinggi mengakibatkan konsumsi makanan oleh rayap berkurang dan persentase pengurangan berat contoh uji semakin kecil (Arbaiatusholeha *et al.*, 2016).

Berdasarkan SNI 01.7207-2006 (BSN, 2006) pada contoh uji Kontrol (K) menunjukkan bahwa contoh uji tersebut tergolong kayu kelas III (sedang). Setelah pemberian konsentrasi ekstrak biji sirsak gunung contoh uji P1 menjadi kayu kelas II (tahan), pada contoh uji P2 menjadi kayu kelas I (sangat tahan), dengan kata lain pemberian konsentrasi ekstrak biji sirsak gunung dapat meningkatkan daya tahan contoh uji terhadap serangan rayap tanah. Contoh uji yang awalnya tidak tahan terhadap rayap tanah menjadi sangat tahan.

KESIMPULAN

Ekstrak biji sirsak gunung efektif sebagai insektisida terhadap rayap tanah. Konsentrasi ekstrak biji sirsak gunung 40% (P2) menyebabkan mortalitas rayap sebesar 100% dan penurunan berat contoh uji sebesar 0,43%. Perlu dilakukan pengujian terhadap serangga lainnya yang menyerang kayu seperti rayap kayu kering, kumbang bubuk kering, dan lain-lain

DAFTAR PUSTAKA

Arbaiatusholeha, R., Yuliawati, S. & Saraswati, L. D. (2016). Uji Efikasi Ekstrak Batang Tembakau (*Nicotiana* spp.) untuk Pengendalian Rayap Tanah (*Coptotermes* spp.). *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(1), 206.

Arif, A., Usman, M.N. & Samma F. (2007). Sifat Anti Rayap dari Ekstrak Ijuk Aren (*arenga pinnata* Merr.). *Jurnal Perrenial*. 3(1), 15-17.

Badan Standarisasi Nasional [BSN]. (1992). *SNI 03-3233-1992 Tata Cara Pengawetan Kayu untuk Bangunan Rumah dan Gedung*. BSN.

Badan Standarisasi Nasional. (1999). *SNI 03-5010.1-1999 Pengawetan Kayu untuk Perumahan dan Gedung*. BSN.

Badan Standarisasi Nasional. 2006. *SNI 01-7207-2006 Uji Ketahanan Kayu dan Produk Kayu terhadap Organisme Perusak Kayu*. BSN

Bandeira, H.F. da S., Lima, A.C.S., Trassato, L.B., Strucker, A. & Vieira, A. de J. (2017). Bioactivity of *Annona montana* Macfad Extracts on the Black Cowpea Aphid (*Aphis craccivora* Koch). *Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 12(1), 41-46.

Barly & Ismanto, A. (2008). Keefektifan Seng Klorida-Dikromat sebagai Bahan Pengawet Kayu. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 26(4), 332.

Barly, Lelana, N.E. & Ismanto, A. (2010). Keefektifan Campuran Garam Tembaga-Kromium-Boron Terhadap Rayap dan Jamur Perusak Kayu. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 28(3), 227

Blessing, L.D.T., Colom, O.A., Popich, S., Neske, A., & Bardon, A. (2010). Antifeedant and Toxic Effects of Acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Pest Science*, 83, 307-308.

Colom, O.A., Neske, A., Popich, S. & Bardon, A. (2007). Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera*

- frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science*, 80, 63.
- Futariana, Y.S. & Darmono. (2014). Pengaruh Awal Pemanfaatan Oli dan Briket Batubara Sebagai Bahan Pengawet Kayu Terhadap Serangan Rayap. *Jurnal Teknik Sipil, Universitas Negeri Yogyakarta*, 15.
- Hidayatullah, S., Rizaldy, A. A., Gracia, H. & Syahidah. (2017). Efikasi Ekstrak Daun Tuba sebagai Anti Rayap Alami. *Jurnal Ilmu Teknologi Kayu Tropis*, 15(2), 172.
- Ismanto, A., Yuningsih, S., & Lelana N.E. (2009). Effect of Soursop Seed Oil Extract (*Annona muricata* L) on Dry Wood Termite *Cryptotermes cynocephalus* Light Mortality and Attact Degree. *Proceedings of The First International Symposium of Indonesian Wood Research Society*, 222.
- Karlinasari, L., Rahmawati, M & Mardikanto, T. R. (2010). Pengaruh Pengawetan Kayu Terhadap Kecepatan Gelombang Ultrasonik dan Sifat Mekanis Lentur serta Tekan Sejajar Serat Kayu *Acacia mangium* Willd. *Jurnal Teknik Sipil*, 17(3), 165.
- Mariana, E., Ariyanti & Erniwati. (2013). Uji Retensi dan Efektivitas Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap Serangan Rayap Tanah (*Coptotermes* Sp.) Pada Kayu Durian (*Durio zibethinus*). *Warta Rimba*, 1(1), 5.
- Nandika, D., Rismayadi, Y. & Diba, F. (2015). Rayap, Biologi dan Pengendaliannya. (Edisi ke-2). Surakarta: Muhammadiyah University Press. 12-17, 29, 35-51, 58-59.
- Nihayah, E. (2014). *Sifat Antirayap Zat Ekstraktif Daun Mindi (Melia azedarach linn.) terhadap Rayap Tanah Coptotermes curvignathus* Holmgren. (Skripsi). Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Oktapiani, C. (2018). *Potensi Ekstrak Biji Sirsak Gunung (Annona montana) dalam Mengendalikan Serangan Rayap Tanah*. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Prawira, H., Orahmahi, H. A., Setyawati, D. & Diba, F. (2013). Aplikasi Asap Cair Dari Kayu Laban (*Vitex Pubescens* Vahl) Untuk Pengawetan Kayu Karet. *Jurnal Hutan Lestari*, 1(1), 18
- Ribeiro, L. P., Ansante, T. F. & Vendramin, J. D. 2016. Effect of Ethanolic Extract from *Annona mucosa* Seeds on Development and Feeding Behavior of *Spodoptera frugifera*. *Bragantia, Campinas*, 75(3), 322.
- Rizal, M., Balfas, R., Rostiana, O., Rosman, R. & Dwijanti, S.R. (2005). Status Penelitian Pestisida Nabati di BALITTRO. *Prosiding Seminar Nasional Pestisida Nabati* III. 2 & 11.
- Savitri, A., Martini & Yuliawati, S. (2016). Keanekaragaman Jenis Rayap Tanah dan Dampak Serangan Pada Bangunan Rumah di Perumahan Kawasan Mijen Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(1), 101.
- Sukarya, N.K. (2015). *Efikasi Ekstrak Daun Sirsak Gunung (Annona montana Macf.) Terhadap Rayap Kayu Kering (Cryptotermes cynocephalus Light.)*. (Skripsi). Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Toleng, F.N., Erniwati & Ariyanti. (2014). Retensi dan Efektivitas Bahan Pengawet Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) pada Kayu Durian (*Durio Zibethinus*) Terhadap Serangan Rayap Tanah (*Coptotermes* sp.). *Warta Rimba*, 2(2), 17-18.

INSIDENSI SERANGAN HAMA PENGGEREK BATANG PADA PERSEMAIAN KALIANDRA DI PT. USAHA TANI LESTARI SUMBA BARAT, NUSA TENGGARA TIMUR.

Wida Darwiati Jusuf^{*)} dan Mira Yulianti
Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan
Jl Gunung Batu No 5 Bogor Telp/Fax.(0251) 8631238, Fax (0251) 7520005, Indonesia
*e-mail : wdarwiati@yahoo.com

ABSTRACT

Stem borers at Kaliandra Nursery In PT Usaha Tani Lestari, Sumba Barat, East Nusa Tenggara

*Pest attack is the major problem in the cultivation of energy-producing wood plants, one of which is a stem borer that attacks Kaliandra (*Calliandra callothyrsus*) plant. The information regarding the level of stem borer attack is needed as a material consideration in the management of the energy-producing timber plant. The purpose of this study is to assess the incidence, calculate the percentage and intensity of attacks and identify the stem borer. This research was conducted at Kaliandra Nursery PT. Sustainable Farming in West Sumba, NTT. The results showed that the identification of stem borer pests of the *Xyleborus* sp (Scolytidae: Coleoptera) species. 7-month-old seedlings have been attacked with an average stem diameter of 1.21 cm and a stem height of 63.7 cm. The holes produced by the pest *Xyleborus* sp by 2 mm with the highest number of hole holes 30 points per seed. the distance of the first drill hole from the base is 3.01 cm and the final distance of the drill hole is 56.96 cm. The results of the percentage of attacks reached 90% with the category of severe attacks, the incidence of stem borer pests are also driven by very extreme weather factors/heat.*

Keywords: Stem Borer, Kaliandra, Percentage, And Intensity of The Attack

ABSTRAK

Serangan hama pada tanaman penghasil kayu energi merupakan faktor utama yang menjadi masalah dalam pengembangan budi daya, salah satunya adalah hama penggerek batang yang banyak menyerang tanaman kaliandra (*Calliandra callothyrsus*). Informasi mengenai tingkat serangan hama penggerek batang diperlukan sebagai bahan pertimbangan dalam pengelolaan tanaman penghasil kayu energi tersebut. Tujuan penelitian ini yaitu menganalisis insidensi, menghitung persentase dan lamanya waktu serangan serta mengidentifikasi hama penggerek batang. Penelitian ini dilaksanakan di persemaian kaliandra PT. Usaha Tani Lestari Sumba Barat, Nusa Tenggara Timur (NTT). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa hama penggerek batang adalah dari jenis *Xyleborus* sp (Scolytidae : Coleoptera). Bibit umur 7 bulan sudah terserang dengan rata-rata diameter batang 1,21 cm dan tinggi batang 63,7 cm. Lubang gerek yang dihasilkan hama *Xyleborus* sp sebesar 2 mm dengan jumlah lubang gerek terbanyak 30 titik per bibit. Jarak lubang gerek pertama dari pangkal bawah 3,01 cm dan jarak terakhir lubang gerek sepanjang 56,96 cm. Hasil persentase serangan mencapai 90% dengan kategori serangan yang berat, insidensi hama penggerek batang tersebut juga dipacu oleh faktor cuaca yang sangat ekstrem /panas.

Kata Kunci : Hama penggerek batang, kaliandra, persentase, dan intensitas serangan

PENDAHULUAN

Kaliandra (*Calliandra callothyrsus*) merupakan salah satu tumbuhan yang bernilai guna tinggi dan merupakan faktor yang sangat penting untuk diperhatikan dalam pemilihan spesies yang diusahakan sebagai tanaman potensial (Prasetyio *et al.*, 2018). Di Indonesia, Kaliandra tumbuh

bervariasi tergantung curah hujan dan sebenarnya dapat berbunga sepanjang tahun, tumbuh sampai ketinggian 12 m dengan diameter batang maksimum 20 cm.

