

OPTIMASI PRODUKSI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIMIKROB DARI JAMUR ENDOFIT *Sporothrix sp* LBKURCC43 TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*)

Paslun, Saryono, Chirstine Jose

Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi dan Biomolekuler
Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau
Jln. Raya Bangkinang KM 12,5 Pekanbaru 28193
Penulis korespondensi. E-mail: paslunbahar@yahoo.co.id

ABSTRACT

Dahlia tubers contain fungus *Sporothrix sp* which have antimicrobial activity. The objective of this research was to determine the agitation that effect the activity of antimicrobial in malt extract broth (MEB). The result showed that agitation of 150 rpm have the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* with 21.0 mm and *Escherichia coli* with 12.8 mm. The identification of function group showed the extract contained O-H, C=O and Amide with UV and IR spectroscopy.

Key Words: Antimicrobial activity, Dahlia plant, agitation, *Sporothrix sp*

1. PENDAHULUAN

Dahlia merupakan tanaman yang berbunga indah dan banyak ditemui di seluruh Indonesia terutama daerah yang beriklim dingin. Tanaman banyak manfaatnya selain sebagai tanaman hias, menurut Didik Widyatmoko Peneliti LIPI Inulin yang terkandung dalam umbi bunga dahlia, merupakan polimer dari unit-unit fruktosa. Inulin ini merupakan salah satu komponen bahan pangan yang memiliki kandungan serat sangat tinggi.

Salah satu manfaat umbi dahlia dapat digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif. Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Saryono et al dalam artikelnya menunjukkan bahwa secara umum sampel mengandung metabolit sekunder flavonoid, terpenoid, dan fenol. Ekstrak metanol umbi dahlia berbunga merah menunjukkan keaktifan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida utilis* dan *Penicillium sp*.

Dan telah ditemukan adanya jamur *Sporothrix sp* yang berwarna ungu terdapat pada umbi dahlia melalui penelitian Dina Fitriyah(2012), dengan adanya penemuan ini maka akan dilanjutkan lagi penelitian tentang senyawa bioaktif anti jamur dan anti bakteri yang terkandung pada umbi dahlia dengan cara isolasi dan identifikasi . Penelitian ini juga

melibatkan pengaruh agitasi terhadap fermentasi untuk menghasilkan *Sporothrix sp*. Adapun fungsi agitasi dalam fermentasi ini adalah Untuk mensuspensikan mikroorganisme dan nutrient secara merata selama kultivasi serta meningkatkan laju perpindahan panas antara permukaan kultivasi dengan permukaan dingin.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah jamur *Sporothrix sp* yang telah diekstraksi dan difraksinasi dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) berbunga merah yang sudah berumur ± 1 tahun yang diambil dari daerah Payakumbuh, Sumatera Barat.

2.2. Fermentasi

Sampel dari penelitian sebelumnya diinokulasi dalam media malt extract broth (MEB) sebanyak 25 ml selama 2 hari. Kemudian diambil 5 ml inokulum dimasukkan dalam fermentor yang berisi 900 ml media MEB dan difermentasi selama 20 hari dengan variasi agitasi 75,100,125 dan 150 rpm. Setiap variasi kecepatan agitasi hasil fermentasi diuji aktivitasnya dengan *Candida Albicans*, *S.Aureus* dan *E.Coli*.

2.3. Ekstraksi

Hasil fermentasi dengan kecepatan agitasi yang sudah mempunyai aktivitas pada *Candida albicans*, *S. Aureus* dan *E.Coli* kemudian di ekstraksi Setelah 20 hari miselia dan media dipisahkan dengan cara dekantasi. Masing – masing dari 1 liter filtrate hasil fermentasi diekstraksi dua kali dengan etil asetat bervolume 1 liter. Ekstrak dikentalkan dengan evaporator pada suhu kamar yang sebelumnya diberi penambahan Na_2SO_4 anhidrat. Residu yang diperoleh dari evaporasi dilarutkan kembali dengan metanol, dalam perbandingan 1 ml metanol untuk setiap 1 L ekstrak etil asetat. Ekstrak kasar ini dapat disimpan pada suhu -20°C sebelum dipergunakan.

