

# INDUKSI KULTUR KALUS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN ANGGREK MERPATI (*Dendrobium crumenatum* Swartz.)

Mangihot Tua Goeltom, Tjie Kok, Dian Kumalasari  
Fakultas Teknologi Universitas Surabaya  
E-mail: ihot\_gultom@ubaya.ac.id

## **Abstract:**

In general callus cultures can be an alternative source to produce plant secondary metabolites. This research aimed to test anti-bacterial properties of *Dendrobium crumenatum* Sw. petroleum ether : chloroform extract derived from callus and leave. Leave extract with concentration of 500 and 1000 ppm performed anti-bacterial activity toward *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella thypi*. Extract with concentration of 100 ppm performed anti-bacterial activity toward *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella thypi*, and smaller extract concentration of 50 ppm performed anti-bacterial activity only toward *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi*. Bactericidal property was only observed toward *Escherichia coli* by extract concentration of 1000 ppm.

**Keywords :** *Dendrobium crumenatum* Sw. extract, Anti-Bacterial Activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*.

## **PENDAHULUAN**

Indonesia kaya akan spesies Anggrek salah satunya adalah Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum* Swartz.) (Devi *et. al.*, 2008). Menurut Wiart (2006), alkaloid tersebar luas di genus *Dendrobium*. Untuk mendapatkan senyawa alkaloid ini dilakukan proses ekstraksi dan dilanjutkan sampai tahapan uji dengan pereaksi *Dragendorff* untuk mengidentifikasinya. Menurut Devi *et. al.* (2008), campuran alkaloid pada ekstrak batang dan bunga *Dendrobium nobile* memiliki aktivitas antibakteri dan antikanker. Hal tersebut ditunjukkan dengan luas zona penghambatan pada kultur *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus*. Begitu pula menurut Bulpitt *et. al.* (2007), menyatakan bahwa metabolit-metabolit yang dihasilkan *Dendrobium* kemungkinan berpotensi sebagai antibiotik.

Secara konvensional, metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi langsung dari organ tumbuhan.

Namun cara tersebut memerlukan budidaya tanaman dalam skala yang besar (Baladrin & Klocke, 1988). Penggunaan kultur jaringan untuk memproduksi metabolit sekunder dapat digunakan sebagai metode alternatif karena dapat mengatasi permasalahan tersebut. Dalam kultur jaringan, kultur kalus berpotensi sebagai sarana untuk memproduksi metabolit sekunder (Purwaningsih & Hamdiyanti, 2010).

Variasi media penumbuhan kalus pada penelitian yaitu MS (*Murashige and Skoog*), VW (*Vacin and Went*) dan WPM (*Woody Plant Medium*), karena MS adalah media yang digunakan hampir untuk semua macam eksplan, VW yang khusus digunakan untuk eksplan anggrek, dan WPM merupakan media untuk tanaman berkayu yang kaya akan zat haranya (Hendaryono dan Wijayani, 1994). ZPT yang akan digunakan pada penelitian adalah 2,4 D (2,4 *Dichlorophenoxyacetic acid*), BAP (*Benzylaminopurine*), dan TDZ (*Thidiazuron*) yang didasarkan pada acuan penelitian milik Rianawati. S, 2009, yang juga

melakukan penelitian tentang penginduksian kultur kalus dari eksplan daun tanaman anggrek spesies *Phalaenopsis sp.* Dari hasil penelitiannya media yang paling optimum adalah ½ MS dengan menggunakan ZPT 2,4 D 0,5 ppm, BAP 0,5 ppm, dan TDZ 0,2 ppm.

Pengujian bakteriologis ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas saring dan daya antibakterinya diukur berdasarkan diameter daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan yaitu 50, 100, 500, dan 1000 ppm yang diacu dari penelitian milik Wiwik, 2010. Sebagai larutan pembandingnya digunakan ampisilin yang efektif terhadap bakteri Gram positif dan negatif (Wesley & Wheeler, 1988).

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Media Kultur Kalus dan Metode Sterilisasi

Pada pembuatan media akan ada penambahan air kelapa hijau yang masih muda, dimana sebelum pemakaian air kelapa hijau tersebut disaring terlebih dahulu. Setelah penambahan berbagai macam larutan stok maka pH akan diukur menggunakan HCl dan NaOH antara 5,2 – 5,8. Terakhir setelah pencampuran selesai maka larutan medium dipanaskan hingga mendidih dan jernih, lalu

dituang ke dalam botol kultur (kurang lebih 25 ml medium untuk setiap botol). Botol berisi medium ditutup *aluminium foil* dan disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 20 menit (Dody *et. al.*, 2007).

