

**KELOMPOK USAHA BERSAMA (KUB) PENGOLAH IKAN  
DI DESA CIKAHURIPAN SUKABUMI**  
(The Fish Processing Group at Desa Cikahuripan Sukabumi )

**Dadi Rochnadi Sukarsa, Uju Sadi, Pipih Suptijah**  
Dep. Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB

**ABSTRAK**

Penataan sistem manajemen produksi, pemasaran dan keuangan serta penerapan ipteks yang berupa teknologi pengemasan vakum telah diintroduksi melalui kegiatan pelatihan pada KUB wanita pengolah ikan Hurip Mandiri yang berlokasi di Desa Cikahuripan Kabupaten Sukabumi. Tujuan kegiatan adalah untuk memperbaiki manajemen usaha pengolahan, kualitas dan daya awet produk abon ikan, agar KUB memiliki kemampuan untuk mengembangkan usahanya. Dari hasil kegiatan dapat disimpulkan bahwa 1) Secara umum operasionalisasi sistem manajemen produksi dan manajemen pemasaran sudah dilaksanakan dengan cukup baik, sedangkan sistem manajemen keuangan masih ada beberapa aspek yang belum terlaksana, dan 2) Teknologi pengemasan vakum sudah diadopsi oleh KUB untuk meningkatkan mutu dan daya awet produk abon ikan yang merupakan salah satu unsur penting dalam penataan sistem manajemen produksi dan pemasaran. Keuntungan dan kerugian penggunaan teknologi vakum oleh KUB dalam teknik usaha masih perlu dievaluasi.

Kata kunci: KUB, pengemasan vakum, abon ikan.

**ABSTRACT**

The improvement of business management as well as the development of science and technology for abon ikan processing by vacuum packaging was introduced through intensive training to the Fish Processing Women Group namely Kelompok Usaha Bersama (KUB) Hurip Mandiri, located at Desa Cikahuripan Kabupaten Sukabumi. The objective of the activities are to improve processing business management, quality and self life of the abon ikan product, so that the KUB able to develop their business. The results of these activities are 1) The Aspect of the business management of production and marketing has been good practiced. However some financial management aspects has not yet fully achieved, and 2) KUB has been adopted the technology of vacuum packaging, its one of the aspect for supporting improving production and marketing business management. Such technology can be applied by KUB, but it should be with economic analysis.

Keywords: KUB, vacuum packaging, abon ikan.

**PENDAHULUAN**

Desa Cikahuripan Kecamatan Cisolok yang terletak di pantai selatan Kabupaten Sukabumi merupakan daerah yang potensial sumberdaya perikanan lautnya. Berbagai jenis ikan dihasilkan dari daerah ini, seperti tongkol (*Euthynnus* sp), cakalang (*Katsuwonus pelamis*), jangilus (*Istiophorus gladius*), layur

(*Trichiurus* sp), layaran (*Istiophorus orientalis*), tuna (*Thunnus* sp), cucut (*Charcarias* sp), pari (*Trygon* spp) dan lain-lain. Hasil tangkapan ikan yang didaratkan di Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Cikahuripan pada tahun 2008 tercatat sebesar 128.305 ton, terdiri dari tongkol 69%, cakalang 17%, jangilus 3% dan sisanya sebesar 11% adalah layaran, cucut, tuna, pari dan lain-lain.

Desa Cikahuripan memiliki panjang pantai sekitar 5 km, dimana sebagian besar penduduknya berusaha disektor perikanan, yaitu perikanan tangkap dan pengolahan hasil perikanan. Usaha pengolahan ikan bukan saja disebabkan oleh kemudahan mendapatkan bahan baku, tetapi juga merupakan upaya pemberian nilai tambah terhadap hasil perikanan dan memanfaatkan hasil tangkapan yang berlebih atau tidak habis terjual pada saat produksi ikan berlimpah.

Jenis usaha pengolahan ikan yang terdapat di Cikahuripan, yaitu beberapa unit usaha pengolahan ikan asin, pengolahan ikan pindang, diversifikasi usaha pengolahan ikan (abon ikan, dendeng ikan, kerupuk kulit ikan, bakso ikan dan kecap ikan). Usaha pengolahan ikan asin dan ikan pindang dilakukan secara tradisional, sedangkan usaha diversifikasi produk perikanan menggunakan teknologi yang sudah maju, sebagai hasil penyuluhan dari instansi dan lembaga pemerintah.

Diantara unit usaha pengolahan ikan di desa Cikahuripan, yang paling menonjol adalah KUB. Selain dapat menampung tenaga lebih banyak juga berpotensi untuk berkembang karena adanya permintaan pasar akan produk yang spesifik seperti abon ikan, dendeng ikan, kerupuk kulit ikan dan kecap ikan. Salah satu KUB yang mengandalkan penghasilan usaha dari abon ikan adalah KUB Hurip Mandiri yang berlokasi di Desa Cikahuripan, Kecamatan Cisolak, Kabupaten Sukabumi.

Produk abon ikan yang dihasilkan oleh KUB telah mendapat pengakuan dari berbagai instansi, diantaranya Sertifikat Halal dari MUI, Sertifikat Penyuluhan dari Departemen Kesehatan RI, Surat Izin Usaha Perdagangan (SIUP), tanda Daftar Perusahaan Perorangan dari Departemen Perindustrian dan Perdagangan, Surat Izin Usaha Perikanan dan Surat Pengolahan Ikan. Surat-surat tersebut seharusnya merupakan pendukung bagi KUB untuk memperluas usahanya.

Bahan baku utama untuk pengolahan abon ikan adalah jangilus (*Istiophorus gladius*) dan tuna (*Thunnus* sp). Meskipun lokasi KUB dekat dengan Tempat Pelelangan Ikan (TPI), tetapi bahan baku tidak selalu tersedia sepanjang tahun terutama pada musim barat, sehingga untuk kelancaran produksi harus dicari dari tempat lain dengan biaya yang lebih tinggi. Bahan pembantu yang digunakan dalam pembuatan abon ikan adalah daun salam, serai, santan kelapa, lengkuas, ketumbar, gula pasir, bawang putih dan minyak goreng. Tahapan proses pengolahan abon ikan meliputi penyiangan dan pencucian ikan, perebusan, pengepresan, pencabikan, pemberian bumbu dan santan kelapa, penggorengan, pengepresan, penghalusan abon ikan dan pengemasan. Dari 100 kg bahan baku menghasilkan 55 kg abon ikan. Pengemasan abon ikan menggunakan kemasan plastik yang ditutup rapat dengan siler (pengelas kantung plastik). Berat abon ikan dalam kemasan terdiri dari 100 gr, 250 gr, 500 gr dan 1 kg.

Permasalahan utama yang menghambat perkembangan KUB tersebut adalah:

1. Manajemen usaha yang belum tertata dengan baik.
2. Mutu dan daya awet produk belum diketahui secara pasti.

Upaya pengembangan KUB Hurip Mandiri dapat dilakukan dengan meningkatkan pengetahuan manajemen yang sesuai dengan tingkat kemampuan para pengurus beserta anggotanya, dan dapat diterapkan di KUB tersebut. Selain itu perlu disertai bantuan teknis-teknologis untuk meningkatkan mutu dan daya awet produk yang dihasilkan KUB.

## **METODE PENELITIAN**

Salah satu tujuan dari program ini adalah mengembangkan Kelompok Usaha Bersama (KUB) Hurip Mandiri menjadi kelompok masyarakat yang mandiri secara ekonomis. Untuk mendukung tujuan program, maka metode pendekatan yang dilakukan adalah:

1. Penataan sistim manajemen

Penataan sistim manajemen meliputi manajemen produksi, manajemen pemasaran dan manajemen keuangan yang mencakup perencanaan, organisasi,

pelaksanaan sampai dengan pengawasan. Penataan sistem manajemen usaha yang dilakukan oleh pengurus KUB akan memberikan kontribusi yang signifikan terhadap pengembangan KUB. Selama ini pengetahuan mengenai sistem manajemen usaha hanya diperoleh dari pengalaman praktek sehari-hari dalam melakukan bisnis abon ikan. Oleh karena itu perlu diberikan pengetahuan manajemen untuk membuka wawasan yang lebih luas dan meningkatkan keterampilan praktis.

## 2. Penerapan IPTEKS

Sejalan dengan penataan sistem manajemen, dilakukan peningkatan mutu dan daya awet produk yang dihasilkan KUB melalui penerapan IPTEKS yang berupa teknologi pengemasan vakum. Sudah terbukti bahwa abon ikan yang dikemas dengan pengemas vakum lebih baik mutu organoleptik dan daya awetnya dibandingkan dengan abon ikan yang dikemas secara konvensional. Kedua teknologi tersebut diuji cobakan dalam pelatihan, sehingga pengurus dan anggota KUB dapat membandingkan mutu organoleptik abon ikan dan mengetahui keuntungan dan kerugian dari teknologi tersebut. Mutu organoleptik, kimiawi dan mikrobiologi produk abon ikan selama penyimpanan dalam jangka waktu yang relatif lama dianalisis di laboratorium Teknologi Hasil Perairan, IPB.

Dalam kedua kegiatan ini pengurus dan anggota KUB ikut berpartisipasi (*learning by doing*) dalam penataan sistem manajemen usaha dan penerapan IPTEKS yang sudah dipersiapkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penataan Sistem Manajemen

#### Penataan Sistem Manajemen Produksi

Secara teknis KUB Hurip Mandiri sudah cukup bagus. Hal ini didukung oleh kemampuan Ketua KUB yang sangat *concern* terhadap kemajuan teknologi dan selalu berusaha untuk memajukan usahanya. Namun demikian, penataan sistem manajemen produksi tetap perlu dikembangkan agar proses produksi menjadi lebih efisien. Sesuai dengan target produksi yang telah ditentukan maka segala aktivitas usaha haruslah diarahkan untuk mencapai target tersebut. Dalam

hal ini penataan sistim manajemen produksi yang telah dilakukan, antara lain adalah:

- Melakukan perencanaan produksi abon ikan dan mengantisipasi kekurangan stok karena kelangkaan bahan baku pada musim barat. Pada waktu ini untuk setiap kali produksi abon dibutuhkan ikan sebanyak 2 sampai 2,5 ton atau rata-rata dalam sebulan mengolah 9 ton ikan. Untuk menjaga kontinuitas produksi KUB memperoleh bahan baku dari Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Cikahuripan, Pelabuhan Ratu, Muara Baru (Jakarta) dan Binuangeun (Banten).
- Mengatur jadwal produksi sesuai dengan perencanaan yang telah ditetapkan masih sulit dilaksanakan karena tersedianya bahan baku tidak menentu dan jumlahnya tidak tetap. Hal ini yang menyebabkan produksi terganggu. Misalnya, datangnya bahan baku pada sore hari dengan jumlah yang relatif kecil sekitar 100 kg, terpaksa harus diolah sampai larut malam, dan ini sangat tidak efisien.
- Mencari bahan baku dengan harga murah sangat tergantung pada musim ikan, bila di Cikahuripan sedang musim ikan harganya murah karena dapat membeli sendiri dengan mendatangi langsung TPI, dan jaraknya yang dekat. Sedangkan bahan baku dari daerah lain diperoleh dari pemasok yang harganya lebih mahal.
- Melakukan perencanaan kebutuhan tenaga kerja atau jam kerja sesuai dengan besarnya produksi yang ditargetkan masih sulit dilaksanakan karena sangat tergantung pada ketersediaan bahan baku.
- Mengatur ketersediaan produk sesuai ukuran kemasan yang paling diminati pasar dan paling menguntungkan. Untuk mengantisipasi hal ini biasanya setelah abon ikan selesai diolah tidak langsung dikemas, tetapi disimpan dulu dalam wadah penyimpanan, dan pada waktu ada pemesanan atau pembelian dengan berat kemasan tertentu baru dilakukan pengemasan sesuai ukuran yang dipesan.
- Melakukan perancangan pemeliharaan, penambahan peralatan dan sarana penunjang. Hal ini sudah mulai mendapat perhatian untuk mengalokasikan anggarannya.

### **Penataan sistim Manajemen Pemasaran**

Kegiatan pemasaran merupakan aspek yang sangat penting dalam kelangsungan usaha. Selama ini KUB telah melakukan penjualan produk secara pasif dan aktif dengan menghubungi pedagang perantara atau menunggu pesanan dari pelanggan. Keadaan ini tentunya belum dapat menjamin pengembangan usaha KUB. Oleh karena itu diperlukan penataan sistim manajemen pemasaran yang meliputi, antara lain:

- Pendataan pembeli abon ikan yang datang dari berbagai tempat.
- Mengikat hubungan yang baik dengan pelanggan dengan cara memberikan kualitas produk yang bermutu tinggi serta pelayanan yang baik.
- Penyediaan produk sesuai dengan kebutuhan konsumen.
- Menjaga kualitas produk yang baik dan kemasan yang lebih menarik.
- Menetapkan harga maksimum sesuai harga pasar.
- Merintis pelanggan baru dan melakukan promosi berupa jaminan produksi (kuantitas dan kualitas).

Kegiatan yang sudah dilakukan berkaitan dengan penataan sistim manajemen pemasaran adalah produk sudah dikemas dengan alat pengemas vakum menggunakan bahan pengemas yang sesuai, desain kemasan cukup baik dengan mencantumkan nama perusahaan, jenis produk, label halal, kandungan bahan, No.SP dari Depkes, batas tanggal kadaluarsa dan memiliki merk produk yang menarik. Aplikasi teknologi pengemasan oleh KUB secara ekonomi perlu dianalisis untung ruginya dan perlu waktu untuk dievaluasi.

Penetapan harga abon ikan dilakukan berdasarkan perhitungan kasar biaya produksi dan biaya lainnya, dan KUB juga memberikan potongan harga jika pembelian dilakukan dalam jumlah besar. Harga abon daging jauh lebih murah dari abon ikan. Hal ini mungkin karena dalam proses pengolahan abon daging dapat dicampur buah keluih yang memiliki serat-serat yang liat yang hampir menyerupai serabut daging.

Untuk memperluas jaringan pemasaran KUB Hurip Mandiri menjual produknya melalui pedagang perantara yang menjualnya ke pasar swalayan, seperti Carefour di daerah Jakarta. Ruang lingkup pemasaran abon ikan, yaitu

Jakarta, Bogor, Sukabumi, Tangerang, Bandung dan Batam . Saat ini KUB Hurip Mandiri sedang menunggu kontrak pembelian dari salah satu distributor di Jakarta. Hal yang merugikan bagi KUB dalam perjanjian kontrak yang pernah dilakukan adalah distributor melakukan pengemasan dan memberi label sendiri, sehingga dalam pemasaran yang dikenal bukan KUB melainkan distributornya. Promosi yang juga telah dilakukan adalah melakukan promosi penjualan dengan mengikuti pameran-pameran yang diadakan di sekitar Sukabumi, Cianjur dan Bandung. KUB Hurip Mandiri pernah diberitakan usahanya pada media cetak, antara lain Pikiran Rakyat dan Tabloid Nova.

a) Penataan Manajemen Keuangan

Prinsip dalam menjalankan usaha adalah memperoleh keuntungan maksimum atau menjalankan usahanya dengan efisien. Hal ini dapat ditempuh dengan dua cara, yaitu dengan meminimumkan biaya atau dengan memaksimalkan hasil. Sebagai pengusaha, tentunya KUB Hurip Mandiri harus menjalankan prinsip tersebut. Untuk mengambil keputusan yang tepat, pengusaha harus mengetahui dengan pasti semua pendapatan usaha tersebut. Sistem manajemen keuangan dengan pembukuan yang baik akan memberikan informasi mengenai hal tersebut.

Catatan yang baik akan mempermudah pengusaha untuk dapat melihat perkembangan usahanya sehingga dapat mengambil keputusan yang tepat dalam melanjutkan usahanya. Dalam hal ini penataan sistem keuangan pada KUB sudah mulai dilakukan, antara lain dengan mencatat menganalisis keuntungan usaha pada setiap kali pengolahan atau pada periode satu bulan. Demikian juga dengan pencatatan arus uang (*cash flow*) terdiri dari arus uang masuk dan arus uang keluar (*out flow*). Selanjutnya KUB pencatatan setiap transaksi usaha yang terjadi serta dengan bukti-buktinya masih memerlukan perintisan pada sistem manajemen keuangan KUB. Setiap transaksi tersebut dicatat dalam buku besar yang berisi pos-pos (perkiraan) pengeluaran dan pemasukan ( kas, bank, penjualan produk, bahan-bahan, tenaga kerja dan sebagainya). Dengan adanya buku besar ini pengurus dan anggota KUB akan mudah mengetahui:

- Jenis uang yang telah masuk dan keluar selama periode penjualan.
- Besarnya uang dan barang yang dimiliki.

- Perkiraan pemasukkan dan pengeluaran uang pada periode selanjutnya.

Pencatatan yang baik tersebut memungkinkan KUB untuk dapat menyusun laporan keuangan yang terdiri dari perhitungan laba/rugi, neraca dan anggaran kas. Dengan laporan tersebut, KUB dapat mengevaluasi usahanya dan dapat merencanakan usaha selanjutnya dengan perbaikan-perbaikan untuk pengembangan usahanya.

### **Penerapan IPTEKS**

Sebelum alat pengemas vakum digunakan di lapangan terlebih dahulu dilakukan uji coba di laboratorium untuk mengetahui level penghisapan oksigen yang optimum untuk produk abon ikan dan suhu yang cocok untuk pengelasan kemasan. Selain itu alat pengemas vakum mempunyai alas yang sangat cekung untuk meletakkan kemasan produk yang akan dikemas, sedangkan untuk pengemasan produk abon ikan diperlukan alas yang datar agar diperoleh hasil pengemasan yang baik.

Semua bahan pangan, termasuk produk abon ikan mudah mengalami kerusakan setelah jangka waktu tertentu. Untuk menunda kerusakan sampai jangka waktu yang diinginkan digunakan pengemas. Persyaratan bagi pengemas yang perlu diperhatikan adalah permeabilitas terhadap udara dan tidak bereaksi sehingga tidak merusak bahan pangan maupun cita rasanya serta tidak mudah oksidasi. Bahan pengemas yang memenuhi persyaratan tersebut dan banyak digunakan dalam industri makanan adalah plastik polietilen (PE). Plastik jenis ini mempunyai permeabilitas udara yang rendah dan tahan terhadap bahan yang dikemas.

Selama ini pengemasan abon ikan pada industri rumah tangga dilakukan dengan memasukkan produk dalam kemasan plastik kemudian ditutup rapat dengan siler. Dengan metode pengemasan seperti ini produk tidak terjamin daya awetnya untuk jangka yang dikehendaki. Pengemasan secara konvensional (non vakum) ini mempunyai beberapa kelemahan, diantaranya pemakaian bahan dan cara pengemasan yang tidak sesuai akan merusak cita rasa produk dan mempermudah oksidasi lemak yang menimbulkan aroma yang tidak diinginkan.



Produk abon ikan sampai jangka waktu tertentu atau sebelum sampai ke tangan konsumen akhir mengalami penurunan mutu organoleptik, seperti penampakan (warna, tekstur), aroma, rasa dan bau. Abon ikan sensitif terhadap udara karena menggunakan santan kelapa dan minyak goreng dalam proses pengolahannya. Meskipun dilakukan pengepresan untuk membuang kandungan minyaknya, tetapi tidak semuanya dapat dienyahkan.

Pada bahan pangan yang mengandung lemak atau minyak umumnya, selama penyimpanan akan mengalami proses ketengikan. Ketengikan dapat diartikan sebagai kerusakan atau perubahan bau dan cita rasa. Ketengikan pada bahan pangan berlemak dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu absorpsi lemak, aktivitas enzim dalam jaringan bahan pangan, aktivitas mikroba dan oksidasi oleh oksigen atau kombinasi dari dua atau lebih penyebab ketengikan.

Pengemasan vakum untuk produk olahan ikan, seperti surimi, bakso, *nugget*, otak-otak, termasuk abon ikan lemuru (*Sardinella* sp) telah terbukti dapat memperpanjang masa simpannya 3 sampai 5 kali lebih lama dibandingkan dengan pengemasan non vakum. Hal ini karena tidak adanya kontak antara produk dengan dengan oksigen serta dapat memelihara tekstur dan penampakan produk karena mikroorganisme dan khamir tidak dapat tumbuh.

Teknologi pengemasan vakum telah diintroduksi dan diuji-cobakan pada industri rumah tangga pengolahan abon ikan. Produk abon ikan jangilus (*Istiophorus gladius*) dari industri rumah tangga yang dikemas vakum dalam plastik polietilen (PE) kemudian dilakukan penyimpanan pada suhu ruang selama 3 bulan. Sebagai perbandingan adalah abon ikan yang dikemas secara konvensional (non vakum) menggunakan plastik polipropilen (PP).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa abon ikan yang dikemas secara vakum belum mengalami perubahan nilai organoleptik, kimiawi dan mikrobiologis, sedangkan abon yang dikemas non vakum telah menunjukkan penurunan nilai mutu organoleptik (aroma, bau, rasa dan tekstur), meskipun parameter kimiawi (TVB, TBA), mikrobiologi (kapang dan khamir) belum terjadi penyimpangan. Menurut pengalaman pengolah bahwa abon ikan yang dihasilkannya masih layak dikonsumsi meskipun sudah berumur 6 bulan.

Dari kegiatan ini pengolah dapat membandingkan mutu dan daya awetnya serta mengetahui keuntungan dan kerugian dari teknologi tersebut, terutama yang menyangkut teknik usaha. Analisis ekonomi yang menyangkut penerimaan konsumen, peningkatan nilai tambah dari penggunaan teknologi, peningkatan permintaan masih perlu untuk dievaluasi.

