

Identifikasi Senyawa Aktif Kulit Batang Ampupu (*Eucalyptus alba* Reinw. Ex. Blume) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Fusarium moniliforme*

Bernadina Metboki^a

^aFakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU – NTT, Indonesia.

Article Info

Article history:

Received 20 November 2017

Received in revised form 10 Desember 2017

Accepted 3 Januari 2018

Keywords:

Aktivitas Anti Jamur
Ampupu
Fusarium moniliforme

Abstrak

Produksi jagung yang rendah di Indonesia disebabkan oleh banyak faktor salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh jamur. Pengendalian jamur dengan menggunakan bahan kimia sangat berbahaya bagi kesehatan. Oleh karena itu, diperlukan usaha pengembangan fungisida nabati yang ramah lingkungan, misalnya dengan menggunakan ekstrak kulit batang ampupu. Tujuan penelitian untuk mengetahui efek anti jamur dari ekstrak kulit batang ampupu terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. yang menyebabkan busuk tongkol jagung. Pengujian hambatan pertumbuhan *Fusarium* sp. oleh ekstrak kulit batang ampupu dilakukan di laboratorium dengan metode sumur difusi pada media PDA. Ekstrak dengan konsentrasi 1,5%, 3,0%, 4,5% di masukkan dalam sumur difusi pada setiap petri. Identifikasi senyawa aktif menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara *in vitro* ekstrak kasar kulit batang ampupu dengan konsentrasi 1,5%, 3,0%, dan 4,5% mampu menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium moniliforme* dengan diameter zona hambatan masing-masing adalah 0,18 mm, 1,85 mm, 2,01 mm. Peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan menyebabkan zona hambatan yang terbentuk lebih besar. Sebelas senyawa dalam ekstrak methanol kulit batang ampupu diketahui berpotensi sebagai anti jamur yaitu Ethylbenzene, o-Xylene, ALPHA.-PINENE, DELTA.3-Carene, Azulene(CAS) Cyclopentacycloheptene, Tetradecane(CAS) n-Tetradecane, 2,6-Diisopropyl-naphthalene, 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dien, Hexadecanamide, 9-Octadecenamide, (Z)-(CAS)OLEOAMIDE, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl). ©2018 dipublikasikan oleh Savana Cendana.

1. Pendahuluan

Jagung merupakan salah satu sumber karbohidrat yang cukup potensial. Namun kebutuhan jagung untuk pangan maupun pakan dan pakan baik kualitas maupun kuantitas belum terpenuhi sehingga masih impor dari Negara lain (Passaribu, 1995). Produksi jagung di Indonesia tahun 2013 adalah 18,51 juta ton, sedangkan kebutuhan jagung untuk pangan, pakan dan industri mencapai 27,14 juta ton (BPS, 2014). Rendahnya produksi jagung Indonesia disebabkan oleh banyak faktor salah satunya adalah faktor biologis. Penyakit tanaman jagung khususnya yang diakibatkan karena jamur yang menyebabkan busuk tongkol jagung, berkontribusi secara signifikan terhadap kerugian hasil pertanian (Pakki, 2006; Baco dan Tandibang, 1998). *Fusarium* sp. merupakan jamur yang menyebabkan busuk tongkol *Fusarium* pada jagung (Bahri, 2001).

Penggunaan fungisida kimia dapat memberikan efek berbahaya bagi manusia dan lingkungan (Goldman, 2008). Sehingga perlu dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai fungisida nabati. Pengembangan teknologi untuk menghasilkan fungisida nabati yang lebih efektif untuk bidang pertanian sangat diperlukan. Pengembangan fungisida nabati, dengan bahan aktif berupa ekstrak tumbuhan untuk mengendalikan penyakit jamur dan bakteri, merupakan salah satu upaya untuk mengurangi penggunaan fungisida sintetik dan mengurangi dampak negatif yang ditimbulkannya, baik terhadap kesehatan manusia maupun terhadap lingkungan (Yulia, 2006; Suprpta, 2014). Penggunaan Ampupu sebagai fungisida nabati diharapkan mampu mengurangi pencemaran terhadap manusia dan lingkungan.