Pembuatan Media MS dilakukan dengan cara mencampur 5 ml stok makro, 5 ml stok mikro A dan 5 ml stok mikro B, 10 ml tiap jenis stok vitamin, 0,1 gram myo-inositol, serta 20 gram sukrosa. Setelah itu larutan campuran tadi dibagi menjadi 5 bagian.

- Bagian pertama ditambahkan 75 ml/L air kelapa
- Bagian kedua ditambahkan 75 ml/L air kelapa dan arang 1gr/L
- Bagian ketiga ditambahkan 150 ml/L ml air kelapa
- Bagian keempat ditambahkan 150 ml/L air kelapa dan arang 1 gr/L
- Bagian kelima tidak ditambahkan ZPT, air kelapa hijau, maupun arang.

Pada bagian pertama hingga keempat ditambahkan stok hormon 2,4 D 0,5 ppm, BAP 0,5 ppm, TDZ 0,2 ppm. Kemudian setelah diatur pH-nya tiap bagian ditambahkan akuades hingga volume larutan menjadi 200 ml dan ditambahkan 8 gram/L agar (Sri, 2009).

Metode untuk percobaan sterilisasi kalus yang digunakan pada penelitian ini didisain sesuai dengan tabel di bawah ini:

Lokasi	Bahan	Metode Sterilisasi									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Di luar LAF (menit)	Bakterisida (0,5 gr/L)	(1:1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fungisida (0,5 gr/L)	120	60	45	45	45	45	30	30	30	30
	Dethol (10 ml/100ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Etanol 70% (detik)	-	20	20	20	20	20	-	-	1-2	5
Di dalam LAF	Bayclin 1 (5 menit)	10%	10%	10%	10%	10%	5%	5%	5%	5%	5%
	Tween 2 tetes (menit)	-	5	-	5	-	-	-	-	-	-
	Bayclin 2 (10 menit)	5%	5%	5%	5%	5%	2,5%	2%	2%	2%	2%
	Beradine 2 tetes/50 ml (menit)	-	-	2	2	2	2	-	2	2	2

#### Pembuatan Serbuk Daun Anggrek Merpati

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun. Daun Anggrek Merpati setelah dipotong dari tanaman dicuci terlebih dahulu. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan (tidak terkena sinar matahari). Untuk mengetahui kapan proses pengeringan dihentikan juga dapat dilakukan dengan mencoba menyobek daun anggrek. Daun yang telah kering akan lebih sulit untuk disobek, atau bisa juga dengan mencium bau dari eksplan-eksplan tersebut. Daun yang telah kering diblender hingga menjadi serbuk. Setelah itu serbuk disaring dengan pengayak mesh 30. (Departemen Kesehatan Indonesia, 1986).

#### Pembuatan Ekstrak Petroleum eter:Kloroform (4:1) Daun Anggrek Merpati

Serbuk kering 22,59 g diekstraksi dengan pelarut petroleum eter:kloroform (4:1) sebanyak 170 ml dengan metode maserasi selama 24 jam. Saat maserasi rendaman di shaker dengan kecepatan 130 rpm. Rendaman disaring, didapat filtrat dan ampas. Ampas dimaserasi kembali dengan pelarut baru dan hal ini dilakukan sebanyak 5 kali. Hal ini dilakukan secara bertahap yaitu selama 5 x 24 jam, tiap 24 jam dilakukan penggantian

pelarut. Filtrat yang didapat dikumpulkan dalam satu wadah, dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 35°C hingga beratnya konstan. Ekstrak kental tersebut dibuat menjadi ekstrak uji dengan konsentrasi 50, 100, 500, dan 1000 ppm dalam pelarut petroleum eter: kloroform (4:1). Dimana sebagian kecil ekstrak kental yang dilarutkan dalam pelarut diuji keberadaan alkaloidnya dengan menggunakan pereaksi *Dragendorff*. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi kuning jingga (Chen, 1935 dan Devi *et. al.*, 2008).