Kaliandra merupakan tanaman *Multi purpose species* (Sebuliba *et al.*, 2012), cepat tumbuh, dan potensial sebagai penghasil kayu energi, dapat meningkatkan kesuburan tanah, dapat dimanfaatkan untuk

penghijauan lahan, untuk pakan ternak dan dapat diusahakan bersama jenis tanaman lain sebagai pengisi maupun pakan lebah madu (Syamsuwida *et al.*, 2014). Nilai kalor Jenis tanaman ini cukup tinggi (4.500 – 4.750 kkal/kg), sehingga sangat cocok sebagai penghasil kayu energi, karena nilai kalornya cepat tumbuh (2,5 – 3,5 m dalam 6 – 7 bulan), dan dapat meningkatkan trubusan ketika dipangkas, sehingga nilai produktivitas tinggi 35 – 65 m³ /ha (NAS dalam Darmawan dan Illa, 2011). Kaliandra dapat tumbuh di tanah marjinal, berlereng dan mampu bertahan hidup di musim kemarau atau kering (Hendrati *et al.*, 2014). Keunggulan ini dapat dimanfaatkan untuk memulihkan lahan pada Daerah Aliran Sungai (DAS). Kaliandra merupakan tanaman pionir dapat tumbuh di berbagai jenis tanah, dan merupakan tanaman yang berpotensi invasif (Septiadi *et al.*, 2018).

Kandungan kaliandra sebagai hijauan ruminansia menguntungkan produksi dan reproduksi ternak (Abqoriyah *et al.*, 2015). Kaliandra dimanfaatkan peternak sebagai pakan karena menghasilkan sumber protein sebesar 20 - 25% tetapi akan menurun ketika umur tanaman semakin tua dan mengandung anti nutrisi (tanin) sampai 11%. Pemanenan pertama untuk hijauan pakan ternak kaliandra sebaiknya pada umur 9 - 12 bulan, dan seterusnya dapat dipanen setiap 4 - 6 kali setahun (Abqoriyah *et al.*, 2015).

Tanaman kaliandra memang memberikan prospek ke depan yang menjanjikan, yang mampu melakukan fungsi produksi secara optimal sehingga produktivitas dan kualitas produk yang dihasilkan akan selalu meningkat dari satu rotasi ke rotasi berikutnya. Faktor keberhasilan Keberadaan tanaman kaliandra dengan melihat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), yang dapat menurunkan nilai peran dari tumbuhan tersebut, Penyebaran serangan hama yang luas menjadikan tanaman ini memiliki kerentanan terhadap serangan hama yang beragam. Sehingga dalam beberapa tahun terakhir ini telah terjadi serangan OPT baik pada hutan tanaman maupun pada hutan rakyat yang sangat merugikan. Berdasarkan permasalahan yang dijumpai di PT. Usaha

Tani Lestari Sumba Barat, NTT areal bibit kaliandra umur 7 bulan terserang hama penggerek batang yang mengakibatkan batang cepat rapuh dan mudah patah bila terkena angin kencang, dikarenakan pada batang tersebut terdapat beberapa titik lubang gerek. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, maka dilakukan penelitian dengan melihat insidensi sejauh mana faktor tingkat kerusakan yang diakibatkan hama penggerek batang, dengan menghitung persentase dan intensitas serangan juga mengidentifikasi jenis hama tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu bibit kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) umur 7 bulan, alkohol 70%. Alat yang digunakan adalah alat pemotong (gunting stek, golok, scapel), disetting set (pinset, loup), penggaris/meteran, caliper, tali raffia, kertas koran, aluminium foil, kotak serangga/stoples plastic, kamera, dinolite, dan mikroskop.

Metode

Penelitian dilakukan secara visual terhadap persemaian yang sudah terserang oleh hama penggerek batang. Jumlah bibit yang diamati sebanyak 100 sampel dengan data yang diambil adalah diameter bibit, tinggi bibit, jumlah lubang gerek per bibit, jarak lubang gerek dari pangkal bawah sampai atas, menghitung persentase dan intensitas serangan hama pengerek batang, dan mengidentifikasi jenis hama tersebut.

Analisis Data

Metode yang digunakan adalah analisis deskriptif, dengan data bibit yang terserang dikelompokkan ke dalam kelas diameter dan tinggi bibit yang sama. Hasil persentase serangan diperoleh berdasarkan perbandingan antara jumlah bibit yang terserang terhadap jumlah total bibit yang ada dalam satu plot pengamatan, sedangkan hasil intensitas serangan dilihat dari berat ringannya kerusakan pada areal pengamatan.

Rumus yang digunakan :

$$PS (\%) = \frac{Nh}{Nt} \times 100\%$$

Keterangan:

PS = Persentase serangan

N h = Jumlah bibit yang terserang dalam bedeng/plot pengamatan

N t = Jumlah total bibit yang ada di dalam bedeng/plot pengamatan

Tingkat kerusakan serangan hama penggerek batang yang diukur pada individu pohon/bibit yang terserang. Menurut Husaeni (2010), tingkat kerusakan serangan hama penggerek batang ditentukan oleh banyaknya larva atau banyaknya lubang gerek dalam satu pohon/bibit. Tingkat kerusakan serangan hama penggerek batang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IS = \frac{\sum(ni \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan:

IS = intensitas serangan hama/tingkat kerusakan

n = jml tanaman yg terserang dgn klasifikasi tertentu

v = nilai untuk klasifikasi tertentu

i = kategori kerusakan

N = jumlah tanaman seluruhnya

Z = nilai tertinggi dalam klasifikasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

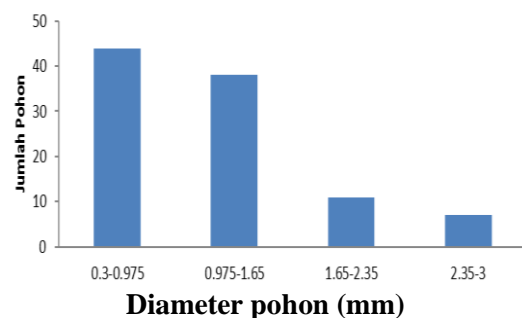
Diameter Pohon yang Terserang

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bibit kaliandra yang ditanam di PT. UTL umur 7 bulan sudah terserang hama penggerek batang. Larva menyerang bagian batang dengan cara melubangi batang sedalam 2 mm, dan dalam satu batang dapat ditemukan beberapa titik lubang yang apabila ada angin kencang dapat merobohkan persemaian. Serangan larva ini biasanya dimulai dari pangkal batang yang dekat dengan permukaan tanah kemudian naik kearah apical batang. Bibit yang terserang akan terlihat kotor pada bagian permukaan kulitnya karena adanya kotoran basah yang berwarna coklat yang merupakan

campuran dari serbuk gerek, jamur, kotoran serangga dan cairan bibit/pohon. Insidensi serangan hama penggerek batang terjadi pada bibit dengan diameter terkecil 0,3 mm dan diameter terbesar 3 mm. Dari hasil tabel yang sudah dikelompokan diameter pohon 0,3 – 0,97 mm sebanyak 45 bibit, diameter 0,97 – 1,65 mm sebanyak 37 bibit, diameter 1,65 – 2,35 mm sebanyak 10 bibit dan diameter 2,35 – 3,0 mm ada 8 bibit seperti yang tertera pada Gambar 1.

Hubungan Jumlah Lubang Gerek dan Diameter Pada Batang

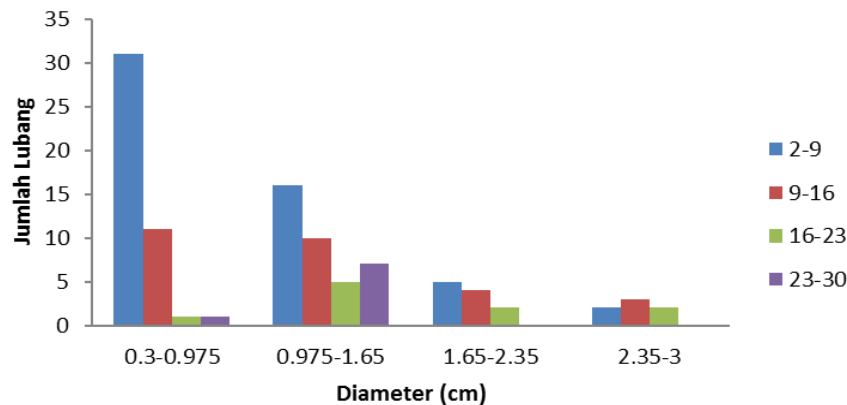
Perhitungan jumlah lubang gerek per bibit dimana lubang gerek mulai ditemukan pada bagian pangkal bawah kemudian menyebar naik ke bagian atas. Gejala serangan yang mudah dilihat pada batang kaliandra adalah terdapatnya lubang gerek dengan diameter 2 mm. Batang yang diserang hebat akan kotor pada bagian kulitnya yang merupakan campuran dari serbuk gerek, jamur, kotoran serangga dan cairan batang. Lubang gerek ini akan terdapat lebih banyak pada bagian pangkal batang, walaupun lubang ini masih ditemukan pada ketinggian pohon sekitar 1 mm. Hasil pengamatan di lapangan jumlah lubang gerek yang ditemukan pada bibit kaliandra antara 2 sampai 30 titik lubang. Jumlah lubang gerek yang dihubungkan dengan diameter bibit yang terserang hama penggerek dapat dilihat Gambar 2, dimana diameter bibit 0,3 cm sudah ada lubang yang terserang.



Gambar 1. Rata-Rata Diameter Bibit yang Terserang Hama Penggerek Batang

Tabel 1. Klasifikasi Tingkat Kerusakan Tanaman (kriteria Unterstenhofer 1963).

Kategori kerusakan (i)	Nilai klasifikasi (v)	Tanda kerusakan batang	Tingkat kerusakan
1	0	Kerusakan batang $\leq 5\%$	Sehat
2	1	Kerusakan batang $5\% < x \leq 25\%$	Ringan
3	2	Kerusakan batang $25\% < x \leq 50\%$	Agak Berat
4	3	Kerusakan batang $50\% < x \leq 75\%$	Berat
5	4	Kerusakan batang $75\% < x \leq 100\%$	Sangat Berat



Gambar 2. Hubungan Diameter Dengan Jumlah Lubang Gerek

Berdasarkan Gambar 2, dapat disimpulkan bahwa jumlah lubang gerek sebanyak 2 – 9 titik didapat dari kelompok diameter 0,3 – 0,97 mm dengan total bibit 32 yang terserang. Begitu juga dengan jumlah lubang gerek 9 sampai 16 titik, sebanyak 11 bibit yang terserang, sedangkan jumlah lubang gerek 16 sampai 23 titik ditemukan pada bibit dengan diameter 0,97 – 1,65 sebanyak 5 bibit yang terserang dan jumlah lubang gerek 23 sampai 30 titik masih dikelompok diameter 0,97 sampai 1,65 sebanyak 7 bibit yang terserang.

