

Pengujian Aktivitas Anti Cendawan Sekresi Pertahanan Diri Rayap Tanah
***Coptotermes curvignathus* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae)**
Preliminary Detection of Antifungal Activity of Soldier Defensive Secretions from
*Subterranean Termites *Coptotermes curvignathus* Holmgren (Isoptera:*
Rhinotermitidae)

Farah Diba

Abstract

Coptotermes curvignathus Holmgren is the most destructive subterranean termites which caused economic loss in some big city in Indonesia. Soldier of *C. curvignathus* Holmgren have a defensive secretions with white colour and sticky. These soldier defensive secretions are used to overcome their enemy. In this research, soldier defensive secretions (SDS) from *C. curvignathus* Holmgren were isolated and extracted in polar and non-polar solution and their antifungal activity was studied. The solution used for extraction was ethyl acetate, ethanol, aquadest and n-hexane. The fungal used to determine antifungal activity was *Schizophyllum commune*. The result showed that extract from ethyl acetate shown the highest inhibition zone meanwhile other extract have no activity. The compound then purified by GCMS (Gas Chromatography Mass Spectra) and found that aldehyde compound Pentadecanal and Tetradecanal were the bioactive compound. This was the first research about possibilities of soldier defensive secretions from *C. curvignathus* Holmgren as antifungal against *Schizophyllum commune*.

Key words: termites, soldier defensive secretions, *Coptotermes curvignathus*, antifungal, *Schizophyllum commune*, Pentadecanal, Tetradecanal

Pendahuluan

Sudah umum diketahui bahwa serangga memiliki sistem pertahanan kimiawi yang sangat unik. Pemangsa serangga harus berhadapan dengan sekresi pertahanan diri yang disemprotkan oleh serangga ke tubuh pemangsa. Sekresi pertahanan diri tersebut sangat beracun dan ada juga yang mengeluarkan bau menyengat yang membuat pemangsa serangga menghindar. Salah satu serangga yang memiliki sistem pertahanan kimiawi adalah rayap, yaitu kelenjar penghasil sekresi pertahanan diri yang terletak pada abdomen sebagai senjata untuk mempertahankan diri.

Sistem pertahanan kimia kasta prajurit rayap dalam menghadapi pemangsa ini terdiri dari tiga sistem: pertama, kasta prajurit menggigit musuh kemudian melepas kan sekresi pertahanan diri yang kental dan mengandung racun yang dapat melumpuhkan musuh (*oily toxic*); kedua, kasta prajurit menyemprotkan sekresi pertahanan diri yang mengandung racun ke permukaan tubuh pemangsa dengan menggunakan *labrum*, dan ketiga, kasta prajurit mengeluarkan sekresi pertahanan diri yang kental (*glue-squirting poison*) melalui *fontanel* (Prestwich 1984). Sekresi pertahanan diri yang disemprotkan kasta prajurit rayap telah menarik perhatian beberapa ahli kimia karena kemampuannya dalam melumpuhkan musuh dan pemangsa mereka.

Beberapa penelitian mengenai sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap telah dilakukan oleh Prestwich (1984) pada genus *Nasutitermes*, Chuah *et al* (1989) pada genus *Nasutitermes*, Chuah dan Goh (1990) pada genus *Hospitalitermes*, Goh *et al* (1990) pada genus *Laccessititermes*, Roseangus dan Traniello (2001) pada genus *Zootermopsis*, Lamberty *et al* (2001) pada rayap *P. spinigerin*, dan Da Silva *et al* (2003) pada genus *Pseudacanthotermes*. Hasil penelitian tersebut mengungkapkan bahwa sekresi pertahanan diri dari *fontanel* kasta prajurit rayap memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai pestisida hayati yang mampu mematikan pemangsa serta menghambat pertumbuhan bakteri dan cendawan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap *C. curvignathus*, terhadap cendawan pelapuk kayu *Schizophyllum commune*.

