

Sifat Anti Jamur Kayu Kupa (*Syzygium polycephalum* (Mig)) (Antifungal Properties of Kupa Wood (*Syzygium polycephalum* Mig.))

Renhart Jemi¹⁾, Wasrin Syafii²⁾, Fauzi Ferbianto²⁾, Muhammad Hanafi³⁾

¹⁾ Mahasiswa Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
Program Studi Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Palangka Raya

²⁾ Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor

³⁾ Pusat Penelitian Kimia. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Serpong

Corresponding author: renhartjemi@yahoo.com (Renhart Jemi)

Abstract

The objectives of this research were to evaluate the extractive substances of heartwood of Kupa wood (*Syzygium polycephalum* (Mig)) and its potentioin as bio-active substance to wood destroying fungi i.e., *Schizophyllum commune* Fr and *Pleurotus* sp. Successive extraction method was used in this experiment. The heartwood part was then converted into 40 mesh wood flour and followed by extraction using methanol, chloroform, ethyl acetate, n-hexane and buthanol solvents. The extractives obtained were subjected to wood destroying fungi *S. commune* and *Pleurotus* sp. The results indicated that the extractive content of *S. polycephalum* mostly dominated by substance diluted in chloroform (2.87%), followed by ethyl acetate (0.38%), n-hexane (0.33%) and buthanol (0.05%). All the wood extracts of *S. polycephalum* potentially contain anti-fungal compound to inhibit the growth of *S. commune* Fr and *Pleurotus* sp fungi. N-hexane and ethyl acetate extracts of *S. polycephalum* are the most active extracts. Isolation of ethyl acetate fraction resulted in nine (9) active compounds (G.1-G.9) that could inhibit the growth both *S. commune* and *Pleurotus* sp with IC₍₅₀₎ values 49.33-61.71 ppm and 48.84-64.61 ppm, respectively. It was found that G.2 compound of ethyl acetate has anti fungal substance namely 3'-O-glucosyl-3',4',5-trihydroxyflavonol.

Key words: *Syzygium polycephalum* (Mig), extractive, anti fungal compound, *Schizophyllum commune* Fr, *Pleurotus* sp.

Pendahuluan

Bahan pengawet kayu yang digunakan selama ini untuk meningkatkan umur pakai kayu adalah bahan kimia sintetik. Bahan tersebut umumnya bersumber dari bahan mineral dan minyak bumi yang tergolong bahan yang mudah habis dan tidak dapat pulih serta bersifat mencemari lingkungan. Salah satu alternatif untuk mengatasinya adalah mencari bahan pengawet alami dari sumber daya yang dapat diperbarui dan tidak mencemari

lingkungan. Bahan pengawet alami tersebut dapat dieksplorasi dari kayu, karena kayu mengandung zat ekstraktif dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengawet kayu (Abad *et al.* 2007).

Hutan tropis di Indonesia kaya akan jenis kayu yang secara alami menunjukkan ketahanan yang tinggi terhadap serangan organisme perusak kayu. Salah satu jenis kayu yang memiliki keawetan alami yang tinggi adalah kayu Kupa (*Syzygium polycephalum*). Kayu ini termasuk famili

Myrtaceae dan banyak tumbuh di Indonesia, terutama tersebar di Jawa dan Kalimantan. Kayu ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan dan perabot (Heyne 1987, Verheij & Coronel 1992). Baik bagian kayu, daun maupun buah dari marga *Syzygium* banyak mengandung zat ekstraktif bersifat anti fungal, anti bakteri dan anti oksidan. Buckingham (2006) telah mengisolasi 7 jenis *Syzygium* dan diperoleh 31 zat ekstraktif.

Kayu *S. quineense* tergolong satu famili dengan kayu Kupa, dan berdasarkan laporan Djoukeng *et al.* (2005) kayu ini mengandung senyawa bioaktif triterpen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa zat ekstraktif dari daun *S. samarangense* mengandung senyawa flavanoid (Yuh-Chi *et al.* 2004) dan daun kayu *S. cumini* mengandung senyawa bersifat antimikrobial (Oliveira *et al.* 2007, Abbas & Mustaq 2008), bersifat anti oksidan (Ruan *et al.* 2008), dan bersifat anti bakteri (Supana *et al.* 2009). Selanjutnya, daun *S. lineare* mengandung senyawa yang bersifat anti insektisida (Alagarmalai *et al.* 2011), daun *S. polyccephalum* mengandung senyawa yang bersifat anti jamur (Duraipandiyan *et al.* 2008), dan daun *S. forrestii* mengandung senyawa fenolik (Li-Wen *et al.* 2011).

Selanjutnya dilaporkan juga bahwa buah dari *S. jambon* mengandung senyawa terpenoid (Reynertson *et al.* 2005) dan buah *S. samarangense* mengandung senyawa 2-*flavonol glycosides* yang bersifat antioksidan (Simirgiotis *et al.* 2008), bersifat anti bakteri (Ratnam & Raju 2008). Buah *S. cumini* mengandung senyawa anti oksidan (Simirgiotis *et al.* 2008; Adelia *et al.* 2011). Son *et al.* (1998) melaporkan bahwa terdapat tujuh komponen senyawa bioaktif pada bunga *S. cumini* dan bersifat sebagai anti bakteri (Satyan *et al.* 2011). Senyawa eugenol

yang terkadung dalam cengkeh (*S. aromaticum*) bersifat anti jamur (Sen-Sung *et al.* 2008; Khewkhom & Shangchote 2009, Kumar *et al.* 2011). Selanjutnya senyawa *dehydrodieugenol* dan *transconiferyl aldehyde* pada *S. aromaticum* bersifat anti mutagenik (Miyazawa & Hisama 2002).

Serangkaian penelitian mendasar dan komprehensif mengenai sifat anti jamur pembusuk kayu dari kayu Kupa telah dilakukan. Kandungan ekstrak, potensi bioaktif serta senyawa anti jamur pembusuk kayu dari kayu Kupa dilaporkan dalam tulisan ini.

Bahan dan Metode

Pembuatan serbuk kayu

Kayu Kupa diameter 25 cm diperoleh dari hutan rakyat di Dramaga Bogor. Sebelum digunakan sebagai bahan penelitian, kayu tersebut terlebih dahulu diidentifikasi di Botani LIPI Cibinong, untuk menentukan nama ilmiah yang tepat. Bagian kayu yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian teras. Bagian ini kemudian direduksi menjadi serbuk dengan ukuran 40 mesh. Serbuk kayu yang diperoleh, selanjutnya dikeringudarakan secara alami sampai mencapai kondisi kering udara (kadar air 12-15%). Serbuk kayu yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan ditutup rapat.

Maserasi serbuk kayu

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Sebanyak 2000 g serbuk kayu Kupa direndam dalam pelarut metanol pada suhu ruangan selama 48 jam sambil diaduk. Perbandingan serbuk kayu dengan pelarut adalah 1:3 (v/v). Setelah 48 jam rendaman tersebut disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan ekstraknya. Perlakuan ini terus dilakukan hingga diperoleh larutan jernih yaitu kondisi

dimana semua ekstrak dianggap sudah terlarut dengan pelarut tersebut. Selanjutnya, pemekatan ekstrak metanol dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu maksimum 40 °C hingga diperoleh larutan ekstrak sebanyak 1 liter.