#### Pengujian Daya Antibakteri dengan Metode Cakram Menggunakan Kertas Saring no. 41

Pengujian dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* secara aseptis menggunakan media NA (*Nutrient Agar*). Pada media NA dimasukkan suspensi bakteri yang telah diukur absorbansinya sebanyak 200 µL dan diratakan dengan *spreader*. Kertas saring no. 41 direndam kurang lebih selama 1 menit ke dalam larutan ekstrak dengan konsentrasi 50, 100, 500, 1000 ppm, ampisilin dengan konsentrasi 100 µg/ml sebagai kontrol positif, dan petroleum eter:kloroform (4:1) sebagai kontrol pelarut. Kemudian dari masing - masing larutan tadi kertas saring diambil dan diletakkan di atas media NA yang telah

disuspensi dengan bakteri tadi. Tidak lupa diletakkan juga kertas saring steril tanpa perendaman larutan apapun sebagai kontrol negatif. Setelah selesai *petri dish* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam maka hasil yang diamati adalah mengukur daerah hambatan (zona bening) yang terbentuk.

#### Analisis Data

Data zona hambatan bakteri dianalisis secara statistik dengan metoda ANOVA dua-arah dilanjutkan dengan uji Tukey, setelah data terlebih dahulu dinormalkan dan dihomogenkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Optimasi Media Kultur Kalus Daun *Dendrobium crumenatum* Swartz.

Proses pencarian media pertumbuhan yang paling optimal dilakukan dengan menggunakan media tanpa penambahan ZPT sebagai kontrol dengan tiga kali replikasi untuk masing-masing media. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya respons pertumbuhan dari eksplan menjadi kalus. Berikut di bawah ini adalah tabel hasil penelitiannya.

Tabel 1. Hasil penumbuhan kalus

Media	Variasi Penambahan	Hasil pada Replikasi		
		1	2	3
VW + 0,5 gr/L arang	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm + TDZ 0,5 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm dan TDZ 1 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm dan TDZ 5 ppm	**	**	-
	Tanpa air kelapa dan ZPT	-	-	-
VW	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm + TDZ 0,5 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm + TDZ 1 ppm	-	-	-
	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 5 ppm + TDZ 5 ppm	-	-	-
	Tanpa air kelapa dan ZPT	**	-	-
½ MS padat	2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm + 75 ml/L air kelapa	✓	✓	✓
	2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm + 75 ml/L air kelapa + arang 1gr/L	-	-	-
	2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm + 150 ml/L ml air kelapa	✓	-	-
	2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm + 150 ml/L ml air kelapa + arang 1 gr/L	-	-	-
	Tanpa air kelapa, arang, dan ZPT	-	-	-

½ MS cair	150 ml/L air kelapa + arang 0,5 gr/L + 2,4 D 1 ppm + BAP 1 ppm + TDZ 0,7 ppm	*	-	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 1 ppm + BAP 1 ppm + TDZ 0,7 ppm	✓	-	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm	*	*	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,5 ppm	-	-	-
	Tanpa air kelapa, arang, dan ZPT	-	-	-
MS	100 ml/L air kelapa + 2,4 D 6 ppm	-	-	-
	100 ml/L air kelapa + TDZ 6 ppm	✓	-	-
	100 ml/L air kelapa + 2,4 D 3 ppm + TDZ 3 ppm	✓	-	-
	100 ml/L air kelapa + 2,4 D 6 ppm + TDZ 6 ppm	✓	-	-
	Tanpa air kelapa, arang, dan ZPT	-	-	-
WM	150 ml/L air kelapa + 2,4 D 1 ppm + BAP 1 ppm + TDZ 0,7 ppm + arang 0,5 gr/L	✓	-	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 1 ppm + BAP 1 ppm + TDZ 0,7 ppm	✓	-	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm	✓	✓	-
	75 ml/L air kelapa + 2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm	✓	✓	-
	Tanpa air kelapa, arang, dan ZPT	✓	✓	-

Keterangan simbol hasil:

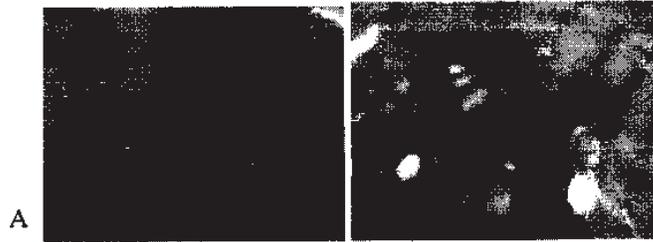
- ✓ Menggembung / melengkung
- *Browning*