Metode Penelitian

Isolasi Sekresi Rayap Tanah *Coptotermes curvignathus*

Isolasi sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap tanah *C. curvignathus* dilakukan berdasarkan metode Prestwich *et al* (1984) dan Quintana *et al*. (2003) yang dimodifikasi. Sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap tanah *C. curvignathus* dikeluarkan dari *fontanel* prajurit

rayap dengan menggunakan pipet pasteur. Untuk setiap pelarut digunakan cairan sekresi yang diambil dari 4000 ekor rayap. Pelarut untuk ekstraksi meliputi aquabidestilata, etanol, etil asetat dan n-heksana, dengan demikian total rayap yang digunakan sebanyak 16.000 ekor. Cairan sekresi yang menempel pada pipet pasteur dipindahkan ke dalam botol kaca dan selanjutnya siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi Sekresi Rayap *C. curvignathus*

Ekstraksi sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap tanah *C. curvignathus* yang dilakukan berdasarkan metode Preswitch *et al* (1980) dan Chuah *et al* (1990) yang dimodifikasi. Sekresi pertahanan diri rayap dilarutkan dengan 10 ml aquabidestilata, dilakukan homogenisasi, selanjutnya pelarut diuapkan dengan cara *fresh-dry*. Filtrat yang terjadi disimpan di dalam botol kaca dan selanjutnya disimpan pada suhu -10°C dan siap digunakan untuk pengujian *bioassay*. Pada ekstraksi dengan pelarut organik, sekresi pertahanan diri rayap dilarutkan dalam 10 ml pelarut etanol, kemudian dilakukan homogenisasi. Selanjutnya pelarut diuapkan dengan ditiup gas nitrogen. Filtrat disimpan dalam botol kaca dan selanjutnya disimpan pada suhu -10°C . Untuk mendapatkan ekstrak dengan pelarut etil asetat dan n-heksana, dilakukan perlakuan yang sama seperti pada perlakuan pelarut etanol.

Persiapan Ekstrak

Ekstrak non polar (ekstrak n-heksana) diencerkan dengan air steril yang berisi Tween 80 (0.5%), sedangkan ekstrak polar dan semi polar (ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak aquabidestilata) diencerkan dengan air steril (aquabidestilata). Konsentrasi ekstrak yang diuji adalah 40%.

Pengujian Aktivitas Anti Cendawan

Pengujian aktivitas anticendawan dilakukan dengan metode Mori *et al.* (1997). Media yang digunakan adalah PDA (*Potato Dextrose Agar*). PDA steril disiapkan dalam tiap cawan petri yang telah dicampur dengan masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 10% (berat ekstrak/berat media agar). Selanjutnya pada cawan petri tersebut diinokulasi 1 potong cendawan *S. commune* (umur 5 hari, \varnothing 6 mm). Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Untuk perlakuan kontrol, diinokulasi 1 potong cendawan *S. commune* (umur 5 hari, \varnothing 6 mm) pada cawan petri yang terdiri dari media PDA saja, dan media PDA yang dicampur dengan pelarut ekstrak (etanol, etil asetat, n-heksan dan aquabidestilata) dengan konsentrasi 10% (berat pelarut/berat media agar). Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu ruang ($26 \sim 28^{\circ}\text{C}$).

Pertumbuhan cendawan diukur setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke-7 dihitung persentase penghambatan dengan rumus (Mori *et al.* 1997):

$$\text{Aktivitas anticendawan (AFA)} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100\%$$

dimana :

R_1 = pertumbuhan miselia cendawan kontrol (mm)

R_2 = pertumbuhan miselia cendawan perlakuan (mm)

Aktivitas setiap ekstrak akan dinilai dengan melihat besaran nilai aktivitas anti cendawan (*Antifungal activity/AFA*) dan diklasifikasikan ke dalam katagori yang disajikan pada Tabel 1.

Table 1. Classification of Anti Fungal Activity (AFA).

Anti Fungal Activity	Level Activity
$\text{AFA} \geq 75\%$	Very strong (++++)
$75\% \leq \text{AFA} < 50\%$	Strong (+++)
$50\% \leq \text{AFA} < 25\%$	Moderate (++)
$25\% \leq \text{AFA} < 0$	Weak (+)
0	Not active (-)

Source: Mori *et al.* (1997)

Identifikasi Komponen Bioaktif Ekstrak

Ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan *S. commune* selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan GCMS.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik fisiko-kimia ekstrak sekresi rayap *Coptotermes curvignathus*

Karakteristik fisiko-kimia ekstrak sekresi meliputi nilai pH, warna, suhu dan viskositas ekstrak disajikan pada Tabel 2. Ekstrak eksudat rayap berbentuk cair dan kental (*oily*) dengan warna putih susu sampai abu-abu.

Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Cendawan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa hanya ekstrak etil asetat yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan *S. commune* dengan nilai AFA 100% sedangkan ekstrak aquadest, n-heksan dan etanol tidak dapat menghambat pertumbuhan cendawan. Sementara itu pelarut ekstrak yang digunakan dalam penelitian (n-heksan, etil asetat, etanol dan aquadest) tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan cendawan *S. commune* pada media PDA. Hal ini menunjukkan bahwa bahan pelarut tidak memberi kontribusi terhadap aktivitas anticendawan ekstrak sekresi rayap *C. curvignathus*.

Table 2. The values of pH, Temperature, Viscosity and Colour of extract soldier defensive secretions of *C. curvignathus*

Solvents	pH	Temperature (°C)	Viscosity (poise)	Colour
Ethyl Acetate	4.0	27.0	0.00050	White
Ethanol	5.0	27.5	0.00002	White
n-hexane	5.5	27.0	0.00003	White
Aquadest	4.5	27.0	0.00020	Grey

Nilai AFA ekstrak etil asetat mencapai 100% yang ditunjukkan dari tidak adanya pertumbuhan cendawan *S. commune* sama sekali pada cawan petri sampai hari terakhir pengujian. Nilai AFA setiap ekstrak disajikan pada Tabel 3.

Table 3. Anti fungal activity of extracts soldier defensive secretions of *C. Curvignathus*

Solvents	AFA (%)
Ethyl Acetate	100 (very strong)
Ethanol	15 (weak)
n-hexane	5 (weak)
Aquadest	0 (not active)

Menurut Roseangus *et al.* (2000) sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap genus *Nasutitermes* menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibiotik dan dapat menghambat pertumbuhan cendawan *Metarhizium anisopliae*. Lamberty *et al.* (2001) menyatakan bahwa sekresi pertahanan diri serangga mengandung metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan dan bakteri, seperti serangga *Heliothis virescens* yang menghasilkan senyawa anticendawan

yang diberi nama *heliomicin*. Lalat *Drosophila melanogaster* menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan dan diberi nama *drosomicin* (Landon *et al.* 1997), sedangkan laba-laba menghasilkan metabolit sekunder yang diberi nama *gomesin* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan cendawan (Mandard *et al.* 2002). Ekstrak sekresi pertahanan diri kasta prajurit rayap tanah *C. curvignathus* dalam pelarut etil asetat memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibiotik sehingga mampu menghambat pertumbuhan cendawan *S. commune*.

Senyawa Bioaktif Sekresi Rayap *Coptotermes curvignathus*

Hasil analisis GCMS pada ekstrak sekresi rayap dalam pelarut etil asetat menunjukkan bahwa terdapat 6 komponen yang berdasarkan golongan terdiri dari 50% golongan aldehid, 34% golongan ester dan dan 16% golongan alkohol. Golongan aldehid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat terdiri dari Undecanal, Tetradecanal dan Pentadecanal. Kromatogram komponen bioaktif ekstrak sekresi rayap *C. curvignathus* dalam pelarut etil asetat disajikan pada Gambar 1.