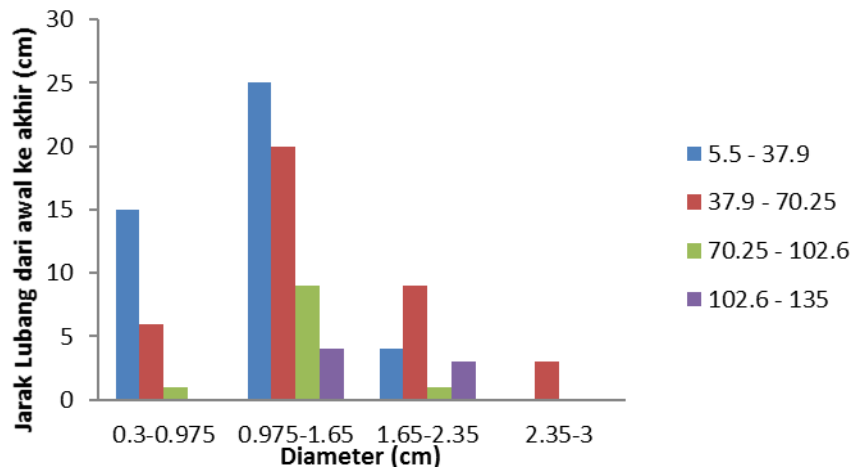
Hubungan Diameter Bibit dengan Jarak Lubang Gerek dari Pangkal ke Atas

Hasil pengamatan jarak lubang gerek yang pertama (awal) dari pangkal permukaan tanah sampai ujung batang dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini antara 5,5 cm – 135 cm. Pada Gambar 3 terlihat jarak lubang gerek dibagi dalam empat kelompok yaitu a) jarak 5,5 – 37,9 cm; b) jarak 37,9 – 70,25 cm ; c) jarak 70,25 – 102,6 cm dan d) jarak 102,6 – 135 cm. Hasil pengamatan di lapangan ternyata jarak lubang gerek 5,5 – 37,9 cm terbanyak untuk bibit kaliandra dengan diameter 0,97 – 1,65

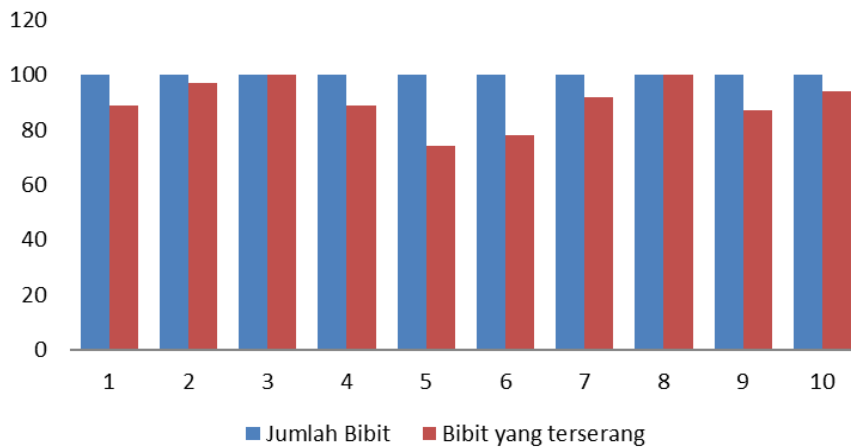
cm sebanyak 25 bibit yang ditemukan. Begitu juga dengan jarak lubang gerek berikutnya masih pada kelompok bibit dengan diameter 0,975 – 1,65 cm, berturut-turut adalah jarak 37,9 – 70,25 cm ada 20 bibit yang ditemukan , jarak 70,25 – 102,6 cm sebanyak 9 bibit dan jarak 102,6 – 135 cm ditemukan 4 bibit.

Persentase dan Intensitas Serangan

Pada persemaian dibuat plot pengamatan dengan mengambil sampel bibit sebanyak 100 bibit secara acak dengan 10 kali ulangan (Gambar 4). Persentase serangan hama penggerek batang pada bibit kaliandra berkisar 74 – 100% dengan rata-rata mencapai 90% (Gambar 4) dan dapat dikategorikan dengan intensitas serangan yang berat. Serangan hama penggerek batang mengelompok dari satu bibit ke bibit yang lain hingga menyebabkan banyak bibit yang mati. Kematian bibit tersebut disebabkan karena larva terus menggerek hingga ke bagian empulur batang sehingga bahan makanan yang diangkut dari perakaran ke bagian atas (tajuk) terputus hingga menyebabkan kematian (Kaslhoven, 1981).



Gambar 3. Hubungan Diameter Bibit dengan Jarak Lubang Gerek Awal ke Akhir

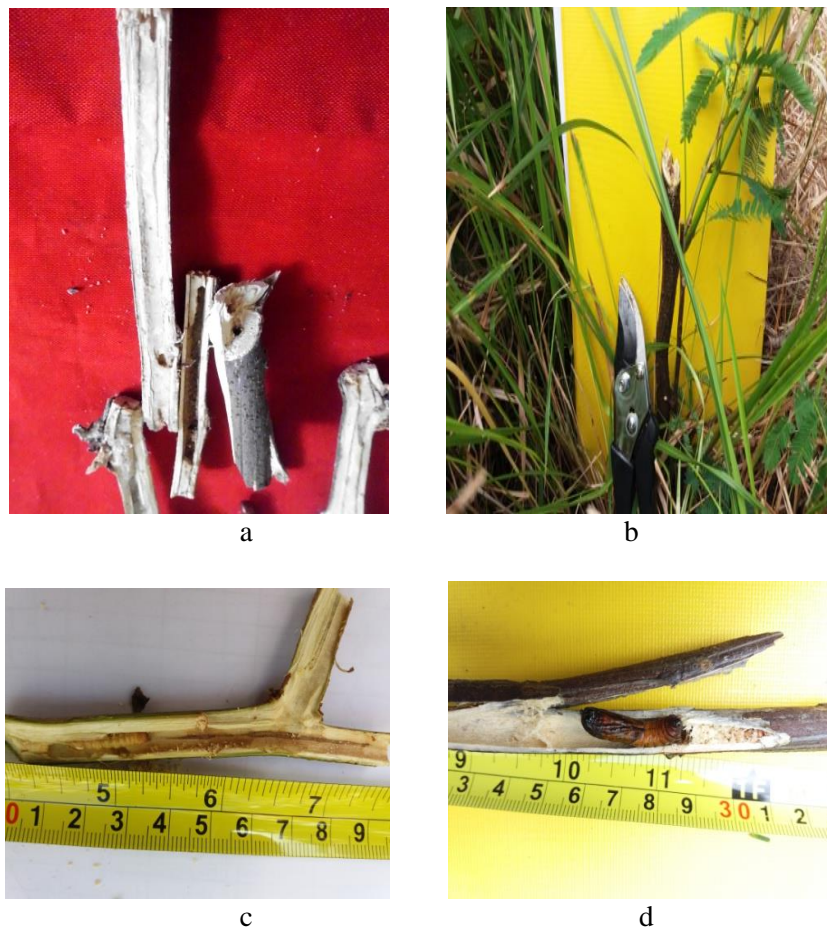


Gambar 4. Persentase dan Intensitas Serangan Hama Penggerek Batang

Dengan kepadatan bibit dipersemaian dan juga didukung oleh faktor lingkungan membuat kelimpahan hama penggerek batang meningkat. Faktor biologi serangga dan habitat mempengaruhi setiap serangga sehingga sebarannya menjadi khas ditambah faktor kepadatan populasi (Siregar *et al.*, 2014). Ada dua faktor penyebab meledaknya hama penggerek batang di areal persemaian tanaman kayu energi jenis Kaliandra adalah faktor abiotik dan faktor biotik yang tidak dapat dipisahkan. Iklim merupakan faktor abiotik terpenting dalam kehidupan. Iklim juga dapat mempengaruhi perkembangan, reproduksi, perilaku, distribusi, survival, kelimpahan, fenologi dan musuh alami (Wardani, 2014). Ledakan populasi hama yang tidak wajar merupakan

salah satu indikasi telah terjadinya ketidakseimbangan ekosistem. Di dalam ekosistem yang seimbang secara alami akan terjadi mekanisme yang saling membatasi pertumbuhan populasi dalam komunitas sehingga tidak terjadi ledakan atau dominansi populasi suatu organisme. Intervensi manusia secara langsung maupun tidak langsung dapat mempengaruhi keseimbangan dan kestabilan ekosistem ini.

Hasil identifikasi hama penggerek batang yang menyerang bibit kaliandra adalah jenis *Xyleborus* spp (*Scolytidae* : *Coleoptera*). Serangan *Xyleborus* memiliki ciri lubang gerek dengan ukuran diameter sekitar 1-2 mm pada permukaan batang tanaman ke arah dalam batang mencapai panjang 20-50 mm.



Gambar 5. Gejala serangan penggerek batang *Xyleborus* spp

Lubang gerek yang dibuat *Xyleborus* spp betina dewasa digunakan sebagai tempat tinggalnya. Lubang gerek digunakan untuk meletakkan telur hingga menetas dan tumbuh. Larva dalam lubang memakan jamur ambrosia (*Fusarium solani*) (Rahayu dalam Oktavianda, 2018), yang mana spora jamur tersebut dibawa oleh *Xyleborus* betina dewasa sewaktu menggerek lubang. Jaringan tanaman pada lubang dapat rusak (lubang gerek semakin lebar dan panjang) akibat aktivitas larva ketika makan jamur (Dridz, 2003). Metamorfosis Hama *Xyleborus* dari telur, larva, pupa dan serangga dewasa terjadi di dalam lubang gerek. Serangga betina dewasa yang telah kawin akan keluar dari lubang gerek untuk mencari inang baru. Keberadaan lubang gerek mengakibatkan terhambatnya proses transportasi nutrisi sehingga

berakibat pada kerusakan daun hingga kematian tanaman.