\* Kontaminasi bakteri

\* Kontaminasi jamur

Dapat dilihat pada tabel di atas bahwa saat penanaman di media VW dengan penambahan arang maupun tidak, terjadi kontaminasi kapang, serta pada media ½ MS cair terjadi kontaminasi bakteri. Hal tersebut dapat dikarenakan langkah kerja saat penanaman masih kurang steril. Terjadinya *browning* dapat dikarenakan kurang cocoknya

media bagi eksplan (hormon yang ada kurang mendukung pertumbuhan eksplan). Selain itu dapat juga dikarenakan masih kurang tepatnya metode sterilisasi yang telah didapat tadi, mungkin kurangnya pembilasan saat setelah proses perendaman bayclin, konsentrasi bayclin atau fungisida masih terlalu pekat, dan masih banyak faktor lainnya (Gambar 1).



Gambar 1. Eksplan yang diletakkan pada media

- A. Eksplan Melengkung pada Media  $\frac{1}{2}$  MS Cair + 75 ml/L air kelapa + 2,4 D 1 ppm + BAP 1 ppm + TDZ 0,7 ppm
- B. Eksplan Menggembung pada Media WPM + 75 ml/L air kelapa + 2,4 D 0,5 ppm + BAP 0,5 ppm + TDZ 0,2 ppm

Pada tabel di atas juga ditunjukkan bahwa ada beberapa eksplan yang merespons (dengan penampakan melengkung atau menggembung di bagian tengahnya), yaitu pada beberapa media dengan ZPT 2,4 D 0,5 ppm, BAP 0,5 ppm, dan TDZ 0,2 ppm. Akan tetapi respons tersebut tidak berlanjut untuk menumbuhkan eksplan menjadi kalus. Eksplan yang telah melengkung atau menggembung tadi lama-kelamaan juga mengalami *browning*. Hal tersebut dimungkinkan karena konsentrasi ZPT yang dipilih untuk eksplan masih kurang tepat, sehingga tidak mendukung pertumbuhan eksplan.

#### Ekstraksi Petroleumeter: Kloroform (4:1) Daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dan Uji Keberadaan Alkaloid

Pada penelitian ini ekstrak kental *Dendrobium crumenatum* Swartz. berasal dari satu sumber, yaitu dari bagian daun. Simplisia daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. menghasilkan ekstrak kurang lebih sebanyak 750 ml dan setelah dipekatkan didapat ekstrak kental seberat 0,64 gram/22,59 gram (2,83%). Ekstrak kental ini menunjukkan wujud fisik berwarna coklat gelap, berbentuk kental seperti pasta, dan berbau khas aromatik.

Kemudian ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dianalisis golongan senyawa alkaloidnya dengan tes uji warna menggunakan pereaksi *Dragendorff*. Keberadaan alkaloid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi jingga. Hasil uji menunjukkan terjadinya perubahan warna pada larutan ekstrak dari kuning muda menjadi jingga kecoklatan, menandakan bahwa di dalam ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. terdapat alkaloid, karena nitrogen pada alkaloid digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K<sup>+</sup> milik pereaksi *Dragendorff* (Miroslav, 1971).

#### Uji Aktivitas Daya Antibakteri Ekstrak Petroleum eter:Kloroform (4:1) Daun *Dendrobium crumenatum* Swartz.

Pengukuran diameter zona bening yang terbentuk dari pengujian aktivitas daya antibakteri menggunakan ampisilin dengan konsentrasi 100 µg/ml sebagai kontrol positif, petroleum eter:kloroform (4:1) sebagai kontrol pelarut, dan ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dengan variasi konsentrasi 50, 100, 500, dan 1000 ppm adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Daya hambat ekstrak terhadap berbagai bakteri uji

Jenis Bakteri	Replikasi	Diameter Hambatan (mm)					
		Kontrol +	Kontrol Pelarut	Konsentrasi Ekstrak (ppm)			
				1000	500	100	50
<i>S. aureus</i>	Rata2	7,89	7,66	10,31	8,99	8,37	7,51
	StDev	0,13	0,09	0,04	0,05	0,18	0,36
<i>E. coli</i>	Rata2	13,18	8,15	10,94	10,28	9,12	8,51
	StDev	0,18	0,10	0,02	0,09	0,02	0,29
<i>P. aureus</i>	Rata2	7,18	7,19	8,81	7,32	6,83	6,09
	StDev	0,17	0,07	0,06	0,02	0,08	0,05
<i>S. typhi</i>	Rata2	8,79	6,47	7,76	7,07	6,97	6,39
	StDev	0,17	0,07	0,02	0,03	0,09	0,01