### **KESIMPULAN**

Kegiatan yang dapat diperoleh adalah: Penataan sistim manajemen produksi, pemasaran dan keuangan serta penerapan Ipteks yang berupa teknologi pengemasan vakum telah diintroduksi pada KUB Hurip Mandiri untuk mengembangkan usahanya; Secara umum operasionalisasi sistim manajemen produksi dan manajemen pemasaran sudah dilaksanakan dengan cukup baik, sedangkan sistim manajemen keuangan masih banyak aspek yang perlu dilaksanakan; Teknologi pengemasan vakum sudah diadopsi oleh KUB untuk meningkatkan mutu dan daya awet produk abon ikan yang merupakan salah satu unsur penting dalam penataan sistim manajemen produksi dan pemasaran. Keuntungan dan kerugian secara ekonomis dari penggunaan teknologi pengemasan vakum dan non vakum oleh KUB memerlukan waktu untuk dievaluasi.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional yang telah mengalokasikan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat IPB yang memungkinkan kegiatan program dapat dilaksanakan. Kepada rekan-rekan peneliti dan semua pihak yang terkait dalam kegiatan program, tak lupa penulis menyampaikan terima kasih.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Hanlon JF, 1971. *Hand Book of Package*. New York: Mc Graw Hill Book Co.
- Jay JM. 1996. *Modern Food Microbiology 4<sup>th</sup> Edition*. New York: D Von Nostrad Company.
- Syarief R, Sassya S, St Isyana B. 1989. *Teknologi Pengemasan Pangan*. Bogor; Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

**OPTIMASI REDUKSI POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON  
DALAM MAKANAN BAKAR KHAS INDONESIA DENGAN  
MEMANFAATKAN BUMBU LOKAL SERTA PENGATURAN JARAK  
DAN LAMA PEMANASAN MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE  
METHODOLOGY***

(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Reduction in Traditional Indonesian Grilled Food with Optimization of Local Seasoning and its Heating Process Using Response Surface Methodology)

**Hanifah Nuryani Lioe, Yane Regiana, Rangga Bayuharda Pratama**  
Dep. Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

**ABSTRAK**

Polisiklik aromatik hidrokarbon telah diketahui luas sebagai komponen yang bersifat karsinogenik, diantaranya benzo(a)piren (BAP) dan dibenzo(a,h)antrasen (DBA) dikenal sebagai komponen yang paling toksik. Komponen ini dapat terbentuk melalui pembakaran yang tidak sempurna dari kayu, arang dan senyawa organik selama pembakaran daging dan ikan. Tujuan penelitian adalah menentukan proses pembakaran (jarak dan lama pemanasan) dan jumlah bumbu yang optimum untuk mereduksi kandungan PAH dalam daging ikan dan ayam bakar. Komponen PAH diekstrak dengan menggunakan tehnik *tandem solid phase extraction (tandem SPE)* dan HPLC-UV (dengan kolom C18, fase gerak 80% asetonitril dan detektor MWD). Metoda optimasi yang digunakan adalah *response surface methodology (RSM)* berdasarkan desain Box-Behnken menggunakan software Design Expert® 7. Linearitas dengan adisi standar dalam sampel, limit deteksi, limit kuantitasi, kesesuaian sistem, akurasi dengan uji rekovery, dan presisi dari metoda analisis PAH, masing-masing adalah 0,96–0,97, 0,03–0,04 µg/mL, 0,09–0,11 µg/mL larutan uji, 0,57–1,59% (< 2%), 123–126%, and 12–15% . Metoda yang telah divalidasi digunakan dalam penentuan komponen PAH (BAP dan DBA) dalam makanan bakar yang telah mengalami perlakuan sesuai dengan desain RSM. Total PAH dalam daging ikan bakar tanpa bumbu dapat mencapai 193 ng/g, sedangkan dalam ayam bakar tanpa bumbu mencapai 226 ng/g. Dengan menggunakan RSM, diketahui perlakuan optimum untuk mendapatkan tingkat PAH total yang tidak terdeteksi dalam ikan bakar adalah pada jarak pembakaran 7,3 cm, lama pemanasan 31,5 min dan jumlah bumbu 7,40 % dari berat ikan, sedangkan hal yang sama pada ayam bakar dicapai pada jarak pembakaran 6,8 cm, lama pemanasan 28,0 min dan jumlah bumbu 8.69 % . Bumbu yang dipakai adalah bumbu kuning yang terdiri dari bawang putih, bawang merah, lengkuas, jahe, kunyit, kemiri, merica dan garam dengan komposisi yang biasa dipakai oleh pedagang lokal. Warna ikan bakar yang dihasilkan pada kondisi optimum tersebut mempunyai nilai L, a, b dan Hue masing-masing 48,03; 4,2; 19,88; dan 77,96. Warna ayam bakar pada kondisi perlakuan optimum memiliki nilai L, a, b dan Hue berturut-turut 31,65; 9,29; 18,15; dan 62,21. Dengan demikian penggunaan bumbu pada kisaran konsentrasi 7 sampai 9% dari berat ikan/ayam, jarak pembakaran 7 cm, dan lama pemanasan 28,0 sampai 31,5 min dapat mereduksi secara signifikan kandungan PAH dalam ikan dan ayam bakar.

Kata kunci: Polisiklik aromatik hidrokarbon, optimasi pembakaran daging, SPE, HPLC-UV, *response surface methodology*.

## **ABSTRACT**

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) have been widely known as carcinogenic compounds with benzo(a)pyrene (BAP) and dibenzo(a,h)antracene (DBA) as the most toxic ones. This compound formed through incomplete combustion of wood, charcoal, and organic compounds during grilling of meat, chicken, or fish. The objective of this study is to discover the optimum grilling process, distance and heating time of grilling process and the amount of seasoning used, to reduce the amount of PAH formed during grilling of fish and chicken. PAHs were extracted using a tandem solid phase extraction technique and HPLC-UV (using C18 column, 80% acetonitrile, and multiwavelength detector or MWD). The method used in optimization was response surface Box-Behnken design using Design Expert® 7 software. Linearity with standard addition in sample, limit of detection, limit of quantitation, system suitability, accuracy by recovery test and precision of the analytical method were performed at 0.96–0.97, 0.03–0.04 µg/mL, 0.09–0.11 µg/mL test solution, 0.57–1.59% (< 2%), 123–126%, and 12–15%. The validated method was then used for the determination of PAHs (BAP and DBA) in grilled fish and chicken from some treatments following the response surface methodology (RSM) design. The total PAHs content in grilled fish without seasoning treatment can reach 193 ng/g, while that in grilled chicken 226 ng/g. Using the RSM in this study, it is known that the optimum treatment for grilled fish to have an undetected level of PAHs was reached at the grilling distance of 7.3 cm, heating time of 31.5 min and seasoning amount of 7.40 %, while that for grilled chicken was 6.8 cm, 28.0 min and 8.69 %, respectively. The seasoning consists of garlic, shallot, galangal, ginger, turmeric, candle nut, pepper and salt with a composition normally found at the local food seller. Color properties of grilled fish at the optimum condition were L value 48.03, a value 4.2, b value 19.88, and score of Hue 77.96, while the color properties of grilled chicken were 31.65, 9.29, 18.15, and 62.21, respectively. The use of seasoning at a range of 7 to 9% of fish/chicken weight, grilling distance at c.a. 7 cm and length of grilling time 28.0 to 31.5 min can significantly reduce PAHs contents in the grilled foods.

**Keywords:** Polycyclic aromatic hydrocarbon, meat grilling optimization, SPE, HPLC-UV, response surface methodology.

## **PENDAHULUAN**

Data kesehatan masyarakat di Indonesia menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan penderita kanker yang terus meningkat. Selain bahan tambahan pangan yang dicurigai berpengaruh terhadap angka kenaikan tersebut, meningkatnya trend gaya hidup masyarakat perkotaan mengkonsumsi menu makanan yang dibakar/dipanggang baik di rumah maupun di restoran atau rumah makan diduga menjadi salah satu penyebabnya. Telah dibuktikan oleh para ahli bahwa dalam makanan yang mengalami pemanasan pada suhu tinggi melalui pemanggang atau pembakaran dapat terbentuk komponen karsinogenik seperti polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) dan heterosiklik aromatik amin (HAA). Kedua komponen tersebut lebih mudah ditemukan pada makanan berprotein

tinggi seperti daging dan ikan yang dibakar/dipanggang. Dalam usulan ini komponen PAH menjadi fokus penelitian reduksi komponen karsinogenik dalam makanan tersebut.

Komponen PAH adalah kelompok dari hampir 10.000 senyawa, tetapi hanya beberapa diantaranya yang terdapat dalam jumlah yang nyata dalam makanan dan yang paling bersifat karsinogenik serta paling banyak diteliti, yaitu benzo(a)piren (BAP). Setelah itu terdapat 14 komponen PAH lain yang bersifat karsinogenik, diantaranya dibenzo(a,h)antrasen (DBA) yang juga memiliki faktor toksisitas tinggi. Keberadaannya dalam makanan dapat ditolerir hingga batas 10 µg/kg atau 10 ppb, menurut legislasi pangan di Uni Eropa. Analisis pada batas yang sangat rendah tersebut membutuhkan instrumen yang cukup sensitif dan persiapan sampel yang hati-hati, ditambah fakta bahwa komponen PAH mempunyai struktur atau sifat kimia yang mirip dengan matriks sampel yang kaya protein sehingga memerlukan proses *clean up* yang efektif. Penelitian mengenai pengembangan dan validasi metode deteksi dan kuantifikasi komponen PAH menggunakan HPLC-UV (dengan instrumen HPLC-MWD) dan persiapan sampel dengan tandem SPE (*solid phase extraction*) perlu dilakukan. Hasilnya digunakan untuk penelitian lanjutan untuk mempelajari optimasi reduksi komponen karsinogenik PAH dalam makanan bakar/panggang. Instrumen HPLC-UV dipilih dalam studi ini karena instrumen ini banyak tersedia di laboratorium analisis dan penelitian di Indonesia, sehingga apabila metode analisis dan penelitian telah dapat dikembangkan, maka metode ini mudah diadopsi oleh laboratorium analisis atau lembaga/badan penelitian lainnya.

Reduksi komponen toksik atau karsinogenik juga menjadi concern masyarakat dunia dewasa ini, baik reduksi pada proses pembentukannya maupun reduksi jumlah awalnya. Reduksi komponen PAH dapat dilakukan pada saat pengolahan makanan, sehingga memungkinkan laju pembentukan komponen tersebut terhambat. Makanan khas Indonesia yang sering menggunakan bumbu dan rempah diduga menguntungkan dalam proses reduksi komponen PAH karena bumbu dan rempah dapat mempunyai sifat antioksidatif yang berpengaruh terhadap terbentuknya PAH karena proses pirolisis. Penghambatan proses pirolisis ini juga diduga dapat dilakukan dengan mengatur lamanya pemanasan sehingga

intensitas proses pirolisis dapat dikurangi dan dengan demikian jumlah terbentuknya komponen PAH dapat direduksi. Dengan demikian optimasi penerapan ketiga perlakuan, yaitu penambahan bumbu/rempah dan pengaturan jarak serta lama proses pembakaran daging, perlu diteliti.

Untuk dapat mengetahui optimasi dari dua atau lebih respons, metode statistik *response surface methodology* (RSM) dapat digunakan. Oleh karena itu melalui penelitian ini dikembangkan teknik analisis PAH dengan HPLC-UV dalam makanan bakar khas Indonesia, dalam hal ini dipilih sampel ikan dan ayam bakar, serta standar PAH yang digunakan adalah BAP dan DBA. Selanjutnya dengan menggunakan RSM diteliti mengenai jarak pembakaran, lama pemanasan dan jumlah bumbu yang optimal sehingga memberikan resiko paling rendah dengan kandungan PAH yang tidak terdeteksi dalam makanan bakar tersebut. Pengembangan teknik analisis ini berguna untuk harmonisasi metode analisis PAH dengan HPLC-UV di Indonesia dan dapat membantu sebuah laboratorium jasa analisis melakukan analisis PAH atas permintaan kliennya. Informasi hasil penelitian ini juga dapat berkontribusi dalam upaya pemerintah Indonesia membentuk Jejaring Keamanan Pangan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Peralatan**

Sampel makanan berupa daging ayam bagian dada dan ikan mujair dengan berat per unit sampel 250-300 gram, bumbu kuning (terdiri dari kunyit, lengkuas, bawang putih, bawang merah, kemiri, merica, garam, dan jahe) yang digunakan untuk penyiapan ayam bakar dan ikan bakar, standar komponen PAH, yaitu benzo(a)piren (BAP) dan dibenzo(a,h)antrasen (DBA), asetonitril HPLC-grade, diklorometan p.a., toluena p.a., n-heksana p.a., akuades Milli-Q grade, NaOH p.a., kolom *Solid Phase Extraction*, yaitu kolom ekstrelut (*diatomaceous earth*), kolom PRS (*propylsulphonic acid silica*), dan kolom *silica gel*. Peralatan yang digunakan adalah peralatan gelas, pipet mikro, alat pembakaran dengan menggunakan arang untuk penyiapan ikan bakar dan ayam bakar dan *food processor*. Sedangkan peralatan yang digunakan untuk analisis PAH adalah instrumen HPLC Agilent

1200 Series (Agilent Technologies, USA) dengan detektor MWD (UV/Vis) dan kolom Zorbax ODS (C18) dengan panjang 15cm, diameter 4.6 mm dan ukuran partikel 5  $\mu\text{m}$ .

## Metode

Penelitian dilakukan dalam dua tahapan. Tahapan pertama adalah validasi metode ekstraksi PAH (secara simultan untuk BAP dan DBA) dengan *Solid Phase Extraction*. Tahapan kedua adalah penentuan PAH pada ikan dan ayam bakar dengan melakukan pengujian pada kombinasi tiga taraf pembumbuan, jarak dan lama pemanasan. Penentuan kombinasi pembumbuan, lama dan jarak pemanasan didapatkan dengan *Response Surface Methodology* (RSM).

### 1) Tahap Pertama: Validasi metode ekstraksi PAH

Validasi metode analisis *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) dilakukan dengan cara melakukan uji linearitas dengan standar adisi dalam sampel, uji limit deteksi dan limit kuantitasi, uji kesesuaian sistem, akurasi uji *recovery*, dan uji presisi atau repeatabilitas. Validasi dilakukan pada metode dari mulai tahap ekstraksi dengan *Solid Phase Extraction* sampai analisis PAH dengan menggunakan HPLC-UV.

### 2) Tahap Kedua: Efek kombinasi variasi pembumbuan, lama pemanasan, dan jarak api terhadap kadar PAH ikan dan ayam bakar

Formulasi bumbu ikan dan ayam bakar dilakukan dengan menggunakan bumbu kuning yang sudah umum digunakan oleh pedagang ikan dan ayam bakar umumnya. Penentuan kombinasi formula bumbu, jarak pemanasan dan lama pemanggangan dilakukan dengan menggunakan desain *Response Surface Methodology* (RSM) dengan variabel independen seperti terlihat pada Tabel 1. Jumlah ulangan dan pengacakan didapat melalui program Design Expert<sup>®</sup> 7. Presentase formula bumbu merupakan perbandingan jumlah bumbu dengan berat basah daging ikan maupun ayam.

Ikan yang digunakan adalah ikan bawal berukuran 250-300 gram. Ayam yang digunakan adalah ayam negeri berukuran 250-300 gram. Respon yang digunakan untuk optimasi proses pembakaran adalah konsentrasi BAP, DBA dan



total PAH, kadar air, dan intensitas warna. Tahap akhir adalah verifikasi dari kombinasi perlakuan yang dihasilkan dari percobaan.

Tabel 1. Variabel independen yang dipakai dalam desain RSM.

Simbol	Variabel Independen	Kode Level	
		-1	+1
X1	Kombinasi bumbu/rempah	0%	15%
X2	Jarak Pemanasan	2 cm	8 cm
X3	Lama Pemanasan	28 menit	40 menit

- **Ekstraksi dan Clean-up Komponen PAH dengan teknik Gabungan SPE (Solid Phase Extraction)**

Masing masing sampel daging, baik ayam bakar maupun ikan bakar, dihomogenkan dengan menggunakan food processor. Kemudian ditimbang sebanyak 1 gram daging lalu dilarutkan dalam 1 mL larutan NaOH 1 M dingin untuk proses saponifikasi. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam 1.5 gram ekstrelut, diaduk rata lalu diisikan ke dalam kolom *Solid Phase Extraction-Propylsulphonic acid silica* (SPE-PRS) dan sampel dielusi dengan fase gerak 12 mL diklorometan yang mengandung 5% toluen. Untuk membantu proses ekstraksi digunakan vacuum chamber.

Ekstrak diklorometan yang didapat kemudian diuapkan dengan gas nitrogen pada suhu ruang dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam 2x1 mL n-heksana. Setelah itu dipersiapkan kolom berisi silika gel yang telah teraktivasi untuk ekstraksi berikutnya. Aktivasi silika gel dilakukan dengan memanaskan silika gel dalam oven pada suhu 200 °C selama 12 jam lalu kolom dielusi dengan 5 mL n-heksana sebelum digunakan untuk ekstraksi. Fraksi PAH dalam n-heksana kemudian diekstraksi ke dalam kolom tersebut dengan menggunakan eluen campuran n-heksana dan diklorometan 60:40 (v/v) sebanyak 12 mL. Ekstrak PAH yang didapat kemudian diuapkan dengan gas nitrogen pada suhu ruang. Ekstrak PAH kemudian dilarutkan dalam 2x0.5 mL acetonitril dan dipindahkan ke dalam vial untuk kemudian diuapkan pelarutnya dengan gas nitrogen pada suhu ruang. Residu yang tertinggal dalam vial kemudian dilarutkan dengan 200 µL larutan standar PAH 2.5 ppm. Sampel kemudian dianalisis kandungan PAH-nya dengan

HPLC-MWD yang diset pada panjang gelombang UV (selanjutnya disebut HPLC-UV).

- **Analisis Komponen PAH dengan Menggunakan HPLC-UV**

Analisis menggunakan HPLC Agilent 1200 series dengan detektor MWD pada panjang gelombang UV dilakukan secara isokratik mengikuti kondisi pada Tabel 2.

Tabel 2. Kondisi operasi analisis komponen PAH dengan HPLC-UV.

Kriteria	Kondisi
Kolom	C18 (ODS), ukuran partikel pendukung 5 $\mu$ m, panjang 15 cm, diameter dalam 4.6 mm
Suhu running	Suhu ruang
Fase gerak	Asetonitril-aquades MilliQ (80:20, v/v), isokratik
Laju aliran fase gerak	1.0 mL/menit
Deteksi	UV 280 nm
Sampel loop	20 L

## HASIL DAN PEMBAHASAN

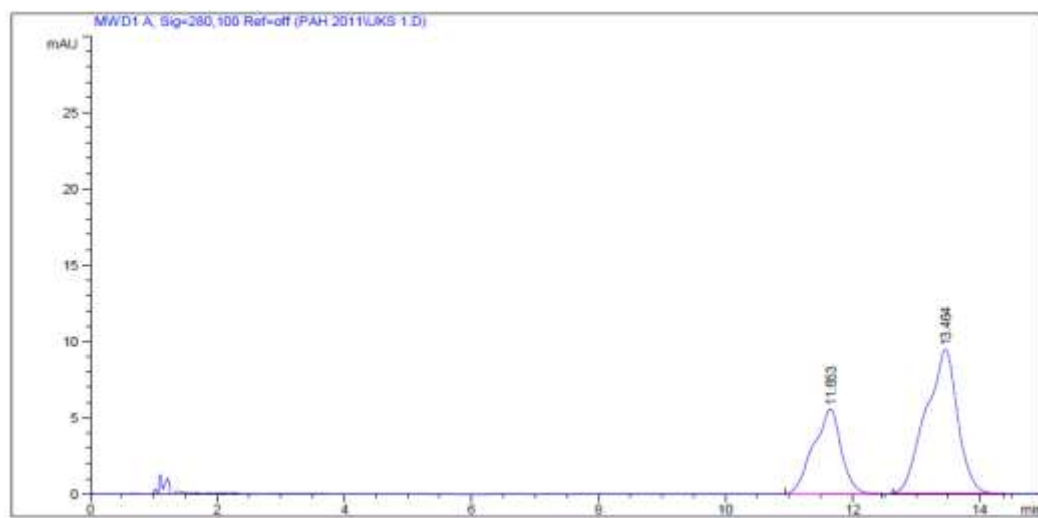
- **Validasi Metode Analisis PAH**

Validasi metode analisa PAH dengan menggunakan teknik ekstraksi dan clean-up dengan tandem SPE (SPE extrelut), SPE kolom PRS (*Propylsulphonic acid silica*) serta SPE kolom silica gel telah dilakukan. Validasi diperlukan karena PAH dalam sampel makanan umumnya berada dalam jumlah sedikit (trace). Nilai limit deteksi (LOD) dan LOQ, linearitas metode, uji kesesuaian sistem, akurasi dan presisi dengan uji recovery tersaji dalam Tabel 3.

Kromatogram campuran standar BAP dan DBA terlihat pada Gambar 1 sebagai dua puncak yang terpisah pada menit ke 11.66 untuk BAP dan 13.45 untuk standar DBA. Hal ini menandakan analisa senyawa BAP dan DBA dapat dilakukan secara simultan pada sistem HPLC yang digunakan dalam penelitian ini.

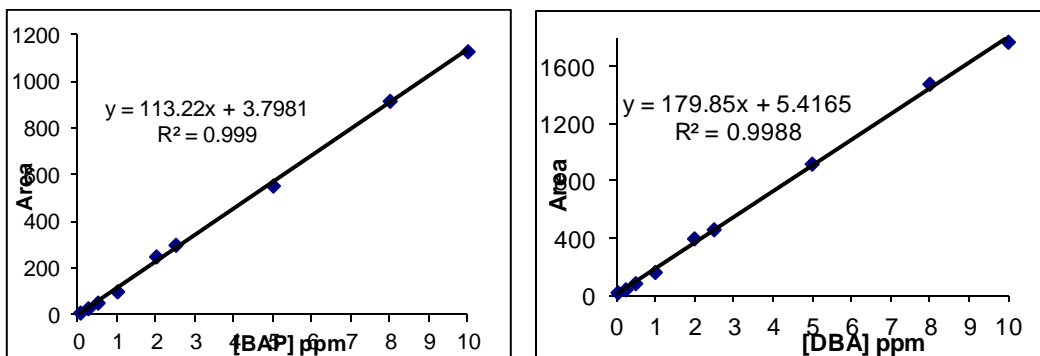
Tabel 3. Hasil uji validasi metode analisis PAH dengan menggunakan standar BAP dan DBA.

Kriteria	Nilai untuk BAP	Nilai untuk DBA
Linieritas metode dengan standar adisi dalam sampel ( $R^2$ ), range spiking 0.1–10 $\mu\text{g/mL}$	0.9675	0.9593
Kesesuaian sistem (RSD < 2%):		
- RSD luas area	0.8%	0.6%
- RSD waktu retensi	1.4%	1.6%
Limit deteksi (LOD)	0.04 $\mu\text{g/mL}$	0.03 $\mu\text{g/mL}$
Limit kuantitasi (LOQ)	0.11 $\mu\text{g/mL}$	0.09 $\mu\text{g/mL}$
Rekoveri dengan spiking 5 $\mu\text{g/g}$	122.6%	126.0%
Presisi atau repeatabilitas	12.4%	15.0%



Gambar 1. Kromatogram campuran standar BAP dan DBA pada konsentrasi 2 ppm. Standar BAP terdeteksi pada waktu retensi 11.663 menit dan DBA pada 13.454 menit.

Kurva standar BAP dan DBA yang dibuat pada range konsentrasi 0.05 – 10 ppm ( $\mu\text{g/mL}$ ) mempunyai nilai  $R^2$  di atas 0.990. Kurva standar ini diperlihatkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva standar larutan BAP (kiri) dan DBA (kanan) dengan injeksi langsung larutan standar (tanpa sampel) ke dalam instrumen HPLC-UV.

- **Hasil optimasi proses pembakaran untuk menurunkan PAH pada ikan bakar**

Optimasi proses pembakaran dilakukan pada 3 variabel dependen yaitu jarak pemanasan, lama pemanasan, dan jumlah bumbu. Level dari masing-masing variabel pemanasan yang diujikan didapat dari *trial and error* pada penelitian pendahuluan. Untuk variabel jarak, level minimum dan maksimum yang dipergunakan pada perancangan percobaan adalah 2 cm dan 8 cm. Sedangkan untuk jumlah bumbu dan lama pemanasan, level minimum dan maksimum yang dipergunakan masing-masing adalah 28 menit dan 40 menit untuk lama pemanasan, serta 0% dan 15% untuk jumlah bumbu. Perancangan percobaan menggunakan software Design Expert® 7 dengan desain percobaan menggunakan desain *response surface* (RSM) Box-Behnken design.