Berat kering ekstrak metanol diketahui dengan cara sebagai berikut: sebanyak 10 ml diambil dari ekstrak metanol, lalu dipekatkan pada suhu 40 °C sampai ekstraknya mengkristal. Setelah dingin ditimbang untuk mengetahui berat kering ekstrak metanol. Kandungan ekstrak metanol dihitung berdasarkan persentase berat padatan ekstrak metanol terhadap berat kering tanur serbuk kayu.

Fraksinasi bertingkat ekstrak metanol

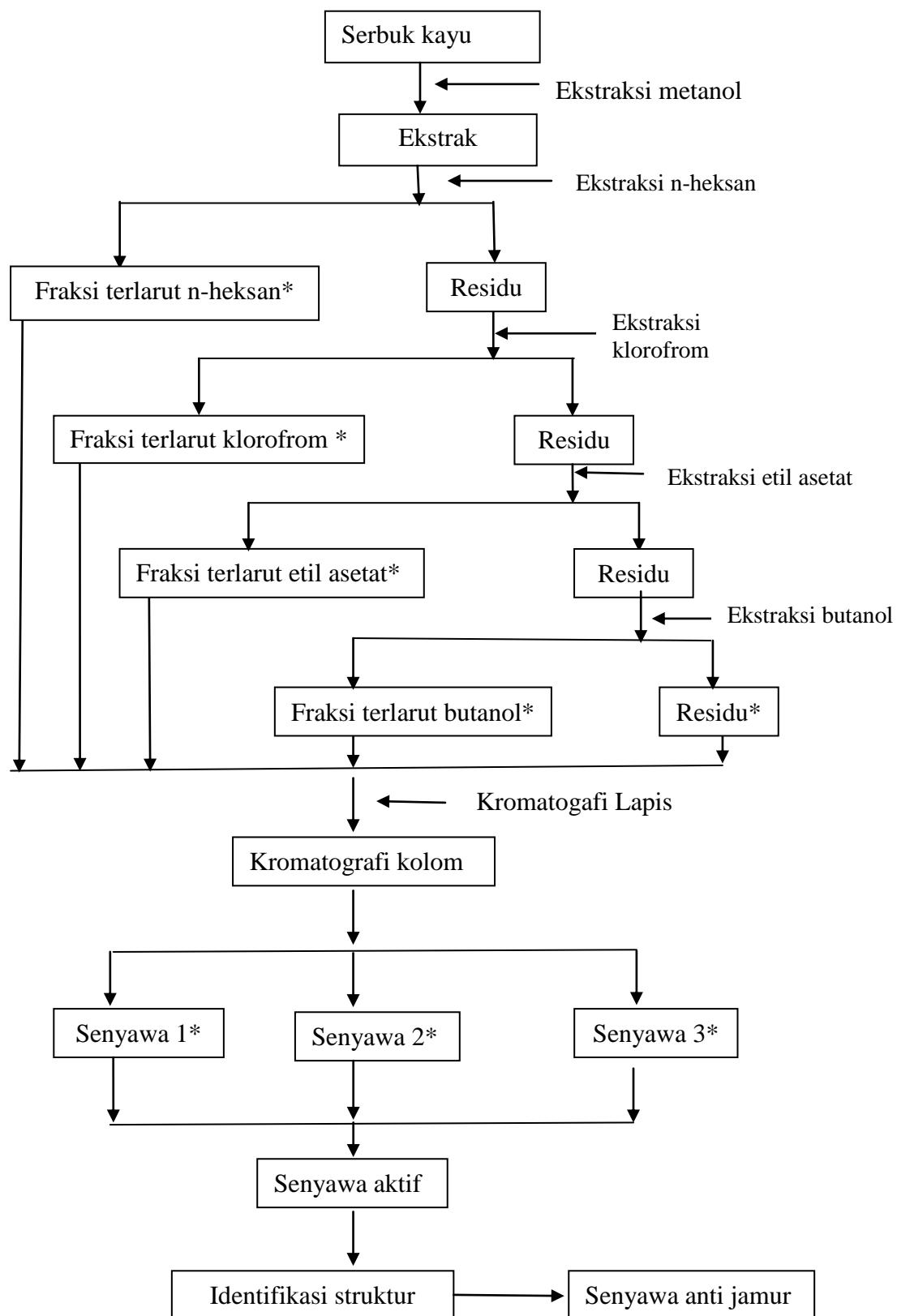
Sebanyak 100 ml larutan ekstrak metanol dari serbuk kayu Kupa dimasukkan ke dalam *funel separator* untuk dilakukan fraksinasi secara bertingkat. Pelarut pertama yang digunakan adalah n-heksan sebanyak 75 ml. Campuran ini dikocok dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan antara pelarut metanol dengan n-heksan. Fraksi n-heksan diperoleh. Selanjutnya pada residu yang didapat dilakukan pencampuran dengan pelarut kloroform. Dengan cara yang sama dilakukan pemisahan dan dihasilkan fraksi kloroform dan residu. Pada residu yang dihasilkan dilakukan pencampuran dengan pelarut etil asetat. Pada tahap akhir residu yang dihasilkan dicampur dengan pelarut butanol (Gambar 1). Ekstrak masing-masing fraksi dipekatkan dengan cara penguapan pada suhu 40 °C.

Pembibakan jamur pelapuk kayu

Pengujian aktifitas anti jamur dilakukan pada semua zat ekstraktif hasil proses ekstraksi di atas (Gambar 1). Jamur pembusuk kayu yang digunakan adalah *Schizophyllum commune* Fr dan *Pleurotus* sp, yang tergolong pada jamur pembusuk putih (Herliyana 2007). Jamur tersebut diperoleh dari laboratorium Patologi IPB. Jamur tersebut terlebih dahulu dibiakkan pada media tumbuh *potato dextrose agar* (PDA) selama 7 hari. Dalam 1 liter media tumbuh mengandung 50 g glukosa, 120 g ekstrak *onion*, 50 g glukosa, 0,3 g K_2HPO_4 , 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 5 g *polyptone* dan 30 g tepung agar-agar pada pH 6,0 (Syafii *et al.* 1988, Kusuma *et al.* 2004).

Pengujian aktivitas anti jamur

Cawan petri yang berisi media PDA dan ekstraktif dari kayu Kupa di-*autoclave* selama 15 menit pada suhu 120 °C dengan tekanan 1 atm. Kemudian cawan petri tersebut ditanami jamur *S. commune* Fr dan *Pleurotus* sp. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 25 °C selama 7 hari pada ruangan gelap. Perlakuannya adalah variasi konsentrasi zat ekstraktif (0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm) pada berbagai fraksi (n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu). Selain itu juga disiapkan kontrol positif yaitu bahan pengawet kayu CCB (tembaga-krom-boron) dengan konsentrasi 100 ppm. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan.