Zona bening yang terbentuk pada penelitian ini, menandakan adanya aktivitas antibakteri yang disebabkan oleh kandungan-kandungan senyawa yang terdapat didalam ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. Menurut Simanjuntak (1990), Strohl *et. al.* (2001), Levinson (2008), dan Robinson (1991), senyawa saponin, alkaloid, flavonoid dan senyawa fenol ini memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki mekanisme mendenaturasi protein bakteri, saponin memiliki mekanisme berinteraksi dengan membran *phospholipid* sehingga mengakibatkan kebocoran sel dan lisis, sedangkan alkaloid mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Kristanti *et al.*, 2008).

Dari hasil penelitian ini, zona bening terbentuk menggunakan ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dengan konsentrasi 50 ppm terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 7,51 mm, pada bakteri *E. coli* sebesar 8,51 mm, pada bakteri *P. aeruginosa* sebesar 6,09 mm, dan pada bakteri *S. typhi* sebesar 6,39 mm. Menurut penelitian terdahulu, Devi *et al.* (2008), zona bening yang terbentuk

menggunakan ekstrak kloroform bunga *Dendrobium nobile* dengan konsentrasi 50 ppm terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 10 mm, pada bakteri *E. coli* sebesar 3 mm, dan pada bakteri *S. typhi* sebesar 8,8 mm. Jadi dari *Dendrobium* sp. dapat dikembangkan untuk dimanfaatkan sebagai tanaman yang menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

Rata-rata diameter zona bening yang terbentuk tersebut juga akan dikategorikan kekuatan daya hambatnya berdasarkan tabel Kategori Daya Hambat Bakteri Menurut Davis Stout dibawah ini:

Daya Hambat Bakteri	Kategori
≥ 20 mm	Sangat kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 - 10 mm	Sedang
< 5mm	Lemah

Sumber : Ardiansyah, 2004

Berikut pada Tabel 3 adalah hasil kategori kekuatan daya hambat bakteri yang dimiliki oleh ekstrak petroleum

eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. berdasarkan kategori Davis Stout:

Tabel 3. Pola daya hambat ekstrak berdasarkan tabel Stout

Jenis Bakteri	Konsentrasi Ekstrak (ppm)							
	1000		500		100		50	
	Diameter (mm)	Kategori	Diameter (mm)	Kategori	Diameter (mm)	Kategori	Diameter (mm)	Kategori
<i>S. aureus</i>	2,65	Lemah	1,33	Lemah	0,71	Lemah	-0,15	-
<i>E. coli</i>	2,79	Lemah	2,13	Lemah	0,97	Lemah	0,36	Lemah
<i>P. aeruginosa</i>	1,62	Lemah	0,13	Lemah	-0,36	-	-1,1	-
<i>S. typhi</i>	1,29	Lemah	0,6	Lemah	0,5	Lemah	-0,08	Lemah

Kategori ditentukan setelah rata-rata diameter hambat yang dihasilkan oleh ekstrak dikurangi dengan rata-rata diameter hambat yang dihasilkan oleh kontrol pelarut (petroleum eter:kloroform (4:1)).

Tabel di atas menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dengan konsentrasi 50 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. typhi* dengan kategori lemah, untuk ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. typhi* dengan kategori lemah, serta untuk

ekstrak dengan konsentrasi 500 dan 1000 ppm mampu menghambat pertumbuhan keempat bakteri uji yaitu bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, dan *P. aeruginosa* dengan kategori lemah.