Molekul benzo(a)piren (BAP) yang ditemukan pada ikan bakar berkisar antara tidak terdeteksi hingga 130.1 ng/g sampel (130.1 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 5 cm selama 34 menit dengan bumbu 7.5%. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 40 menit dengan tidak menggunakan bumbu. Nilai maksimum yang dicapai pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan batas yang diperbolehkan oleh Uni Eropa yaitu 10 ng/g (10 ppb). Contoh grafik tiga dimensi hubungan antara lama dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi BAP yang dihasilkan oleh software *Design Expert*® 7 ditunjukkan pada Gambar 3.

Molekul Dibenzo(a,h)antrasen (DBA) yang ditemukan dalam ikan bakar berkisar antara tidak terdeteksi hingga 82.7 ng/g sampel (82.7 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 5 cm selama 34 menit dengan bumbu 7.5%. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 34 menit dengan tidak menggunakan bumbu. Seperti halnya BAP, nilai maksimum yang dicapai pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan batas yang diperbolehkan oleh Uni Eropa. Grafik RSM tiga dimensi hubungan antara lama dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi DBA dalam ikan bakar ditunjukkan pada Gambar 4.

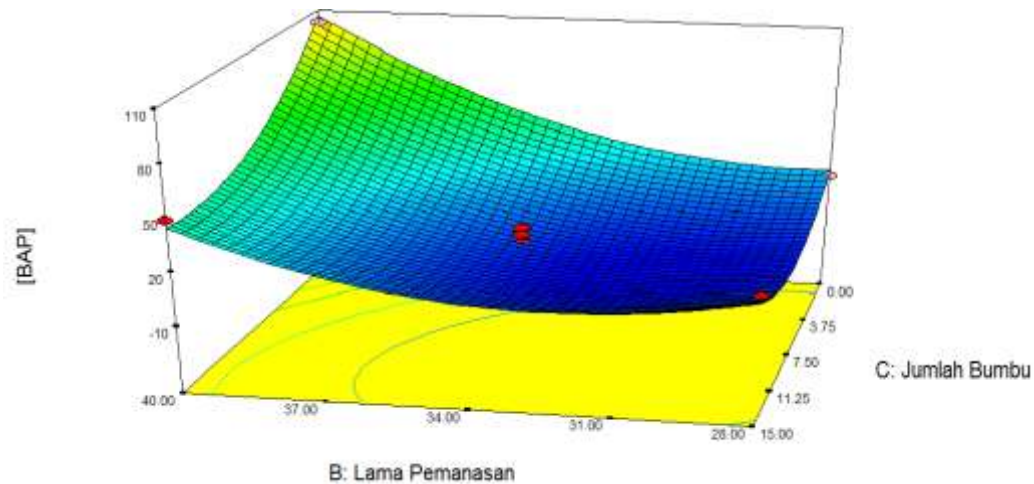
Tabel 4. Hasil percobaan optimasi proses pembakaran untuk ikan bakar dengan desain RSM Box-Behnken dengan mengatur jarak pembakaran, lama pemanasan dan jumlah bumbu per berat ikan segar.

Jarak (cm)	Lama (menit)	Bumbu (%)	[BAP] (ng/g)	[DBA] (ng/g)	Total PAH	Nilai Hue	Kadar Air (%)
5	34	7.5	ttd*	ttd	ttd	64.35	64.95
2	34	0	110.3	82.7	192.9	70.15	61.93
8	34	15	22.2	28.5	50.7	75.43	63.99
8	28	7.5	17.6	23.4	41.0	64.95	57.90
5	34	7.5	7.5	20.3	27.8	74.22	62.72
5	34	7.5	12.2	14.6	26.9	62.15	65.91
2	40	7.5	130.1	76.0	206.1	70.74	65.19
5	28	0	20.2	24.2	44.4	59.57	64.95
5	34	7.5	0.4	31.2	31.7	67.65	65.70
5	40	0	102.7	82.4	185.1	74.15	66.03
2	28	7.5	36.3	50.5	86.8	69.98	66.76
5	40	15	49.9	88.9	138.7	59.72	62.49
2	34	15	41.5	56.0	97.4	75.86	61.91
8	40	7.5	31.8	41.9	73.8	69.53	66.37
5	28	15	24.7	32.8	57.5	65.15	66.54
5	34	7.5	16.4	9.4	25.8	73.42	64.95
8	34	0	33.1	20.4	53.5	66.18	64.98

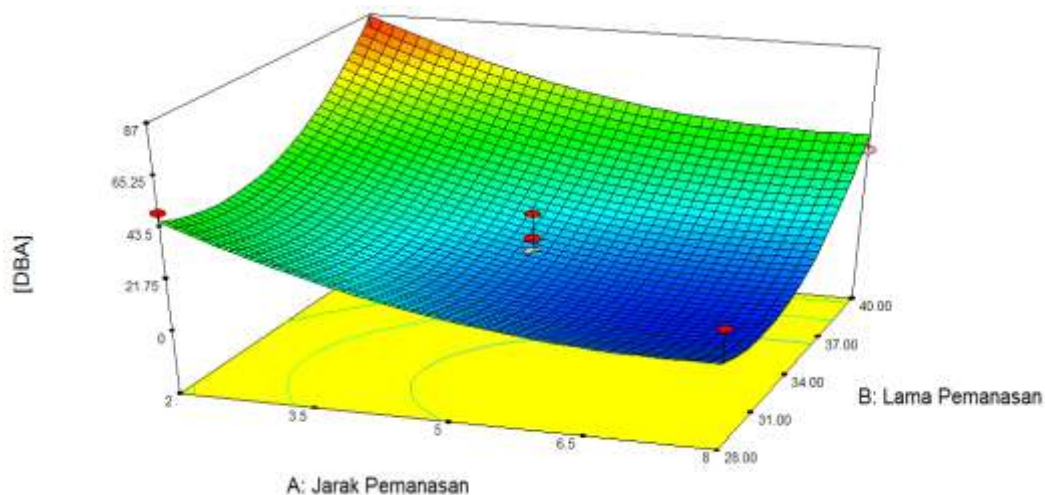
Keterangan : \*ttd adalah tidak terdeteksi

Total PAH yang ditemukan pada penelitian berkisar antara tidak terdeteksi hingga 192.9 ng/g sampel (192.9 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 5 cm selama 34 menit dengan bumbu 7.5%. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 34 menit dengan

tidak menggunakan bumbu. Grafik RSM 3 dimensi untuk hasil analisis total PAH dalam ikan bakar ditunjukkan pada Gambar 5.



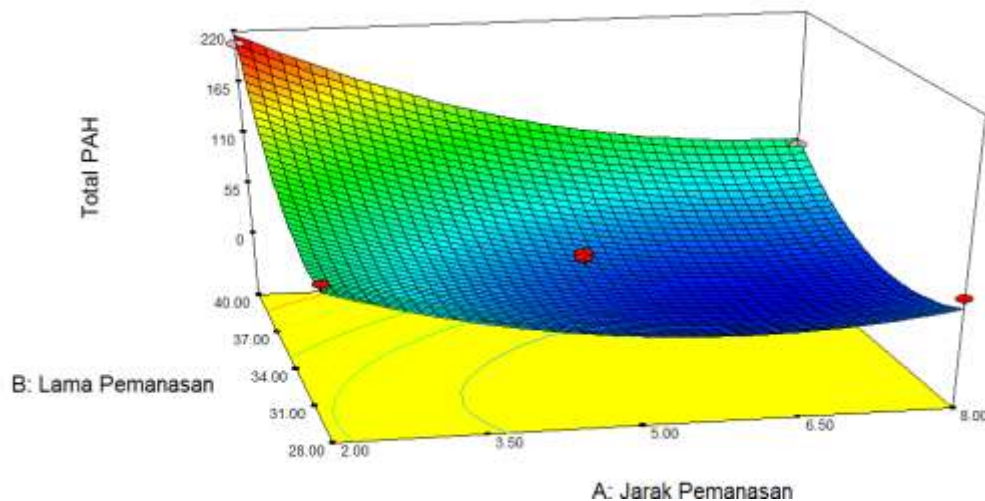
Gambar 3. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi BAP ikan bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum BAP dan maksimum pada warna kuning dan merah.



Gambar 4. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi DBA ikan bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum DBA dan maksimum pada warna kuning dan merah.

Hasil optimasi dengan menggunakan RSM untuk komponen dan respon di atas untuk memberikan nilai komponen berbahaya minimum dalam ikan bakar adalah pada proses jarak pemanggangan 7.26 cm, lama pemanasan 31.48 menit, dan jumlah bumbu 7.48%. Perkiraan respons yang dihasilkan dari proses tersebut

menurut Gambar 3, 4 dan 5 adalah BAP  $2.4 \cdot 10^{-6}$  ng/g sampel, DBA 2.8 ng/g sampel, total PAH 3.3 ng/g sampel, nilai hue 68.42, dan kadar air 64.32 %. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa dengan proses pemanggangan ikan dengan jarak 7.26 cm, lama pemanasan 31.48 menit, dan jumlah bumbu 7.48% menghasilkan kadar BAP, DBA, dan total PAH yang tidak terdeteksi. Dengan kombinasi dan jarak tersebut, reaksi pirolisis dan pirosintesis dari PAH dapat dihambat karena interaksi langsung antara bahan pangan dan sumber api dapat dicegah dengan jarak yang tinggi dan waktu pembakaran yang singkat. Penggunaan bumbu sebesar 7.48% merupakan bumbu yang optimal untuk menurunkan nilai PAH.



Gambar 5. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap total PAH ikan bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum total PAH dan maksimum pada warna kuning dan merah.

- **Hasil optimasi proses pembakaran untuk menurunkan PAH pada ayam bakar**

Optimasi proses pembakaran pada ayam bakar dilakukan pada 3 variabel dependen sama seperti ikan bakar yaitu jarak pemanasan, lama pemanasan, dan jumlah bumbu. Level dari masing-masing variabel pemanasan yang diujikan pun sama dengan percobaan pada ikan bakar. Perbedaan terletak pada ayam sampel terlebih dahulu dikukus selama 30 menit sebelum dibakar. Hasil percobaan ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil percobaan optimasi proses pembakaran untuk ayam bakar dengan desain RSM Box-Behnken dengan mengatur jarak pembakaran, lama pemanasan dan jumlah bumbu per berat daging ayam segar.

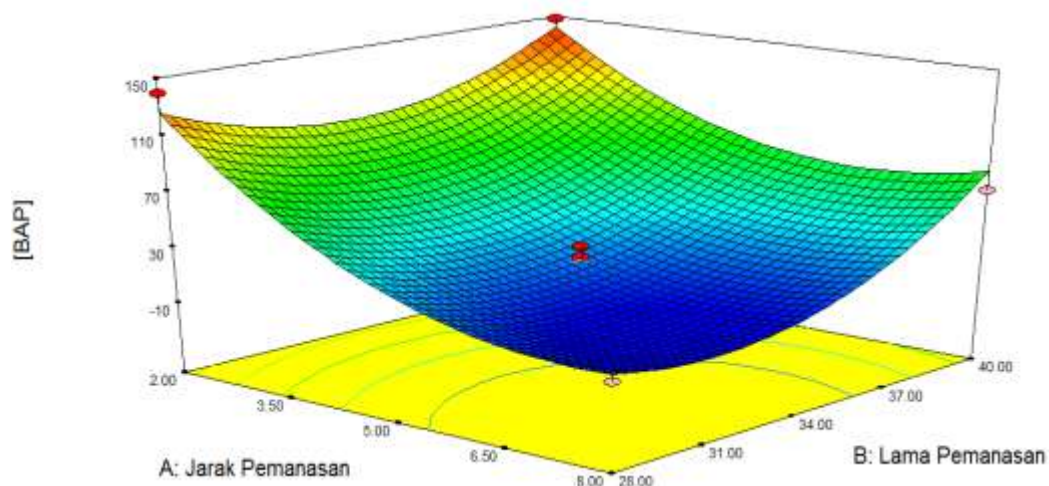
Jarak (cm)	Lama (menit)	Bumbu (%)	[BAP] (ng/g)	[DBA] (ng/g)	Total PAH	Nilai Hue	Kadar Air (%)
5	34	7.5	19.7	7.6	27.2	62.05	46.98
5	28	15	20.4	44.5	64.9	66.26	44.76
2	34	0	104.6	121.3	225.9	65.12	44.04
8	40	7.5	64.6	44.8	109.5	57	42.00
5	34	7.5	9.4	16.4	25.8	64.77	60.27
2	40	7.5	148.1	83.2	231.2	64.56	51.69
5	34	7.5	15.2	28.1	43.3	64.8	46.82
5	40	0	65.7	45.0	110.7	63.05	40.60
5	34	7.5	12.2	21.0	33.1	68.52	41.35
2	28	7.5	139.6	49.3	188.9	72.12	41.1
2	34	15	74.0	149.2	223.2	66.2	49.88
5	40	15	91.9	53.7	145.6	62.05	42.62
8	28	7.5	ttd*	ttd	ttd	73.12	41.91
5	34	7.5	27.3	33.6	60.9	61.6	39.22
8	34	15	31.8	54.0	85.8	65.27	42.82
8	34	0	ttd	ttd	ttd	57.25	45.76
5	28	0	31.5	37.9	69.4	67.32	47.14

Keterangan : \*ttd adalah tidak terdeteksi.

Molekul benzo(a)piren yang ditemukan pada penelitian ayam bakar berkisar antara tidak terdeteksi hingga 148.1 ng/g sampel (148.1 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 8 cm selama 28 menit dengan bumbu 7.5% serta jarak 8 cm selama 34 menit tanpa menggunakan bumbu. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 34 menit dengan tidak menggunakan bumbu. Nilai maksimum yang dicapai pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan batas yang diperbolehkan oleh Uni Eropa .

Grafik tiga dimensi hubungan antara lama dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi BAP dalam ayam bakar ditunjukkan pada Gambar 6.





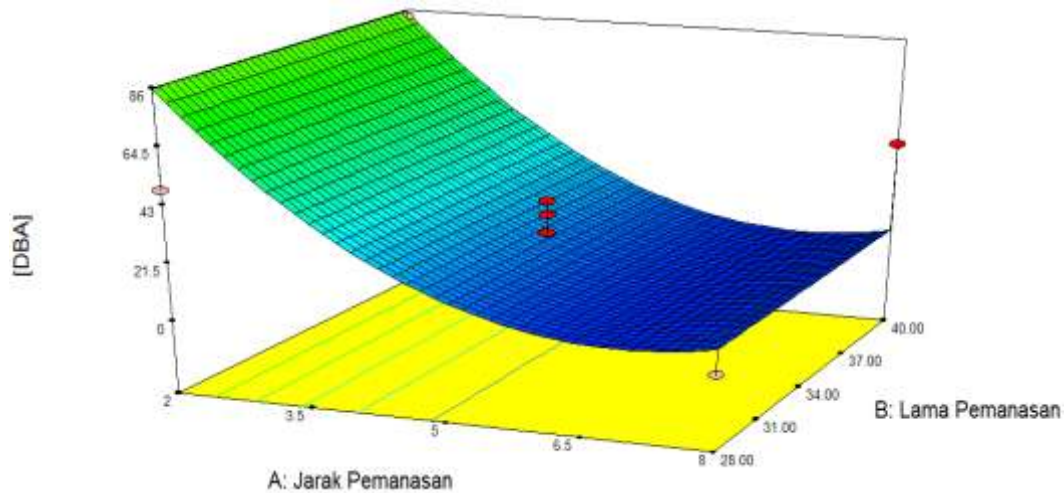
Gambar 6. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi BAP ayam bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum BAP dan maksimum pada warna kuning dan merah.

Molekul dibenzo(a,h)antrasen yang ditemukan pada penelitian ayam bakar berkisar antara tidak terdeteksi hingga 149.2 ng/g sampel (149.2 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 8 cm selama 28 menit dengan bumbu 7.5% serta jarak 8 cm selama 34 menit tanpa menggunakan bumbu. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 34 menit dengan 15% bumbu. Grafik tiga dimensi hubungan antara lama dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi DBA dalam ayam bakar ditunjukkan pada Gambar 7.

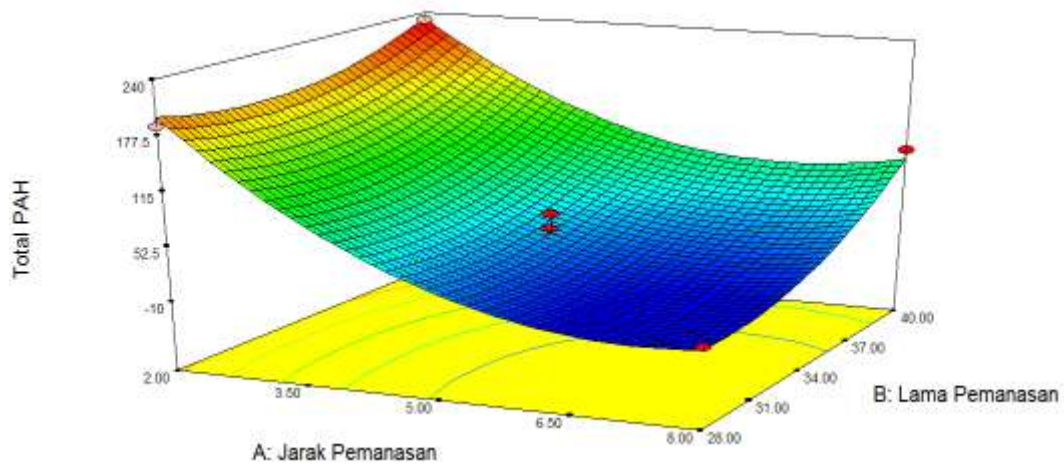
Total PAH yang ditemukan pada penelitian berkisar antara tidak terdeteksi hingga 225.9 ng/g sampel (225.9 ppb). Nilai terendah didapat pada pembakaran dengan jarak 8 cm selama 28 menit dengan bumbu 7.5% serta jarak 8 cm selama 34 menit tanpa menggunakan bumbu. Sedangkan nilai tertinggi didapat pada pembakaran dengan jarak 2 cm selama 34 menit dengan 0% bumbu. Grafik RSM tiga dimensi hubungan antara lama dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi total PAH dalam ayam bakar ditunjukkan pada Gambar 8.

Hasil optimasi dengan menggunakan RSM untuk komponen dan respon di atas memberikan nilai optimasi untuk mendapatkan kandungan senyawa berbahaya minimum dalam ayam bakar berupa jarak pemanggangan 6.79 cm, lama pemanasan 28 menit, dan jumlah bumbu 8.69%. Perkiraan respons yang dihasilkan dari proses tersebut adalah BAP 8.6 ng/g sampel, DBA 9.0 ng/g

sampel, total PAH 1.0 ng/g sampel, nilai Hue 68.79, dan kadar air 54.76 %. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa dengan proses pemanggangan ayam dengan jarak 6.79 cm, lama pemanasan 28 menit, dan jumlah bumbu 8.69% menghasilkan kadar BAP, DBA, dan total PAH yang tidak terdeteksi.



Gambar 7. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap konsentrasi DBA ayam bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum DBA dan maksimum pada warna kuning dan merah.



Gambar 8. Grafik 3 dimensi hubungan lama pemanasan dan jumlah bumbu terhadap total PAH dalam ayam bakar. Warna biru menunjukkan nilai minimum total PAH dan maksimum pada warna kuning dan merah.

## KESIMPULAN

Validasi metode analisis PAH dilakukan dengan standar benzo(a)piren (BAP) dan dibenzo(a,h)antrasen (DBA) dengan menggunakan *tandem solid phase extraction (tandem SPE)* dan HPLC-UV. Linearitas metode (dengan adisi standar dalam sampel) yang ditunjukkan dengan nilai  $R^2$  pada konsentrasi 0.1 – 10 ug/ml (ppm) untuk standar BAP dan DBA berada di atas 0.95. Hasil uji kesesuaian sistem menunjukkan nilai RSD di bawah 2% sesuai dengan yang disarankan JECFA untuk analisis trace. Limit deteksi instrumen untuk larutan BAP dan DBA adalah 0.04 dan 0.03  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan limit kuantitasnya adalah 0.11 dan 0.09  $\mu\text{g/mL}$  larutan. Hasil uji recovery pada sampel dengan *spiking* standar BAP dan DBA sebesar 5 ppm adalah 122.55% (BAP) dan 126.02% (DBA). Sementara nilai *repeatability* dari metode untuk BAP dan DBA masing-masing adalah 12% dan 15%, hasil ini sesuai dengan AOAC.

Penentuan kombinasi pembumbuan, lama dan jarak pembakaran yang didapatkan dengan *response surface methodology (RSM)* menghasilkan formula pemrosesan optimum untuk ikan dan ayam bakar yang memberikan kandungan senyawa berbahaya yang minimum. Formula optimum untuk ikan bakar adalah pembakaran dengan jarak pembakaran 7.26 cm, lama pemanasan 31.48 menit dan jumlah bumbu 7.48%. Sebelum pengaturan ini ikan bakar tanpa pembumbuan mempunyai kandungan PAH hingga 193 ng/g sampel. Sementara optimasi untuk ayam bakar menghasilkan jarak pembakaran 6.79 cm, lama pemanasan 28 menit, dan jumlah bumbu 8.69%. Apabila proses ayam bakar dilakukan tanpa pembumbuan akan ditemukan PAH total hingga 226 ng/g.

Hasil verifikasi formula ikan bakar dengan menggunakan kondisi optimum di atas menunjukkan kadar BAP, DBA, dan total PAH dalam ikan bakar maupun ayam bakar adalah tidak terdeteksi dengan nilai Hue 77.96 dan kadar air 59.6% pada ikan bakar, sedangkan pada ayam bakar, nilai Hue 62.21 dan kadar air 50.62%.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan Nasional RI atas pemberian dana penelitian di bawah program Hibah Fundamental DIPA IPB dengan kontrak No. 26/I3.24.4/SPP/PF/2011.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Baran S, Oleszczuk P, Baranowska E. 2003. Degradation of soil environment in the post-flooding area: Content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and S-triazine herbicides. *Journal of Environmental Science and Health Part B – Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes* 38: 799–812.
- Camel V. 2000. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *Trends in analytical chemistry* 19(4): 229-248.
- Castro MDL, Carmona MM. 2000. Where is supercritical fluid extraction going?. *Trends in analytical chemistry* 19(4): 223-228.
- Chen BH, Wang CY, Chiu CP. 1996. Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2244-2251.
- Chen J, Chen S. 2005. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat. *Food Chemistry* 90: 461-469.
- Dong MW. 2006. *Modern HPLC for Practicing Scientists*. New Jersey: Wiley
- Farhadian A, Jinap S, Hanifah HN, Zaidul IS. Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. *Food Chemistry* 124: 141-146.
- Guillen MD, Sopelana P, Palencia G. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons and olive pomace oil. *J Agric. Food Chem* 57: 2123-2132.
- Haritash AK, Kaushik CP. 2009. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *J. of Hazardous Material* 169: 1-15.
- Harvey RG. 2011. *Historical Overview of Chemical Carcinogenesis dalam Chemical Carcinogenesis*. Penning TM editor. Philadelphia: Springer.
- Jagerstad M, Skog K. 2005. Review: Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutation research* 574: 156-172.