Gambar 1 Skema ekstraksi bertingkat menggunakan 5 pelarut (*dilakukan uji jamur pembusuk kayu).

Pertumbuhan miselium jamur dievaluasi pada akhir masa inkubasi dengan mengukur diameter pertumbuhannya dan dibandingkan dengan pertumbuhan miselium kontrol. Dasar penentuan aktivitas anti jamur menggunakan rumus sebagai berikut (Gao 2007, Du *et al.* 2009):

$$\text{Persen penghambatan} = ((C-T)/C) \times 100\%$$

Dimana, T adalah luas miselium pada cawan pertri perlakuan, C adalah luas miselium pada cawan petri kontrol.

Nilai $IC_{(50)}$ menunjukkan besarnya konsentrasi dari fraksi yang mampu menghambat 50% pertumbuhan jamur pembusuk kayu. Semakin kecil nilai $IC_{(50)}$ maka semakin besar efektivitas penghambatan ekstrak fraksi terhadap pertumbuhan jamur pembusuk kayu.

Fraksi-fraksi terpilih kemudian diisolasi dengan kromatografi kolom dengan sistem *gradient*. Sebanyak 0,6 g fraksi etil asetat (*EtOAc*) dari ekstrak kayu Kupa dikromatografi kolom dengan *eluent* *EtOAc:MeOH*. Senyawa-senyawa yang diperoleh digabungkan berdasarkan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada setiap senyawa dilakukan uji anti jamur untuk mendapatkan senyawa teraktif. Senyawa teraktif yang didapat selanjutnya dianalisis dengan LC-MS dan diidentifikasi strukturnya dengan 1H dan ^{13}C NMR.

Hasil dan Pembahasan

Kandungan ekstrak kayu Kupa

Metode maserasi merupakan metode yang tepat digunakan untuk menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi dari kayu. Merasasi dengan pelarut metanol dalam penelitian ini mampu melarutkan padatan ekstrak dari kayu Kupa sebanyak 70,10 g (setara dengan 3,66%). Nilai tersebut

tergolong tinggi karena menggunakan pelarut metanol yang mempunyai daya polaritas yang tinggi (momen dipolnya 1,70 D). Selain itu, pelarut metanol mempunyai ikatan kovalen polar dan akan terpolarisasi membentuk muatan parsial sehingga dapat menarik elektron dari senyawa yang ada pada kayu Kupa. Secara lengkap kandungan zat ekstratif dari kayu Kupa hasil maserasi dengan fraksinasi bertingkat ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Kandungan ekstrak kayu teras Kupa

Fraksi	Berat padatan (g)	Ekstraktif (%)
N-heksan	6,22	0,34
Kloroform	55,06	2,87
Etil asetat	7,24	0,38
Butanol	0,92	0,05
Residu	0,66	0,03
Metanol (Jumlah)	70,10	3,67

Data yang tertera pada Tabel 1 di atas memperlihatkan bahwa semua pelarut yang digunakan dalam penelitian ini mampu melarutkan senyawa dari ekstrak metanol dari kayu Kupa. Nilai rendemen ekstrak berkisar antara 0,05%-2,87%. Nilai rendemen ekstrak tertinggi dihasilkan menggunakan pelarut kloroform, diikuti pelarut etil asetat, n-heksan dan butanol. Sebagian besar ekstrak metanol dari kayu Kupa larut dalam pelarut kloroform (78,65%). Sementara itu, baik pelarut n-heksan maupun etil asetat melarutkan ekstrak metanol dari kayu Kupa dengan persentase yang hampir sama.

Perbedaan persentase ekstrak yang dihasilkan disebabkan perbedaan polaritas dari masing-masing pelarut. Selain itu tidak ada satu jenis pelarut pun yang

mampu mengikat semua ekstraktif yang ada di dalam kayu. Oleh karena itu agar lebih banyak ekstraktif yang terikat maka digunakan lebih dari satu jenis pelarut.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak dari kayu Kupa sebagian besar mengandung senyawa non polar. Pelarut kloroform mampu melarutkan senyawa alkaloid dan *aglycones*, pelarut n-heksan mampu melarutkan lilin, minyak dan lemak di dalam kayu dan pelarut etil asetat mampu melarutkan senyawa alkaloid, *aglycones* dan glikosida (Houghton & Raman 1998). Pelarut butanol mampu melarutkan senyawa fenolik, kumarin, flavanoid dan saponin (Rolando & González 2005, Lei-Zhao *et al.* 2010, El-Sammad *et al.* 2011).

Sifat anti jamur kayu Kupa

Gambar 2a menunjukkan respon persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada berbagai konsentrasi zat ekstraktif dari kayu Kupa menggunakan lima pelarut yaitu n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr berbeda dengan perbedaan konsentrasi zat ekstraktif dan pelarut yang digunakan. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada fraksi n-heksan pada selang konsentrasi ekstrak 50 ppm hingga 1000 ppm berkisar antara 60% hingga 69%. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada fraksi kloroform, etil asetat, butanol dan residu pada selang konsentrasi yang sama berturut-turut berkisar antara 37-63%, 27-57%, 50-78%, dan 53-69%. Pada semua fraksi yang diteliti, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan menghasilkan persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr semakin tinggi.

Pada konsentrasi tergolong rendah yaitu pada konsentrasi ekstrak 50 ppm sampai dengan 100 ppm, sifat penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr dari zat ekstraktif hasil fraksinasi dengan pelarut n-heksan adalah yang tertinggi dan diikuti berurut-turut oleh zat ekstraktif hasil fraksinasi dari residu, butanol, klorofom dan etil asetat. Pada konsentrasi ekstrak 50 ppm, zat ekstraktif fraksi n-heksan mampu menghambat 60% pertumbuhan jamur *S. commune* Fr. Sementara itu, nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada kontrol positif yaitu bahan pengawet CCB konsentrasi 100 ppm sebesar 40%. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada semua zat ekstraktif pada selang konsentrasi yang diteliti cenderung lebih baik dibandingkan dengan kontrol negatif tersebut, kecuali zat ekstraktif dari fraksi kloroform konsentrasi 50 ppm dan zat ekstraktif dari fraksi etil asetat pada konsentrasi 50 ppm sampai dengan 250 ppm. Persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr tertinggi terjadi pada fraksi butanol konsentrasi 1000 ppm yaitu sebesar 78% atau hampir 2 kali lipat dibandingkan kontrol.