2. Metode

Kulit batang tanaman Ampupu di peroleh dari hutan rakyat Kabupaten Timor Tengah Utara. Sampel dikumpulkan, kemudian dipilih dan dikeringanginkan selama 4-6 hari. Kulit batang yang sudah kering angin lalu diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk kulit batang tanaman Ampupu dibungkus lalu disimpan di tempat kering dan tertutup rapat.

Pembuatan ekstrak kulit batang ampupu meliputi kulit batang tanaman Ampupu diekstrak dengan menggunakan metode maserasi yaitu 100 g serbuk kulit batang Ampupu di rendam dalam satu liter methanol selama 72 jam (3 hari) pada suhu kamar. Setelah itu maserat di saring menggunakan kertas saring lalu hasil rendaman di evaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kasar.

2.1 Uji Aktivitas Antijamur kulit batang Ampupu

Petri yang telah berisi 10 mL media PDA dan 200 µL suspensi jamur dibiarkan memadat. Setelah padat dibuat sumur difusi masing-masing sebanyak 2 buah pada setiap petri dengan menggunakan cork borer. Setiap sumur difusi diisi dengan 20 µl ekstrak kasar kulit batang tanaman ampupu. Zona hambatan yang terbentuk disekitar sumur difusi diukur diameternya.

2.2 Partisi dan Identifikasi Fraksi aktif

Pemisahan ekstrak fase Metanol dan fase Heksan: Kedua fase diuji daya hambatnya terhadap jamur pada media PDA dengan metode sumur difusi. Fase yang menimbulkan hambatan (mempunyai aktivitas fungisida) terhadap pertumbuhan jamur selanjutnya di fraksinasi menggunakan kromatografi kolom (Astiet al., 2012)

Fraksinasi Komponen aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom (KK): Hasil uji ekstrak hasil partisi yang memiliki daya hambat tertinggi dianalisis senyawanya dengan melakukan uji KLT. Filtrat ditotolkan pada lempeng KLT (Silica gel plat Merck 60 F254) yang dikembangkan dengan campuran N-Heksan:Etil aseta:Metanol (5:1:1, v/v). Noda aktif divisualisasikan di bawah sinar UV λ254 dan λ365 nm (Ali, 2009). Untuk memurnikan senyawa dilanjutkan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan silica gel sebagai fase diam dan fase geraknya menggunakan

pelarut campuran hasil pengembang pada KLT. Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom di lakukan KLT kedua dan fraksi yang memiliki nilai Rf yang sama digabung lalu diujikan pada jamur patogen.

Spot – spot pada plat KLT dibandingkan dengan menggunakan nilai satuan tertentu yaitu *Retention factor* (Rf). Nilai Rf adalah perbandingan jarak dari titik awal spot sehingga sejauh spot itu berada dibandingkan dengan jarak pelarut hingga mencapai titik tertinggi yang dihitung dari titik awal yang sama (titik spot awal sebelum pengembangan). Spot yang bergerak mencapai bagian atas plat kromatografi mempunyai nilai Rf yang lebih besar dibanding spot – spot yang bergerak hanya mencapai bagian tengah plat kromatografi. Karena spot biasanya cukup besar, maka pengukuran spot tersebut dilakukan mulai dari titik awal hingga titik tengah spot (Sastrohamidjojo, 1985). Rumus Rf adalah:

$$Retention\ factor\ (Rf) = \frac{r_1}{r_2}$$

Keterangan :

- r1: Jarak yang ditempuh substansi (cm)
- r2: Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)