- Janoszka B, Warzecha L, Blaszczyk, Bodzek D. 2004. Organic compounds formed in thermally treated high-protein food part I: polycyclic aromatic hydrocarbons. *Acta chromatographica* 14: 115-128.
- Kazerouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman N. 2001. Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food and Chemical Toxicology* 39: 423-436.
- Kolonel LN, Altshuler D, Henderson BE. 2004. The multitechnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nature Reviews Cancer* 4: 519-527.
- Luch A<sup>1</sup>. 2005. Nature and nurture – lessons from chemical carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer* 5: 113-125.
- Luch A<sup>2</sup>. 2005. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-Induced Carcinogenesis- An Integrated View dalam *The Carcinogenic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Luch A editor. London: CRC Press.
- Luch A, Baird WM. 2005. Metabolic Activation and Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons dalam *The Carcinogenic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Luch A editor. London: CRC Press.
- Michalski R, Germuska R. 2002. Extraction of benzo(a)pyrene from mussel tissue by accelerated solvent extraction (ASE) and determination by GPC and HPLC. *Acta Chromatographica*. 12.
- Montgomery DC. 2001. *Design and Analysis of Experiments* 5<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Morret S, Conte L, Dean D. 1999. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons content of smoked fish by means of a fast HPLC/HPLC method. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1367-1371.
- Mottier P, Parisod V, Turesky RJ. 2000. Quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in barbecued meat sausages by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1160-1166.
- Oros DR, Ross JRM. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: Spatial distributions, temporal trends, and sources. *Marine Environmental Research* (60): 466–488.
- Peto J. 2001. Cancer epidemiology in the last century and the next decade. *Nature* 411: 390-395.
- Rey-Salgueiro. 2008. Effect of toasting procedures on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread. *Food Chemistry* 108: 607-615.
- Snyder LR, Kirkland JJ, Dolan KW. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography* 3<sup>th</sup> ed. Nes Jersey: Wiley.

- Wang G, Lee AS, Lewis M, kamath B, Archer RK. 1999. Accelerated solvent extraction and gas chromatography/mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1062-1066.
- Wenzl T, Simon R, Anklam E, Kleiner J. 2006. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *Trends in Analytical Chemistry* 25(7): 716-725.
- Wretling S, Eriksson A, Eskhult GA, Larsson B. 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 264-272.
- Wootton EC, Dyrinda EA, Pipe RK, Ratcliffe NA. 2003. Comparison of PAH-induced immunomodulation in three bivalve molluscs. *Aquatic Toxicol.* 65: 13-25.

**PENGARUH PEMBERIAN PHYTOESTROGEN PADA  
MASA KEBUNTINGAN DAN LAKTASI TERHADAP KINERJA  
REPRODUKSI ANAK**

(The Effect of Prenatal and Lactation Exposure to The Phytoestrogen to Pups  
reproduction performance )

**Nastiti Kusumorini<sup>1)</sup>, Aryani Sismin S<sup>1)</sup>, A. Dinoto<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Dep. Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB,

<sup>2)</sup>Laboratorium Mikrobiologi LIPI

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian phytoestrogen pada masa kebuntingan dan laktasi terhadap kinerja reproduksi anak. Penelitian ini menggunakan susu kedelai yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* sebagai sumber phytoestrogen. Empat puluh ekor 40 tikus (*Rattus norvegicus*) bunting dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu K (tidak diberi phytoestrogen, sebagai kontrol), SF-AW (diberi susu kedelai fermentasi dengan dosis 1 mg/kg BB pada hari ke 2 – 11 kebuntingan), SF-AK (diberi susu kedelai fermentasi dengan dosis 1 mg/ hari /kg BB pada pada hari ke 12 kebuntingan sampai melahirkan dan SF-LAK (diberi susu kedelai fermentasi dengan dosis 1 mg/ kg BB pada hari ke 2-12 masa laktasi).Setelah mendapatkan perlakuan, hewan tersebut dibiarkan melahirkan secara alami dan dilakukan pengamatan berupa lama kebuntingan dan tingkat produksi anak serta bobot lahir. Pengamatan bobot badan dan tampilan reproduksi pada anak tikus jantan dan betina dilakukan terhadap 5 ekor hewan pada usia 15, 21, 28 dan 42 hari. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian phytoestrogen mempengaruhi bobot anak pada usia 15 hari serta kinerja anak jantan maupun betina pada usia 42 hari.

Kata kunci: Phytosetrogen, testis, testosteron, ovarium, uterus.

**ABSTRACT**

This research was conducted to study the administration of phytoestrogen on rat during pregnancy and lactation to pups reproduction performance. The research used soybean milk fermented by *Lactobacillus plantarum* as phytoestrogen resource. Forty pregnant rats (*Rattus norvegicus*) were divided into 4 groups. They were control, 1 mg/kg BW soybean milk fermented by *Lactobacillus plantarum* at 2-11 days of pregnancy, 1 mg/kg BW soybean milk fermented by *Lactobacillus plantarum* at 12 days of pregnancy till birth, and 1 mg/kg BW soybean milk fermented by *Lactobacillus plantarum* at 2-12 days of lactation. Pups were delivered naturally. They were being observed for days of pregnancy, litter size, and birth body weight. The observation of body weight and reproductive performance on male and female pups were done at 15,21,28 and 42 days old of 5 pups for each. In general, the result showed that administration of phytoestrogen influenced body weight of 15 days old pups, reproduction performance of both male and female pups at 42 days old.

Keywords: Phytosetrogen, testis, testosterone, ovarium, uterus.

## PENDAHULUAN

Pada saat kebuntingan, sistem peredaran darah induk dan anak merupakan satu kesatuan sistem sirkulasi. Kesatuan sistem sirkulasi ini menyebabkan hadirnya hormon-hormon pada sirkulasi darah induk juga akan masuk kedalam sirkulasi anak pada saat kebuntingan. Terpaparnya fetus secara berlebihan oleh hormon reproduksi yang ada pada induk diyakini dapat mempengaruhi fungsi reproduksi maupun tingkah laku individu tersebut setelah menjadi dewasa. Pada hewan prolifik yaitu hewan yang memiliki anak lebih dari satu pada satu kali kebuntingan, posisi janin dalam uterus yang menggambarkan hubungan letak janin secara acak dari fetus-fetus tersebut di dalam uterus induk akan saling mempengaruhi secara hormonal. Dengan menggunakan sifat prolifik ini, Kusumorini *et al.* (2000) menunjukkan bahwa bila fetus betina hidup dalam lingkungan betina, maka setelah dewasa individu tersebut akan memiliki kinerja reproduksi betina yang lebih baik dibandingkan dengan fetus betina yang selama dalam kandungan berada dalam lingkungan jantan.

Phytoestrogen merupakan suatu substrat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang secara struktur dan fungsi mirip dengan Estradiol (E2). Beberapa senyawa phytoestrogen yang diketahui banyak terdapat dalam tanaman antara lain isoflavon, flavon, lignan, coumestans, tripterpene glycosides, acyclics dan lain-lain. Phytoestrogen dapat ditemukan pada kedelai dan produk-produk kedelai. Hal ini yang menguatkan bahwa kedelai dan produk-produk kedelai dipercaya dapat menggantikan fungsi estrogen dalam tubuh (You, 2004). Seperti halnya endogenous estrogen, efek estrogenik dari phytoestrogen diperantarai oleh aktivasi reseptor estrogen. Sejauh ini, konsumsi makanan yang kaya akan phytoestrogen telah dipercaya dapat menurunkan kejadian kanker prostat dan payudara, terutama untuk orang-orang Asia Tenggara yang menu makanannya kaya akan kedelai dan produk dari kedelai (Dai *et al.* 2003).

Isoflavon utama yang bersifat phytoestrogen dan terdapat dalam kedelai berada dalam dua bentuk yaitu daidzin dan genistin (bentuk glikosida) serta daidzein dan genestein (bentuk aglikon) (Astuti 1999). Genistin inilah yang lebih bersifat agonis pada reseptor estrogen baik yang tipe  $\alpha$  maupun  $\beta$  (Mueller *et al.*



2004). Bila dikonversikan antara kedelai yang masuk dengan perkiraan genistin yang dikandung, maka rataan asupan genistin ke dalam tubuh sekitar 0,4 -0,6 mg/hari (Yamamoto *et al.* 2001). Disisi lain , makanan orang Eropa dan Amerika mengandung genistin yang lebih rendah dibandingkan dengan makanan orang Asia, akan tetapi dengan meningkatnya pola hidup sebagai vegetarian, kemungkinan suatu saat asupan genistin orang Eropa dan Amerika akan mendekati makanan orang Asia. Pada kondisi bayi yang hanya mendapatkan susu kedelai sebagai pengganti ASI (Air Susu Ibu) maupun susu formula lainnya yang berasal dari susu sapi, diperkirakan akan mendapatkan phytoestrogen sebanyak 4,5-8 mg/hari dimana 65% dari phytoestrogen tersebut adalah genistin (Setchell 1998).

Konsumsi isoflavon selama kebuntingan diduga juga dapat mempengaruhi pemaparan phytoestrogen pada fetus. Hal ini diperkuat dengan hadirnya phytoestrogen dalam cairan amnion dari wanita hamil pada trimester ke tiga (Foster *et al.* 2002). Beberapa penelitian sudah menunjukkan bahwa pemberian estrogen akan mempengaruhi perkembangan *sexually dimorphic*. Pemaparan diethylstilbestrol (DES) baik in utero maupun neonatal menunjukkan adanya pengaruh terhadap jarak anogenital, usia pubertas dan luas area preoptik. Walaupun sudah banyak penelitian yang menunjukkan pengaruh phytoestrogen terhadap fungsi reproduksi hewan, namun masih sedikit informasi yang berkaitan dengan pengaruh phytoestrogen yang diberikan pada saat kebuntingan dan menyusui terhadap perkembangan traktus reproduksi dari fetus yang dikandung serta kinerja reproduksi anak tersebut setelah dewasa.

## METODE PENELITIAN

### ● Hewan Coba

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Fisiologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus bunting dari species *Rattus norvegicus*, galur Sprague-Dawley paritas ke 2 (dua) dan berumur  $\pm$  16 minggu dan tikus jantan berumur 16 minggu untuk mengawini betina. Selama penelitian,

tikus percobaan dipelihara di Fasilitas Hewan Coba FKH IPB dan dikandangkan secara individu dalam kandang yang terbuat dari plastik berukuran 30 cm x 20 cm x 12 cm yang dilengkapi dengan kawat kasa penutup pada bagian atasnya. Pencahayaan dilakukan selama 12 jam (06.00 – 18.00) dan pakan serta air minum diberikan *ad libitum*.

Guna mendapatkan tikus bunting, perkawinan dilakukan secara alamiah dengan mencampurkan pejantan dan betina di dalam satu kandang. Perkawinan ditandai dengan adanya sperma dalam ulasan vagina dan ini merupakan hari pertama kebuntingan (H1). Tikus betina yang telah bunting ini yang digunakan pada penelitian dan dikandangkan secara individu.

- **Phytoestrogen dan Dosis Pemberian**

Phytoestrogen yang digunakan dalam penelitian merupakan isoflavon yang bersumber dari susu kedelai yang telah difermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum*. Penggunaan bahan tersebut sebagai sumber phytoestrogen karena memiliki kadar isoflavon yang cukup tinggi. Jumlah susu kedelai fermentasi yang diberikan pada hewan coba adalah 1 mg/hari yang dilarutkan dalam 1 ml air. Bila dikonversikan pada kadar isoflavon yang terkandung, maka jumlah isoflavon yang diterima oleh hewan coba adalah 0,7061 mg/hari. Pemberian tepung susu kedelai fermentasi dilakukan dengan *force feeding* (pencekakan) yang dilaksanakan pada pagi hari.

- **Pelaksanaan Penelitian**

Sebanyak 40 ekor tikus betina bunting dibagi ke dalam 4 kelompok percobaan yaitu: 1) Kelompok yang tidak diberi phytoestrogen (tidak mendapatkan perlakuan apapun) selama kebuntingan dan menyusui, 2) Kelompok yang diberi susu kedelai fermentasi pada hari ke 2 – 11 kebuntingan, 3) Kelompok yang diberi susu kedelai fermentasi pada hari ke 12 sampai waktu melahirkan, dan 4) Kelompok yang mendapatkan susu kedelai fermentasi pada hari ke 2-12 masa laktasi.

Setelah mendapatkan perlakuan, kelompok-kelompok hewan tersebut di atas dibiarkan melahirkan secara alami. Begitu anak-anak tikus lahir, dilakukan pengamatan produksi anak dari masing-masing induk berupa lama kebuntingan,

jumlah anak sekelahiran dan bobot lahir. Pada usia prasapah (15 hari), bobot anak dan jarak celah anogenital diambil, sedangkan pada usia 21 hari, hanya celah anogenital saja yang diukur. Setelah hewan lepas sapah (usia 28 hari), anak-anak tersebut dikelompokkan berdasarkan jenis kelamin dan kelompok perlakuan.

Data selanjutnya yang diambil adalah pada saat hewan mencapai usia 28 dan 42 hari. Pada saat usia hewan seperti tersebut diatas, 5 ekor hewan dari masing-masing kelompok dan jenis kelamin dikorbankan untuk diambil data bobot badan dan tampilan reproduksi (testis untuk hewan jantan, ovarium dan uterus untuk hewan betina). Selain itu, sampel darah juga akan diambil untuk menentukan kadar hormon. Segera setelah pembiusan dengan menggunakan ether, sebanyak 5 ml darah akan diambil dari jantung dengan menggunakan jarum suntik. Darah ditempatkan dalam tabung dan dibiarkan selama kira-kira 4 jam, kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 20 menit. Serum yang terbentuk akan disimpan di dalam freezer sampai waktu pengujian kadar testosteron dengan menggunakan metoda RIA

- **Analisa Statistik**

Parameter yang diukur akan dinyatakan dengan rata-rata  $\pm$  simpangan baku. Perbedaan antar kelompok perlakuan akan diuji secara statistika dengan analisa sidik ragam (ANOVA) dengan pola rancangan acak lengkap. Jika perlakuan berpengaruh nyata dan sangat nyata dilanjutkan dengan uji selisih beda terkecil.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

- **Tingkat Produksi Anak**

Tingkat produksi anak yang diamati meliputi lama kebuntingan, jumlah anak sekelahiran, rata-rata bobot lahir anak, dan rata-rata bobot anak usia 15 hari. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 1.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pemberian phytoestrogen saat kebuntingan tidak mempengaruhi lama kebuntingan, jumlah anak lahir maupun bobot anak lahir. Hal ini menunjukkan bahwa dosis phytoestrogen yang diberikan tidak mempengaruhi proses kebuntingan. Namun demikian, pada bobot lahir anak terlihat bahwa anak yang dilahirkan dari induk yang diberi susu fermentasi pada

awal kebuntingan memiliki bobot lahir yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok yang lain. Pada usia 15 hari, rataan bobot badan anak terlihat berbeda nyata ( $p=0,0019$ ). Kelompok induk yang diberi phytoestrogen pada saat laktasi, memiliki laju pertumbuhan yang lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok lain bahkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan bobot badan usia 15 hari pada kelompok yang diberi phytoestrogen saat laktasi, diduga karena adanya peningkatan produksi air susu induk. Hal ini dapat dimengerti mengingat kerja phytoestrogen yang menyerupai estrogen. Tingginya kadar estrogen pada saat laktasi akan menstimulasi pembentukan air susu, sehingga produksi air susu akan meningkat dan pertumbuhan anak-anaknya pun akan lebih cepat dibandingkan kelompok lain.

Tabel 1. Rataan  $\pm$  SD lama kebuntingan, jumlah anak sekelahiran, rataan bobot lahir anak, dan rataan bobot badan anak usia 15 hari pada setiap kelompok perlakuan.

Parameter	Kelompok Perlakuan			
	K	SF- AW	SF- AK	SF-LAK
Lama kebuntingan (hari)	22,67 $\pm$ 0,58	22,00 $\pm$ 0,00	22,00 $\pm$ 0,00	22,00 $\pm$ 0,00
Jumlah anak sekelahiran (ekor)	7,33 $\pm$ 0,58	8,33 $\pm$ 3,00	7,00 $\pm$ 2,65	7,33 $\pm$ 1,53
Bobot lahir anak (gram)	6,22 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	5,33 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>	6,67 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	6,25 $\pm$ 0,22 <sup>ab</sup>
Bobot anak usia 15 hari (gram)	16,77 $\pm$ 0,22 <sup>b</sup>	14,33 $\pm$ 0,49 <sup>c</sup>	16,14 $\pm$ 1,55 <sup>bc</sup>	19,63 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>

Keterangan:

K adalah kelompok hewan yang tidak diberi perlakuan selama kebuntingan dan menyusui, SF-AW adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan awal (usia 2-11 hari), SF-AK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan akhir (usia 12-22 hari), SF-LAK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada 11 hari pertama masa laktasi. Huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa data tidak berbeda nyata ( $p>0.05$ ); tn=tidak nyata.

### • Jarak Celah Anogenital

Jarak celah anogenital adalah jarak yang diukur antara anus dan alat genital. Jarak celah anogenital inilah yang dijadikan patokan untuk membedakan jenis kelamin anak tikus pada saat lahir sampai usia 21 hari. Anak tikus jantan memiliki jarak celah anogenital yang lebih panjang bila dibandingkan dengan anak betina. Hasil pengamatan jarak celah anogenital anak usia 15 dan 21 hari ditunjukkan pada tabel 2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian phytoestrogen terhadap jarak celah anogenital baik usia 15 hari maupun 21 hari. Hal ini sesuai dengan apa yang telah diungkapkan oleh Tousein *et al.* (2006). Namun demikian, pada hewan jantan usia 21 hari, walaupun tidak memberikan beda nyata, tetapi bila dicermati lebih lanjut kelompok hewan yang mendapat paparan phytoestrogen memiliki jarak celah anogenital yang lebih pendek bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Bila phytoestrogen dapat masuk ke dalam tubuh hewan secara tranplasental maupun via air susu, maka ada sejumlah *estrogen like* yang mengalir pada tubuh anak jantan. Hal ini lah yang diduga memperpendek jarak celah anogenital.

Tabel 2. Rataan  $\pm$  SD jarak celah anogenital (AG) hewan jantan dan betina pada usia 15 dan 21 hari pada setiap kelompok perlakuan.

Parameter	Kelompok Perlakuan			
	K	SF- AW	SF- AK	SF-LAK
<b>Jantan</b>				
Jarak celah AG usia 15 hari (mm)	10,33 $\pm$ 0,15	9,57 $\pm$ 0,93	9,47 $\pm$ 2,73	11,37 $\pm$ 1,10
Jarak celah AG usia 21 hari (mm)	14,40 $\pm$ 2,45	11,53 $\pm$ 1,42	12,23 $\pm$ 5,15	12,40 $\pm$ 2,67
<b>Betina</b>				
Jarak celah AG usia 15 hari (mm)	6,70 $\pm$ 0,35	6,50 $\pm$ 0,87	6,57 $\pm$ 1,10	6,80 $\pm$ 0,20
Jarak celah AG usia 21 hari (mm)	9,13 $\pm$ 1,60	8,27 $\pm$ 1,42	9,10 $\pm$ 1,60	8,33 $\pm$ 1,26

**Keterangan:**

K adalah kelompok hewan yang tidak diberi perlakuan selama kebuntingan dan menyusui, SF-AW adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan awal (usia 2-11 hari), SF-AK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan akhir (usia 12-22 hari), SF-LAK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada 11 hari pertama masa laktasi. Huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa data tidak berbeda nyata ( $p>0.05$ ).

Kehadiran agen estrogenik pada tahap awal perkembangan anak dapat memacu berbagai reaksi dalam tubuh, yang salah satunya merangsang percepatan perumbuhan organ reproduksi. Manifestasi yang ditimbulkan dari hal ini adalah kemungkinan terjadinya perubahan onset pubertas (usia datangnya pubertas). Hughes *et al.* (2004) mengatakan bahwa paparan DES pada saat kebuntingan dan laktasi menyebabkan perubahan onset pubertas dan jarak anogenital (*anogenital*

*distance*) pada saat lepas sapih. Namun hal ini tidak terjadi pada penelitian ini mungkin disebabkan kurang kuatnya affinitas phytoestrogen yang digunakan dibanding dengan DES.

● **Kinerja Anak Jantan dan Betina Usia 28 Hari**

Parameter pengamatan pengaruh phytoestrogen pada kinerja anak mencakup bobot badan, bobot testis dan kadar testosteron pada anak jantan serta bobot ovarium dan bobot uterus pada anak betina. Hasil pengamatan ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan ± SD bobot badan, bobot organ reproduksi dan kadar hormon anak jantan dan betina pada usia 28 hari pada setiap kelompok perlakuan.

Parameter	Kelompok Perlakuan			
	K	SF- AW	SF- AK	SF-LAK
<b>Jantan</b>				
Bobot badan (gram)	29,98± 2,57	24,40± 4,28	34,03± 10,51	30,10± 11,39
Bobot testis (mg)	203,2 ± 10,1	172,1 ± 41,1	211,5 ± 109,3	198,2 ± 82,4
Kadar Testosteron (ng/ml)	2,764 ± 1,779	2,287± 0,986	2,324 ± 0,617	2,692 ± 0,924
<b>Betina</b>				
Bobot badan (gram)	32,27± 4,26	19,95± 4,73	26,78± 14,00	35,64± 0,99
Bobot ovarium (mg)	19,6 ± 5,1	11,9 ± 2,8	14,6 ± 0,6	16,1 ± 2,0
Bobot uterus (mg)	33,9 ± 8,9	27,6 ± 4,4	29,2 ± 13,3	33,4± 4,2

Keterangan :

K adalah kelompok hewan yang tidak diberi perlakuan selama kebuntingan dan menyusui, SF-AW adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan awal (usia 2-11 hari), SF-AK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan akhir (usia 12-22 hari), SF-LAK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada 11 hari pertama masa laktasi. Huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa data tidak berbeda nyata ( $p>0.05$ ).

Berbeda dengan rata-rata bobot badan anak usia 15 hari, bobot badan anak usia 28 hari tidak memberikan beda nyata. Hal ini dapat dimengerti karena sumber makanan anak tikus usia 28 hari tidak sepenuhnya dari air susu induk. Sejak usia 21 hari, tikus sudah mampu untuk makan makanan yang disediakan dan mengurangi konsumsi susu induknya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian phytoestrogen tidak mempengaruhi kemampuan reproduksi baik pada hewan jantan maupun pada

hewan betina. Pada usia 28 hari, tikus belum memasuki masa pubertas atau dewasa kelamin sehingga aktifitas kerja dari hormon reproduksi baik testosteron untuk hewan jantan maupun estrogen untuk hewan betina terhadap traktus reproduksi belum maksimal. Hormon reproduksi ini memegang peranan yang sangat penting dalam proses reproduksi hewan.

• **Kinerja Anak Jantan dan Betina Usia 42 Hari**

Parameter pengamatan pengaruh phytoestrogen pada kinerja anak mencakup bobot badan, bobot testis dan kadar testosteron pada anak jantan serta bobot ovarium dan bobot uterus pada anak betina. Hasil pengamatan ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan ± SD bobot badan, bobot organ reproduksi dan kadar hormon anak jantan dan betina pada usia 42 hari pada setiap kelompok perlakuan.