Hama penggerek batang jenis *Xyleborus* spp lebih sering menyerang tanaman secara vertikal dari pada secara horisontal (Dridz, 2003). *Xyleborus* betina dewasa setelah kawin akan keluar dari lubang gerek untuk mencari inang yang baru. Menurut Lavabre dalam Rahayu et al. (2006), serangan *Xyleborus* pada tanaman muda menyebabkan daun-daunnya gugur sehingga pertumbuhan dan pembuahannya terhambat, sedangkan serangan pada tanaman yang telah tua menyebabkan ranting-rantingnya mengering sehingga akan menurunkan hasil produksi. Kumbang betina masuk ke dalam bibit batang apabila telah selesai menggerek dan berhenti atau tidak aktif selama 30 jam. Selama proses ini, jamur ambrosia berkembang dan kumbang mulai berkembang biak. Kapasitas

reproduksi kumbang betina ditentukan oleh jamur yang tumbuh. Ada hubungan yang erat antara pertumbuhan jamur dan perkembangan kumbang ini. Peneluran pertama berlangsung selama satu minggu, kumbang betina menghasilkan 30 – 50 telur yang terbagi dalam 8 – 15 kelompok. Larva akan menetas sesudah 5 hari, perkembangan sempurna dicapai dalam waktu 10 hari dimana yang dewasa keluar dari pupa. Kumbang jantan yang muncul hanya sedikit. Perkawinan dilakukan dalam liang gerek yang dibuat kumbang betina, ukuran panjang serangga betina dewasa 1,5 mm (Kalshoven, dalam Anggraeni, dkk., 2006).

Hama penggerek batang jenis *Xyleborus* spp menyerang bibit kaliandra pada tanaman yang berumur muda. Tingkat serangan hama *Xyleborus* spp pada tanaman yang lebih muda akan lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang sudah berumur tua. Ada jenis serangga herbivor yang lebih suka menyerang tanaman muda dibanding yang tua (Mitchell *et al.*, 2016).

Faktor interaksi faktor biotik, abiotik termasuk iklim dan juga manajemen budidaya dapat memantau perkembangan budi daya jenis tanaman (Ali *et al.*, 2014). Macfadyen *et al.* (2018) melaporkan bahwa perkembangan populasi hama sangat dipengaruhi oleh kondisi iklim, seperti suhu udara, kelembaban relatif udara, curah hujan, dan kelembaban tanah.

Gejala serangan penggerek batang *Xyleborus* spp yaitu berupa lubang gerek pada permukaan bawah pangkal batang. Serangan awal pada batang kaliandra yang masih muda berupa lubang gerakan (Gambar 5a). Disekeliling batang terbentuk warna hitam dan terjadi layu pada daun yang berakibat kematian pada tanaman. Potongan melintang batang kaliandra yang terdapat lubang gerek terlihat lubang dari kulit luar sampai empulur, sehingga terbentuk terowongan yang panjang sebagai ruang meletakkan telur sampai serangga tumbuh menjadi dewasa (Gambar 5b), potongan batang kaliandra yang terserang hama penggerek batang dan ditemukan larva yang masih aktif (Gambar 5c), stadia pupa yang ditemukan pada batang kaliandra (Gambar 5d).

KESIMPULAN

Hasil identifikasi jenis hama penggerek batang adalah *Xyleborus* spp. (*Scolytidae* : *Coleoptera*), larva membuat lubang gerek sebesar 2 mm, sehingga menyebabkan batang rapuh apabila terkena angin kencang. Rata-rata diameter bibit yang terserang 1,21 cm dengan jumlah lubang gerek per bibit sebanyak 10,8 titik. Jarak lubang gerek pertama dari bagian pangkal sebesar 3,01 cm dan jarak lubang terakhir sebesar 56,96 cm. Persentase dan intensitas serangan hama penggerek batang mencapai 90% dengan kategori berat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PT. Usaha Tani Lestari, NTT yang telah mengizinkan penulis mengadakan penelitian diareal persemaiannya dengan anggaran DIPA 2017. Juga kepada teknisi di Laboratorium Hama dan Penyakit, Kelti Perlindungan Hutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abqoriyah., Utomo, R., & Suwignyo, B. (2015). Produktivitas Tanaman Kaliandra (*Calliandra Calothyrsus*) Sebagai Hiajuan Pakan Pada Umur Pematangan Yang Berbeda. *Buletin Peternakan*, 39(2), 103–8
- Ali, M. P., Huang, D., Nachman, D., Ahmed, N., Begum, M.A., Rabbi, M.F. (2014). “Will Climate Change Affect Outbreak Patterns of Planthoppers in Bangladesh?” *PLoS ONE*, 9(3), 1–10.
- Anggraeni, I., Intari, S.E., & Darwiati, W. (2006). *Hama dan Penyakit Hutan Tanaman*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan
- Darmawan., U.W., dan Illa, A. (2011). Serangga Hama Yang Berasosiasi Dengan Kaliandra dan aspek Pengendaliannya. *Mitra Hutan Tanaman*, 6 (2).

- Dridz, L. (2003). "The Black Twig Borer: A Study of the Damage Done to Unprotected Hawaiian Coffee Lara Drizd. <https://www.hawaiicoffeeed.com/uploads/2/6/7/7/26772370/blacktwigborer.pdf>
- Hendrati., Laksmi, R., Suwand., and Margiyanti. (2014). *Budidaya Kaliandra (Calliandra Calothyrsus) Untuk Bahan Baku Sumber Energi*. eds. Mohammad Na'iem, Mahfudz, and Sigit Baktya Prabawa. Bogor: PT Penerbit IPB Press
- Kalshoven, L.G.E., (1981). *The Pest Of Crop In Indonesia*. PT. Ichtiar Baru Van Hoeve, Jakarta
- Macfadyen, Sarina., McDonald, G., and Matthew, P. H. (2018). From Species Distributions to Climate Change Adaptation: Knowledge Gaps in Managing Invertebrate Pests in Broad-Acre Grain Crops. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 253, 208–19. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.029>
- Mitchell., Carolyn., Rex M. B., Graham,J., and Karley, A.J. (2016). Plant Defense against Herbivorous Pests: Exploiting Resistance and Tolerance Traits for Sustainable Crop Protection. *Frontiers in Plant Science* 7, 1–8.
- Oktavianda, A. (2018). *Jenis Dan Populasi Serangga Hama Pada Perkebunan Kopi Arabika Dan Robusta Di Desa Juma Lubang Dan Desa Tumangger* (Skripsi). Universitas Sumatra Utara.
- Prasetyo Eko, Wiyono wiyono, Puji Lestari, Rachmat Hidayat, Hidayat Nur Oktalina, Agus Ngadianto, Prasetyo Nugraha (2018). Penanaman Kaliandra sebagai Kayu Energi dan Hijauan Makanan ternak Pada Pertanaman Agroforestry Masyarakat Desa Gerbosari, Samigaluh Kulon Progo. *Jurnal Pengabdian dan Pengembangan Masyarakat* . Vol 1. No. 1 .UGM.
- Rahayu, Subekti, Setiawan, A., Husaeni, E.A., and Suyanto, S. (2006). *Pengendalian Hama. Agrivita* ,28(3).
- Sebuliba, Esther ., Nyeko, P., Majaliwa, M., Eilu, G., Luswatakizza, C., & Ekswamu, A. (2012). *Enhanced Growth of Multipurpose Calliandra (Calliandra Calothyrsus) Using Arbuscular Mycorrhiza Fungi in Uganda*.
- Septiadi, Luhur, Wahyudi, D., Rachman, R.S. (2018). The Invasive Plants Species along the Hiking Track of Mount Panderman Nature Tourism , Batu , East Java. *Journal of Indonesian Tourism and Development Studies*, 6(1), 55–62
- Siregar, Anna, Bakti, D., and Zahara, F. (2014). Keanekaragaman Jenis Serangga Di Berbagai Tipe Lahan Sawah. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 2(4), 1640–47
- Syamsuwida Dida, Rina Kurniaty, Kurniawati Purwaka Putri , Eliya Suita. (2014) . Kaliandra (Calliandra calothyrsus) as a Timber For Energy : In A point Of View Of Seeds And Seedling Produrement. *Energy Procedia* 47 (2014) 62- 70.
- Wardani, N. (2014). "Perubahan Iklim Dan Pengaruhnya Terhadap Serangga Hama." *Prosiding Seminar Nasional Agroinovasi Spesifik Lokasi Untuk Ketahanan Pangan Pada Era Masyarakat Ekonomi ASEAN* (Hunten 1993), 783–91.

KARAKTERISTIK MEMBRAN KOMPOSIT BERBASIS KITOSAN/PVA TERMODIFIKASI LEMPUNG DARI BABAKAN MADANG BOGOR

Tria Kharisma¹⁾, Nina Ariesta^{1)*} dan Dian Arrisujaya¹⁾
¹⁾Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa Bogor
Jl. KH. Sholeh Iskandar Km.4 Tanah Sareal Bogor, 16166
*e-mail: ariestanina14@gmail.com

ABSTRACT

Characteristics of Clay Modified/Chitosan/PVA Based Composite Membranes From Babakan Madang Bogor

The use of natural polymers as membranes of DMFC from chitosan was developed because it is more environmentally friendly and has high thermal stability, but the proton conductivity is low. The Clay from Babakan Madang, which contained of SiO₂ 50% was expected to increase proton conductivity and improve the characteristics of the polymer membrane. Chitosan / PVA based membrane synthesis was carried out by adding clay of varied weight variations of 0.3, 0.6 and 0.9 g. The spectra of membranes investigated by FT-IR confirmed the presence of functional groups from chitosan/PVA/clay. Morphological analysis using SEM showed that there were granules of clay dispersed on the membrane. The determination of membran conductivity using EIS showed that the membrane with the addition of 0.6 g of clay was the highest of proton conductivity value, it was $6.96 \times 10^{-7} \text{ S / cm}$. The water swelling data of the three membranes tended to be high, with the smallest value of 56.69% on the membrane with the addition of 0.9 grams of clay. The methanol uptake data found that the conductivity of membrane with the addition of 0.6 grams of clay was 346.11%.

Keywords: ion exchange membran, chitosan, fuel cell, PVA

ABSTRAK

Penggunaan polimer alam sebagai membran pada *Direct Methanol Fuel Cell* (DMFC) berbasis kitosan dikembangkan karena lebih ramah lingkungan dan memiliki stabilitas termal tinggi, namun konduktivitas protonnya rendah. Lempung dari Babakan Madang dengan kandungan Si 50% diharapkan dapat meningkatkan konduktivitas proton serta memperbaiki karakteristik membran polimer tersebut. Sintesis membran berbasis kitosan/PVA dilakukan dengan penambahan variasi berat lempung sebesar 0,3, 0,6 dan 0,9 g. Pengujian dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) mengkonfirmasi terbentuknya membran komposit kitosan/PVA/lempung. Analisis morfologi dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan bahwa terdapat butiran-butiran lempung yang terdispersi pada membran. Hasil pengujian dengan *Electrochemical Impedance Spectroscopy* (EIS) menunjukkan nilai konduktivitas proton tertinggi adalah membran dengan penambahan lempung 0,6 g sebesar $6,96 \times 10^{-7} \text{ S/cm}$. Swelling air membran yang dihasilkan pada ketiga membran cenderung tinggi, dengan nilai terkecil 56,69% pada membran dengan penambahan lempung 0,9 gram. Hasil pengujian swelling metanol sebesar 346,11% untuk membran dengan penambahan 0,6 gram lempung.