Setelah itu zona bening yang terbentuk dikulturkan ke media NA (*Nutrient Agar*) dan NB (*Nutrient Broth*) untuk mengetahui apakah aktifitas antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. bersifat menghambat (bakteriostatik) atau membunuh (bakterisida) bakteri uji. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Viabilitas bakteri pada medium nutrisi setelah mengalami uji daya hambat

Jenis Bakteri	Konsentrasi Ekstrak (ppm)	NA			NB		
		1	2	3	1	2	3
<i>S. aureus</i>	1000	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	500	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	100	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	50	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>E. coli</i>	1000	-	-	-	-	-	-
	500	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	100	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	50	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>P. aureus</i>	1000	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	500	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	100	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	50	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. typhi</i>	1000	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	500	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	100	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	50	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Keterangan:

✓ : Bakteri tumbuh

- : Bakteri tidak tumbuh

Dapat dilihat pada tabel di atas bahwa ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. pada konsentrasi 1000 ppm memiliki aktivitas membunuh bakteri (bakterisida) terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan yang bersifat bakteriostatik adalah ekstrak dengan konsentrasi 50 ppm terhadap bakteri *E. coli* dan *S. typhi*, 100 ppm terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. typhi*, 500 ppm terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, dan *P. aeruginosa*, serta 1000 ppm terhadap *S. aureus*, *S. typhi* dan *P. aeruginosa*.

Berdasarkan uji normalitas dengan menggunakan program minitab, data pengujian aktivitas daya antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. berdistribusi normal karena nilai  $p_{value}$ -nya  $\geq 0,05$  yaitu  $> 0,150$ .

Kemudian untuk uji homogenitasnya, data hasil penelitian dikatakan berdistribusi homogen karena nilai  $p_{value}$ -nya  $\geq 0,05$  yaitu 0,934 (antar konsentrasi) dan 0,673 (antar bakteri uji), sehingga dapat dianalisa dengan *Two-way* Anova. Hasil uji statistik dengan *Two-way* Anova disajikan pada Tabel 5 dan karena nilai  $p_{value}$  komplemen (antar konsentrasi)  $\geq 0,05$  yaitu 0,131, maka untuk data zona bening antar konsentrasi tidak dilanjutkan uji *multiple comparison* dengan metode *Tukey*, karena tidak adanya perbedaan signifikan pada data zona bening yang dihasilkan antar konsentrasi ekstrak daun, yang berarti diameter zona bening yang dihasilkan antara konsentrasi 1000 ppm dengan 500 ppm, 100 ppm, maupun dengan 50 ppm tidak berbeda secara signifikan. Hal tersebut mungkin dikarenakan ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun yang

digunakan untuk uji kurang besar konsentrasinya sehingga aktivitas antibakteri yang ditimbulkan kurang memberikan efek yang signifikan.

Sedangkan  $p_{\text{value}}$  blok (antar bakteri uji)  $\leq 0,05$  yaitu 0,009, maka dilanjutkan uji

*multiple comparison* dengan metode *Tukey*, yang akan disajikan pada tabel di bawah ini untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan signifikan pada data:

Tabel 5. Analisis statistic terhadap efektifitas daya hambat ekstrak terhadap berbagai bakteri

Jenis Bakteri	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhi</i>
<i>S. aureus</i>	-			
<i>E. coli</i>	Sama	-		
<i>P. aeruginosa</i>	Sama	Beda	-	
<i>S. typhi</i>	Sama	Beda	Sama	-

Tabel di atas menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada bakteri *E. coli* dengan *P. aeruginosa* dan *S. typhi*. Menurut Gupte, (1990) perbedaan ini dapat dikarenakan tiap bakteri memiliki metabolisme hidup dan susunan dinding sel yang berbeda-beda, sehingga ekstrak dengan konsentrasi yang sama pun dapat memberikan daya hambat yang berbeda-beda diantara bakteri-bakteri tersebut. Selain itu dapat juga dikarenakan tidak diketahuinya dengan pasti ada senyawa apa saja di dalam ekstrak petroleum eter:kloroform (4:1) daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. dan apa pengaruhnya senyawa tersebut pada bakteri uji, sehingga hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahuinya.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode sterilisasi dan optimasi media yang digunakan pada penelitian ini belum menghasilkan kultur kalus Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum* Swartz.). kemudian kesimpulan kedua yaitu ekstrak daun *Dendrobium*