Hal yang menarik terlihat pada Gambar 2a yaitu pada konsentrasi ekstrak terendah (50 ppm) dari fraksi butanol menunjukkan angka persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr sebesar 50%. Nilai ini lebih rendah dibandingkan fraksi n-heksan pada konsentrasi yang sama. Namun, pada selang konsentrasi ekstrak 250 ppm hingga 1000 ppm nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr dari fraksi butanol tersebut merupakan yang paling tinggi diantara ke 5 fraksi yang diteliti. Urutan kekuatan daya hambat pertumbuhan jamur *S.*

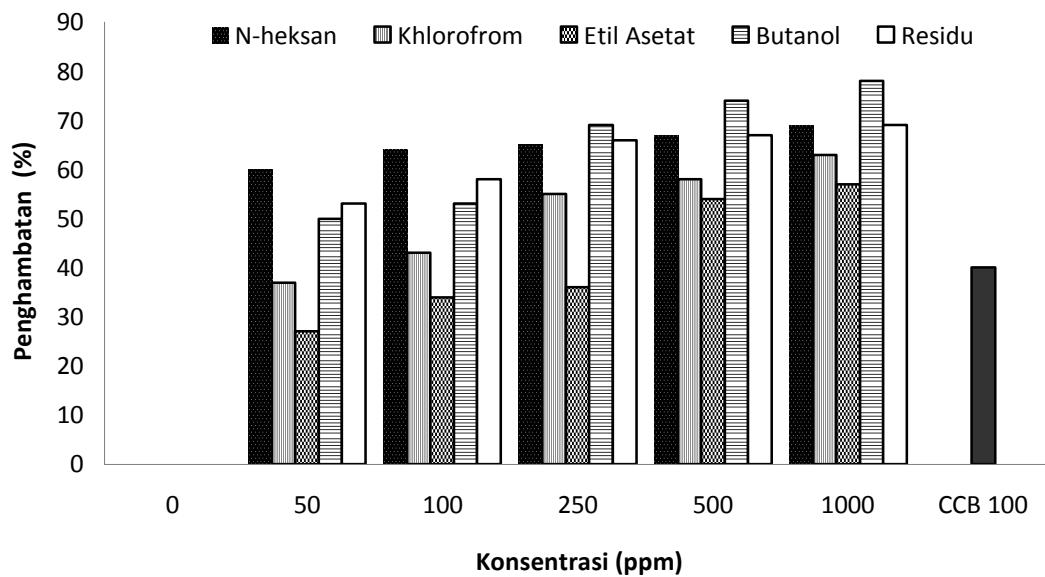
commune Fr pada semua fraksi yang diteliti pada selang konsentrasi ekstrak 250 ppm hingga 1000 ppm berturut-turut adalah fraksi butanol, n-heksan, residu, kloroform dan etil asetat. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa meskipun dengan intensitas daya racun yang berbeda, zat ekstraktif dari kayu Kupa pada semua fraksi yang diteliti mempunyai aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan jamur *S. commune* Fr. Selain itu pada selang konsentrasi ekstrak 0 hingga 1000 ppm pada semua fraksi yang diteliti tidak ada satupun yang mampu menhambat 100% pertumbuhan jamur *S. commune* Fr. Gambar 3a menampilkan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada zat ekstraktif fraksi etil asetat pada berbagai konsentrasi.

Hasil penelitian Duraipandiyan dan Ignachimutu (2011), pada ekstrak daun n-heksan dari *S. cumini* juga mampu menghambat pertumbuhan jamur *T. meenthlaangorphytes*, *T. simil*, *E. floccosum*, pada kosentrasi 0,250-1 mg.ml⁻¹, dan pada jamur *T. rubrum* dan *M. grisea* kosentrasi 1 mg.ml⁻¹. Ekstrak n-heksan dari marga *Syzygium* mengandung senyawa kumarin, saponin, steroid, sedangkan ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavanoid dan kuinon. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur (Yuh-Chi *et al.* 2004, Djoukeng *et al.* 2005, Duraipandiyan *et al.* 2008, Tapas *et al.* 2008, Hussin *et al.* 2009). Ekstrak butanol *S. cumini* mengandung senyawa 3,5,7-trihydroxy-

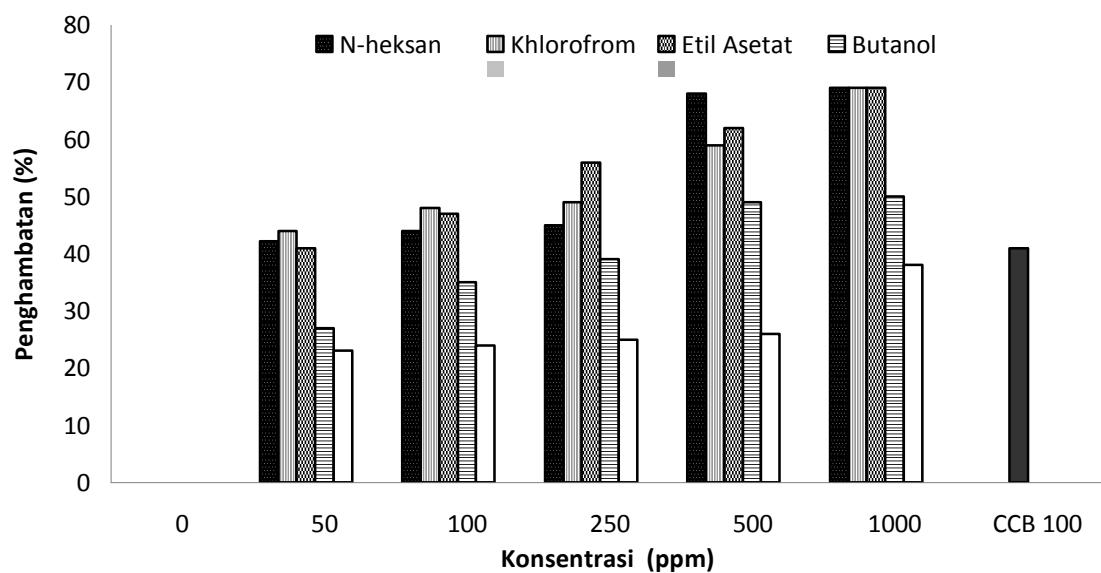
2(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4-one-5-glycocide yang bersifat anti oksidan (Nikhat *et al.* 2009). Ekstrak butanol dari *S. aromaticum* bersifat aktif anti-ulcerogenic dan anti-secretory (Magaji *et al.* 2007).

Gambar 2b menunjukkan respon persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada berbagai konsentrasi ekstrak dari kayu Kupa pada lima fraksi yang diteliti yaitu n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp berbeda dengan perbedaan konsentrasi zat ekstraktif dan fraksi yang digunakan. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada semua fraksi pada selang konsentrasi ekstrak 50 ppm hingga 1000 ppm berkisar antara 42-69%, 44-69%, 41-69%, 27-50%, 23-38% berturut-turut untuk fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu. Pada semua fraksi yang diteliti, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan menghasilkan persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp semakin tinggi.

Sementara itu, nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada kontrol negatif yaitu menggunakan bahan pengawet kayu CCB konsentrasi 100 ppm sebesar 41%. Pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada zat ekstraktif fraksi etil asetat pada berbagai konsentrasi ditampilkan pada Gambar 3b.



a. *S. commune* Fr



b. *Pleurotus* sp

Gambar 2 Penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr (a) dan *Polyporus* sp (b) pada berbagai konsentrasi ekstrak dan berbagai fraksi dari kayu Kupa.