2.4. Deteksi Saponin dengan KLT

Ekstrak kasar dari miselia jamur *Sporothrix sp* dalam metanol dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada plat KLT SiO_2 dan digunakan DCM: metanol 80:20 (v/v) sebagai eluen. Ekstrak diambil sebanyak 10 μL kemudian ditotolkan ± 1 cm dari bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya dibiarkan beberapa saat hingga pelarutnya menguap dan dimasukkan ke dalam bejana pengembang (*chamber*). Setelah eluen naik sampai batas garis atas, plat dikeluarkan dan dikeringkan. Noda dideteksi dengan penyemprotan reagensia yakni larutan 0,5% 4-metoksibenzaldehid dalam larutan metanol/ H_2SO_4 /asam asetat 90:5:5 (v/v/v) dan

dikeringkan pada suhu 110°C selama 20 menit. Pemaparan dengan sinar UV (254 nm) akan meningkatkan visualitas selain reagen tersebut digunakan juga serum sulfat.

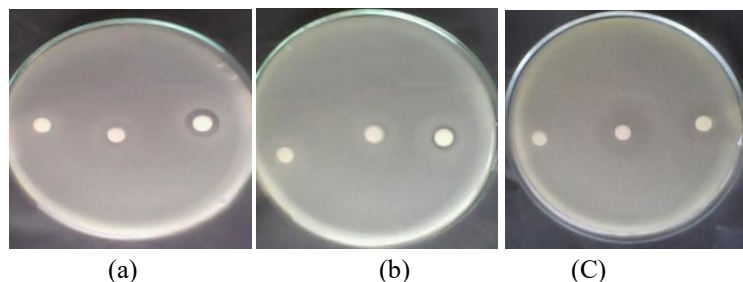
Sebanyak 0,245 g sampel yang telah diimpregnasi dengan 3 g silika adsorp dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi *flash* berdiameter kolom 1 inch menggunakan eluen metanol: etil asetat (5:5) masing-masing sebanyak 50 ml. Fraksi yang dihasilkan selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan suhu ruangan kemudian ditimbang beratnya. Hasil yang diperoleh diuji kemurniannya dengan HPLC. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan gugus fungsi dengan UV dan IR.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Satu Liter filtrate dari hasil fermentasi jamur *Sporothrix sp* pada kecepatan agitasi 75 dan 100 rpm yang dilakukan selama 20 hari di uji aktivitasnya dengan antimikrobal. Dari hasil penelitian pada kecepatan agitasi tersebut jamur *sporothrix sp* belum dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini disebabkan karena pada kecepatan agitasi 75 dan 100 rpm belum dapat mendistribusikan udara dan nutrient secara optimal. Agitasi merupakan factor penentu keberhasilan proses kultivasi dimana tujuan proses tersebut adalah untuk mendispersikan udara di dalam larutan media dan menyeragamkan suhu dan konsentrasi nutrient di dalam fermentor.

Tabel 1. Aktivitas antimikrobal Ekstrak Jamur *Sporothrix sp*

Kecepatan Agitasi	Zona Hambat (mm)								
	Ekstrak Jamur			Kontrol positif			Kontrol negatif		
	Sa	Ec	Ca	Sa	Ec	Ca	Sa	Ec	Ca
75	-	-	-	9,8 $\pm$ 0,8	10,2 $\pm$ 0,2	17,6 $\pm$ 0,2	-	-	-
100	-	-	-	11,6 $\pm$ 0,8	10,8 $\pm$ 0,7	20,1 $\pm$ 0,9	-	-	-
125	-	-	-	11,4 $\pm$ 0,4	10,6 $\pm$ 0,5	18,4 $\pm$ 0,2	-	-	-
150	21,0 $\pm$ 0,6	12,8 $\pm$ 0,5	-	12,1 $\pm$ 0,4	10,3 $\pm$ 0,7	19,6 $\pm$ 0,8	-	-	-
175	-	-	-	9,7 $\pm$ 0,7	10,2 $\pm$ 0,2	17,6 $\pm$ 0,2	-	-	-



Gambar 1. Aktivitas antimikrobal jamur endofit *Sporothrix sp* pada bakteri patogen (a) *Aspergillus aureus* (b) *Escherichia coli* dan jamur patogen (c) *Candida albicans* dengan kecepatan agitasi 150 rpm.