*crumenatum* Swartz. dengan konsentrasi 50 ppm, memiliki aktivitas daya anti bakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, 100 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*, 500 dan 1000 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kesimpulan yang terakhir adalah konsentrasi 1000 ppm pada ekstrak daun *Dendrobium crumenatum* Swartz. bersifat bakterisida terhadap bakteri *Escherichia coli*, sedangkan yang bersifat bakteristatik adalah ekstrak dengan konsentrasi 50 ppm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, 100 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*, 500 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta 1000 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah. 2004. *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*. Available in : Berita IPTEK.com, diunduh 22 Oktober 2011.
- Bulpitt, C.J, Bulpitt, P.F, Yan, L, and Jiguang, W. 2007. 'The Use of Orchid in Chinese Medicine' by *Journal of the Royal Society of Medicine*, vol. 100, pp. 558-563
- Chen, K.K' and Chen, A.L. 1935. *The Alkaloid of Chin-Shih-Hu*. Indianapolis: Lilly Research Laboratories.
- Daisy, P. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- DepKes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta. 1-12.
- Devi *et al.* 2008. 'Antitumor and antimicrobial activities and inhibition of in-vitro lipid peroxidation by *Dendrobium nobile*' by *African Journal of Biotechnology*, vol. 8 (10), pp. 2289-2293.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan Julius E. Suryawidjaja. Edisi 3. Jakarta: Binarupa Aksara. h. 179-185.
- Karuppusamy, S. 2009. 'A Review on Trends in Production of Secondary Metabolites from Higher Plants by *in vitro* Tissue, Organ, and Cell Cultures' by *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 3 (13), pp. 1222-1239.
- Kudo, Y, Tanaka, A, and Yamada, K. 1983. *Dendrobine, an antagonist of Alanine, taurine and of presynaptic inhibition in the frog spinal cord*. Japan: Br. J. Pharmac. Page 709-715.
- Levinson W. 2008. *Review of Medical Microbiology*. Amerika: The McGraw-Hill Companies.
- Maloy, S. 1999. *Salmonella Information*. Available in: <http://www.Salmonella.org/info.html>, diunduh 11 April 2011.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Publishing Corporation and SNTC Publishers of Technical Literatur.
- Purwianingsih W dan Hamdiyati Y. 2010. *Metode Elisitasi Menggunakan Ragi *Sacharomyces cerevisiae* untuk Meningkatkan Kandungan Bioaktif *Morinda citrifolia* (Mengkudu)*. Bandung: Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Rianawati, S. 2009. *Somatic Embryogenesis from Eksplant of *Palaenopsis Orchid**. Bogor: Kampus IPB Darmaga.
- Robinson, T. 1995. *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6th ed. Bandung: Penerbit ITB.
- Simanjuntak, C.H. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 3. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Strohl, W.A, Rouse, H, Fisher, B.D. 2001. *Microbiology*. USA: Lippincott Williams & Wilikns.
- Todar, K. 2008. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease*. Available in: <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>, diunduh 22 Oktober 2011.

- Wesley, A.V and Wheeler, M. 1988. Basic Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. New York: Addison-Wesley Educational Publishers, Incorporated.
- Wiart, P. 2006. *Ethnopharmacology of Medicinal Plants Asia and the Pasific*. New Jersey: Human Press Inc.
- Wiwik, S. R. 2010. 'Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Terpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe)' by *Jurnal Kimia Universitas Udayana*, vol 4 (1), pp 20-26.

# JURNAL ILMIAH SAINS & TEKNOLOGI

Popy Hartatie Hardjo, Win Darmanto, Bambang Sugiharto  
SKRINING TRANSFORMASI GENETIK TANAMAN TEBU (*Saccharum* spp. hybrids)  
DENGAN PERANTARA *Agrobacterium tumefaciens*

Mariana Wahjudi, Lutfia Lukman Algadrie, Ruth Chrisnasari  
ISOLASI BAKTERI DARI TANAH GUNUNG KAPUR DAN PENGUJIAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI ISOLAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*  
DAN *Staphylococcus aureus*

Wina Dian Savitri  
UPAYA PEMBENTUKAN TUNAS ADVENTIF DARI DAUN PHALERIA  
MACROCARPA (SCHEFF.) BOERL.