Parameter	Kelompok Perlakuan			
	K	SF- AW	SF- AK	SF-LAK
<b>Jantan</b>				
Bobot badan (gram)	51,93 ± 8,89	55,06 ± 7,30	44,63 ± 1,47	45,62 ± 3,72
Bobot testis (mg)	521,9 ± 42,5 <sup>a</sup>	377,1 ± 25,0 <sup>b</sup>	382,1 ± 94,6 <sup>b</sup>	387,7 ± 33,9 <sup>b</sup>
Kadar Testosteron (ng/ml)	3,104 ± 1,357 <sup>a</sup>	1,274 ± 0,739 <sup>b</sup>	0,906 ± 0,319 <sup>b</sup>	0,932 ± 0,221 <sup>b</sup>
<b>Betina</b>				
Bobot badan (gram)	52,72 ± 3,07 <sup>b</sup>	68,45 ± 4,39 <sup>a</sup>	65,71 ± 12,36 <sup>ab</sup>	53,17 ± 6,70 <sup>b</sup>
Bobot ovarium (mg)	14,9 ± 5,0 <sup>b</sup>	45,1 ± 10,8 <sup>a</sup>	18,6 ± 3,0 <sup>b</sup>	21,1 ± 6,0 <sup>b</sup>
Bobot uterus (mg)	36,0 ± 5,1 <sup>b</sup>	89,0 ± 15,6 <sup>a</sup>	37,0 ± 3,5 <sup>b</sup>	44,6 ± 6,8 <sup>b</sup>

Keterangan:

K adalah kelompok hewan yang tidak diberi perlakuan selama kebuntingan dan menyusui, SF-AW adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan awal (usia 2-11 hari), SF-AK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada ½ kebuntingan akhir (usia 12-22 hari), SF-LAK adalah kelompok hewan yang diberi susu kedelai terfermentasi 1 gr/hari pada 11 hari pertama masa laktasi. Huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa data tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ ).

Sejalan dengan bobot badan anak tikus jantan usia 28 hari, maka pada usia 42 hari, phytoestrogen juga tidak berpengaruh terhadap bobot badan. Tikus memasuki masa pubertas pada usia 55 – 60 hari setelah kelahiran. Pada penelitian ini, bobot testis kelompok perlakuan terlihat lebih kecil bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p = 0,0359$ ). Hal ini sejalan dengan kadar testosteron darah

dimana kelompok yang terpapar phytoestrogen memiliki kadar testosteron yang lebih kecil bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p=0,0012$ ). Pada usia ini diduga tikus jantan sudah mencapai usia pubertas, dimana kerja hormon seperti testosteron sudah hadir dan didukung oleh kesiapan dari traktus reproduksi untuk melakukan kerja dan fungsinya. Pemberian phytoestrogen pada saat perkembangan fetus diduga menekan perkembangan saluran reproduksi tikus jantan setelah dewasa. Sehingga perannya dalam pembentukan hormon seperti testosteron sedikit terhambat dan akan menunjukkan kinerja yang kurang maksimal. Perkembangan normal pada saluran reproduksi jantan tergantung pada ekspresi dan kerja dari testosteron dan dihidrotestosteron selama perkembangan fetus. Paparan estrogen dosis tinggi selama perkembangan dapat menyebabkan malformasi traktus reproduksi.

Pada anak betina, terdapat perbedaan pada bobot badan anak ( $p=0,0656$ ). Pemaparan phytoestrogen pada saat perkembangan dalam tubuh terbukti dapat meningkatkan bobot badan pada usia 42 hari. Pemaparan phytoestrogen pada masa ini, diduga meningkatkan kinerja reproduksi dan pada akhirnya akan meningkatkan kadar estrogen tubuh pada saat anak tumbuh menjadi dewasa. Pada metabolisme tubuh, estrogen dapat meningkatkan sintesis dan sekresi hormon pertumbuhan, sehingga dapat menstimulasi pertumbuhan sel-sel dalam tubuh, mempercepat pertumbuhan bobot badan dan merangsang kelenjar korteks adrenal untuk meningkatkan metabolisme karena adanya retensi nitrogen yang meningkat. Peningkatan bobot badan oleh phytoestrogen juga pernah dilaporkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Ruhlen (2007) yang menyatakan bahwa phytoestrogen dalam makanan dapat meningkatkan kadar estradiol serum mencit dan mengakibatkan *fetal estrogenization syndrome* dan *obesity*.

Pemberian phytoestrogen pada induk baik pada saat kebuntingan maupun pada saat laktasi, terbukti mempengaruhi bobot ovarium pada saat usi 42 hari ( $p=0,0025$ ). Tingginya bobot ovarium diduga karena masuknya phytoestrogen dari induk ke anak baik melalui plasenta maupun melalui air susu pada saat perkembangan. Phytoestrogen akan berikatan dengan reseptor estrogen pada ovarium dan akan mengaktivasi sel dan menginduksi produksi dan proliferasi sel-



sel ovarium sehingga terjadi penambahan jumlah sel dalam ovarium yang akan meningkatkan massa ovarium (Suttner *et al.* 2005).

Sejalan dengan bobot ovarium, bobot uterus anak betina usia 42 hari juga sangat dipengaruhi oleh pemaparan phytoestrogen pada saat anak dalam kandungan atau saat menyusui. Pemaparan phytoestrogen ini terbukti meningkatkan bobot uterus pada kelompok perlakuan phytoestrogen bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Phytoestrogen kedelai, seperti halnya estrogen memiliki aktivitas *uterotrophic* yang menyebabkan peningkatan masa uterus (Ford *et al.* 2006). Santell *et al.* (1997) membuktikan adanya hubungan ketergantungan dosis (*dose-dependent*) terhadap peningkatan bobot uterus oleh phytoestrogen. Genestein (isoflavon) bekerja dalam cara yang sama dengan estradiol, yaitu dengan berikatan pada ER dan kompleks reseptor-ligand untuk meninduksi ekspresi dari gen yang responsif terhadap estrogen, sehingga terjadi peningkatan massa uterus. Efek ini masi terlihat dengan pemberian phytoestrogen genestein pada dosis 375 µg/gr diet (Santell *et al.* 1997).

Pemberian phytoestrogen pada penelitian ini tidak dilakukan pada anak, tetapi pada induk bunting dan laktasi. Sejumlah phytoestrogen pada induk akan mengalami degradasi dan penurunan selama perjalanannya dari tubuh induk hingga akhirnya sampai ke tubuh anak. Penurunan ini terutama terjadi ketika proses absorpsi ditubuh induk, sirkulasi dalam darah, kemampuan perfusi pada plasenta, serta hadirnya dalam air susu (Franke & Custer 1996). Selain faktor induk, kemampuan absorpsi oleh anak tikus juga berpengaruh pada penurunan aktivitas phytoestrogen tersebut (Hughes *et al.* 2004). Pada penelitian ini, paparan efektif oleh phytoestrogen yang berasal dari susu kedelai fermentasi pada anak tikus tidak diketahui, karena pemeriksaan kadar phytoestrogen serum anak tidak dilaksanakan.

Prinsip kerja hormon sangat dipengaruhi oleh reseptor. Hormon hanya akan bekerja seandainya pada sel target memiliki reseptor hormon tersebut. Phytoestrogen, walaupun bukan hormon namun karena strukturnya yang mirip dengan estradiol dapat pula menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek layaknya estrogen endogenous sendiri (Harrison *et al.* 1999).

Organ yang dipengaruhi oleh phytoestrogen antara lain ovarium, uterus, testis, prostat, dan beberapa organ lainnya (Tsourounis 2004). Walaupun affinitas terhadap reseptor estrogen tidak setinggi estradiol namun phytoestrogen mampu menimbulkan efek estrogenik (Sheehan 2005). Kim *et al.* (1998) berpendapat bahwa aktivitas dan implikasi klinis phytoestrogen sangat tergantung pada jumlah reseptor estrogen, letak reseptor estrogen, dan konsentrasi estrogen endogen yang mampu bersaing.

Sebagian besar parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah komponen yang dipengaruhi secara langsung oleh phytoestrogen. Pemberian phytoestrogen pada induk bunting atau menyusui, terbukti memberikan pengaruh terhadap kinerja reproduksi sejak hewan berusia 42 hari. Penelitian yang telah dilakukan Todaka *et al.* (2005) tentang pemaparan phytoestrogen pada fetus dan status phytoestrogen antara induk dan fetus pada saat kebuntingan telah menunjukkan bukti bahwa phytoestrogen dapat ditransfer dari induk ke fetus. Di dalam serum fetus dapat ditemukan genestein, daidzein, equol, coumestrol dengan *detection rate* secara berurutan sebesar 100%, 80%, 35% dan 0%. Kadar genestein dan daidzein lebih tinggi pada *cord* (tali pusar) dibandingkan maternal serum, dan hal ini berkebalikan untuk equol dimana kadarnya lebih tinggi pada maternal serum. Penelitian ini melaporkan pula bahwa terdapat perbedaan tingkat metabolit dan ekskresi phytoestrogen antara induk dan fetus. Phytoestrogen cenderung bertahan lama di dalam tubuh fetus dibandingkan tubuh induk. Penelitian yang dilakukan oleh Degen *et al.* (2002) juga mengatakan hal yang sama, bahwa plasenta tidak mempunyai barrier terhadap genestein atau estrogenik isoflavon lainnya karena struktur molekulnya mirip dengan estrogen endogenous yang berukuran kecil sehingga mampu dengan mudah berdifusi menembus membran plasenta.

Pemberian phytoestrogen pada periode laktasi juga berpengaruh pada kinerja reproduksi. Lewis *et al.* (2003), menyatakan bahwa phytoestrogen dapat ditransfer melalui air susu, namun kadarnya kecil sehingga paparan efektif tidak tercapai. Untuk memberikan efek yang nyata, maka phytoestrogen perlu ditransfer dalam jumlah yang cukup antara induk dan anak. Anak akan menerima sejumlah phytoestrogen melalui plasenta dan atau lewat air susu induk.

## KESIMPULAN

Pemberian phytoestrogen yang berasal dari susu kedelai fermentasi pada saat bunting dan menyusui dapat mempengaruhi kinerja reproduksi anak baik jantan maupun betina pada saat berusia 42 hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberi dana penelitian ini dan LPPM-IPB yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albertazzi P. 2002. Purified phytoestrogens in postmenopausal bone health: Is there a role for genistein? *Climacteric* 2: 190-196.
- Astuti S. 1999. Pengaruh tepung kedelai dan tempe dalam ransum terhadap fertilisasi tikus percobaan [Thesis]. Bogor: Pascasarjana IPB.
- Bhatena S, Ali A, Mohamed A, Hansen C, and Velasquez M. 2002. Differential effects of dietary flaxseed protein and soy protein on plasma triglycerides and uric acid levels in animal models. *J. Nutr. Biochem.* 13: 684 – 689.
- Dai Q, Franke AA, Yu H, Shu XO, Jin F, Hebert, JR, Custer LJ, Gao YT, and Zheng W. 2003. Urinary phytoestrogens excretion and breast cancer risk: Evaluating potential effects modifiers, endogenous estrogens and anthropometrics. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12: 497 – 502.
- Degen GH, Janning P, Diel P, Michna H, dan Bolt HM. 2002. Transplacental transfer of the phytoestrogen daidzein in DA/Han rats. *Arch Toxicol.* 76(1): 23-29.
- Ford JA Jr, Clark SG, Walters EM, Wheeler MB dan Hurley WL. 2006. Estrogenic effects of genistein on reproductive tissues of ovariectomized gilts. *J. Anim Sci.* 84:834 – 842.
- Foster WG, Chan S, Platt L, Hughes CL. 2002. Detection of phytoestrogens in samples of second trimester human amniotic fluid. *Toxicol. Lett.* 129: 199 – 205.
- Franke AA, Custer LJ, Tanaka Y. 1998. Isoflavones in human breast milk and other biological fluids. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (Suppl): 1466S-1473S.

- Harrison RM, Phillippi PP, Swan KF, dan Henson MC. 1999. Effect of genistein on steroid hormone production in the pregnant rhesus monkey. *Society for Experimental Biology and Medicine* vol 22.
- Hughes CL, Liu G, Beall S, Foster WG, Davise V. 2004. Effect of Genistein or Soy Milk During Late Gestation and Lactation on Adult Uterine Organization in The Rat. *Exp Biol Med* 229: 108-117.
- Irvine CH, Fitzpatrick MG, Alexander SL. 1998. Phytoestrogens in soy-based infant foods: concentration daily intake, and possible effects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217: 247 – 253.
- Irvine CH, Shand N, Fitzpatrick MG, Alexander SL. 1998. Daily intake and urinary excretion of genistein and daidzein by infants fed soy-dairy-based infant formulas. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (Suppl): 1462S-1465S.
- Kim H, Peterson TG, dan Barnes S. 1998. Mechanism of action of the soy isoflavone genestein: emerging role of its effects through transformng growth factor beta signaling. *Am. J. Clin Nutr.* 68: 1418S – 1425 S.
- Knight DC, Eden JA, Huang, JL and Wang MA. 1998. Isoflavone content of infant foods and formulas. *J. Pediatr. Child Health.* 34: 135 – 138.
- Kusumorini N, Aryani SS dan Syafrri Edwar. 2000. Pengaruh posisi anak tikus betina dalam uterus induk terhadap kemampuan reproduksinya. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XVI*: 237 – 24.
- Lamartiniere CA, Cotroneo MS, Fritz WA, Wang J, Mentor-Marcel R, and Elgavish A. 2002. Genistein chemoprevention: Timing and mechanism of action in murine mammary and prostate. *J. Nutr.* 132 : 552S – 558S.
- Levy J, Faber K, Ayyash L, and Hughes C. 1985. The effect of prenatal exposure to the phytoestrogens genistein on sexual differentiation in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 60 – 66.
- Lewis R, Brooks N, Milburn G, Soames A, Stone S, Hall M, and Ashby J. 2003. The effects of the phytoestrogens genistein on the postnatal development in the rat. *Toxicol. Sci.* 71: 74 – 83.
- Mueller SO, Simon S, Chae K, Metzler M, and Korach KS. 2004. Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor a (ERa) and ERp in human cell. *Toxicol. Sci.* 80: 14 – 25.
- Ruhlen P dan Armitage D. 2007. Low phytoestrogen levels in feed serum estradiol resulting in the “fetal organization syndrome” and obesity in CD-1 mice. *Environ Health Perspect.* 116(3): 322-328.

- Santell RC, Chang YC, Muralee GN, dan William GH. 1997. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic / pituitary axis in rats. *J. Nutr.* 127:263-269.
- Setchell K. 1998. Phytoestrogens: The biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.*68: 1333S-1346S.
- Sheehan DM. 2005. The case for expanded phytoestrogen research. *Proc Soc Exp Biol Med* 208: 3-5.
- Slavin JL. 1996. Phytoestrogens in breast milk – another advantage of breastfeeding? *Clin. Chem.* 42: 841 – 842.
- Suttner AM, Danilovich NA, Banz WJ, dan Winters TA. 2005. Soy Phytoestrogens: Effects on ovarian function [Abstract]. *Society for the Study of Reproduction*.
- Todaka E. 2005. Fetal exposure to phytoestrogens – The difference in phytoestrogen status between mother and fetus. *Environmental Research*, 99(2):195-203.
- Tousen Y, Umeki M, Nakashima Y, Ishimi Y dan Ikegami S. 2006. Effects of genistein, an isoflavone, on pregnancy outcome and organ weights of pregnant and lactating rats and development of their suckling pups. *J Nutr. Sci. Vitaminol*, 52174-182.
- Tsourounis C. 2004. Clinical Effects of Fitoestrogens. *Clinical Obstertict and Genycology* 44 (4) : 836-842.
- Tuohy P. 2003. Soy infant formula and phytoestrogens. *J. Pediatr. Child Health.* 39: 401 – 405.
- Wisniewski AB, Klein SL, Lakshmanan Y, and Gearhart JP. 2003. Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats. *J.Urol.* 169: 1582 – 1586.
- Yamamoto S, Sonue S, Sasaki S, Kobayashi M, Arai Y, Uehara M, Adlercreutz M, Watanabe S, Takahashi T, Itoi Y. 2001. Validity and reproducibility of a self-administered food-frequency questionnaire to assess isoflavones intake in a Japanese population in comparison with dietary record and blood and urine isoflavones. *J.Nutr.* 131:2741 – 2747.
- You L. 2004. Phytoestrogens genistein and its pharmacological interactions with synthetic endocrine-active compounds. *Current Pharm. Des.* 10: 2749 – 2757.

## STUDY PENINGKATAN KUALITAS BUAH MANGGIS (Study on Mangosteen Fruit Quality Improvements)

**Roedhy Poerwanto, Yulinda Tanari, Susi Octaviani SD,  
Suci Primilestari, Darda Efendi, Ade Wachjar**  
Dep. Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

### ABSTRAK

Cemaran getah kuning atau gamboge adalah masalah utama yang membatasi ekspor buah manggis. Masalah ini dihipotesiskan berkaitan dengan kandungan kalsium yang rendah dalam perikarp buah manggis. Karena kalsium adalah hara yang immobil dan penyerapan sangat dipengaruhi oleh transpirasi, tidak mudah untuk meningkatkan kandungan kalsium dalam perikarp. Tujuan dari penelitian ini adalah: (1) untuk membuktikan peran kalsium dalam mengendalikan cemaran getah kuning dalam buah-buahan manggis, (2) untuk menyelidiki waktu yang tepat dari aplikasi kalsium lewat tanah yang efektif untuk mengendalikan cemaran getah kuning, (3) untuk menyelidiki sumber dan dosis kalsium yang efektif mengontrol cemaran getah kuning. Untuk mencapai tujuan ini dilakukan tiga percobaan. **Percobaan I** penyemprotan buah manggis dengan  $\text{CaCl}_2$  dengan frekuensi 2,4 atau 6 kali pada dosis 0,12 24 dan 36g/l. **Percobaan II** pemberian kaptan melalui tanah: (1) tidak dipupuk kalsium sebagai kontrol, (2) pada saat anthesis, (3) pada awal tahap pertumbuhan buah (14 hari setelah anthesis), (4) pada akhir tahap 1 (28 hari setelah anthesis), (5) pada saat anthesis dan awal tahap 1, (6) pada saat anthesis dan akhir tahap 1, (7) pada awal dan akhir tahap 1, (8) pada anthesis, awal dan akhir tahap 1. **Percobaan III** dilakukan aplikasi dolomit atau kaptan (pada 0, 2, 4, 6 ton / haCa). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalsium yang memiliki peran positif dalam mengontrol cemaran getah kuning buah manggis. Penyemprotan  $\text{CaCl}_2$  enam kali dengan dosis 24g/l efektif untuk mengurangi cemaran getah kuning pada aril tanpa pengerasan pericarp pada saat panen dan setelah 20 hari penyimpanan. Pemberian kalsium lewat tanah 2 kali pada saat anthesis dan akhir tahap 1 efektif mengurangi cemaran getah kuning pada aril dan kulit buah, serta peningkatan kalsium dalam endocarp. Aplikasi dari 9 ton/ hadolomit (2 ton Ca/ha) dapat mengurangi cemaran getah kuning di aril dan kulit buah manggis.

Kata kunci: Cemaran getah kuning, kalsium, aril, perikarp, dolomit, kaptan.

### ABSTRACT

Gamboge disorder is a major problem limiting marketable yield of mangosteen fruit. This problem is hypothesized to be associated with low calcium content in fruit pericarp. Due to that the calcium is immobile nutrient which its absorption is strongly influenced by transpiration, it is not easy to increase the calcium content the pericarp. The purpose of this study was: (1) to prove the role of calcium in controlling gamboge in mangosteen fruits, (2) to investigate the proper time of soil application of calcium that effective to control gamboge; (3) to investigate the source and dosage of calcium that effective control gamboge. To achieve this goal, three experiments were conducted. Experiment I was spraying the mangosteen fruit with  $\text{CaCl}_2$  2, 4, or 6 times at the dosage of 0, 12, 24 and 36 g/l. Experiment II was application of kaptan (1) no calcium fertilizer as control, (2) at anthesis stage, (3) at the beginning of stage 1 of fruit growth (14 days after anthesis), (4) at the end of stage 1 (28 days after anthesis), (5) at anthesis and the beginning of stage 1, (6) at anthesis and the end of stage 1, (7) at the beginning and end of stage 1, (8) at anthesis, beginning and end of stage 1. Experiment III was application of dolomite or kaptan (at 0, 2, 4, 6 ton/ha Ca). Result indicated that calcium was had

positive role in controlling gamboge of mangosteen fruits. Spraying of  $\text{CaCl}_2$  six times at 24 g/l is effective to reduce yellow latex in fruit pericarp without hardening the pericarp at harvest time and after 20 days storage. Soil application of calcium 2 times at anthesis and the end of stage1 effectively reduced yellow latex in aryl, pericarp, and increased calcium in endocarp. Application of 9 ton/ha dolomite (2 ton Ca/ha) could reduce gamboge in aril and fruit peel of mangosteen.

Keywords: Gamboge disorder, calcium, aryl, pericarp, dolomite, kaptan.

## **PENDAHULUAN**

Getah kuning pada daging buah manggis merupakan masalah utama dalam ekspor manggis. Dari penelitian kami sebelumnya telah dipelajari anatomi saluran getah kuning serta kemungkinan mekanisme pecahnya saluran getah (Dorly *et al.*, 2008 dan Poerwanto *et al.*, 2010). Kekurangan kalsium nampaknya berperan besar dalam pencemaran getah kuning. Pemberian kalsium umumnya dilakukan melalui tanah dengan pengapuran atau pemupukan Ca. Dari hasil penelitian sebelumnya ternyata pemberian kalsium dengan cara pengapuran dolomit yang diberikan pada satu kali aplikasi tidak efektif meningkatkan kandungan kalsium pada perikarp, karena sebagian besar kalsium tersebut ditranslokasikan ke daun (Wulandari dan Poerwanto, 2010 dan Dorly *et al.*, 2011). Untuk membuktikan hipotesis bahwa cemaran getah kuning berhubungan dengan defisiensi kalsium, perlu dilakukan percobaan dengan memberikan kalsium langsung pada buah.

Penyebab kurang berpengaruhnya aplikasi kalsium lewat tanah pada percobaan sebelumnya mungkin karena sebagian besar kalsium yang diaplikasikan diserap oleh daun akibat pengaplikasian dolomit yang terlalu awal. Oleh sebab itu, aplikasi kalsium pada priode perkembangan buah yang tepat menjadi sangat penting untuk mendapatkan pengaruh maksimal dalam mengurangi getah kuning pada buah. Aplikasi kalsium secara berulang perlu dilakukan; pada aplikasi pertama sebagian besar kalsium akan ditranslokasikan ke daun, namun apabila kalsium di daun sudah optimum, pada aplikasi selanjutnya diharapkan kalsium ditranslokasikan juga ke buah.

Sumber Cayang digunakan pada percobaan sebelumnya adalah dolomit yang mengandung 32% CaO dan 18% MgO.  $\text{Mg}^{++}$  memiliki efek antagonis

dengan  $\text{Ca}^{++}$  (Poovarodom, 2009), yang menyebabkan serapan  $\text{Ca}^{++}$  oleh tanaman tidak maksimal. Sumber Ca yang lain adalah kapur pertanian yang termasuk kalsitik karena mengandung  $\text{CaCO}_3$  tidak murni dengan kandungan 40%CaO. Serapan  $\text{Ca}^{++}$  oleh tanaman diharapkan dapat lebih baik karena tidak adanya unsur lain sebagai kompetitor. Penelitian ini bertujuan untuk: (1) menguji kebenaran hipotesis bahwa peningkatan kandungan kalsium dapat mengurangi cemaran getah kuning; (2) mendapatkan teknik aplikasi kalsium yang efektif meningkatkan kandungan kalsium dalam perikarp buah manggis sehingga dapat mengurangi cemaran getah kuning, baik pada aril maupun kulit buah.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di kebun manggis Desa Mulang Maya, Lampung, mulai bulan Januari - Juni 2011. Pengukuran fisik buah dilaksanakan di Lab. Pusat Kajian Buah Tropika IPB. Analisis Cadaun dilakukan di Lab. Tanah, Balai Penelitian Tanah, Bogor. Analisis Cakulit dilakukan di Lab. Ilmu dan Teknologi Pakan, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, IPB.