Skrining aktivitas antimikrobal jamur endofit tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*)

Diantara lima perlakuan agitasi 75,100,125,150,175 rpm didapatkan bahwa aktivitas antimikrobal berada pada agitasi 150 rpm dengan zona hambat pada *Aspergillus aureus* sebesar 21,0 mm pada *Escherichia coli* sebesar 12,8 mm. Pada kecepatan agitasi 150 rpm merupakan kecepatan agitasi yang bisa menghasilkan aktivitas antimikrobal.

Uji antijamur terhadap *Candida albicans* menunjukkan bahwa ekstrak kasar jamur endofit *Sporothrix sp* yang di fermentasi dalam media produksi MEB pada agitasi 75,100,125 dan 175 rpm tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikrobal.

Pada kecepatan 75,100,125rpm proses fermentasi terjadi dalam kondisi agitasi terlalu rendah sehingga berakibat tidak optimalnya proses distribusi oksigen, nutrisi dan enzim keseluruh bagian media sehingga pertumbuhan jamur tidak optimal hal ini disebabkan juga karena *Sporothrix* adalah mikroorganisme aerob sehingga perlakuan agitasi mendistribusikan oksigen yang dibutuhkan dalam pertumbuhan *Sporothrix sp*.

Pada kecepatan 175rpm, fermentasi berjalan dalam kondisi agitasi terlalu tinggi, sehingga menyebabkan proses metabolisme sel terganggu Kecepatan agitasi terlalu tinggi akan menyebabkan sebagian sel mengalami kerusakan fisik kemudian mati. Pada penelitian ini diperoleh bahwa ekstrak *Sporothrix sp* lebih sensitif terhadap bakteri gram positif daripada gram negatif. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri gram positif lebih besar dari pada gram negatif. Aktivitas zona hambat pada *S.Aureus* sebesar 21,0 mm diduga

memiliki aktivitas antibakteri berkekuatan kuat karena memiliki zona hambat 10-20 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri gram positif tersebut lebih peka terhadap senyawa aktif yang ada pada jamur *sporothrix sp*.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian terhadap senyawa bioaktif jamur *Sporothrix sp* pada umbi dahlia diambil kesimpulan bahwa:

Pada fermentasi jamur endofit *Sporothrix sp* umbi dahlia diperoleh aktivitas antimikrobal pada media MEB dengan agitasi pada 150 rpm dengan zona hambat maksimum pada sebesar 21,0 mm dan pada *Escherichia Colli* sebesar 12,8 mm. Hasil karakterisasi gugus fungsi dengan data UV dan IR dapat disimpulkan bahwa senyawa endofit mempunyai gugus

OH, C=O, Amida, dan adanya ikatan rangkap

Daftar Pustaka

- Asahiko Hayashi,et al, 1995, The Journal antibiotic, vol.49 no.7
- Fitriyah D, Penentuan Media Optimum Senyawa Anti Mikroba dari senyawa endofit tanaman Dahlia, Kimia FMIPA UNRI, 2012
- Fardiaz, S, 1988, Fisiologi Fermentasi, Pusat Antar Universitas, IPB Bogor.
- Saryono, Chainulfiffah, Devi, S., Monalisa, & Dasli. 1998. Pemanfaatan Ubi *Dahlia variabilis* untuk Produksi Sirup Fruktosa (HFS) Dan Fruktooligosakarida (FOS). *Seminar Nasional PBBMI XIV*. Bandung
- Strobel, G. & Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their

- Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67:491-502
- Sinaga, E., Noverita, & Fitria, D., 2003. *Daya Antibakteri Jamur Endofit yang Diisolasi dari Daun dan Rimpang Lengkuas (Alpinia Galanga SW)*. FMIPA Biologi. Universitas Nasional
- Suciatmih. 2010. Pengaruh Konsentrasi Antimikroorganisme, Media Fermentasi, dan Waktu Inkubasi Terhadap Pertumbuhan *Absidia corymbifera* (Cohn) Sacc. & Trotter dari jamur Endofit *Fusarium nivale* (Fr.) Ces. *Media Litbang Kesehatan Volume XX:1*.
- Suryadi, A.E. 2007. *Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Umbi Dahlia (Dahlia variabilis)*. Skripsi FMIPA Universitas Riau. Pekanbaru.
- Turk, F.M. 2006. Saponins versus plant fungal pathogens. *Journal of Cell and Molecular Biology* 5:13-17.
- Yuwono, T. 2010. *Biologi Molekuler*. Penerbit Erlangga: Jakarta.