Pada selang konsentrasi ekstrak 50 ppm sampai dengan 100 ppm nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada semua fraksi yang diteliti hasilnya tidak lebih baik dibandingkan nilai kontrol. Pada penggunaan zat ekstraktif konsentrasi 250 ppm, fraksi etil asetat telah menunjukkan nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp sebesar 56%.

Untuk zat ekstraktif fraksi n-heksan dan kloroform nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp mencapai lebih dari 50% pada konsentrasi 500 ppm. Pada konsentrasi 500 ppm tersebut nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp dari zat ekstraktif fraksi n-heksan dan fraksi kloroform sebesar 68% dan 59%. Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp mencapai 50% pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm pada fraksi butanol. Namun untuk fraksi residu, sampai dengan konsentrasi ekstrak 1000 ppm, penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp hanya mencapai 38%. Pada selang konsentrasi ekstrak 0-1000 ppm pada semua fraksi yang diteliti tidak ada satupun yang mampu menghambat 100% pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp. Persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp tertinggi terjadi pada fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat konsentrasi 1000 ppm sebesar 69% atau 1,68 kali dibandingkan kontrol. Hasil penelitian ini menunjukkan zat ekstraktif kayu Kupa terutama fraksi etil asetat bersifat menghambat pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp. Pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada zat ekstraktif fraksi etil asetat pada berbagai konsentrasi ditampilkan pada Gambar 3b.

Berdasarkan Gambar 2a dan 2b zat ekstraktif dari kayu Kupa terutama fraksi n-heksan, kloroform, butanol dan residu pada selang konsentrasi 50 ppm sampai dengan 1000 ppm yang diteliti bersifat lebih menghambat pertumbuhan jamur *S. commune* Fr dibandingkan jamur *Pleurotus* sp. Sebaliknya pada selang konsentrasi 50 ppm hingga 250 ppm zat ekstraktif dari kayu Kupa terutama fraksi etil asetat bersifat lebih menghambat pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp dibandingkan jamur *S. commune* Fr. Namun pada selang konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 500 ppm sampai dengan 1000 ppm zat ekstraktif fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat mempunyai kemampuan yang relatif hampir sama dalam menghambat pertumbuhan kedua jamur tersebut. Perbedaan tersebut terjadi karena perbedaan senyawa zat ekstraktif yang terkandung pada setiap fraksi. Disamping itu juga, kedua jenis jamur tersebut menghasilkan enzim yang berbeda untuk memetabolisme makanannya (Kirk & Cowling 1984, Jeffris 1987, Eaton & Hale 1993). Zat ekstraktif kayu Kupa terutama fraksi etil asetat bersifat menghambat pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp. Hasil penelitian serupa dilaporkan oleh Duraipandiyan *et al.* (2008) bahwa ekstrak etil asetat dari *S. lineare* Wall mampu menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* pada konsentrasi $250 \mu\text{g ml}^{-1}$. Houghton dan Raman (1998) menyatakan bahwa pelarut etil asetat dapat melarutkan flavanoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Ekstrak kloroform bunga *S. aromaticum* mampu menghambat pertumbuhan jamur (Khewkhom *et al.* 2007).



Kontrol CCB 100 ppm 50 ppm 100 ppm 250 ppm 500 ppm 1000 ppm

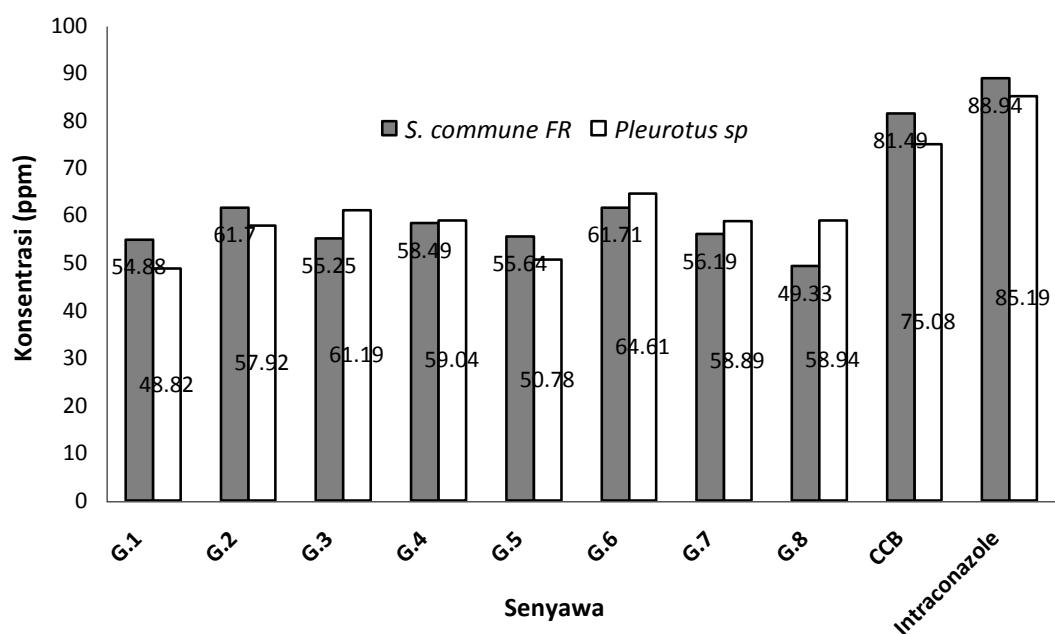
a. Pertumbuhan jamur *S. commune* Fr



Kontrol CCB 100 ppm 50 ppm 100 ppm 250 ppm 500 ppm 1000 ppm

b. Pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp

Gambar 3 Pertumbuhan jamur *S. commute* Fr dan *Pleurotus* sp pada ekstrak etil asetat dari kayu Kupa.



Gambar 4 Nilai IC₅₀ sembilan senyawa (G.1-G.9) dari fraksi etil asetat (EtOAc) kayu Kupa.

Pertumbuhan *S. commune* Fr dan *Pleurotus* sp, terhambat karenanya senyawa bioaktif dalam ekstrak kayu teras Kupa. Enzim hidrolitik *endo-1,4- β -glucocidase*, *exo-1,4- β -glucocidase* dan β -*glucocidase* dari hipa jamur, yang menghidrolisa selulosa menjadi glukosa dihambat oleh senyawa bioaktif dari kayu tersebut (Krik & Cowling 1984, Krik & Cullen 1998, Oetari 2006, Sumthong *et al.* 2007, Soltani *et al.* 2009). Enzim *O-acetyl-4-O-methyl-glucuronoxylan* dan *O-acetyl-galactoglucomannan* menghidrolisa *acetylaraarabinoglucuronomannan* menjadi glukosa, mannosa, galaktosa dan asam asetat juga dihambat oleh senyawa bioaktif dari kayu tersebut (Krik & Cullen 1998, Highley & Dashek 1998, Schmidt 2006).