**Percobaan I** menggunakan rancangan percobaan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu frekuensi penyemprotan  $\text{CaCl}_2$  ke buah manggis, ialah: 2 kali (10 dan 12 MSA), 4 kali (6, 8, 10 dan 12 MSA) dan 6 kali (2, 4, 6, 8, 10 dan 12 MSA). Faktor kedua yaitu konsentrasi  $\text{CaCl}_2$  ialah: 0, 12, 24 dan 36 g/l. Total kombinasi perlakuan adalah 12 dan diulang sebanyak tiga kali. Setiap perlakuan terdiri dari satu pohon sehingga jumlah seluruh pohon yang digunakan adalah 36 pohon. Setiap pohon diambil sampel buah sebanyak 40 buah manggis.

**Percobaan II** menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor perlakuan yaitu waktu aplikasi kalsium pada pohon manggis, yang terdiri atas: (1) Kontrol tidak diberi kalsium; (2) Pada saat antesis; (3) Pada saat awal stadia 1 perkembangan buah (14 hari setelah antesis); (4) Pada saat akhir stadia 1 perkembangan buah (28 hari setelah antesis); (5) Pada saat antesis dan awal stadia 1 perkembangan buah; (6) Pada saat antesis dan akhir stadia 1 perkembangan buah; (7) Pada saat awal dan akhir stadia 1 perkembangan buah; (8)



Pada saat antesis, awal dan akhir stadia 1 perkembangan buah. Perlakuan 2, 3 dan 4 diberikan Ca dosis penuh sebanyak 17 kg kaptan/pohon (10,27 ton kaptan/ha = 3,5 ton  $\text{Ca}^{2+}$ /ha); perlakuan 5, 6, dan 7 diberikan  $\frac{1}{2}$  dosis penuh setiap kali aplikasi; perlakuan 8 diberikan  $\frac{1}{3}$  dosis penuh setiap kali aplikasi. Tiap perlakuan diulang 3 kali sehingga jumlah keseluruhan pohon adalah 24 pohon.

**Percobaan III** menggunakan rancangan acak kelompok faktorial yang terdiri atas 2 faktor yaitu sumber kalsium (kaptan dan dolomit) pada pohon manggis dan dosis kalsium (0, 2, 4 dan 6 ton  $\text{ha}^{-1}$  Ca). Terdapat 8 kombinasi perlakuan yang diulang 3 kali sehingga terdapat 24 satuan percobaan.

Pada semua percobaan jika hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh pada uji F akan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5% atau 1%. Data skoring diuji menggunakan uji peringkat *Kruskal Wallis* dan jika perlakuan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut *Dunn* taraf 5%.

Pengamatan terhadap cemaran getah kuning dilakukan terhadap jumlah juring tercemar getah kuning; skor getah kuning aril per buah, skor getah kuning kulit per buah, persentase buah bergetah kuning pada aril, persentase buah bergetah kuning pada kulit, kandungan kalsium di daun dan kulit. Pengamatan terhadap sifat fisik dan kimia buah dilakukan saat panen juga dilakukan, tetapi tidak dilaporkan dalam makalah ini kecuali peubah resistensi kulit.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Percobaan I

Penyemprotan Ca dapat menurunkan pencemaran getah kuning baik pada aril maupun kulit buah manggis. Persentase buah bergetah kuning pada aril yang rendah (10 %) didapatkan pada frekuensi penyemprotan 6 kali dengan konsentrasi 24  $\text{g l}^{-1}$ , dengan skor 1.17 yang berarti bahwa hampir tidak ada tetesan getah kuning yang mencemari aril.

Perlakuan konsentrasi  $\text{CaCl}_2$  berpengaruh terhadap persentase juring tercemar getah kuning (Tabel 2). Pada penyemprotan dengan konsentrasi 24 dan 36  $\text{g l}^{-1}$  persentase juring tercemar getah kuning berturut-turut 7% dan 8%, sedangkan pada konsentrasi 0% buah yang tercemar getah kuning mencapai 21%.

Tabel 1. Pengaruh penyemprotan Ca terhadap vskoring vgetah vkuning dan persentase buah bergetah kuning di aril; skoring getah kuning dan persentase buah bergetah kuning di kulit.

Perlakuan		Skor getah kuning aril (1-5)		%tase buah bergetah kuning di aril	Skor getah kuning kulit (1-5)		%tase buah bergetah kuning di kulit
Frekuensi	Konsentrasi	Skoring	Peringkat		Skoring	Peringkat	
2 kali	0 g l <sup>-1</sup>	2.27	241.6 a	73.33 a	2.20	247.0 a	83.33 a
	12 g l <sup>-1</sup>	1.53	167.0 abcd	46.67 b	1.87	206.5 ab	63.33 b
	24 g l <sup>-1</sup>	1.67	177.6 abc	43.33 b	1.40	149.3 bc	40.00 c
	36 g l <sup>-1</sup>	1.47	153.2 bcd	33.33 b	1.43	150.2 bc	36.67 c
4 kali	0 g l <sup>-1</sup>	2.43	253.7 a	80.00 a	2.27	253.1 a	86.67 a
	12 g l <sup>-1</sup>	1.90	211.0 ab	66.61 a	1.60	175.9 bc	53.33 b
	24 g l <sup>-1</sup>	1.50	158.0 bcd	40.00 b	1.43	157.5 bc	43.33 c
	36 g l <sup>-1</sup>	1.27	133.0 cd	24.67 c	1.37	142.0 bc	33.33 c
6 kali	0 g l <sup>-1</sup>	2.00	223.2 a	73.33 a	2.37	262.3 a	86.61 a
	12 g l <sup>-1</sup>	1.73	187.2 abc	50.00 b	1.40	145.0 bc	33.33 c
	24 g l <sup>-1</sup>	1.17	115.2 d	10.00 d	1.30	131.7 c	26.61 d
	36 g l <sup>-1</sup>	1.47	145.2 cd	30.00 c	1.40	145.0 bc	33.33 c

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom skor getah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Dunn 5%; angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom %tase buah bergetah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Tabel 2. Pengaruh penyemprotan Ca terhadap persentase juring tercemar getah kuning.

Perlakuan	Persentase juring tercemar (%)
Frekuensi	
2 kali	14
4 kali	13
6 kali	11
Konsentrasi	
0 g l <sup>-1</sup>	21a
12 g l <sup>-1</sup>	13b
24 g l <sup>-1</sup>	7c
36 g l <sup>-1</sup>	8c

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom persentase juring tercemar menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Penyemprotan CaCl<sub>2</sub> berpengaruh nyata terhadap kandungan Ca pada bagian-bagian kulit buah (Tabel 3). Pada endokarp, peningkatan kandungan Ca yang nyata lebih tinggi terlihat pada frekuensi penyemprotan 2 kali dengan

konsentrasi 12 dan 36 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>; 4 kali dengan konsentrasi 36 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>; 6 kali dengan konsentrasi 24 dan 36 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> bila dibanding dengan perlakuan lainnya.

Peningkatan kandungan Ca melalui penyemprotan telah dilaporkan pada buah tomat (Astuti, 2002), manggis (Barasa, 2009) dan Ghani, 2011). Ca masuk ke dalam buah melalui kutikula, trikoma dan stomata, dan masuk secara difusi melalui apoplas, yaitu melalui dinding sel dan ruang antar sel hingga ke bagian endokarp buah (Saure, 2005). Ca akan berikatan dengan pektat dan membentuk Ca pektat yang berperan dalam menjaga turgiditas sel.

Tabel 3. Pengaruh penyemprotan Ca terhadap kandungan Ca pada bagian-bagian kulit buah.

Perlakuan		Kalsium (%)		
Frekuensi	Konsentrasi	Endokarp	Mesokarp	Eksokarp
2 kali	0 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.61 bc	0.47 b	0.49 b
	12 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	1.05 a	0.42 c	0.49 b
	24 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.65 bc	0.46 b	0.57 b
	36 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.96 a	0.47 c	0.52 b
4 kali	0 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.47 bc	0.36 c	0.65 ab
	12 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.36 c	0.66 b	0.60 b
	24 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.51 bc	0.47 c	0.52 b
	36 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	1.18 a	0.66 b	0.61 b
6 kali	0 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.54 bc	0.97 a	0.42 b
	12 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.47 bc	0.43 c	0.92 a
	24 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	1.17 a	0.96 a	0.61 b
	36 g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	0.79 ab	0.45 c	0.76 ab

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Kandungan Ca pada endokarp berkorelasi nyata dengan skor getah kuning aril (-0.61); persentase buah bergetah kuning di aril (-0.64); persentase juring tercemar getah kuning (-0.51); persentase buah bergetah kuning di kulit (-0.36). Korelasi ini menunjukkan bahwa semakin meningkat kandungan Ca pada endokarp maka skoring, persentase buah dan persentase juring tercemar getah kuning semakin rendah. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kandungan Ca yang meningkat menyebabkan penurunan cemaran getah kuning, sehingga

memastikan peran kalsium dalam mengendalikan cemaran getah kuning pada manggis. Tahap berikut yang perlu dilakukan adalah mencari teknik aplikasi kalsium yang efektif, karena aplikasi dengan penyemprotan langsung ke buah tidak praktis dan tidak mungkin dilakukan pada tanaman manggis dewasa yang tingginya dapat mencapai > 10 m.

## **Percobaan II**

Percobaan ini dilakukan untuk mencari waktu aplikasi kalsium melalui tanah yang tepat. Pada percobaan sebelumnya (Wulandari dan Poerwanto, 2010 dan Dorly *et al.*, 2011) aplikasi dolomit yang dilakukan satu kali sebelum berbunga atau pada saat anthesis tidak efektif meningkatkan kandungan Ca pada kulit buah maupun menurunkan cemaran getah kuning pada aril. Karakter Ca yang immobil dan ditraslokasikan dalam jaringan tanaman melalui aliran transpirasi yang menyebabkan kesulitan ini. Dalam penelitian ini Ca diberikan saat buah menjadi sink yang kuat dan diberikan secara berulang.

Skoring getah kuning aril nyata lebih tinggi pada pemberian Ca saat akhir stadia 1 dan pemberian Ca yang berulang dibandingkan dengan kontrol. Jumlah juring tercemar dan persentase buah bergetah kuning pada aril nyata lebih rendah pada pemberian Ca saat akhir stadia 1 dan pemberian Ca yang berulang dibandingkan dengan kontrol (Tabel 4).

Pada aplikasi Ca 2 atau 3 kali, persentase buah bergetah kuning pada aril hanya berkisar 17%, sedangkan pada pemberian Ca satu kali saat anthesis mencapai 40%, sedangkan kontrol mencapai 50% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan adanya tingkat penurunan pencemaran getah kuning dengan pemberian Ca berulang. Penurunan ini berkaitan dengan peningkatan kandungan Ca buah.

Kalsium merupakan salah satu unsur hara makro yang bersifat *immobil* dalam tanaman, sehingga Ca harus diberikan pada saat dibutuhkan. Selama perkembangan buah manggis, kebutuhan Ca pada dinding sel mengalami peningkatan dan akan menurun menjelang pemasakan (Rigney dan Wills 1981; Poovarodom, 2009). Perbedaan laju pembelahan dan pembesaran sel selama perkembangan buah akan mempengaruhi kebutuhan Ca sehingga akan berpengaruh pula terhadap serapannya pada setiap stadia perkembangan buah. Saat laju pembelahan dan

pembesaran sel yang tinggi, maka buah akan menjadi *sink* yang kuat bagi *nutrient* termasuk Ca. Pemberian Ca pada saat ini akan membuat penyerapannya ke buah lebih baik. Pada buah tomat, Ca yang meningkat tajam pada membran plasma selamatahap pertumbuhan cepat dari buah dibandingkan pada tahap awal (Suzuki *et al.*, 2003).

Tabel 4. Pengaruh waktu aplikasi Ca terhadap skoring dan persentase getah kuning aril, dan jumlah juring tercemar getah kuning.

Perlakuan Kalsium	Skor Getah Kuning		Juring tercemar	% Getah Kuning*
	Rataan	Peringkat		
Kontrol (tidak diberi kalsium)	3.97	88.63 b	0.16 a	50.00 a
Pada saat antesis	4.40	106.53 b	0.12 ab	40.00 ab
Pada saat awal stadia 1 (14 HSA)	4.10	87.40 b	0.19 a	53.33 a
Pada saat akhir stadia 1 (28 HSA)	4.77	134.23 a	0.04 bc	16.66 bc
Pada saat antesis dan awal stadia 1	4.70	132.73 a	0.05 bc	16.66 bc
Pada saat antesis dan akhir stadia 1	4.90	143.10 a	0.03 bc	10.00 c
Pada saat awal dan akhir stadia 1	4.83	136.17 a	0.03 c	16.66 bc
Pada saat antesis, awal & akhir stadia 1	4.80	135.20 a	0.04 bc	16.66 bc

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom skor getah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Dunn* 5%; pada kolom juring tercemar dan % getah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji *DMRT* 1%. \*data yang diolah adalah transformasi menggunakan  $\sqrt{x+0.5}$ , data yang disajikan adalah sebelum transformasi.

Pemberian Ca saat antesis+akhir stadia 1; akhir+awal stadia 1; saat antesis+awal dan akhir stadia 1 menunjukkan skoring getah kuning kulit yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Persentase buah bergetah kuning pada kulit nyata lebih rendah pada pemberian Ca saat antesis+akhir stadia 1; dan saat akhir+awal stadia 1 dibandingkan dengan kontrol yang mencapai 90 %.

Aplikasi Ca hanya satu kali tidak efektif menurunkan pencemaran getah kuning kulit, sedangkan pemberian dua atau tiga kali dapat menurunkan persentase getah kuning kulit 60%. Aplikasi kalsium secara berulang perlu dilakukan; pada aplikasi pertama sebagian besar kalsium akan ditranslokasikan ke daun, namun apabila kalsium di daun sudah optimum, pada aplikasi selanjutnya kalsium ditranslokasikan juga ke buah. Menurut Poovarodom (2009), 65% akumulasi Ca terjadi dalam 7 minggu setelah *fruitset* yaitu pada stadia 1 sampai pertengahan stadia 2 perkembangan buah. Pada stadia 1 terjadi proses pembelahan sel; stadia 2

terjadi pembelahan dan pembesaran sel yang ditandai dengan peningkatan berat segar secara linier dengan umur buah. Pemberian Ca saat antesis+akhir stadia 1 akan memenuhi kebutuhan Ca buah saat stadia pertumbuhan cepat (stadia 1 sampai pertengahan stadia 2). Pada saat itu, laju serapan Ca ke buah lebih tinggi karena buah menjadi *sink* yang kuat sehingga pencemaran getah kuning menurun.

Tabel 5. Pengaruh waktu aplikasi Ca terhadap skoring dan persentase getah kuning kulit.

Perlakuan Kalsium	Skor Getah Kuning		Persentase Getah Kuning
	Rataan	Peringkat	
Kontrol (tidak diberi kalsium)	3.90	110.90 b	90.00 a
Pada saat antesis	3.73	98.15 b	86.66 a
Pada saat awal stadia 1 (14 HSA)	3.80	101.55 b	96.66 a
Pada saat akhir stadia 1 (28 HSA)	3.90	113.38 b	83.33 a
Pada saat antesis dan awal stadia 1	3.60	95.27 b	76.66 ab
Pada saat antesis dan akhir stadia 1	4.27	145.43 a	60.00 b
Pada saat awal dan akhir stadia 1	4.40	157.65 a	56.66 b
Pada saat antesis, awal & akhir stadia 1	4.23	141.67 a	76.66 ab

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom skor getah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Dunn* 5%; pada kolom % getah kuning menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 1%.

Pemberian Ca saat antesis+akhir stadia 1; antesis+awal dan akhir stadia 1 menunjukkan peningkatan kandungan Ca endokarp yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Kandungan Ca mesokarp tertinggi pada pemberian Ca saat antesis+akhir stadia 1 sebesar 0.575 %, tetapi tidak berbeda nyata dengan kontrol. Kandungan Ca eksokarp tertinggi pada pemberian Ca saat antesis+awal dan akhir stadia 1 sebesar 0.425 %, namun tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Hasil uji korelasi beberapa peubah menunjukkan bahwa kandungan Ca endokarp memiliki korelasi yang nyata terhadap skor getah kuning aril (-0.41) dan juring tercemar (0.41); dimana peningkatan Ca endokarp akan diikuti dengan peningkatan skor getah kuning aril dan penurunan juring tercemar getah kuning. Hubungan korelasi ini berarti bahwa peningkatan Ca di endokarp akan menurunkan tingkat pencemaran getah kuning pada aril. Hal ini dapat dilihat pada pemberian Ca saat antesis+akhir stadia I, kandungan Ca endokarp yang tinggi

mengakibatkan penurunan pencemaran getah kuning aril yang dibuktikan dengan peningkatan skoring dan penurunan juring tercemar getah kuning.

Tabel 6. Pengaruh waktu aplikasi Ca terhadap kandungan Ca di kulit.

Perlakuan Kalsium	Kalsium (%)		
	Endokarp**	Mesokarp**	Eksokarp*
Kontrol (tidak diberi kalsium)	0.800 bc	0.539 ab	0.333 ab
Pada saat antesis	0.853 bc	0.430 c	0.345 ab
Pada saat awal stadia 1 (14 HSA)	0.890 bc	0.428 c	0.275 b
Pada saat akhir stadia 1 (28 HSA)	1.095 ab	0.540 ab	0.370 ab
Pada saat antesis dan awal stadia 1	0.660 c	0.425 c	0.267 b
Pada saat antesis dan akhir stadia 1	1.265 a	0.575 a	0.327 ab
Pada saat awal dan akhir stadia 1	1.067 ab	0.475 bc	0.313 b
Pada saat antesis, awal & akhir stadia 1	1.185 a	0.475 bc	0.425 a

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5% (\*) dan 1% (\*\*).

Tabel 7. Korelasi skor, persentase getah kuning aril dan jumlah juring tercemar terhadap Ca kulit.

Peubah	Koefisien Korelasi		
	Aril		
	Skoring	Persentase	Juring tercemar
Ca eksokarp	0.10 tn	-0.10 tn	-0.18 tn
Ca mesokarp	0.20 tn	-0.28 tn	-0.24 tn
Ca endokarp	0.41*	-0.38 tn	-0.41 *

Keterangan:

tn= tidak berbeda nyata, \* = berbeda nyata pada taraf 5%,\*\* = berbeda nyata pada taraf 1%.

### Percobaan III

Percobaan ini dilakukan untuk mengetahui sumber kalsium dan dosis yang tepat untuk mengendalikan cemaran getah kuning. Pada percobaan sebelumnya (Wulandari dan Poerwanto, 2010 dan Dorly *et al.*, 2011) aplikasi dolomit tidak efektif meningkatkan kandungan Ca pada kulit buah dan menurunkan cemaran getah kuning pada aril. Hal ini diduga karena dolomit mengandung  $Mg^{++}$  yang menghambat serapan  $Ca^{++}$  oleh tanaman.

Hasil penelitian ini membuktikan dua hal: (1) aplikasi kalsium dapat mengurangi cemaran getah kuning pada aril dan kulit buah manggis, dan (2) aplikasi dolomit lebih efektif daripada kaptan dalam mengurangi cemaran getah kuning pada manggis. Skor getah kuning aril terbaik diperoleh pada aplikasi dolomit dengan dosis 2 ton Ca/ha, meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan kaptan dengan dosis 6 ton Ca/ha. Perlakuan dolomit dengan dosis 2 ton Ca/ha menghasilkan jumlah juring bergetah kuning paling sedikit, meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan kaptan dengan dosis 6 ton Ca/ha (Tabel 8).

Tabel 8. Pengaruh sumber dan dosis kalsium terhadap cemaran getah kuning aril

Sumber kalsium	Dosis kalsium	Skor getah kuning aril			Jumlah juring bergetah kuning	Persentase buah bergetah kuning pada aril (%)
		Rataan	Peringkat	Ket		
Kaptan	0	3.13	109.92	c	0.50 ab	83.33 a
	2	3.86	132.23	bc	0.25 bcd	60.00 ab
	4	2.93	91.77	cd	0.46 b	73.33 ab
	6	4.60	166.75	ab	0.01 d	33.33 bc
Dolomit	0	3.36	112.23	cd	0.90 a	70.00 ab
	2	4.96	190.00	a	0.03 cd	3.33 c
	4	2.30	63.55	d	0.59 ab	56.67 ab
	6	3.03	97.45	cd	0.43 cd	80.00 a

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda, berbeda nyata berdasarkan uji Dunn (skor getah kuning aril) dan uji DMRT (jumlah juring bergetah kuning dan persentase getah kuning aril) pada taraf 1%.

Perlakuan dosis kalsium sebesar 2 ton ha<sup>-1</sup> dengan sumber kaptan maupun dolomit menghasilkan skor getah kuning kulit terbaik dan persentase buah bergetah kuning pada kulit terendah (Tabel 9). Dengan demikian aplikasi kaptan maupun dolomit dengan dosis 2 ton Ca ha<sup>-1</sup> dapat mengendalikan cemaran getah kuning pada kulit buah.

Kandungan kalsium pada endokarp dan mesokarp tidak dipengaruhi oleh sumber kalsium, sedangkan kalsium pada eksokarp dipengaruhi oleh sumber kalsium (Tabel 10). Sumber kalsium dolomit secara nyata meningkatkan kandungan kalsium eksokarp lebih tinggi dibandingkan kaptan.



Tabel 9. Pengaruh sumber dan dosis kalsium terhadap cemaran getah kuning pada kulit buah

Perlakuan		Skor getah kuning kulit buah			Persentase getah kuning kulit buah (%)	
Sumber kalsium	Dosis kalsium	Rataan	Peringkat	Ket		
Kaptan	0	3.97	92.58	bc	70.00	a
	2	4.93	106.20	a	10.00	c
	4	3.10	74.12	c	73.33	a
	6	3.77	97.45	bc	56.67	ab
Dolomit	0	3.40	74.47	c	83.33	a
	2	4.97	167.38	a	6.70	c
	4	4.40	131.07	d	33.33	b
	6	4.80	160.73	a	13.33	c

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5% (\*) dan 1% (\*\*).

Tabel 10. Pengaruh perlakuan terhadap kandungan kalsium pada perikarp buah

Perlakuan	Kandungan kalsium (%)		
	Endokarp	Mesokarp	Eksokarp
Sumber kalsium			
Kaptan	0.90	0.51	0.53 b
Dolomit	0.89	0.62	0.68 a
Dosis kalsium			
0 ton Ca ha <sup>-1</sup>	0.96 ab	0.58	0.50 b
2 ton Ca ha <sup>-1</sup>	1.02 a	0.65	0.68 a
4 ton Ca ha <sup>-1</sup>	0.75 b	0.44	0.55 ab
6 ton Ca ha <sup>-1</sup>	0.86 ab	0.59	0.66 a

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5% (\*) dan 1% (\*\*).