Kata kunci : membran penukar ion, kitosan, *fuel cell*, PVA

PENDAHULUAN

Sel bahan bakar yang memanfaatkan metanol sebagai sumber bahan bakar salah satunya adalah DMFC. DMFC yang dikembangkan hingga saat ini masih memiliki kekurangan dari sisi kinerjanya, antara lain terkait pada bagian *proton exchange membrane* atau *proton electrolyte membrane* (PEM) yang digunakan. Nafion® merupakan salah satu membran yang sering

digunakan dalam sel bahan bakar, sehingga mudah ditemukan di pasaran karena memiliki konduktivitas proton yang tinggi yaitu 0,1 S/cm di bawah 100°C dan persentase penyerapan air yang rendah sebesar 19 %. Walaupun membran tersebut sering diaplikasikan pada pembuatan reaktor *fuel cell*, akan tetapi masih memiliki beberapa kelemahan diantaranya kemampuan degradasi, korosif, suhu operasi yang dalam aplikasinya tidak bisa melebihi

suhu 80°C, serta permeabilitas metanol yang masih perlu diturunkan, yaitu sebesar $4,9 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ (Suka, 2010).

Jenis membran lain yang memungkinkan dapat diaplikasikan adalah membran berbasis kitosan. Stabilitas termal yang cukup tinggi merupakan salah satu karakteristik membran berbasis kitosan, namun membran tersebut masih memiliki kapasitas penukar kation yang rendah. Material bermuatan dapat disintesis dari membran berbasis kitosan yang dimodifikasi agar menghasilkan membran polimer elektrolit. Untuk meningkatkan sifat membran seperti konduktivitas proton, stabilitas termal, derajat pengembangan (*swelling degree*) air dan permeabilitas metanol, dapat dilakukan dengan cara modifikasi secara kimiawi. Beberapa penelitian telah dilakukan, diantaranya penambahan material grafin oksida (Julian, 2016); penambahan material silika (Siniwi, 2014), dan memodifikasi gugus fungsi yang berperan dalam peningkatan konduktivitas proton dengan sulfonasi (Rahmadani, 2014), fosforilasi (Wafiroh, 2016), substitusi enzimatis, pembentukan basa Schiff dan khelasi logam, proses perpanjangan rantai (kopolimerisasi cangkok dan *crosslink*) serta proses depolimerisasi, baik secara kimia, fisika maupun enzimatis (Kaban, 2009).

Pembuatan membran kitosan sering terkendala akan sifat fisiknya yang memiliki elastisitas yang rendah. Oleh karena itu, untuk mengurangi elastisitasnya, material lain sering dimanfaatkan ditambahkan dalam kitosan. Salah satu bahan yang sering dikombinasikan dengan kitosan adalah Polivinil alkohol (PVA). Titik leleh PVA pada suhu 228-256°C merupakan salah satu alasan dalam pertimbangan suhu operasi membran yang tinggi. Interaksi PVA dengan air memungkinkan peristiwa *swelling* akibat adanya gugus aktif dari PVA berupa OH, yang memungkinkan material bersifat hidrofilik. Sifat mekanik material kitosan yang baik jika ditambahkan dengan PVA, maka sifat mekaniknya meningkat (Fajarwati, & Nita, 2012). Keterbatasan pemanfaatan membran berbasis kitosan lainnya adalah rendahnya konduktivitas proton. Salah satu metode

untuk mengatasi hal tersebut adalah modifikasi dengan material anorganik, salah satunya menggunakan oksida yang terdapat dalam lempung atau tanah liat. Lempung dipilih karena murah dan mudah untuk memperolehnya. Lempung sebagai material organik dalam hal ini, berfungsi sebagai material pengisi (*filler*), yang diharapkan dapat meningkatkan sifat-sifat membran, khususnya sifat mekanik dan konduktivitas protonnya. *Filler* anorganik seperti TiO₂, SiO₂, CaO, zeolit dan lempung dapat meningkatkan kapasitas tukar kation (KTK), stabilitas termal, serta mengurangi *swelling degree* membran Nafion (Zakil, 2016).

Peningkatan *performance* membran dapat dihasilkan salah satunya dengan mensintesis membran komposit. Penelitian dengan pemanfaatan material TiO₂ sebagai *filler* menunjukkan bahwa penambahan TiO₂ dapat meningkatkan konduktivitas, stabilitas membran dan menurunkan *swelling degree* pada membran (Hakim, 2012). Penelitian lain dilakukan dengan penambahan material SiO₂ sebagai *filler* pada membran berbasis PVA sehingga meningkatkan konduktivitas, stabilitas membran dan menurunkan permeabilitas air dan etanol, dan memiliki stabilitas termal 130°C (Sik, 2006). Peristiwa *swelling* yang berlebihan dapat direduksi oleh material silika yang ditambahkan, sehingga kadar air lebih terkontrol, mengurangi permeabilitas metanol, stabilitas mekanik dan konduktivitas proton yang meningkat sebagai PEM untuk sel bahan bakar (Ulbricht, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik PEM berbasis kitosan untuk meningkatkan konduktivitas dan karakteristik fisik membran penukar proton *fuel cell* dengan penambahan variasi massa lempung yang berasal dari Babakan Madang, Bogor.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian menggunakan bahan berikut, antara lain, kitosan dengan derajat deasetilasi (DD) 82%. Lempung berasal dari Desa Ciburial Kecamatan Karang Tengah,

Babakan Madang, Bogor dengan andungan utama adalah kuarsa. Vanilin (Merck), Pyperidin(Merck), CH_3COOH (Merck), NaOH(Merck), NaCl(Merck), HCl(Merck), Etanol(Merck), Metanol(Merck), dan PVA(Merck).

Peralatan laboratorium sederhana yang digunakan yaitu seperangkat alat gelas, *magnetic stirrer*, plat kaca pencetak membran, *grinder*, oven, dan neraca digital. Instrumen yang digunakan yaitu Spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR) Shimadzu tipe *IR Prestige 21*, EIS (*Electrochemical Impedance Spectroscopy*) Autolab PGSTAT128N, SEM (*Scanning Electron Microscope*) Carl Zeiss Bruker, dan *X-Ray Diffraction* (XRD) tipe Maxima 7000 Shimadzu.

Metode

Preparasi Kitosan

Kitosan (DD 82%) diblender kemudian disaring dengan ayakan 100 mesh. Kitosan yang lolos ayakan 100 mesh kemudian dikumpulkan dan disimpan dan dikarakterisasi dengan FTIR.

Preparasi Lempung

Tanah liat yang diperoleh dari Desa Ciburial, Karang Tengah, Kecamatan Babakan Madang, Kabupaten Bogor dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1:1. Koloid yang terbentuk kemudian dibiarkan semalam sampai mengendap. Dua lapisan terbentuk, terdiri dari lapisan atas yang berupa air dibuang hingga didapatkan lempung dalam bentuk pasta. Pasta dioven pada suhu 150°C hingga kering. Lempung bersih yang kering dihaluskan dengan ayakan 100mesh.

Sintesis Membran

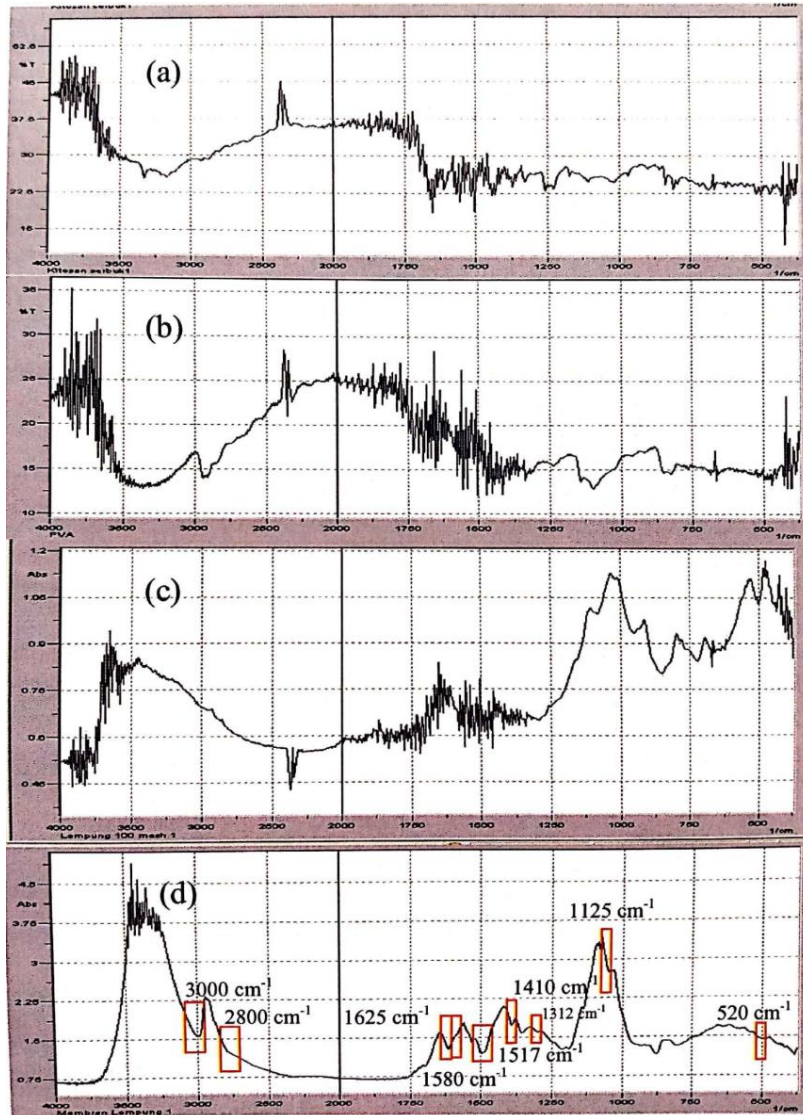
Sintesis membran komposit Kitosan/PVA/lempung dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi berat/berat (w/w) yaitu 0,30; 0,60 dan 0,90 g. Yang selanjutnya, membran tersebut disebut sebagai membran 1, membran 2 dan membran 3 secara berturut-turut. 1,845 g PVA dilarutkan dalam asam asetat 2% diatas *hot plate* dengan diaduk *magnetic stirrer*

menggunakan pemanasan pada suhu 90°C dengan kecepatan 700 rpm hingga larut sempurna, kemudian ditambahkan lempung 0,30 g pada larutan PVA hingga lempung terdispersi tanpa suhu. Setelah itu, 1,646 g kitosan-vanilin ditambahkan ke dalam campuran sehingga berat total campuran 150 g. Campuran lalu diaduk hingga larut. Larutan kemudian dicetak diatas plat kaca dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 6 jam. Langkah yang sama juga dilakukan untuk pembuatan membran dengan variasi tanah lempung 0,60 dan 0,90 g. Membran yang telah terbentuk dikarakterisasi dengan menggunakan instrumen FT-IR (Shimadzu tipe *IR Prestige 21*), dan SEM. Spesifikasi membran berupa swelling air, swelling metanol, konduktivitas proton diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Membran Kitosan/ PVA/ Lempung