2.3 Uji Aktivitas antijamur hasil fraksinasi

Semua fraksi yang diperoleh diuji aktivitasnya untuk menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium moniliforme*. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambatan dari masing-masing fraksi terhadap pertumbuhan jamur. Fraksi yang menunjukkan daya hambat tertinggi kemudian di analisis senyawa aktifnya menggunakan KG-SM

2.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia (Harborne, 1987) dengan menggunakan pereaksi golongan senyawa yang spesifik. Metode ini dilakukan pada fraksi yang menunjukkan sifat antijamur yang paling tinggi. Pereaksi yang digunakan adalah sebagai berikut:

- a. *Golongan senyawa alkaloid*
Sedikit isolat ditambahkan beberapa tetes pereaksi Wagner, Reaksi positif jika terbentuk endapan coklat.
- b. *Golongan senyawa Flavonoid*
Sedikit isolat ditambah tetes pereaksi NaOH 10 %. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna yang spesifik
- c. *Golongan senyawa steroid dan triterpenoid*
Sedikit isolat ditambah pereaksi Libermann-Burchard, jika terjadi perubahan warna hijau –biru menunjukkan positif steroid, dan jika terjadi perubahan warna merah-ungu menunjukkan positif triterpenoid.
- d. *Golongan polifenol*
Sedikit isolat ditambah pereaksi FeCl₃ 1 %. Reaksi positif jika terbentuk warna hijau kehitaman.
- e. *Golongan saponin*
Mencampurkan sampel dengan air panas dan dikocok, adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang tahan lama pada permukaan cairan.

2.5 Analisis Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-SM)

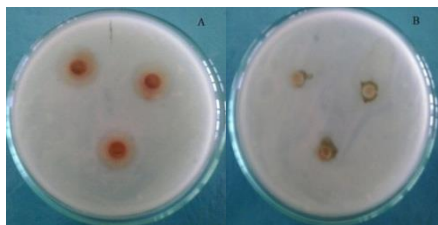
Cuplikan fraksi yang paling aktif dan relatif murni dianalisis dengan kromatografi gas – spektroskopi massa. Melalui kecocokan bobot molekul dan pola fragmentasi dari senyawa hasil isolasi dengan senyawa pada *library* pada system KG-SM, maka senyawa hasil isolasi dapat diketahui strukturnya.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Daya Hambat Ekstrak Hasil Partisi

Berdasarkan hasil partisi menggunakan metode *counter current distribution* dengan dua jenis pelarut yaitu heksan dan metanol menunjukkan bahwa ekstrak fraksi metanol dapat menghambat pertumbuhan *F. moniliforme* dengan diameter

zona hambatan sebesar 13,33 mm, sedangkan ekstrak fase heksan tidak dapat menghambat pertumbuhan *F. moniliforme* (Gambar 1.).



Gambar 1. Hasil uji ekstrak Ampupu hasil partisi menggunakan (A) fase metanol dan (B) fase heksan

Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada ekstrak kulit batang Ampupu yang bersifat antijamur terhadap *F. moniliforme* pada fase metanol.

3.2 Analisis senyawa ekstrak kulit batang ampupu dengan KLT

Uji kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak kulit batang ampupu menunjukkan dua (2) spot yang terbentuk pada plat KLT dengan menggunakan eluen campuran Heksan: Etil asetat: Metanol: 5:1:1. Sehingga dilakukan kromatografi kolom untuk memisahkan senyawa aktif tersebut. Pada proses kromatografi kolom didapatkan 54 botol eluat. Dari 54 eluat tersebut dicari nilai Rf yang sama sehingga didapatkan tiga fraksi seperti tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Fraksinasi ekstrak kulit batang menggunakan kromatografi lapis tipis

No	Fraksi	Nilai Rf
1	I	0,82
2	II	0,77, 0,85*
3	III	0,68, 0,35*

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan bahwa terdapat dua spot yang memiliki nilai Rf yang berbeda.