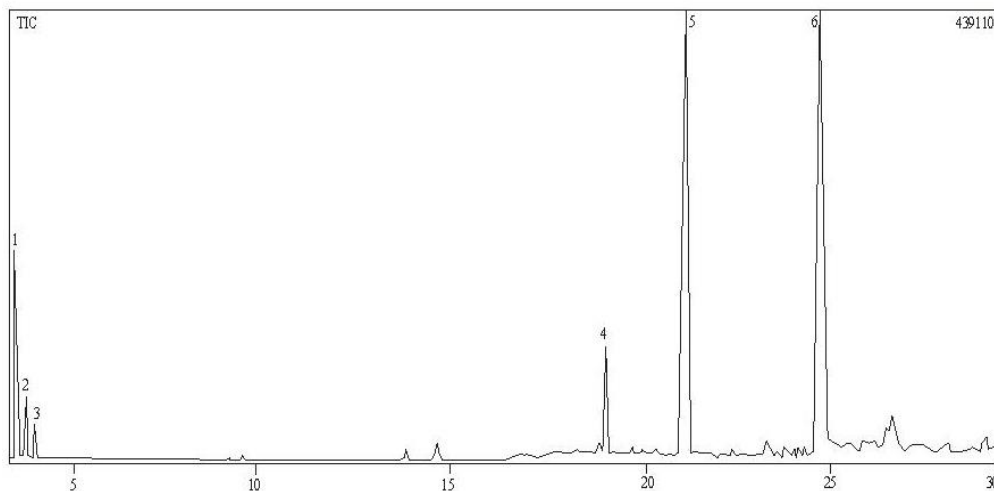


Figure 1. Chromatography Compound of Bioactive Extracts of Soldier Defensive Secretions of *C. curvignathus* in Ethyl Acetate. Peak Number is based on Number at Table 4.



Figure 2. Structure of Pentadecanal



Figure 3. Structure of Tetradecanal

Table 4. The Compound of Extract Soldier Defensive Secretions of *C. curvignathus* in Ethyl Acetate Solutions

Peak No	Retention Time	LRI _{exp}	LRI _{ref}	Compound	Group
1.	1.954	0	696 ^(a)	Ethyl propionate	Ester
2.	2.067	0	-	1-butanol	Alcohol
3.	2.925	0	795 ^(a)	n-butyl acetate	Ester
4.	19.422	1025	-	Undecanal	Aldehyde
5.	21.669	1096	1107 ^(b)	Tetradecanal	Aldehyde
6.	23.717	1137	-	Pentadecanal	Aldehyde

Notes:

LRI experiment from GCMS, DB-5 Coloum

LRI reference (a) Boscaini et al. (2003), Coloum DB-5

LRI reference (b) Mahattanatawee et al., (2004), Coloum DB-5

LRI reference (c) Mondello et al., (2002), Coloum DB-5

Hasil identifikasi sekresi pertahanan rayap *C. curvignathus* menunjukkan bahwa senyawa yang dominan adalah Pentadecanal dan Tetradecanal dari golongan aldehyd. Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa beberapa kelompok senyawa kimia utama yang bersifat anti cendawan adalah aldehyd, alkohol, fenol dan senyawa fenolik, halogen, gas kemositran serta logam berat. Pernyataan ini mendukung hasil penelitian yaitu senyawa aldehyd yang terdapat pada sekresi pertahanan rayap *C. curvignathus* dapat menghambat pertumbuhan cendawan perusak kayu. Struktur kimia Pentadecanal dan Tetradecanal disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Kesimpulan

Sekresi pertahanan diri rayap tanah *C. curvignathus* yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat dapat menghambat pertumbuhan cendawan perusak kayu *S. commune*. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etil asetat adalah Pentadecanal dan Tetradecanal.

Daftar Pustaka

Boscaini, E.; S.V. Ruth; F. Biasioli; F. Gasperi; T.D. Mark. 2003. Gas Chromatography – Olfactometry (GC-O) and Proton Transfer Reaction – Mass Spectrometry (PTR-MS) Analysis of the Flavor Profile of Grana Padano, Parmigiano Reggiano and

Grana Trentino Cheese. International Conference on Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry and Its Application. 18 – 23 January 2003, Austria.

Chuah, C.H.; S.H. Goh; Y.P. Tho. 1989. Interspecific Variation in Defense Secretions of Malaysian Termites from the Genus *Nasutitermes* (Isoptera: Nasutitermitinae). *Journal of Chemical Ecology* 15 (2): 549 -563.

Chuah, C.H and S.H. Goh.1990. 17-O-Acetoxy-(8,19) β ,3 α ,7 α ,9 α ,14 α ,17-hexahydroxytriner vitene 2,3,9,14-O-tetrapropionate, A New Diterpene from the Malaysian Termite *Hospitalitermes umbrinus*. *Malaysian Journal of Science* 12: 63 - 70.

Chuah, C.H.; S.H. Goh; Y.P. Tho. 1990. Chemical Defense Secretions of Some Species of Malaysian Rhinotermitide (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Chemical Ecology* 16 (3): 685 - 692.