Membran diukur secara kualitatif dengan instrumen spektroskopi FT-IR pada bilangan gelombang antara $4.000-400\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah 3.000 cm^{-1} merupakan serapan dari rentangan $-\text{OH}$ yang tumpang tindih dengan rentangan $-\text{NH}$. Rentangan $-\text{CH}$ alifatik terlihat pada serapan 2.800 cm^{-1} . Vibrasi rentangan $\text{C}=\text{N}$ ditunjukkan pada serapan 1.625 cm^{-1} sedangkan vibrasi tekuk $-\text{NH}$ terlihat pada serapan 1.580 cm^{-1} . Serapan pada 1.517 cm^{-1} merupakan serapan dari deformasi protonasi dari gugus amino ($-\text{NH}_3^+$). Rentangan tekuk $\text{C}-\text{H}$ terlihat pada 1410 cm^{-1} . Rentangan $\text{C}-\text{OH}$ dari gugus fenol ditunjukkan pada puncak serapan 1.312 cm^{-1} . Serapan kuat pada 1.125 cm^{-1} merupakan serapan rentangan $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ yang tumpang tindih dengan rentangan $\text{C}-\text{O}$. Pelemahan serapan pada daerah 3.700 cm^{-1} pada membran komposit yang merupakan serapan dari $\text{Si}-\text{OH}$ atau AlOH pada lempung, dikarenakan terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus $-\text{OH}$ yang terikat dengan atom Si atau Al dengan gugus $-\text{OH}$ dari KV dan PVA atau gugus amino ($-\text{NH}_2$) dari KV.



Gambar 1. Spektra FTIR (a)KV, (b)PVA, (c)lempung dan (d)membran KV/PVA/Lempung

Uji Swelling Air

Uji *Swelling Air/Water Uptake* dibutuhkan untuk menguji kemampuan penyerapan air oleh membran, sebagai ukuran seberapa kuat air dapat terserap oleh membran. Air yang terkungkung dalam membran *fuel cell* dapat berperan sebagai media transpor proton H^+ pada kadar tertentu, yang terkait dengan konduktivitas proton, sehingga dapat digunakan untuk memperkirakan kinerja membran, saat terjadi perubahan membran dari kondisi awalnya. Air yang terserap dalam membran komposit tersebut memang berfungsi sebagai media transfer proton, tetapi jika membran terlalu tinggi persen *swelling*-nya, membran akan cenderung rapuh. Data yang

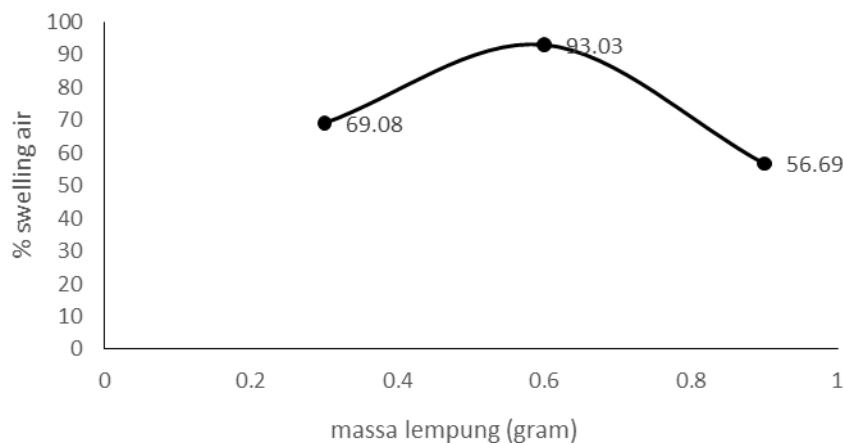
diperoleh menunjukkan bahwa semakin bertambahnya persentase lempung yang terkandung pada membran, persentase *swelling* membran tersebut juga semakin tinggi, karena penambahan lempung yang mengandung silika meningkatkan pengikatan membran terhadap partikel-partikel air. Penambahan lempung diharapkan berfungsi untuk meningkatkan konduktivitas ionik pada membran tersebut, walaupun sampai pada penambahan persentase tertentu, lempung mempunyai sifat higroskopis yang dapat mengikat tambahan air. Hasil yang didapatkan ini konsisten dengan beberapa penelitian yang terdahulu (Hande, 2011).

Kenaikan *swelling* air pada membran tipe 1 dan 2 menunjukkan peningkatan yang signifikan dari 69,08% menjadi 93,03% dengan penambahan lempung sebesar 0,3 dan 0,6 gram berturut-turut tetapi terdapat penurunan persentase pada membran tipe 3 dengan penambahan lempung 0,9 gram tipe 3, nilai *swelling* menurun menjadi 56,69% (Gambar 2). Hal ini disebabkan karena lempung yang terdispersi pada membran 3 sudah melebihi kapasitas maksimal, sehingga tidak dapat terdispersi dengan baik, berbeda dengan membran tipe 1 dan 2. Hal lain yang memungkinkan mengakibatkan hal tersebut adalah ukuran partikel lempung yang besar, sehingga kapasitas membran untuk medispersi lempung sudah melampaui kapasitasnya.

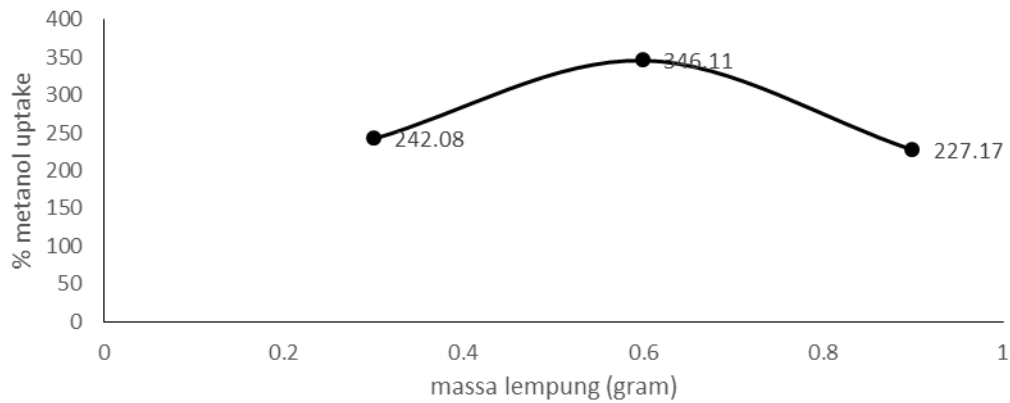
Membran KV/PVA/Lempung dengan penambahan lempung 0,9 gram (tipe 3) memiliki nilai water sweeling yang paling rendah dengan nilai 56,69%, sedangkan membran dengan persentase paling tinggi adalah membran dengan penambahan lempung 0,6 gram (tipe 2), sebesar 93,03%. Saat membran bekerja dalam sel bahan bakar, membran yang terhidrasi memungkinkan membran dapat menghantarkan proton. Namun, kadar air yang terlalu tinggi akan mengakibatkan membran menjadi terlalu basah, sehingga kinerja dari sel bahan bakar menjadi terganggu karena saluran ion yang diperbesar oleh partikel air pada membran (Julian, 2016).

Uji *Swelling* Metanol

Daya serap membran terhadap metanol diukur dengan uji *swelling* metanol atau *methanol uptake*. Pada aplikasi *direct methanol fuel cell* (DMFC), permeabilitas metanol pada membran dapat dikaji dari daya serap membran yang berkaitan dengan *methanol crossover*. Derajat permeabilitas metanol yang semakin tinggi mnnyebabkan membran tersebut kurang baik untuk diaplikasikan. Besarnya tingkat permeabilitas metanol berkaitan dengan *methanol crossover* dalam aplikasi *direct methanol fuel cell* (DMFC). Sejumlah bahan bakar yang digunakan dapat merembes akibat *methanol crossover* dan laju reaksi di katoda yang melambat dapat menurunkan besaran voltase sel secara keseluruhan. Semakin besar konsentrasi silika yang ditambahkan, *swelling* metanol semakin bertambah. Hal ini dikarenakan metanol bersifat polar, sehingga dapat tertahan oleh karena keberadaan silika yang bersifat higroskopik dan mempunyai luas permukaan yang lebih besar (Hartanto *et al.*, 2007). Membran tipe 3 merupakan membran komposit yang mengalami penambahan massa paling rendah, sebesar 227,17%. Sedangkan membran tipe 2 merupakan membran komposit yang memiliki persentase paling tinggi, sebesar 346,11% (Gambar 3). Hasil *swelling* metanol memiliki pola yang sebanding dengan hasil *swelling* air yaitu nilai *swelling* mengalami kenaikan signifikan pada tipe 1 dan 2 tetapi mengalami penurunan pada tipe 3.