Isolasi dan sifat anti jamur fraksi etil asetat dari ekstrak kayu Kupa

Hasil isolasi menggunakan kromatografi kolom pada fraksi etil asetat dari ekstrak kayu Kupa menghasilkan 9 senyawa yaitu G.1(39 mg), G.2 (37,40 mg), G.3 (23,60 mg), G.4 (27,40 mg), G.5 (73,30 mg), G.6 (54,90 mg), G.7 (13,10 mg), G.8 (27,69 mg) dan G.9 (35,90 mg) (Gambar 4). Hasil pengujian sifat anti jamur pada semua senyawa (G.1-G.9) menunjukkan bahwa semua senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. commune* Fr dengan nilai IC₅₀ = 49,33-61,71 ppm dan *Pleurotus* sp dengan nilai IC₅₀ = 48,84-64,61 ppm. Senyawa G.1 merupakan senyawa teraktif dari semua senyawa yang diuji. Kesemua senyawa mengandung sifat bioaktif anti jamur karena mampu menghambat pertumbuhan jamur pembusuk kayu *S. commune* Fr dan *Pleurotus* sp.

Identifikasi senyawa anti jamur

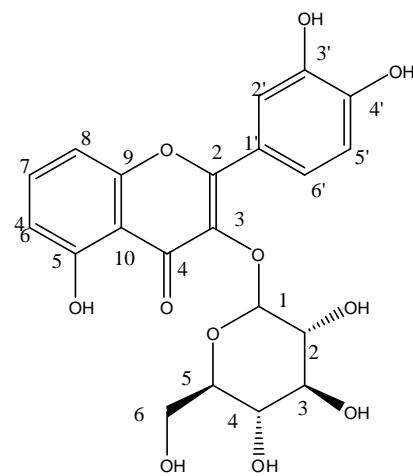
Senyawa G.2 berbentuk kristal berwarna kekuning-kuningan putih, dengan *melting point* 150-155°C. Hasil identifikasi

struktur menggunakan ¹H dan ¹³C NMR adalah sebagai berikut: **¹H-NMR** (multiplisitas, *J* dalam Hz) (δ_H 500 MHz, CD₃OD): 6). 7,62 (*d*, *J* = 7,80 Hz, 2 H), 7), 7,49 (*t*, *J* = 7,80 Hz, 2 H), 8), 7,58 (*d*, *J* = 7,80 Hz, 2 H), 11), 12,68 (*s*, *J* = 1,49 Hz), 2’), 7,82 (*dd*, *J* = 7,95 Hz, 2 H), 5’), 7,82 (*dd*, *J* = 7,96 Hz, 2 H), 6’), 7,52 (*d*, *J* = 95 Hz, 2 H), 7’&8’), 9,48 (*s*, *J* = 2,50 Hz, 2 H), 1’’), 5,25 (*s*, *J* = 2,57 Hz, 2 H), 2’’ & 3’’), 4,97 (*d*, *J* = 11 Hz), 4’’ & 5’’), 4,28 (*d*, *J* = 5,2 Hz), 6’’), 5,36 (*t*, *J* = 11 Hz), 7’’, 8’’ & 9’’ (4,87 (*s*, *J* = 1,31 Hz, 3H), 10’’), 5,35 (*s*, *J* = 2,37 Hz). **C¹³NMR**, (δ_C 125 MHz (ppm), CD₃OD): 158,6 (C-1), 156,4 (C-2), 135,1 (C-3), 178,2 (C-4), 159,8 (C-5), 112,4 (C-6), 136,6 (C-7), 108,7 (C-8), 158,6 (C-9), 111,9 (C-10), (C-1’’) 122,8, (C-2’’) 115,3, (C-3’’, C-4’’) 145,9 dan 146,5, (C-5’’) 117,2, (C-6’’), 102,2, (C-1’’), (C-2’’ & C-3’’) 75,1 & 76,9, (C-4’’) 71,5, (C-5’’) 77,9, (C-6’’) 62,2.

Dari ke sembilan senyawa yang dihasilkan senyawa G.2 dari fraksi etil asetat ekstrak kayu Kupa merupakan senyawa terpilih karena berdasarkan analisis KLT senyawa G.2 menunjukkan penampakan spot tunggal dengan Rf =0,56 dan rendemennya banyak (39 mg) meskipun keaktifannya urutan kedua dibawah senyawa G.1. Pada senyawa terpilih tersebut selanjutnya diidentifikasi struktur kimia senyawa anti jamurnya. Hasil analisis baik menggunakan LC-MS maupun dengan ¹H dan ¹³C NMR senyawa anti jamur ini mempunyai berat molekul [M+H]⁺ 448 (m/z). Hasil identifikasi struktur dengan ¹H dan ¹³C NMR senyawa anti jamur yang terkandung pada fraksi G.2 adalah *3-O-glucosyl-3’,4’-5-trihydroxyflavonol* dengan rumus kimia C₂₁H₂₀O₁₁. Senyawa ini merupakan turunan dari flavanoid. Spektrum ¹H dan ¹³C NMR menampilkan signal dari dua puluh satu atom karbon berintegrasi

dengan dua puluh atom hidrogen. Spektrum ^1H NMR menampilkan signal tujuh gugus hidroksil δ : 12,68 (*s*, $J = 1,49$), 9,48 (*s*, $J = 2,50$ Hz, 2 H), 4,87 (*k*, $J = 1,31$ Hz, 3 H), 5,35 (*s*, $J = 2,37$ Hz,), dua gugus aromatik δ : 7,62 (*d*, $J = 7,80$ Hz, 2 H), 7,49 (*t*, $J = 7,80$ Hz, 2 H), 7,58 (*d*, $J = 7,80$ Hz, 2 H), 7,82 (*dd*, $J = 7,95$ Hz, 2 H), 7,82 (*dd*, $J = 7,96$ Hz, 2 H), 7,52 (*d*, $J = 95$ Hz, 2 H), dan glikosida δ : 5,35 (*s*, $J = 2,37$ Hz), 4,97 (*d*, $J = 11$ Hz), 4,28 (*d*, $J = 2,08$ Hz), 4,28 (*d*, $J = 5,2$ Hz), 4,28 (*d*, $J = 5,2$ Hz), 5,36 (*t*, $J = 11$ Hz), Spektrum ^{13}C NMR menampilkan signal satu gugus metil karbon δ (178,2), dua gugus aromatik (150,8 & 122,8), dan glikosida (122,2).