Da Silva, P; L. Jouvensal; M. Lamberty; P. Bulet; A. Caille; F. Vovelle. 2003. Solution Structure of Termicin, an Antimicrobial Peptide from the Termite *Pseudacanthotermes spiniger*. *Protein Science* 12: 438 - 446.

Goh, S.H; C.H. Chuah; J. Vadiveloo; Y.P. Tho. 1990. Soldier Defense Secretions of Malaysian Free-Ranging Termite of the Genus *Lacessititermes* (Isoptera : Nasutitermitinae). *Journal of Chemical Ecology* 16 (2): 619 - 630.

Lamberty, M; D. Zachary; R. Lanot; C. Bordereaus; A. Robert; J.A. Hoffmann; P. Bulet. 2001. Insect Immunity: Constitutive Expression of a Cystein-Rich

- Antifungal and a Linear Antibacterial Peptide in a Termite Insect. *Journal of Biological Chemistry*: 276 (6): 4085 - 4092.
- Landon, C.; P. Sodano; C. Hetru; J. Hoffmann; M. Ptak. 1997. Solution Structure of Drosomycin, the First Inducible Antifungal Protein from Insect. *Protein Science* 6 (9):1878 - 1884.
- Mandard, N.; P. Bulet; A. Caille; S. Daffre; F. Vovelle. 2002. The Solution Structure of Gomesin, an Antimicrobial Cysteine-rich Peptide from the Spider. *Eur Journal Biochemistry*, 269 (4):1190 -1198.
- Mahattanatawee, K.; R. Rouseff; M.F. Valim; M. Naim. 2004. Identification and Aroma Impact of Norisoprenoids in Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 18: 2176 - 2180.
- Mondello, L.; G. Zappia; A. Cotroneo; I. Bonaccorsi; J.U. Chowdhury; M. Yusuf; G. Dugo. 2002. Studies on the Essential Oil-Bearing Plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of Some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. Var. *Purpurascens*; *O. sanctum* L. Green; *O. sanctum* L. Purple; *O. americanum* L. Citral type; *O. americanum* L. Camphor type. *Flavour and Fragrance Journal* 17 (5):335 - 340.
- Mori, M.; M. Aoyama; S. Doi; A. Kanetoshi; T. Hayashi. 1997. Antifungal Activity of Bark Extracts of Deciduous Trees. *Holz als Roh und Werkstoff Springer-verlag* 55: 130 - 132.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Prestwich, G.D.; S.G. Phantom; J.W. Lauher; J. Vrkoc. 1980. Structure of 3 α -Hydroxy-15-Rippertene. Evidence for 1,2-Methyl Migration During Biogenesis of a Tetracyclic Diterpene in Termites. *Journal of the American Chemical Society* 102: 6825 - 6828.
- Prestwich, G.D. 1984. The Chemical Defense of Termite. *Scientific American* 249 (1).
- Prestwich, G.D.; M.S. Tempesta; C. Turner. 1984. Longipenol, A Novel Tetracyclic Diterpene from the Termite Soldier *Longipeditermes longipes*. *Tetrahedron Letters* 25 (15): 1531 - 1532.
- Quintana, A; J. Reinhard; R. Faure; P. Uva; A.G. Bagneres; G. Massiot; J.L. Clement. 2003. Interspecific Variation in Terpenoid Composition of Defensive Secretions of European Reticulitermes Termites. *Journal of Chemical Ecology* 29 (3): 639 - 652.
- Roseangus, R.B; J.F.A. Traniello. 2001. Disease Susceptibility and the Adaptive Nature of Colony Demography in the Dampwood Termite *Zootermopsis angusticollis*. *Behav Ecol Sociobiol* 50: 546 - 556.
- Roseangus, R.B.; M.L. Lefebvre; J.F.A. Traniello. 2000. Inhibition of Fungal Spore Germination by *Nasutitermes*: Evidence for a Possible Antiseptic Role of Soldier Defensive Secretions. *Journal of Chemical Ecology* 26: 21 - 39.

Makalah masuk (*received*) : 05 April 2007
 Diterima (*accepted*) : 11 April 2007
 Revisi terakhir (*final revision*) : 03 Mei 2007

Farah Diba
 Fakultas Kehutanan, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat
 (Faculty of Forestry Tanjungpura University, West Borneo)
 Telp : (0561) 745286; 08161636348
 Email : farahdibapramudi@yahoo.com