Gambar 2. Grafik Hasil Pengukuran *Swelling* Air

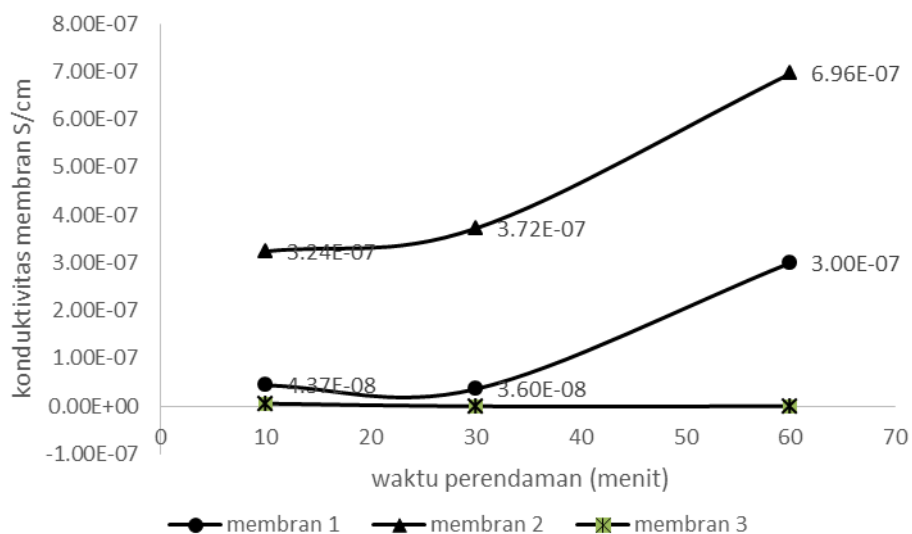


Gambar 3. Hasil Uji Swelling Metanol

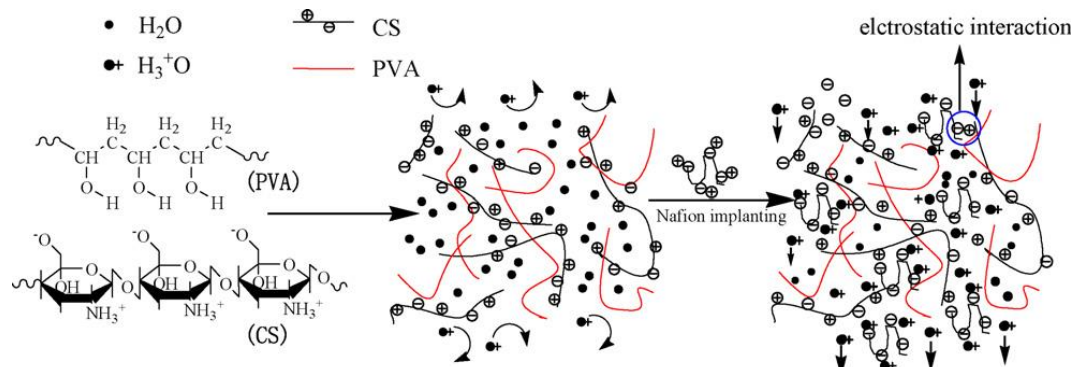
Hasil uji *swelling* terhadap metanol lebih besar daripada hasil uji *swelling* terhadap air. Hal tersebut dikarenakan adanya penyerapan metanol yang sangat besar sehingga hasil *swelling* yang dihasilkan terhadap metanol lebih tinggi dibandingkan uji *swelling* terhadap air. Hal ini dapat dijelaskan bahwa metanol dapat teradsorpsi oleh silika yang terdispersi pada membran KV/PVA/Lempung sehingga sebagian besar metanol tidak melewati membran. Pori pada membran dapat tertutup oleh silika sehingga metanol dapat berpindah walaupun melalui pori membran yang sangat kecil. Metanol dapat tertahan oleh pori pada silika membran sehingga semakin tinggi *swelling* metanol diharapkan permeabilitas metanolnya akan semakin kecil.

Konduktivitas Proton

Efektivitas kinerja DMFC ditentukan dari nilai konduktivitas proton suatu membran. Konduktivitas proton yang tinggi mengindikasikan kualitas membran penghantar proton yang baik, yang artinya efisiensi sistem sel bahan bakarnya tinggi. Konduktivitas proton suatu membran dapat didefinisikan sebagai kemampuan suatu proton yang bergerak dari katoda menuju anoda. Konduktivitas ionik suatu membran diukur dengan menggunakan *Electrochemical Impedance Spectroscopy* (EIS) yang dilakukan dalam keadaan terhidrasi. Pada penelitian ini, uji konduktivitas ionik dilakukan untuk mengetahui kemampuan migrasi ion-ion H^+ dalam membran elektrolit dengan menggunakan EIS.



Gambar 4. Grafik Konduktivitas Proton Membran



Gambar 5. Ilustrasi Grafis Struktur Membran Kitosan-PVA (Zhang, 2009)

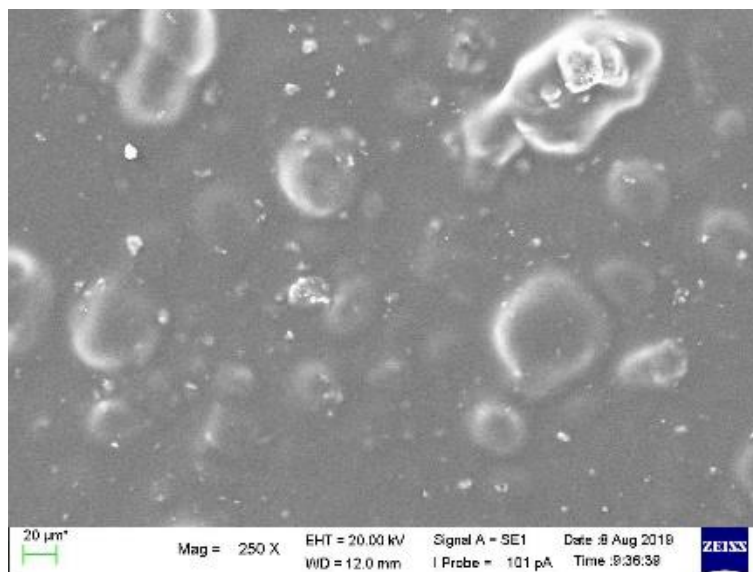
Konduktivitas proton meningkat seiring meningkatnya komposisi lempung yang ditambahkan pada membran. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan silika yang masuk ke dalam matriks polimer mempengaruhi besarnya konduktivitas proton (Li, 2011). Selain itu, faktor lain seperti jumlah gugus ionik dan kecepatan hidrasi juga mempengaruhi performa membran (Pereira *et al.*, 2008). Berdasarkan kecepatan hidrasi pada waktu perendaman, semakin lamanya waktu perendaman membran dalam *aqua demineralisasi* (DM), nilai konduktivitas membran semakin bertambah hingga waktu perendaman selama 60 menit. Berbeda halnya dengan membran 3, konduktivitas membrannya tidak mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya waktu perendaman, dan nilai konduktivitas membran tersebut jauh lebih kecil dibandingkan dengan membran tipe 1 dan 2. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada menit awal, molekul air belum tersebar secara merata sehingga diperlukan sedikit waktu agar molekul air dapat tersebar secara optimal dikarenakan bertambahnya komposisi kitosan yang bersifat hidrofobik pada membran.

Semakin tinggi komposisi lempung yang bersifat hidrofilik, molekul air dapat semakin cepat menghidrasi membran dan tersebar secara merata. Konduktivitas tertinggi dimiliki oleh membran tipe 2 dengan nilai $6,96282 \times 10^{-7}$ S/cm dengan waktu perendaman 60 menit. Nilai tersebut sama-sama nilai yang belum diharapkan

sebagai membran dengan konduktivitas proton yang baik, penelitian dengan membuat membran polistiren termodifikasi silika yaitu 7×10^{-6} S/cm (Suka *et al.*, 2010). Meskipun membran tipe 2 mempunyai nilai konduktivitas tertinggi tetapi, membran ini mempunyai nilai swelling air yang besar yaitu 93,03% hal tersebut kurang memenuhi kriteria digunakan sebagai membran pada DMFC. Salah satu parameter membran yang sesuai dengan aplikasi reaktor *fuel cell*, tidak melebihi kadar *swelling* air sebesar 50%. Suatu membran DMFC memiliki swelling air yang baik tidak lebih dari 50% (Siniwi, 2014). Jika konduktivitas proton membran hasil penelitian tersebut dibandingkan dengan konduktivitas membran Nafion® dengan nilai sebesar 0,1 S/cm, maka hasil konduktivitas proton membran KV/PVA/Lempung masih sangat kecil. Nilai konduktivitas ionik membran untuk aplikasi DMFC dapat diklasifikasikan menjadi dua kriteria, yaitu nilai konduktivitas ionik besar dengan rentang nilai 10^{-1} - 10^{-2} S/cm dan nilai konduktivitas ionik kecil dengan rentang nilai sebesar 10^{-3} - 10^{-5} S/cm (Anita, 2006; Yohan, 2005).

Uji Scanning Electron Microscopy (SEM)

Struktur morfologi membran KV/PVA/Lempung dianalisis dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), perbesaran 50 kali dan perbedaan tegangan 20 kV. Membran yang dianalisis adalah membran tipe 2 yang memiliki konduktivitas proton yang tinggi.



Gambar 6. Morfologi Membran Kitosan/PVA/lempung

Penambahan massa silika yang terkandung pada lempung mengakibatkan pembentukan pori-pori dengan ukuran yang kecil dan membentuk struktur jala berupa rongga-rongga pada permukaan membran. Muatan negatif gugus OH⁻ dari kitosan yang bereaksi dengan silika menyebabkan terbentuknya rongga-rongga yang sangat rapat akibat dari ditambahkannya silika. Jika dilihat dari homogenitas, lempung menghasilkan membran komposit yang kurang homogen. Hal ini dikarenakan partikel lempung yang kurang halus menyebabkan lempung tersebut kurang larut dalam larutan cetak, sehingga pada saat larutan di cetak pada media plat kaca, lempung dalam larutan terdistribusi tidak merata. Berdasarkan morfologinya, terbentuk bulatan berwarna putih di permukaan membran disebabkan terbatasnya kelarutan polimer kitosan atau PVA. Bercak tersebut merupakan kitosan yang belum larut sempurna dengan pelarutnya yaitu asam asetat 2% yang menyebabkan homogenitas larutan kurang sempurna, sehingga masih berbentuk gumpalan-gumpalan, atau ada debu yang menempel pada saat pencetakan dan pengeringan membran. Kemungkinan yang lain adalah dikarenakan adanya gelembung udara yang terdistribusi di antara material penyusunannya. Untuk kriteria membran yang baik, pori-pori partikel yang semakin

rapat dan teratur maka semakin baik membran tersebut untuk proses filtrasi (Muljani, 2018). Hasil serupa juga ditunjukkan oleh penelitian Priyadi (2012) dengan pengujian morfologi membran menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali bahwa membran komposit polistirena (PST) tanpa penambahan lempung menghasilkan membran dengan morfologi yang cukup homogen/rata, meskipun masih ada bercak-bercak. Kemungkinan bercak-bercak tersebut merupakan PST yang belum larut sempurna dengan pelarutnya dimetil asetat (DMAc), sehingga masih berbentuk gumpalan-gumpalan dan pada penambahan lempung dalam membran komposit PST menghasilkan membran komposit yang kurang homogen (Priyadi, 2012).