Hasil KLT yang didapat kemudian masing-masing diujikan pada jamur *F. moniliforme*. Dari 3 fraksi tersebut, fraksi II yang menimbulkan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *F. moniliforme* dengan zona hambat sebesar 14 mm sedangkan fraksi I dan fraksi III tdk terbentuk zona bening disekitar sumur difusi seperti yang tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji fraksi hasil kromatografi Lapis Tipis

Fraksi II yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *F. moniliforme* selanjutnya dianalisis komponen senyawa aktif yang terkandung didalamnya dengan menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM QP 2010S SHIMADZU).

Tabel 2. Uji Bioassay hasil fraksinasi KLT ekstrak kulit batang tanaman ampupu terhadap *Fusarium moniliforme*

No	Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm)
1	I	0,00
2	II	14,0
3	II	0,00

3.3 Uji Fitokimia

Hasil pengujian fitokimia ekstrak kulit batang Ampupu yang dilaksanakan di laboratorium Kimia Terapan, Program Pasacasarjana Universitas Udayana, menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang ampupu mengandung senyawa bioaktif triterpenoid/steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tannin (Tabel 3.).

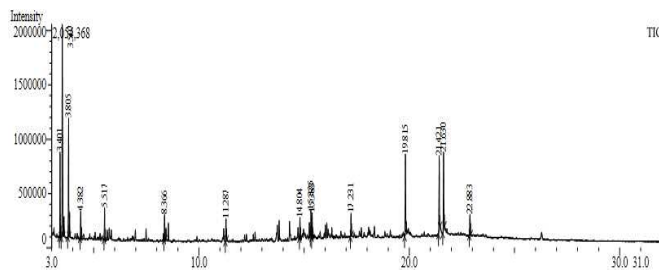
Tabel 3. Uji fitokimia Ekstrak Kulit batang ampupu (*Eucalyptus alba* Reinw. Ex. Blume)

Golongan	Perubahan warna	Keterangan
Triterpenoid/steroid	Coklat menjadi coklat ungu	+
	Coklat menjadi coklat ungu	
Flavonoid	Coklat menjadi hijau kekuningan	+
	Coklat menjadi orange	
Alkaloid	Coklat menjadi orange	+
	Coklat menjadi orange	
Fenolat	Terbentuk endapan coklat	+
Tanin	Coklat menjadi biru kehitaman	+
	Terbentuk endapan putih	
Saponin	Tidak terbentuk busa yang stabil	-

Keterangan: (+): mengandung senyawa bioaktif; (-): tidak mengandung senyawa bioaktif

3.4 Analisis Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-SM)

Fraksi 2 hasil kolom kromatografi yang memberikan hambatan terbesar pada uji bioassay selanjutnya dianalisis menggunakan KG-SM yang memperlihatkan 15 puncak. Masing – masing puncak diidentifikasi lebih lanjut dengan spektroskopi masa dimana setiap senyawa mempunyai pola fragmentasi masa yang spesifik (Gambar 3.). Identifikasi senyawa pada masing-masing puncak dilakukan dengan membandingkan spektrum masa masing-masing puncak dengan spektrum masa senyawa – senyawa yang telah diketahui dan terprogram dalam data base KG-SM, sehingga dapat diduga senyawa-senyawa penyusun fraksi aktif antijamur ekstrak kulit batang ampupu.



Gambar 3. Kromatogram hasil analisis KG-SM pada fraksi 2.

Identifikasi dilakukan dengan membandingkan spektrum massa masing-masing puncak dengan spektrum massa senyawa-senyawa yang telah diketahui dan terprogram dalam database KG-SM. Sehingga dapat diduga senyawa-senyawa aktif penyusun fraksi kulit batang tanaman Ampupu.