Peningkatan kandungan kalsium pada buah tomat yang diberi pupuk kalsium-magnesium lebih tinggi dibandingkan tanaman yang hanya diberi pupuk kalsium tunggal (Aghofack-Nguemezi dan Tatchago, 2010). Sifat antagonis antara kalsium dan magnesium justru dapat berpengaruh positif terhadap translokasi kalsium ke buah. Magnesium merupakan unsur yang berfungsi menstimulasi enzim pada tanaman, salah satunya adalah fosfatase yang berperan dalam sintesis ATP yang merupakan sumber energi bagi berbagai proses metabolisme. Energi ATP diperlukan untuk efluksi Ca<sup>2+</sup> dari vakuola ke sitosol, maupun dari sitosol ke mikrofibril (Taiz dan Zeiger, 1991). Keseimbangan konsentrasi kalsium dan

magnesium diperlukan untuk meningkatkan translokasi kalsium ke buah. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Hao dan Papadopoulos (2004), yang menunjukkan bahwa pencegahan *blossom end rot* pada tomat yang disebabkan defisiensi kalsium, lebih efektif menggunakan larutan nutrisi yang mengandung  $800 \text{ mg L}^{-1}$  Ca dan  $80 \text{ mg L}^{-1}$  Mg. Peningkatan konsentrasi magnesium menyebabkan translokasi nutrisi dan fotosintat ke buah lebih tinggi daripada ke daun.

Kandungan kalsium pada endokarp berpengaruh sangat nyata terhadap skor getah kuning aril dengan koefisien korelasi sebesar 0.61 (Tabel 11), karena endokarp merupakan bagian kulit buah (perikarp) yang terdalam dan paling dekat dengan aril. Skor getah kuning kulit dipengaruhi oleh kandungan kalsium pada eksokarp, karena eksokarp merupakan bagian terluar dari kulit buah manggis.

Kalsium eksokarp, mesokarp dan endokarp berkorelasi positif dengan skor getah kuning aril dan kulit buah, yang berarti bahwa peningkatan kalsium akan meningkatkan skor getah kuning. Peningkatan skor getah kuning menunjukkan peningkatan kualitas buah, karena semakin tinggi skor, maka getah kuning semakin sedikit dan kualitas buah semakin baik. Nilai negatif pada jumlah juring bergetah kuning serta persentase getah kuning aril dan kulit buah menunjukkan bahwa semakin tinggi kalsium eksokarp, mesokarp dan endokarp, maka jumlah juring bergetah kuning dan persentase getah kuning pada aril maupun kulit buah semakin berkurang.

Tabel 11. Variabel yang mempengaruhi cemaran getah kuning

Peubah	Koefisien Korelasi				
	Skor getah kuning aril	Jumlah juring bergetah kuning	Persentase getah kuning aril	Skor getah kuning kulit	Persentase getah kuning kulit
Ca eksokarp	0.70**	-0.42 *	-0.58 *	0.79**	-0.51 **
Ca mesokarp	0.39 *	-0.29 tn	-0.35 tn	0.23 tn	-0.26 tn
Ca endokarp	0.61**	-0.33 tn	-0.37 tn	0.03 tn	-0.06 tn

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5% (\*) dan 1% (\*\*).

## KESIMPULAN

Kalsium terbukti berpengaruh terhadap cemaran getah kuning pada buah manggis; Pemberian kalsium, baik secara langsung dengan penyemprotan pada buah maupun pemberian lewat tanah pada saat yang tepat dengan dosis dan sumber kalsium yang tepat, dapat menurunkan cemaran getah kuning pada buah manggis; Penambahan Ca saat antesis+akhir stadia 1 dapat meningkatkan kandungan Ca endokarp serta menurunkan pencemaran getah kuning aril dan kulit; Dolomit dengan dosis 2 ton Ca ha<sup>-1</sup> efektif mengendalikan cemaran getah kuning pada aril dan kulit buah.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana karena dukungan dana dari Proyek Penelitian Hibah Pasca Sarjana no Kontrak **Nomor: 9/13.24.4/SPK/PD/2010 tanggal 5 Maret 2010 dan Nomor: 40/13.24.4/SPP/PHPS/2011 tanggal 28 Maret 2011**. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aghofack-Nguemezi and V. Tatchago. 2010. Effects of fertilizers containing calcium and/or magnesium on the growth, development of plants and the quality of tomato fruits in the western highlands of Cameroon. *Int. J. Agric. Res.* 5:821-831.
- Astuti YA. 2002. Pengaruh frekuensi aplikasi CaCl<sub>2</sub> prapanen terhadap kualitas dan daya simpan buah tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). [skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Dorly S, Tjitrosemito S, Poerwanto R, dan Juliarni. 2008. Secretory duct structure and phytochemistry compounds of yellow latex in mangosteen fruit. *Hayati Journal of Biosciences* 15:99-104.
- Dorly, I. Wuldanari, S. Tjitrosemito, R. Poerwanto, dan D. Efendi. 2011. Studi pemberian kalsium untuk mengatasi getah kuning pada buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *J. Agron. Ind.*:49-55.
- Ghani MAA, Awang Y, dan Sijam K. 2011. Disease occurrence and fruit quality of pre-harvest calcium treated red flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(9), hlm 1550-1558.

- Hao X. and Papadopoulos AP. 2004. Effects of calcium and magnesium on plant growth, biomass partitioning, and fruit yield of winter greenhouse tomato. *Hort Sci.* 39:512-515.
- Poovarodom S. 2009. Growth and nutrient uptake into mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit. *Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*; UC Davis. 15 April 2009. UC Davis: Department of Plant Science. [terhubung berkala]. <http://www.escholarship.org/> [06 Juni 2010].
- Poerwanto R, Dorly, dan Maad M. 2010. Getah kuning pada buah manggis. Prosiding Seminar Nasional Hortikultura-Indonesia; Bali, 25-26 Nopember 2010. hlm 255-260.
- Rigney CJ and Wills RBH. 1981. Calcium movement, a regulating factor in the initiation of tomato fruit ripening. *HortSci* 16(4):550-551.
- Saure MC. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae* 105: 65-89.
- Suzuki K, Shono M, and Egawa Y. 2003. Localization of calcium in the pericarp cells of tomato fruits during the development of blossom-end rot. *Protoplasma* 222(3-4):149-156.
- Taiz L and Zeiger E. 1991. *Plant Physiology*. New York: Cummings Publishing Co, Inc. 590 p.
- Wulandari, I. dan R. Poerwanto. 2010. Pengaruh aplikasi kalsium terhadap getah kuning pada buah manggis. *J. Hort. Ind.* 1(1):27-31.

**PENGARUH LINGKUNGAN (SIFAT FISIK DAN KIMIA TANAH SERTA IKLIM) TERHADAP CEMARAN GETAH KUNING BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)**

(Effects of the Environments (Physical dan Chemical Properties of the Soil, dan the Climate) on Gamboge of Mangosteen Fruits

**Roedhy Poerwanto<sup>1)</sup>, Martias<sup>2)</sup>, Syaiful Anwar<sup>3)</sup>, M. Jawal A. Syah<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Dep. Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB,

<sup>2)</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan, Kementan

<sup>3)</sup>Dep. Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian, IPB

**ABSTRAK**

Getah kuning pada daging buah manggis merupakan masalah utama dalam ekspor manggis. Getah kuning sebenarnya adalah getah yang dihasilkan secara alami pada setiap organ manggis, kecuali pada akar. Getah kuning menjadi persoalan manakala getah ini keluar dari salurannya yang pecah dan mengotori aril (daging buah) atau kulit buah manggis. Saluran getah kuning yang pecah berkaitan dengan pecahnya dinding sel epitel penyusun saluran getah kuning diduga kuat dipengaruhi oleh ketersediaan hara, terutama Ca dan B, dan keseimbangan antar hara di dalam tanah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara komprehensif peranan unsur hara dalam tanah dan kulit manggis dalam mengendalikan cemaran getah kuning pada buah manggis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketersediaan Ca dan B di tanah dan akumulasi kedua hara tersebut di jaringan endokarp berperan langsung menurunkan cemaran getah kuning, sedangkan hara Mn berperan sebaliknya. Keterkaitan ketersediaan hara di tanah dan akumulasinya di jaringan endokarp mendukung bukti bahwa tiga jenis hara, yaitu Ca, B, dan Mn adalah kunci utama dalam mengendalikan cemaran getah kuning.

Kata kunci: Kalsium, boron, mangan, sel epitel, endokarp.

**ABSTRACT**

Yellow sap (gamboge) on mangosteen fruit aryl is a major problem in the export of mangosteen. Yellow sap is actually produced naturally in every organ of mangosteen, except at the root. Yellow sap become a problems when the sap is speel out of the broken channel dan gum up the aryl (meat pieces) or the skin of the mangosteen fruit. Broken of the yellow sap channel is hyphotized to be associated with the availability of nutrients, especially Ca dan B, dan the balance between nutrients in the soil. This study aims to determine comprehensively the role of nutrients in the soil dan the peel (pericarp) of the mangosteen fruit in controlling the gamboge of the mangosteen fruit. The results showed that the availability of Ca dan B in soil dan nutrient accumulation in the tissues both contribute directly reduce gamboge, whereas the opposite role of nutrient Mn. Linking nutrient availability in soil dan its accumulation in endocarp tissues supporting evidence that the three nutrients, namely Ca, B, dan Mn is the main key in controlling gamboge in mangosteen fruits.

Keywords: Calcium, boron, manganese, ephylelium cells, endocarp.

## PENDAHULUAN

Getah kuning pada daging buah manggis merupakan masalah utama dalam ekspor manggis. Adanya cemaran getah kuning pada daging buah manggis menyebabkan daging buah menjadi pahit dan tidak bisa dikonsumsi. Getah kuning sebenarnya adalah getah yang dihasilkan secara alami pada setiap organ manggis, kecuali pada akar. Getah kuning menjadi persoalan manakala getah ini keluar dari salurannya yang pecah dan mengotori aril (daging buah) atau kulit buah manggis. Dari penelitian kami sebelumnya telah dipelajari anatomi saluran getah kuning beserta proses pembentukan saluran serta kemungkinan mekanisme pecahnya saluran getah (Dorly *et al.*, 2008, Poerwanto *et al.*, 2010).

Saluran getah kuning yang pecah berkaitan dengan pecahnya dinding sel dan diduga kuat dipengaruhi oleh ketersediaan hara, terutama Ca dan B, keseimbangan antar hara di dalam tanah, sifat fisika tanah, serta sinergi antara sifat kimia dan fisika tanah (Poerwanto *et al.*, 2010). Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) berperan penting mengatur stabilitas membran sel, dinding sel, integritas sel tanaman, dan cekaman biotik dan abiotik (Hirschi, 2004). Defisiensi  $\text{Ca}^{2+}$ , dapat menyebabkan disintegrasi dinding sel dan matinya jaringan tanaman (Kirby dan Pilbean, 1984). Kalsium terlibat di dalam konstruksi dari dinding sel dan komponen utama yang berperan untuk sifat mekanis dari jaringan tumbuhan dan paling ekstensif dipelajari dalam kaitannya dengan keretakan buah (Shear, 1975; Huang *et al.*, 2005). Dorly *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa pemberian kalsium dalam bentuk dolomit hanya mampu mengurangi skor cemaran getah kuning pada kulit buah tetapi tidak efektif menurunkan getah kuning pada daging buah.

Boron juga diduga kuat berkontribusi dalam memicu timbulnya cemaran getah kuning, karena B merupakan bagian dari komponen struktural sel (Hu dan Brown, 1994; Brown dan Hu, 1996). Defisien boron menyebabkan melemahnya dinding sel dan sel mati karena lepasnya organel-organel sel, yang diindikasikan oleh pecahnya dinding sel (Fleischer *et al.*, 1998). Defisiensi boron menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia, meliputi perubahan struktur dinding sel, perubahan fungsi dan integritas membran, perubahan aktivitas enzim dan

produksi sebagian besar metabolit tanaman. Defisiensi B juga akan menyebabkan kebocoran membran (Dordas *dan* Brown, 2005).

Dari penelitian Poerwanto *et al* (2010) di Kabupaten Bogor dan Purwakarta diketahui bahwa Ca dan B tanah serta kandungan Ca dan B jaringan berkontribusi menekan cemaran getah kuning buah manggis. Fe, Mn tanah dan Fe, Mn jaringan tanaman berperan meningkatkan cemaran getah kuning. Hara lainnya secara tidak langsung, melalui Ca, B, Fe, Mn, juga bersinergi dalam mempengaruhi munculnya cemaran getah kuning pada aril (daging) dan kulit buah. Apakah peranan faktor lingkungan (sifat kimia dan fisika tanah) ini secara konsisten mengendalikan cemaran getah kuning pada lokasi sentra produksi yang berbeda masih perlu untuk diteliti.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara komprehensif peranan lingkungan, terutama sifat fisik, kimia tanah, dan iklim dalam mengendalikan cemaran getah kuning pada buah manggis.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari 2011 sampai Desember 2011 di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Pusat Kajian Buah-Buahan Tropika, Institut Pertanian Bogor, dan pada beberapa sentra produksi manggis di Jawa Barat, Sumatera Barat dan Lampung. Lokasi penelitian di Jawa Barat adalah di Desa Karacak dan Barengkok (Kecamatan Leuwiliang) Kabupaten Bogor, Desa Garogek dan Pusaka Mulia (Kecamatan Kiara Pedes) Kabupaten Purwakarta. Lokasi penelitian di Sumatera Barat yaitu Desa Pakdanangan (Kecamatan IV Lingkungan) Kabupaten Padang Pariaman, Desa Koto Lua (Kecamatan Koto tangah) dan Desa Baringin (Kecamatan Lubuk Kilangan), Kotamadya Padang, Desa Padang Laweh (Kecamatan Koto VII) dan Desa Lalan (Kecamatan Lubuak Tarok) Kabupaten Sijunjung. Lokasi di Lampung adalah di desa Sukarame (Kecamatan Teluk Betung Barat) Kotamadya Lampung Barat.

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman manggis varietas lokal dari masing-masing daerah sentra produksi manggis yang telah berumur > 25 tahun, berproduksi dan pertumbuhannya relatif normal, serta

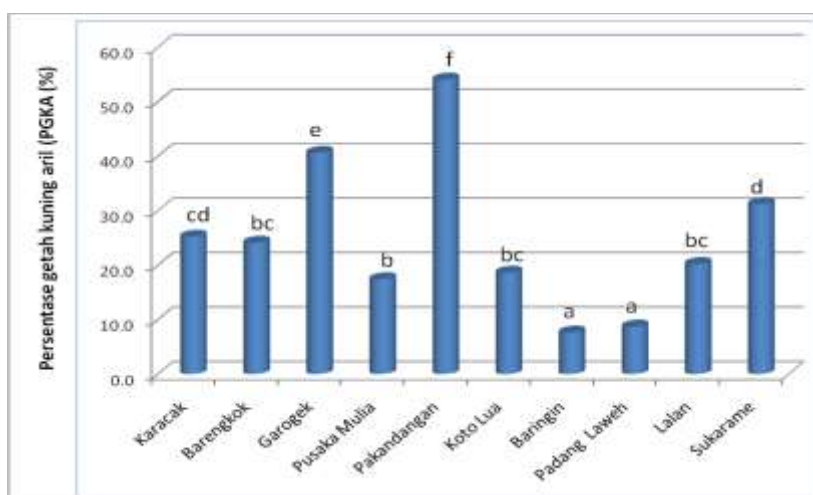
seragam. Setiap lokasi terdiri dari 10 tanaman, dan masing-masing tanaman diamati 100 buah manggis untuk pengamatan parameter getah kuning, sehingga total jumlah buah yang diamati mencapai 10.000 buah.

Peubah yang diamati meliputi: sifat kimia tanah dan kualitas buah. Data yang diperoleh, diolah dengan one way ANOVA dan dilanjutnya dengan Duncan pada taraf 5%. Analisis regresi digunakan untuk mengetahui peubah yang paling berpengaruh dan analisis koefisien lintas (*path-coefficient analysis*) untuk mengetahui pengaruh langsung dan tidak langsung dari masing-masing komponen parameter lingkungan terhadap parameter getah kuning dan komponen buah.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keragaan Cemarkan Getah Kuning

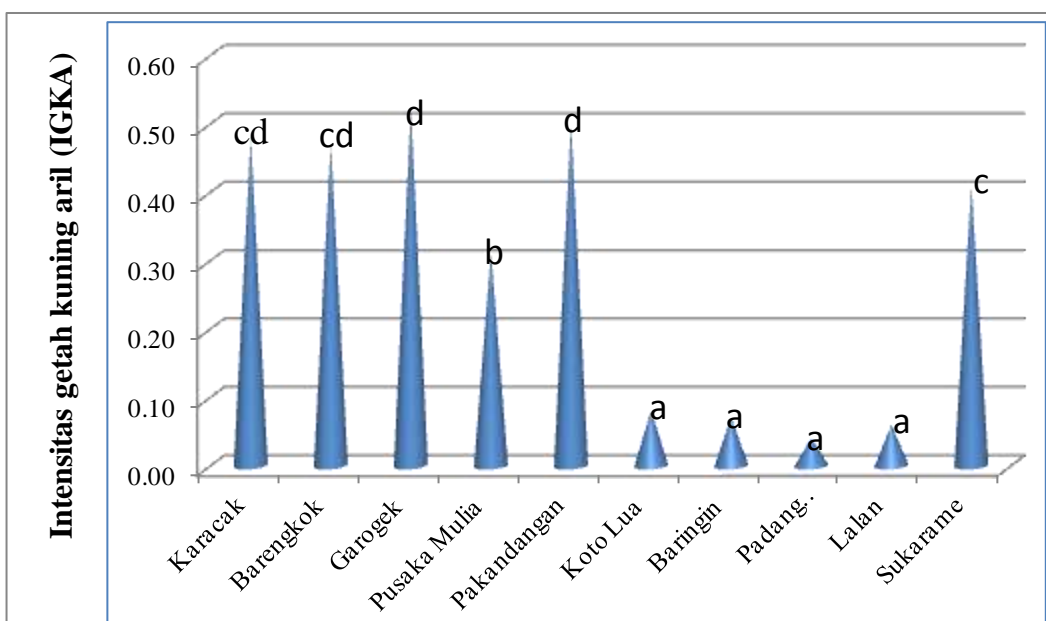
Presentase getah kuning aril (PGKA) yang tertinggi (54,04% - 31,20%) ditemukan di Desa Pakdanangan, diikuti oleh Garogek dan Sukarame. Presentase Getah Kuning yang tergolong sedang (25,20 - 17,40%) berada di Desa Karacak, Barengkok, Lalan, Koto Lua, dan Pusaka Mulia. Sedangkan PGKA yang tergolong rendah (7,61–8,70 %) diperoleh dari Desa Baringin dan Padang Laweh (Gambar 1).



Gambar 1. Keragaan persentase getah kuning (PGKA) pada beberapa lokasi penelitian di sentra produksi manggis di Jawa Barat, Sumatera Barat, dan Lampung.



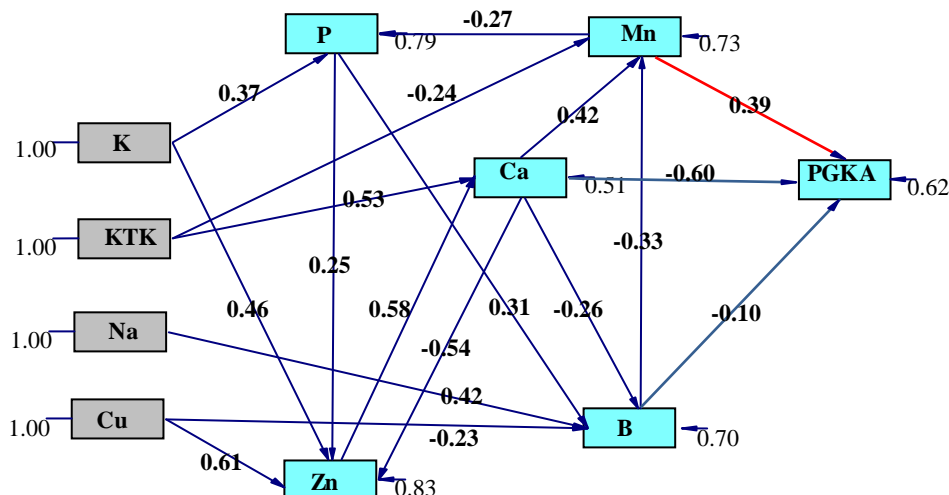
Intensitas getah kuning aril (IGKA), yang menunjukkan tingkat keparahan dari cemaran aril buah pada setiap buah juga diperoleh tertinggi dari Desa Pakandangan, diikuti oleh Garogek, Karacak, Barengkok, Sukarame, dan Pusaka Mulia, berkisar antara 0,50 hingga 0,31. Intensitas getah kuning aril dari desa lainnya tergolong rendah, berkisar antara 0,08 hingga 0,04, yaitu dari Desa Koto Lua, Baringin, Lalan, dan Padang Laweh (Gambar 2).



Gambar 2. Keragaan intensitas getah kuning (IGKA) pada beberapa lokasi penelitian di sentra produksi manggis di Jawa Barat, Sumatera Barat, dan Lampung.

### Pengaruh Sifat Kimia Tanah terhadap Cemaran Getah Kuning

Sifat kimia tanah yang berpengaruh langsung terhadap PGKA adalah Ca, Mn dan B, dengan koefisien jalurnya berturut sebesar -0,60; 0,39; dan -0,10 dan secara tidak langsung dipengaruhi oleh komponen sifat kimia tanah lainnya, antara lain P, K, KTK, Na, Cu, dan Zn (Gambar 4). Bila dilihat dari koefisien total pengaruh dari masing-masing sifat kimia tanah terhadap PGKA, Ca memberikan pengaruh yang terbesar, dan diikuti oleh Mn dan Cu, KTK. Nilai koefisien total jalur ini menunjukkan bahwa Ca berpengaruh paling besar terhadap PGKA, diikuti oleh Mn, Cu, dan KTK. KTK berkontribusi lebih besar dalam meningkatkan Ca dan menurunkan Mn. Hara lain yang berinteraksi dengan Ca dan B yang secara tidak langsung berkontribusi menurunkan PGKA adalah Zn, P, Na, dan Zn.

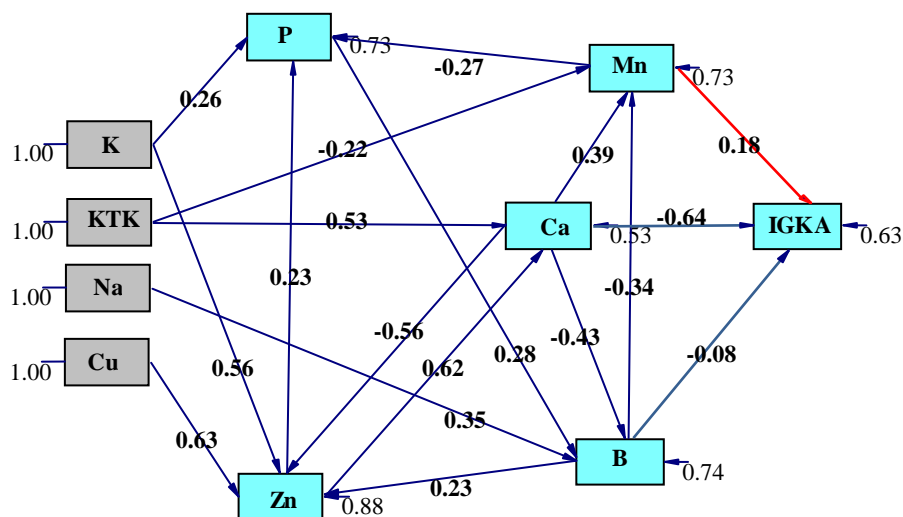


Chi-Square=31.63, df=21, P-value=0.06377, RMSEA=0.073

Gambar 3. Hubungan sifat kimia tanah dengan presentase getah Kuning Aril buah manggis (PGKA).