Gambar 5 menampilkan struktur senyawa anti jamur dari kayu Kupa. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Simirgiotis *et al.* (2008) dan Li-Wen *et al.* (2011). Gugus hidroksil pada senyawa anti jamur ini bersifat reaktif, karena gugus OH dapat mendonorkan elektron kepada cincin sehingga dapat meningkatkan jumlah resonansi dari struktur benzena senyawa flavonoid (Bentz 2010). Gugus OH reaktif merusak sel jamur dan tidak dapat dieliminasi dengan reaksi enzimatik (Zheng *et al.* 2012). Selanjutnya gugus glikosida pada senyawa ini memberikan pengaruh langsung pada membran sel jamur karena kemampuan glikosida membuat senyawa flavanol yang bersifat polar sehingga penetrasi flavanol ke membran sel jamur pembusuk kayu menjadi lebih mudah (Lelono *et al.* 2009). Akibatnya hipa menjadi tidak berfungsi untuk mengeluarkan enzim hidrolitik β -glukosidase yang mendegradasi selobiosa menjadi selulosa sebagai sumber makanan jamur (Krik & Cowling 1984, Eaton & Hale 1993).



3-O-glucocyl-3',4',5-trihydroxyflavonol

Gambar 5 Senyawa anti jamur dari partisi ekstrak kayu Kupa.

Kesimpulan

Merasasi dengan pelarut metanol mampu melarutkan padatan ekstrak dari kayu Kupa sebanyak 70,100 g (setara dengan 3,66%). Padatan ekstrak tersebut terutama didominasi oleh zat ekstraktif larut kloroform (2,874%), diikuti oleh etil asetat (0,378%), n-heksan (0,325%) dan butanol (0,048%).

Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr pada fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu pada selang konsentrasi ekstrak 50 ppm hingga 1000 ppm berturut-turut berkisar antara 60-69%, 37-63%, 27-57%, 50-78%, dan 53-69%. Pada semua fraksi yang diteliti, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan menghasilkan persentase penghambatan pertumbuhan jamur *S. commune* Fr semakin tinggi.

Nilai persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp pada fraksi fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, butanol dan residu pada selang

konsentrasi ekstrak 50 ppm hingga 1000 ppm berturut-turut berkisar antara 42-69%, 44-69%, 41-69%, 27-50%, 23-38%. Pada semua fraksi yang diteliti, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan menghasilkan persentase penghambatan pertumbuhan jamur *Pleurotus* sp semakin tinggi.

Ekstrak kayu Kupa yang paling aktif untuk menghambat pertumbuhan *S. commune* Fr adalah ekstrak n-heksan, sedangkan ekstrak etil asetat paling aktif menghambat pertumbuhan *Pleurotus* sp. Pada konsentrasi 50 ppm untuk ekstrak n-heksan dan konsentrasi 250 ppm untuk ekstrak etil asetat kemampuan zat ekstraktif tersebut untuk menghambat pertumbuhan kedua jenis jamur tersebut sudah lebih baik dari kontrol bahan pengawet CCB.

Semua senyawa (G.1-G.9) dari fraksi etil asetat mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. commune* Fr dengan nilai $IC_{50} = 49,33\text{-}61,71$ ppm dan *Pleurotus* sp dengan $IC_{50} = 48,84\text{-}64,61$ ppm. Hasil identifikasi struktur dengan H^1 dan C^{13} NMR senyawa anti jamur yang terkandung pada fraksi G.2 dari fraksi etil asetat dari kayu Kupa adalah *3-O-glucosyl-3',4'5-trihydroxyflavonol*.

Daftar Pustaka

- Abad MJ, Ansuategui M, Paulina B. 2007. Active antifungal substances from natural sources. *ARKIV* (8): 116-145.
- Abbas SQ, Mustaq S. 2008. Addition to mycoflora of *Syzygium cumini* from Pakistan. *J Mycopath* 6 (1):57-61.
- Adelia FF, Marcella CM, Adriana ZM. 2011. Identification of bioactive compound from jambolao (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. *J Food Chem.*: 1571-1578.
- Alagarmalai J, Nagappan R, Savarimuthu I. 2011. Insecticidal compound isolated from *Syzygium lineare* Wall. (Myrtaceae) against *Spodoptera litura*. *J Biol. Sci.* (articel in press)
- Bentz BA, 2010. A review of quercetin: chemistry, antioxidant properties and bioavailability. *J Young Invest.* 19.
- Buckingham J. 2006. *Dictionary of Natural Product*. London: Chapman and Hall. HDS Software. Hampden Data Service Ltd.
- Djoukeng JD, Mansour EA, Tabachi R, Tapondjou AL, Boud H, Lontsi D. 2005. Antibacterial triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). *J Ethnopharm.* 101 (1-3): 283-286.
- Du T, Shuo F, Chung YH. 2009. Antifungal of three super critical fluid extracted cedar oil. *The International Research Group on Wood Protection*. Paper prepared for 40th Annual meeting Beijing, China 24-28 Mei 2009. www.irg.-wp.com
- Duraipandiyan V, Ignachimutu S, Valanarasu M. 2008. Antibacterial and antifungal activity *Syzygium lineare* Wall. *Int. J Integrative Biol.* 2(3):159-162.
- Duraipandiyan V, Ignachimutu S. 2011. Antifungal activity of traditional medicinal plants from Tamil Nadu, India. *Asian Pacific J Trop. Biomed.*: S204-S215.
- Eaton RA, Hale M.D.C. 1993. *Wood Decay, Pest and Protection*. London: Champan and Hall.
- El-Sammad N, Hassan SK, Abou-Setta LM, Nayera A. 2011. Evaluation of the hepatoprotective effect of butanol extract of *Clytostoma binatum* against thioacetamidie-induced hepatic damage in rats. *JASMR* 6 (1): 47-55.

- Gao H. 2007. Chemical Analysis of Extracts from Port-Orford Cedar Wood and Bark. [Thesis]. China: The School of Renewable Natural Resource, University Qingdao.
- Herliyana EN. 2007. Potensi Ligninolitik Jamur Pembusuk Kayu Kelompok Pleurotus. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Cetakan ke-1 Jilid III. Bogor: Badan LITBANG Kehutanan.
- Highley TL, Dashek WV. 1998. Biotechnology in the Study of Brown- and White-Rot Decay. Di dalam: Bruce A, Palfreymen JW, editor. *Forest Products Biotechnology*. New York: Taylor & Francis.
- Houghton PT, Raman A. 1998. *Laboratory Hanbook for the Fractionation of Natural Extracts*. London: Chapman and Hall.
- Husein NM, Muse R, Ahmad S, Ramli J, Mahmood M, Sulaiman RM, Shukor MYA, Rahman MFA, Aziz KNK. 2009. Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). *African J Biotech.* 8(12): 2836-2842.
- Jeffris WT. 1987. Physical Chemical and Biochemical Consideration in the Biological Degradation of Wood. Di dalam: Kennedy JF, Phillips GO, Wilian PA, editor. *Wood and Cellulosics*. New York: Ellis Horwood Limited John Wiley & Sons.
- Kirk TK, Cowling IEB. 1984. Biological Decomposition of Solid Wood. Di dalam: Rowell R, editor. *The Chemistry of Solid Wood*. Washington DC: American Chemical Society.
- Krik TK, Cullen D. 1998. Enzymology and molecular genetics of wood degradations by white-rot fungi. Di dalam; Young RA, Akhtar M, editor. *Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry*. USA: John Wiley & Inc.
- Khewkham N, Shangchote S, Greger H. 2007. In vitro antifungal activity of some well-known species against plant pathogenic fungi. *Agric. Sci. J.* 38(6) (Suppl.): 70-74.
- Khewkham N, Shanchote S. 2009. Postharvest antifungal activity of extracts and compound from *Cinnamomum zeylanicum*, *Boesenbergia pandurata* and *Syzygium aromaticum* against *colletotrichum gloeosporioides* and *Botryodiplodia theobrome*. *Asian J Food Agro Ind.* : S125-S132.
- Kumar A, Ilavarasan R, Jayachandra T, Deecaraman M; Kumar RM, Aravindan R, Padmanabhan N, Krishan MRV. 2008. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* seed. *African J Biotech.* 7(8): 941-943.
- Kumar A, Jayachandran T, Aravindhan P, Deecaraman D, Ilavarasan R, Padmanabhan N. 2009. Neutral components in the leaves and seeds of *Syzygium cumini*. *African J Pharm. Pharmacol.* 3(11): 560-561.
- Kumar P, Jaiswal P, Singh VK, Sing DK. 2011. Medicinal, therapeutic and pharmacological effects of *Syzygium aromaticum* (Laung). *J Pharmacol.* 1: 1044-1055.
- Kusuma IW, Tomoko O, Kazutaka I, Tachibana S. 2004. Isolation and identification of an antifungal sesquiterpene alcohol from *Amboyan*