Ernest Suryadjaja  
EVALUASI AWAL BUDIDAYA KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*)  
PADA SISTEM RESIRKULASI (RAS) SKALA KECIL

Ruth Chrisnasari, Wandy Yuwono, Monika Selvira Puspitasari, Tjandra Pantjajani  
OPTIMASI PEMODELAN KONSENTRASI GLUKOAMILASE DAN AMONIUM  
SULFAT PADA PRODUKSI BIOETANOL DARI ONGGOK DENGAN METODE  
SEPARATE HYDROLYSIS FERMENTATION (SHF) DAN SIMULTANEOUS  
SACCHARIFICATION FERMENTATION (SSF)

Theresia Desy Askitosari  
PRODUKSI NEMATODA PATOGEN SERANGGA SKALA LABORATORIUM HASIL  
ISOLASI SAMPEL TANAH TRAWAS, MOJOKERTO

Mangihot Tua Goeltom, Tjie Kok, Dian Kumalasari  
INDUKSI KULTUR KALUS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN  
ANGGREK MERPATI (*Dendrobium crumenatum* Swartz.)

Maria Goretti M. Purwanto  
PERBANDINGAN ANALISA KADAR PROTEIN TERLARUT DENGAN BERBAGAI  
METODE SPEKTROSKOPI UV-VISIBLE

**JURNAL ILMIAH  
SAINS & TEKNOLOGI**

ISSN 0216-1540

Terbit dua kali setahun pada bulan Juni dan Desember. Berisi tulisan yang berasal dari hasil penelitian, kajian atau karya ilmiah di bidang Sains dan Teknologi.

**Ketua Penyunting**

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

**Penyunting Pelaksana**

Benny Lianto

Nani Parfati

**Staf Pelaksana**

Tang Hamidy, Hadi Krisbiyanto, Sukono

**Penerbit**

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat  
Universitas Surabaya

**Alamat Penerbit/Redaksi**

Gedung Perpustakaan Lt.IV, Universitas Surabaya

Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya, 60293

Telp. (031) 2981360, 2981365

Fax. (031) 2981373

Website : <http://lppm.ubaya.ac.id>

Email : [lppm@ubaya.ac.id](mailto:lppm@ubaya.ac.id)

Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi pernah terbit dengan nama Unitas (pertama kali terbit tahun 1992) oleh Lembaga Penelitian Universitas Surabaya.

*Isi di luar tanggung jawab Percetakan.*

**JURNAL ILMIAH  
SAINS & TEKNOLOGI**  
ISSN 0216-1540

Volume 7 Nomor 2, Juni 2014  
Halaman 1-71

Popy Hartatie Hardjo, Win Darmanro, Bambang Sugiharto  
SKRINING TRANSFORMASI GENETIK TANAMAN TEBU (*Saccharum* spp. hybrids) DENGAN  
PERANTARA *Agrobacterium tumefaciens*  
(hal: 1-6)

Mariana Wahjudi, Lutfia Lukman Algadrie, Ruth Chrisnasari  
ISOLASI BAKTERI DARI TANAH GUNUNG KAPUR DAN PENGUJIAN AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI ISOLAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*  
DAN *Staphylococcus aureus*  
(hal: 7-17)

Wina Dian Savitri  
UPAYA PEMBENTUKAN TUNAS ADVENTIF DARI DAUN *PHALERIA MACROCARPA*  
(SCHEFF.) BOERL.  
(hal: 18-30)

Ernest Suryadjaja  
EVALUASI AWAL BUDIDAYA KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*)  
PADA SISTEM RESIRKULASI (RAS) SKALA KECIL  
(hal: 31-35)

Ruth Chrisnasari, Wandy Yuwono, Monika Selvira Puspitasari, Tjandra Pantjajani  
OPTIMASI PEMODELAN KONSENTRASI GLUKOAMILASE DAN AMONIUM SULFAT PADA  
PRODUKSI BIOETANOL DARI ONGGOK DENGAN METODE *SEPARATE HYDROLYSIS*  
*FERMENTATION* (SHF) DAN *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION* (SSF)  
(hal: 36-45)

Theresia Desy Askitosari  
PRODUKSI NEMATODA PATOGEN SERANGGA SKALA LABORATORIUM HASIL ISOLASI  
SAMPel TANAH TRAWAS, MOJOKERTO  
(hal: 46-51)

Mangihot Tua Goeltom, Tjie Kok, Dian Kumalasari  
INDUKSI KULTUR KALUS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN ANGGREK  
MERPATI (*Dendrobium crumenatum* Swartz.)  
(hal: 52-63)

Maria Goretti M. Purwanto  
PERBANDINGAN ANALISA KADAR PROTEIN TERLARUT DENGAN BERBAGAI METODE  
SPEKTROSKOPI *UV-VISIBLE*  
(hal: 64-71)