Tabel 4. Senyawa-senyawa aktif sebagai fungisida nabati yang teridentifikasi dalam ekstrak kulit batang Ampupu hasil analisis KG-SM

No	Puncak	WR	BM	RM	Senyawa aktif berdasarkan data base SM
1	Puncak 1	3,401	106	C ₈ H ₁₀	Ethylbenzene
2	Puncak 2	3,507	106	C ₈ H ₁₀	o-Xylene
3	Puncak 3	3,806	106	C ₈ H ₁₀	o-Xylene
4	Puncak 4	4,382	136	C ₁₀ H ₁₆	ALPHA.-PINENE, (-)
5	Puncak 5	5,517	136	C ₁₀ H ₁₆	.DELTA.3-Carene
6	Puncak 6	8,366	128	C ₁₀ H ₈	Azulene (CAS)
7	Puncak 7	11,286	198	C ₁₄ H ₃₀	Cyclopentacycloheptene
8	Puncak 8	14,804	212	C ₁₆ H ₂₀	Tetradecane (CAS) n-
9	Puncak 9	15,324	212	C ₁₆ H ₂₀	Tetradecane
10	Puncak 10	15,383	212	C ₁₆ H ₂₀	2,6-Diisopropyl-naphthalene
11	Puncak 11	17,232	276	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	2,6-Diisopropyl-naphthalene
12	Puncak 12	19,815	255	C ₁₆ H ₃₃ NO	2,6-Diisopropyl-naphthalene
13	Puncak 13	21,421	281	C ₁₈ H ₃₅ NO	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dien
14	Puncak 14	21,629	283	C ₁₈ H ₃₇ NO	Hexadecanamide
15	Puncak 15	22,883	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Octadecanamide, Octadecanamide
					1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester

4. Simpulan

Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan KG-SM ditemukan 11 senyawa dalam ekstrak methanol kulit batang ampupu yang berpotensi sebagai fungisida nabati yaitu Ethylbenzene, o-Xylene, ALPHA.-PINENE, DELTA.3-Carene, Azulene(CAS) Cyclopentacycloheptene, Tetradecane(CAS) n-Tetradecane, 2,6-Diisopropyl-naphthalene, 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dien, Hexadecanamide, 9-Octadecanamide, (Z)-(CAS)OLEOAMIDE, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl).

Pustaka

- Ardiansyah. 2005. Antimikroba dari Tumbuhan (bagian kedua) Available from: <http://www.berita iptek.com>. (diakses pada tanggal 6 oktober 2015)
- Astuti, N. P. A. And Suprpta, D. N. 2012. Antifungal activity of teak (*Tectona grandis* L.f) leaf extract against *Athrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis, the cause of wooddecay on *Albizia falcata* (L.) Fosberg. *Journal of ISSAAS* 18(1):62-69
- Baco, D. dan J. Tandiang. 1988. *Hama Jagung dan Pengendaliannya*. Badan Litbang Pertanian. p. 185 – 204.
- Badan Pusat Statistik. 2014. *Laporan Data Sosial Ekonomi: direktorat statistik Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan*. Katalog BPS (50). p. 82-86. ISSN: 2087-930X.
- Goldman, L.R. 2008. *Encyclopedia of Public Health : Fungicides*.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Casra Moderen Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua, ITB : Bandung
- Pakki, Syahrir dan Syahrir Ma'sud, 2005. Inventarisasi Dan Identifikasi Patogen Cendawan Yang Menginfeksi Benih Jagung. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Prosiding Seminar Ilmiah Dan Pertemuan Tahunan Pei Dan Pfi Xvi Komda Sul-Sel

- Pakki, S. 2006. *Patogen Tular Benih Fusarium sp. dan Aspergillus sp. pada jagung serta pengendaliannya*. Prosiding seminar nasional jagung. Balitsereal Maros. p. 588-598.
- Pasaribu, T. B., Tangendjaja and Wina, E.1995.*Limbah Tanaman dan Produk Samping Industri Jagung untuk Pakan*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Peternakan. p. 427-455.
- Suprpta, D. N. 2014. *Pestisida Nabati: Potensi dan Prospek Pengembangan*. Penerbit Pelawa Sari. Denpasar