- wood. *Pakistan J Biol. Sci.* 7(10):1735-1740.
- Lelono RAA, Tachibana S, Itoh K. 2009. Isolation of antifungal compound from *Gradenia jasminoides*. *Pakistan J Biol. Sci.* 12 (13): 949-956.
- Li-Wen T, Min X, Dong W, Hong-Tao Z, Chong-Ren Y, Ying-Jun Z. 2011. Phenolic constituents from the leaves of *Syzygium forrestii* Merr. *Biochem. System. Ecol.* 39:156-158.
- Lei-Zhao, Jun-Yan T, Shu-Ling Z, Jin F, Pang R, Ji-Hua D. 2010. N-butanol extract from *Melilotus Suaveolens Ledeb* affects pro- and anti-inflammatory Cytokines and Mediators. *eCAM* 7 (1): 97-106.
- Magaji RA, Okasha MAM, Abubakar M, Faithu MY. 2007. Anti-ulcerogenic and anti-secretory activity of the n-butanol portion of *Syzygium aromaticum* in rat. *Nigerian J Pharm. Sci.* 6(2):119-126.
- Miyazawa M, Hisama M. 2002. Antimutagenic activity of phenylpropanoids from clove (*Syzygium aromaticum*). *J. Agric. Food Chem.*: 1-10.
- Nikhat F, Satynarayana D, Subhramanyam EVS. 2009. Isolation, characterization and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygium cumini* (L) Skeel. *Asian J. Res. Chem.* 2(2).
- Oetari A. 2006. Metabolisme pada Fungi. Di dalam: Indrawati Gandjar, Wellyzar Sjamsuridzal, Ariyanti Oetari, editor. *Mikologi Dasar Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Oliveira GF, Furtado NAJC, Filho AASF, Matins CHG, Bastos JK, Cunha WR, Silva MLA. 2007. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. *Brazilian J Microbiol.* 38:381-384.
- Reynertson KA, Margaret J, Basile, Edward JK. 2005. Antioxidant of seven Myrtaceous fruits. *J Ethnobot. Res. Appl.* 3:025-035.
- Rolando AE, Gonzales MD. 2005. Chemical study of a water extract of Argentina commercial origanum. *The J Argentina Chem. Soc.* 93(4-6): 225-231.
- Ratnam KV, Raju RRV. 2008. *In vitro* antimicrobial screening of the fruit extracts of two *Syzygium species* (Myrtaceae). *J Adv. Biol. Res.* 2(1-2): 17-20.
- Ruan ZP, Zhang LL, Lin YM. 2008. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. *Molecules* 13: 2545-2556.
- Satyan RS, Hari P, Shreeram S. 2011. Phytochemical synergy: enhancement/suppression of antimicrobial activity & chromatographic analysis of selected herbs and spices. *Int. J Pharm. Pharm. Sci.* 3(4).
- Schmidt O. 2006. *Wood and Tree Fungi*. Berlin: Springer.
- Sen-Sung C., Ju-Yun L., Ed-Haun C., Shang-Tzen C. 2008. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *J Biores. Technol.* 99: 5145-5149.
- Shah RM, Shah AS, Shas MB. 2012. Estimation of ferulic acid in *Syzygium cumini* seeds extract by HPLC. *Int. J Pharm. Chem. Sci.* 1(1).
- Simirgiotis MJ, Seiji A, Satoshi T, Hui Y, Kurt AR, Margaret JB, Robert RG, Edwar JK. 2008. Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of

- Syzygium samarangense* (Wax Jambu). *J Food Chem.* 813-819.
- Son KH, Kwon SY, Kim HP, Chang HW, Kang SS. 1998. Constituents from *Syzygium aromaticum* Merr. Et Perry. *J Nat. Prod. Sci.* 4(4):263-267.
- Soltani S, Dianat S, Soroush S. 2009. Forward modeling of the coumarin antifungals; SPR/SAR based perspective. *Avicennia J Med. Biotechnol.* 1(2).
- Sumthong P, González R, Verpoorte R. 2007. Isolation and Elucidation of Quinones in *Tectona grandis*. [Dissertation], Leiden: Faculty of Pharmacology, University of Leiden.
- Supana SK, Jadha VM., Kadamb VJ. 2009. Development and validation of HPTLC method for determination of 3-hydroxy androstan-^{16,17-C}-[16,17-C]96'-methyl, 2'-1-hydroxy-isopropene-1-yl) 4,5,6 H pyran] in jambu seed (*Syzygium cumini*). *Int. J Pharm. Technol. Res.* 1: 1129-1135.
- Syafii W. 1988. A study on Influence of Chemical Compound of Some Tropical Woods on Decay Resistance. [Dissertation]. Japan: Laboratory of Forest Chemistry, The Graduate School of Agricultural Sciences, The University of Tokyo.
- Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB. 2008. Flavanoid as nutraceuticals: A Review. *Trop. J Pharm. Res.* 7(3): 1089-1099.
- Verheij EWM, Coronel RE. 1992. Plant Resources of South-East Asia. *Edible fruit and nuts*. Bogor : Prosea.
- Yuh-Chi K, Li-Ming Y, Lie-Chewn L. 2004. Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from *Syzygium samarangense*. *J Plant Med.* 70: 1237-1239.
- Zhang N, Wang Z, Shi Y, Lin J. 2012. Evaluation of the antifungal activity of total flavonoids extract from *Villosa* Jus and optimization by response surface methodology. *African J Microbiol. Res.* 6(3): 586-593.

Riwayat naskah (*article history*)

Naskah masuk (*received*): 2 Maret 2010
Diterima (*accepted*): 7 Mei 2010