KESIMPULAN

Membran Kitosan/PVA/Lempung telah berhasil disintesis. Penambahan lempung meningkatkan konduktivitas proton dan menurunkan permeabilitas metanol berdasarkan hasil *swelling* metanol. Hasil membran dengan hasil konduktivitas proton yang tertinggi adalah membran tipe 2, penambahan massa lempung 0,6 g sebesar $6,96 \times 10^{-7}$ S/cm, Untuk *swelling* air yang

cukup baik adalah membran tipe 3 dengan penambahan lempung 0,9 g yaitu 56,69% dan membran tipe 2 dengan penambahan lempung 0,6 g untuk swelling metanol sebesar 346,11%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini telah didanai dengan program Penelitian Kompetitif Nasional dengan Skim Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun pelaksanaan 2019 sesuai kontrak nomor: 2656/L4/PP/2019 tanggal 19 Maret 2019 oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Hande, V. R., Rath, S. K., Rao, S., & Patri, M. (2011). Cross-linked sulfonated poly (ether ether ketone) (SPEEK) / reactive organoclay nanocomposite proton exchange membranes (PEM). *Journal of Membrane Science*, 372(1–2), 40–48.
- Fajarwati, I., N. Kusumawati. (2012). Appliance In Waste Rhodamin-B Separation. *UNESA Journal of Chemistry*, 1(2), 31–38.
- Julian, J., Santoso, E. (2016). Sintesis Dan Karakterisasi Proton Exchangemembrane Kitosan-Nanosilika. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4 (2), 2337-2343
- Siniwi, W.T. (2014). *Sintesis Dan Karakterisasi Proton Exchange Membrane Kitosan-Nanosilika*. (Skripsi). Universitas Negeri Semarang
- Li, X. J., Ke, C. C., Qu, S. G., Li, J., Shao, Z. G. & Yi, B. L.. (2011). High Temperature PEM Fuel Cells Based on Nafion/SiO₂ Composite Membrane. *Energy Storage in the Emerging Era of Smart Grids*, China: InTech.
- Muljani, S., Kusuma, K. A., Nofitasari, L., & Amalia, A. R. (2018). Sintesis Membran Kitosan Silika Dari Geothermal Sludge. *Jurnal Teknik Kimia*, 13(1): 22–26.
- Pereira, F., Vallé, K., Belleville, P., Morin, A., Lambert, S., & Sanchez, C. (2008). Advanced Mesostructured Hybrid Silica - Nafion Membranes for High-Performance PEM Fuel Cell. *Journal of Chem Material*, 229(9), 1710–1718.
- Rahmadani, S. (2014). *Membran komposit polisulfon tersulfonasi- zeolit untuk aplikasi DMFC* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hakim, A.R., Purbasari, A., Djoko, T., & Listiani, E. (2012). Composite sPEEK with Nanoparticles for Fuel Cell Applications. *Proceeding of International Conference On Chemical and Material Engineering*, 1–11.
- Kim, D.S., Yun, T.I, Seo, M.Y., Cho, H.I., Lee, Y.M., Nam, S.Y., and Rhim, J.W. (2006). Preparation of ion-exchange membranes for fuel cell based on crosslinked PVA / PSSA _ MA / silica hybrid,. *Desalination*. 200, 634–635.
- Suka, I. G., Simanjuntak, W., Dewi, L. (2010). Pembuatan Membran Polimer Elektrolit Berbasis Polistiren Akrilonitril (SAN) untuk Aplikasi Direct Methanol Fuel Cell. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(65), 1–6.
- Anita, H. & Desriana, T.U. (2006). *Mempelajari pengaruh pencampuran (Blending) PEEK tersulfonasi dengan polisulfon untuk Aplikasi Membran Elektrolit*. (Laporan Penelitian). Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Indonesia, Tangerang.
- Ulbricht, M. (2006). Advanced functional polymer membranes. *Polymer*, 47(7), 2217–2262.

- Wafiroh, S., Suyanto, S., & Yuliana, Y. (2016). Pembuatan Dan Karakterisasi Membran Komposit Kitosan- Sodium Alginat Terfosforilasi Sebagai Proton Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC). *Journal Kimia Riset*, 1(1),14–21.
- Kaban, J. (2009). *Modifikasi Kimia dari Kitosan dan Aplikasi Produk yang Dihasilkan* (Skripsi). Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Zakil, F. A., Kamarudin, S. K., & Basri, S. (2016). Modified Nafion membranes for direct alcohol fuel cells: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 65,841–852.
- Zhang, Y., Cui, Z., Liu, C., Xing, W., Zhang, J. (2009) Implantation of Nafion® ionomer into polyvinyl alcohol/chitosan composites to form novel proton-conducting membranes for direct methanol fuel cells. *Journal of Power Sources*, 194, 730-736.
- Priyadi. (2012). *Membran Komposit Polistirena Berpengisi Lempung Sebagai Membran Elektrolit Untuk Aplikasi Sel Bahan Bakar* (Skripsi). Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta.

PEDOMAN PENULISAN

A. Pedoman Umum

1. Naskah merupakan hasil penelitian otentik yang belum dipublikasikan di media publikasi atau penerbitan lainnya.
2. Naskah tidak mengandung unsur plagiarisme. Dewan redaksi akan langsung menolak teks yang terindikasi plagiarisme.
3. Naskah yang telah ditulis berdasarkan pedoman Sains Natural (dalam format MS Word, sesuai template), harus dikirim melalui Sistem Submission Online dengan menggunakan Open Journal System (OJS) di portal e-jurnal Sains Natural (<http://ejournalunb.ac.id/index.php/JSN>). Kemudian, daftarkan diri sebagai salah satu penulis atau reviewer.
4. Naskah yang tidak sesuai dengan pedoman penulisan Sains Natural akan dikembalikan kepada penulis sebelum proses *review*.
5. Naskah bisa ditulis baik dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris dengan bahasa standar. Naskah harus terdiri dari sepuluh (10) sampai tiga belas (13) halaman termasuk gambar dan tabel. Naskah ditulis di atas kertas ukuran A4 (210x297 mm), dengan margin 3 cm (kiri, kanan, bawah dan atas).
6. Teks naskah harus menggunakan huruf Times New Roman, ukuran huruf 11pt, 1 spasi baris, dalam satu kolom.
7. Kata-kata yang tidak umum atau dari bahasa asing dituliskan dengan format *Italic*. Untuk naskah dalam Bahasa Indonesia, sebaiknya hindari istilah asing. Setiap paragraf dimulai 10 mm dari sisi kiri perbatasan sementara tidak ada spasi di antara paragraf.
8. Tabel dan gambar ditempatkan di grup teks setelah teks. Setiap gambar harus diberi judul (Gambar) di bawah gambar dan diberi nomor dalam format penomoran Arab yang diikuti oleh judul gambar. Setiap tabel harus diberi judul tabel dan diberi nomor dalam format penomoran arab di atas tabel diikuti dengan judul tabel. Gambar lampiran jelas (ukuran font, resolusi dan ruang garis terlihat jelas). Gambar, tabel, dan bagan harus ditempatkan di tengah antara kelompok teks. Jika memiliki ukuran lebih besar, bisa diletakkan di tengah halaman. Tabel tidak boleh berisi garis vertikal, sedangkan garis horisontal hanya diijinkan untuk hal penting.

B. Teks Naskah

1. Judul

Judul harus ringkas dan informatif. Judul naskah harus ditulis dengan maksimal 12 (dua belas) kata (dalam Bahasa Indonesia) dan 10 (sepuluh) kata dalam bahasa Inggris, font berukuran 12pt, UPPERCASE, BOLD, dan dalam format teks rata tengah.

2. Nama penulis dan afiliasinya

Nama dari masing-masing penulis dicantumkan dengan jelas dan harus menunjukkan penulis yang berperan sebagai koresponden. Alamat afiliasi penulis (tempat kerja sebenarnya dilakukan) dicantumkan di bawah nama. Tanggung jawab koresponden ini mencakup menjawab pertanyaan tentang Metodologi dan Bahan. Penulis juga mencantumkan alamat e-mail dan rincian kontak.

3. Abstrak

Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris. Teks ditulis dalam format Times New Roman, ukuran huruf 9pt, 1 spasi baris, sebanyak 75-250 kata dan diikuti oleh lima kata kunci. Abstrak harus menyatakan secara singkat tujuan penelitian, hasil utama, dan kesimpulan utama.

4. Pendahuluan

Pada pendahuluan, sebutkan tujuan dan latar belakang yang memadai. Hindari survei literatur terperinci atau ringkasan hasilnya.

5. Bahan dan Metode

Metode ini diimplementasikan untuk memecahkan masalah, termasuk metode analisis. Metode yang digunakan dalam pemecahan masalah penelitian dijelaskan pada bagian ini.

6. Hasil dan Pembahasan

Hasil harus jelas dan ringkas. Pembahasan harus mengeksplorasi signifikansi hasil kerja, bukan mengulanginya. Hindari kutipan yang luas dan diskusi literatur yang dipublikasikan.

7. Kesimpulan

Kesimpulan utama penelitian ini dapat disajikan dalam bagian Kesimpulan singkat.

8. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih dicantumkan pada bagian terpisah di bagian akhir artikel sebelum referensi. Pada ucapan terima kasih dicantumkan nama/organisasi/institusi yang memberikan bantuan selama penelitian (misal, Memberikan bantuan bahasa, menulis bantuan atau bukti membaca artikel, dll.).

9. Referensi dan kutipan

Semua referensi yang digunakan harus diambil dari sumber utama (jurnal ilmiah dan yang paling sedikit adalah 80% dari semua referensi) yang diterbitkan dalam sepuluh tahun terakhir. Setiap naskah harus memiliki setidaknya sepuluh referensi. Referensi harus menggunakan "Mendeley" sebuah aplikasi manajemen referensi. Format penulisan yang digunakan dalam Sains Natural mengikuti format yang diterapkan oleh APA 6th Edition (American Psychological Association).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan diberikan kepada para pakar/mitra bestari/rekan setara yang telah diundang sebagai penelaah oleh *Jurnal Sains Natural* dalam Volume 10 No. 1, Tahun 2020. Berikut ini adalah daftar nama pakar/mitra bestari/rekan setara yang berpartisipasi :

1. Prof. Supriyono Eko Wardono (Biologi Perairan, Universitas Nusa Bangsa)
2. Dra. Lilis Sugiharti, M.Si (Bioteknologi, STIKES Cendekia Utama)
3. Drs. Djadjat Tisnadjaya, M.Tech (Bioteknologi, Puslit Bioteknologi, LIPI)
4. Dr. Tagor M. Siregar, M.Si (Food Chemistry, Universitas Pelita Harapan)
5. Dr. Foliatini, M.Si (Physical Chemistry, Politeknik AKA Bogor)