Intensitas getah kuning aril secara langsung juga dipengaruhi oleh Ca, Mn, dan B, dengan koefisien jalurnya berturut adalah -0,64; 0,18; -0,08, menunjukkan bahwa Ca dan B berperan dalam menekan IGKA, sedangkan Mn berkontribusi meningkatkan IGKA (Gambar 4). Beberapa unsur hara tanah lainnya juga berpengaruh secara tidak langsung melalui Ca dan B dalam menurunkan IGKA.

Fenomena di atas menunjukkan bahwa Ca dan B adalah dua jenis hara yang berperan penting menekan cemaran getah kuning, sedangkan Mn mengakibatkan meningkatnya cemaran getah kuning. Hasil penelitian sebelumnya pada sentra produksi manggis di Bogor dan Purwakarta (Poerwanto *et al.*, 2010) juga menunjukkan bahwa Ca dan B berperan utama dalam mengurangi cemaran getah kuning buah manggis, sedangkan Mn memicu cemaran getah kuning.



Chi-Square=30.77, df=21, P-value=0.07755, RMSEA=0.070

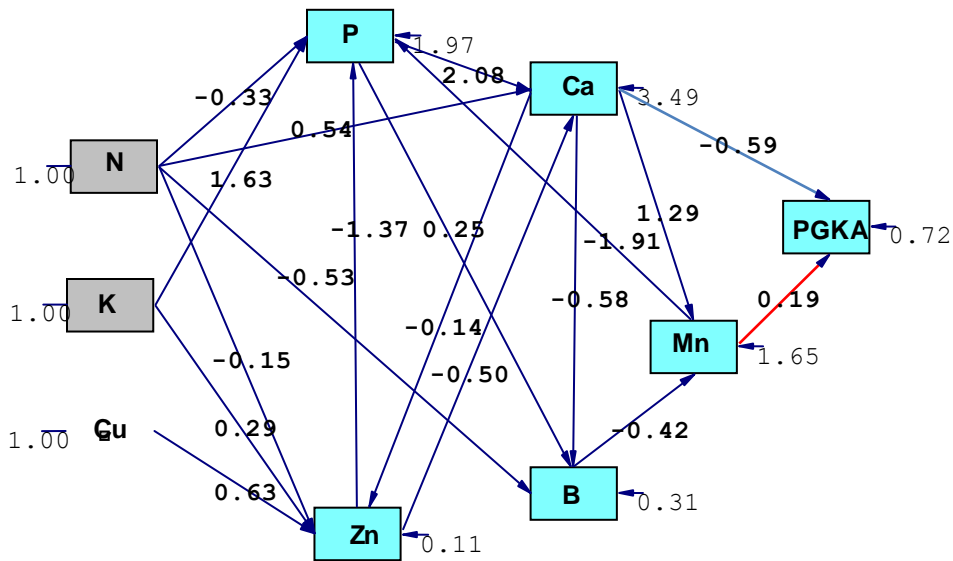
Gambar 4. Hubungan sifat kimia tanah dengan intensitas getah kuning aril (IGKA).

### Pengaruh Hara Endokarp Terhadap Cemaran Getah Kuning

Hasil analisis jalur menunjukkan bahwa Ca dan Mn adalah hara yang berpengaruh langsung terhadap PGKA, yaitu dengan koefisien jalurnya -0,59 dan 0,19 (Gambar 5). Nilai koefisien jalur ini menunjukkan bahwa Ca secara langsung berperan utama dalam menekan PGKA, sedangkan Mn berkontribusi meningkatkan PGKA. Hal ini memperkuat bukti bahwa Ca dan Mn adalah dua jenis hara sebagai kunci utama pengendali cemaran getah kuning.

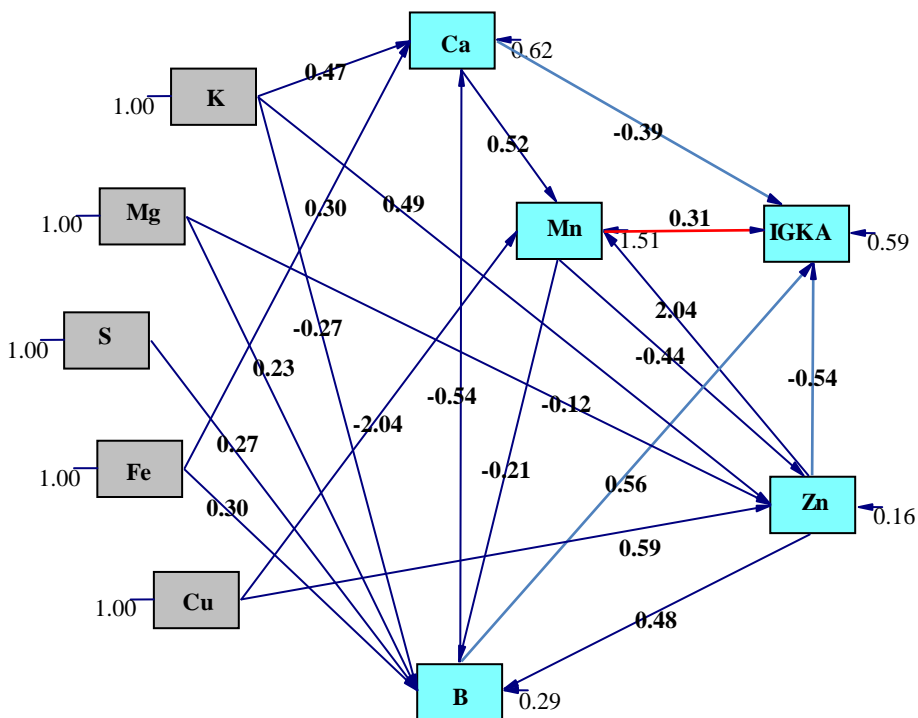
Hara lainnya, kecuali Cu, melalui Ca dan Mn juga berperan menurunkan PGKA. Hara yang paling besar memberikan pengaruh tidak langsung terhadap PGKA adalah K dan P, yaitu melalui Ca dan Mn.

Intensitas getah kuning secara langsung dipengaruhi oleh Ca, Mn, B dan Zn, dengan koefisien jalurnya -0,39; 0,31; 0,56; dan -0,54 (Gambar 6). Koefisien jalur ini menunjukkan bahwa Ca dan Zn berperan mengurangi IGKA, sedangkan Mn dan B menyebabkan meningkatkan IGKA. Hal ini mengindikasikan bahwa IGKA disamping dikendalikan oleh Ca, Mn, juga dipengaruhi oleh interaksi berbagai hara dan keseimbangannya di dalam jaringan tanaman.



Chi-Square=23.18, df=15, P-value=0.08039, RMSEA=0.075

Gambar 5. Hubungan hara endokarp dengan presentase getah kuning aril (PGKA).



Chi-Square=22.47, df=15, P-value=0.09599, RMSEA=0.073

Gambar 6. Hubungan hara endokarp dengan intensitas getah kuning aril (IGKA).

### **Hubungan Hara dalam Endokarp dan Tanah Terhadap Getah Kuning**

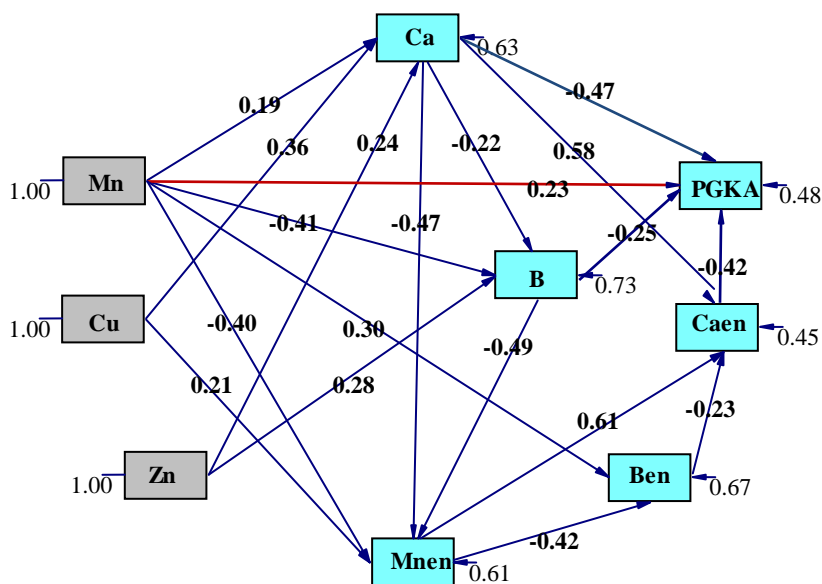
Hubungan antara sifat kimia tanah dan hara endokarp terhadap cemaran getah kuning dapat dijadikan landasan sejauh mana peran hara, baik di tanah maupun di jaringan endokarp dalam mempengaruhi terjadinya cemaran getah kuning. Penyerapan hara dan akumulasinya di endokarp sangat ditentukan oleh ketersediaan masing-masing hara di tanah dan interaksi antar sesamanya, baik sebelum diserap maupun setelah diakumulasi di dalam jaringan tanaman. Hara-hara tersebut, baik secara langsung maupun tidak langsung akan memberikan pengaruh terhadap cemaran getah kuning dan pengaruh tersebut dapat terjadi di saat masih di tanah atau setelah diakumulasi oleh jaringan tanaman.

Analisis jalur menunjukkan bahwa terdapat 5 jenis hara di tanah yang berkontribusi memberikan pengaruh terhadap PGKA, yaitu Ca, B, Mn, Cu, Zn. Kalsium, B, dan Mn adalah hara di tanah yang secara konsisten masih menunjukkan pengaruh langsung terhadap PGKA, sedangkan Cu adalah hara yang memberikan pengaruh melalui Ca, B, dan Mn. Hara-hara di endokarp yang mempengaruhi PGKA, juga dipengaruhi oleh ketersediaan hara tanah, yaitu Ca endokarp (Caen) secara langsung ditentukan oleh Ca, dan secara tidak langsung oleh hara lainnya. Mangan endokarp (Mnen) secara langsung ditentukan oleh Mn, Ca, dan B di tanah dan secara tidak langsung oleh hara lainnya. Ben tidak dapat berkontribusi secara langsung melainkan hanya melalui Caen karena adanya eliminasi oleh Mnen. Mnen tidak dapat menginduksi PGKA secara langsung karena mengalami tekanan oleh Ca dan B dan ketersediaan Mn tanah (Gambar 7). Dari tiga jenis hara yang terakumulasi di endokarp (Caen, Mnen, Ben), hanya Caen yang berperan utama dalam mengurangi PGKA, dengan koefisien jalurnya -0,42, sedangkan Ben dan Mnen berkontribusi secara tidak langsung terhadap PGKA. Hara lain berperan secara tidak langsung melalui interkasinya dengan Ca, Mn, B, dan Caen.

Intensitas getah kuning (IGKA) juga dipengaruhi secara langsung Ca dan B tanah, tetapi Mn dan hara lainnya (Cu dan Zn) hanya memberikan pengaruh tidak langsung melalui Ca dan B di tanah. Intensitas getah kuning aril juga mengalami penurunan oleh interkasi Cu, Mn, dan Zn terhadap Ca tanah, namun IGKA akan tereliminasi oleh pengaruh interkasi Zn dengan B. Kalsium di endokarp (Caen) dalam mengurangi IGKA, secara langsung dipengaruhi oleh ketersediaan Ca

tanah, Mn dan B di endokarp (Mnen dan Ben). Sedangkan B tanah yang berpengaruh langsung dalam menurunkan IGKA dikendalikan oleh Ca, Mn, dan Zn di tanah. Hasil analisis jalur ini menunjukkan bahwa, IGKA disamping ditentukan oleh Ca dan Mn di endokarp (Caen dan Mnen), juga dikendalikan oleh Ca dan B dan interkasi beberapa hara di tanah (Gambar 8).

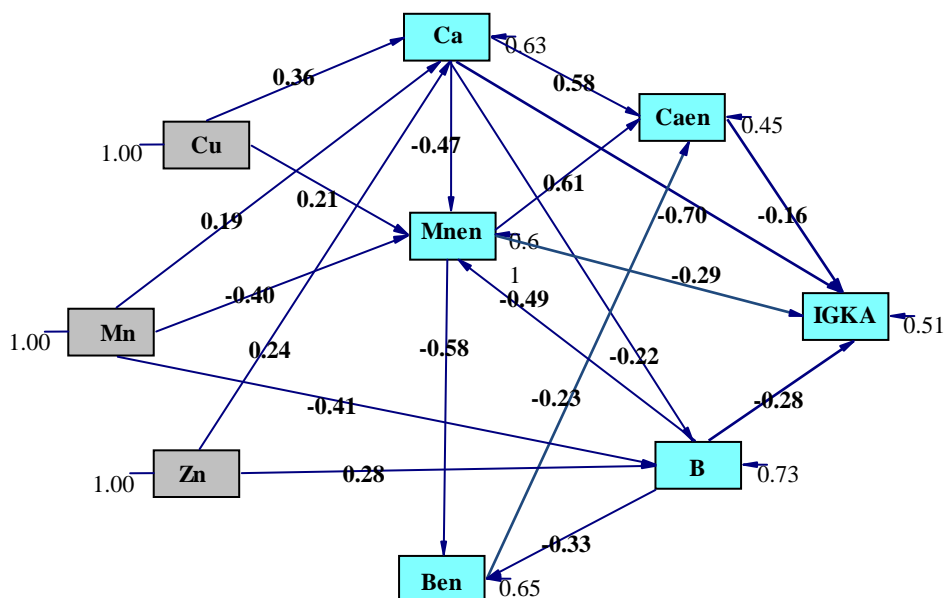
Peranan Ca yang konsisten dalam mengurangi cemaran getah kuning, baik di saat berada di dalam tanah maupun setelah di dalam jaringan endokarp, memperkuat bukti bahwa Ca adalah kunci utama dalam mengendalikan cemaran getah kuning. Kalsium tidak hanya sebagai komponen utama penyusun dinding sel, tetapi juga berperan mengurangi penyerapan hara yang toksik bagi jaringan, seperti Mn. Alam *et al.* (2006) melaporkan bahwa peningkatan Ca mengurangi serapan Mn pada barley (*Hordeum vulgare L.*).



Chi-Square=20.37, df=14, P-value=0.11902, RMSEA=0.069

Gambar 7. Hubungan Sifat kimia tanah dan kadar hara endokarp dalam kaitannya dengan persentase getah kuning aril ( PGKA).

Keterangan:  
 Caen =Ca endokarp  
 Ben =B endokarp  
 Mnen =Mn endokarp



Chi-Square=22.99, df=14, P-value=0.06040, RMSEA=0.082

Gambar 8. Hubungan Sifat kimia tanah dan kadar hara endokarp dalam kaitannya dengan intensitas getah kuning aril (IGKA).

Keterangan:

- Caen = Ca endokarp
- Ben = B endokarp
- Mnen = Mn endokarp

Boron, meskipun tidak konsisten dalam menurunkan cemaran getah kuning, namun sebagian besar pengaruhnya terhadap indikator cemaran getah kuning selalu berkontribusi mengurangi PGKA dan IGKA. Ketidak konsisten ini disebabkan karena B dipengaruhi oleh berbagai jenis hara di tanah dan di dalam jaringan endokarp. Boron terutama berifat antagonis dan sebagian besar keberadaannya di tanah mengalami tekanan oleh Mn (Gambar 7 dan 8). Namun demikian B menunjukkan peranan yang kedua penting setelah Ca dalam mengurangi cemaran getah kuning. Boron merupakan bagian dari komponen struktural sel (Hu dan Brown, 1994). Boron meningkatkan stabilitas dan ketegaran struktur dinding sel dan oleh karena itu mendukung bentuk dan kekuatan sel tanaman (Hu dan Brown, 1994; Marschner, 1995). Boron meningkatkan integritas membran plasma (Marschner, 1995; Blevins dan Lukaszewski, 1998). Defisien boron mengakibatkan sel mati, terutama disebabkan oleh melemahnya dinding sel. Matinya sel yang berkaitan dengan lepasnya

organel-organel sel diindikasikan oleh pecahnya dinding sel (Fleischer *et al.*, 1998). Defisiensi boron juga menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia, meliputi perubahan struktur dinding sel, perubahan fungsi dan integritas membran, perubahan aktivitas enzim dan produksi sebagian besar metabolit tanaman. Defisiensi B akan menyebabkan kebocoran membran (Dordas *dan* Brown, 2005).

Mangan adalah hara mikro esensial yang dibutuhkan dalam level yang rendah dan mutlak diperlukan tanaman untuk hara serta perkembangan tanaman yang normal (Millaleo *et al.*, 2010). Meskipun demikian, kelebihan Mn sangat beracun bagi sel tumbuhan (Migoeka dan Klobus, 2007). Hasil penelitian sebelumnya (Poerwanto *et al.* 2010) juga menunjukkan bahwa Mn berperan meningkatkan cemaran getah kuning buah manggis. Konsentrasi Mn yang berlebihan di jaringan tanaman dapat mengubah berbagai proses, seperti aktivitas enzim, penyerapan, translokasi, dan pemanfaatan elemen mineral lainnya (Ca, Mg, Fe, dan P), menyebabkan stres oksidatif (Ducic *dan* Polle, 2005; Lei *et al.*, 2007). Selain itu toksisitas Mn sering terjadi apabila ketersediaan unsur hara lain, seperti Ca, Mg, K, Fe, dan Si berada dalam kuantitas rendah (Abou *et al.*, 2002). Sebagai logam beracun, Mn dapat menyebabkan perubahan metabolik dan kerusakan makromolekul yang mengganggu homeostasis sel (Hegedus *et al.*, 2001; Polle, 2001). Menurut Lynch *dan* St Clair, 2001), toksisitas Mn pada tanaman menghasilkan oksigen reaktif (ROS), terutama OH, beberapa jenis oksidan yang paling reaktif dan berbahaya dalam sel (Lidon *dan* Henrique, 1993). Dengan demikian kelebihan Mn akan diduga mengakibatkan bocornya dinding sel saluran getah kuning dan memicu terjadinya cemaran getah kuning pada aril buah, seperti yang diindikasikan oleh positifnya koefisien jalur Mn terhadap PGKA dan IGKA.

## **KESIMPULAN**

Sifat kimia tanah, terutama ketersediaan Ca, Mn, dan B sangat menentukan cemaran getah kuning buah manggis. Kalsium dan B adalah dua jenis hara yang berperan langsung menurunkan cemaran getah kuning, sedangkan Mn konsisten meningkatkan cemaran getah kuning; Akumulasi hara di jaringan endokarp, terutama Ca, B, dan Mn berpengaruh terhadap cemaran getah kuning. Kalsium dan



B di jaringan endokarp berkontribusi langsung dalam menurunkan cemaran getah kuning, sedangkan Mn meningkatkan cemaran getah kuning; Keterkaitan ketersediaan hara di tanah dan akumulasinya di jaringan endokarp mendukung bukti bahwa tiga jenis hara, yaitu Ca, B, dan Mn adalah kunci utama dalam mengendalikan cemaran getah kuning.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana karena dukungan dana dari KKP3T dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Kegiatan no.: 871/lb.620/i.1/3/2011, tanggal 21 maret 2011. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abou, M., Symeonidis, L., Hatzistavrou, E., and Yupsanis, T. 2002. Nucleolytic activities and appearance of a new DNase in relation to nickel and manganese accumulation in *Alyssum murale*. *J. Plant Physiol.* 159, 1087-1095.
- Alam S., Kodama R., Akiha F., Kamei S., and Kawai S. 2006. Alleviation of manganese phytotoxicity in barley with calcium. *Journal of Plant Nutrition* 29, 59-74.
- Blevins, D.G. and Lukaszewski, K.M., 1998. Boron in plant structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiology.* 49, 481-500.
- Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z., Holzer, R., and Feller, U. 2004. Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environ. Exp. Bot.* 52, 253-266.
- Dordas C. and P. H. Brown. 2005. Boron deficiency affects cell viability, phenolic leakage dan oxidative burst in rose cell cultures. *Plant dan Soil* 268: 293-301.
- Dorly, S. Tjitrosemito, R. Poerwanto, dan Juliarni. 2008. Secretory duct structure dan phytochemistry compounds of yellow latex in mangosteen fruit. *HAYATI Journal of BioScience* 15: 99-104.
- Dorly, I. Wuldanari, S. Tjitrosemito, R. Poerwanto, dan D. Efendi. 2011. Studi pemberian kalsium untuk mengatasi getah kuning pada buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *J. Agron. Ind.*:49-55.
- Ducic, T. and Polle, A. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 103-112.

- Fleischer A., Titel, C. and Ehwald, R. 1998. The Boron requirement dan cell wall properties of growing dan stationary suspension-cultured chenopodium album L. Cells. *Plant Physiol.* 117: 1401–1410.
- Hegedus, A., Erdei, S., and Horváth, G. 2001. Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci.* 160, 1085-1093.
- Hirschi, K. D. (2004). The calcium conundrum: Both versatile nutrient dan specific signal. *Plant Physiol.* 136: 2438–2442.
- Hu H. and Brown P. H. 1994. Localization of boron in cell walls of squash dan tobacco dan its association with pectin. *Plant Physiology* 105: 681- 689.
- Hu H. and Brown P. H. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant dan Soil* 193: 49–58.
- Huang, X, H.C. Wang, J.Li, W. Yuan, J.Lu and H. B. Huang. 2005. An overview of calcium's role in lychee fruit cracking. *Acta. Hort.* 66(5): 231-240.
- Kirby E. A and Pilbeam D.J . 1984. Calcium as a plant nutrient. *Plant Cell Environ* 7: 397–405.
- Lei, Y., Korpelainen, H., and Li, C. 2007. Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. *Chemosphere* 68, 686-694.
- Lidon, F.C. and Henriques, F. 1993. Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica* 29, 249-279.
- Lynch, J.P. and St.Clair, S.B. 2004. Mineral stress: the missing link in understanding how global climate change will affect plants in real world soils. *Field Crop. Res.* 90, 101–115.
- Marschner H. 1995. Mineral in higher plants. Academic press, New York.
- Migocka M. and Klobus G. 2007. The properties of the Mn, Ni and Pb transport operating at plasma membranes of cucumber roots. *Physiol. Plant.* 129, 578-587.
- Millaleo R., M. Reyes-Diaz, A.G. Ivano, M.L. Mora, and M. Alberdi. 2010. Manganese as essential and toxic element for plants: Transpor, accumulation and resistance mechanisms. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10 (4): 476 – 494.
- Poerwanto R, Dorly, Maad M. 2010. Getah kuning pada buah manggis. Prosiding Seminar Nasional Hortikultura-Indonesia; Bali, 25-26 Nopember 2010. hlm 255-260.
- Poerwanto, R., Hidayati, R. Jawal, M., dan Martias. 2010. Pengaruh lingkungan

(iklim serta sifat fisik dan kimia tanah) terhadap cecair getah kuning buah manggis untuk ekspor. Laporan Hasil Penelitian KKP3T.

Shear, C. B. 1975. Calcium-related disorders of fruits dan vegetables. *HortScience* 10, 361–365.