**SENYAWA METABOLIT SEKUNDER KAPANG ENDOFIT TP6 DAN TPL2 YANG DIISOLASI DARI TUMBUHAN PESISIR TERONG PUNGO (*Solanum* sp.)**

**Nabila Ukhty1, Kustiariyah Tarman2, Iriani Setyaningsih2**

1 Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat

2 Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Korespondensi : nabilaukhty@gmail.com

**Abstract**

Secondary metabolites, are produced naturally and serve survival functions for the organisms that producing them. Endophytic fungi is the one of microorganism has a role in producing the secondary metabolites. Endophytic fungi TP6 and TPL2 isolated from coastal plant terong pungo (*Solanum* sp.). Endophytic fungi TP6 and TPL2 have secondary metabolite, including alcaloid, flavonoid, phenol hidrocuinon, and terpenoid compounds.

Keywords:endophytes fungi, secondary metabolite, terong pungo, *Solanum* sp.

**1. Pendahuluan**

Senyawa bioaktif merupakan senyawa di luar zat gizi yang biasanya berada dalam jumlah kecil di dalam suatu bahan pangan. Senyawa bioaktif dapat diperoleh dari beberapa sumber, diantaranya dari tumbuhan, hewan, mikroba dan organisme laut. Salah satu sumber senyawa bioaktif yang berasal dari mikroba adalah kapang endofit (Tan *et al*. 2001; Strobel dan Daisy 2003). Kapang endofit merupakan sumber yang kaya akan metabolit sekunder bioaktif dan merupakan salah satu golongan mikroba endofit yang paling banyak ditemukan di alam (Petrini *et al*. 1992).

Kapang endofit diduga mengalami transfer genetik dengan tanaman inangnya, sehingga senyawa bermanfaat seperti metabolit sekunder yang dihasilkan pada tanaman juga bisa dihasilkan oleh kapang endofitnya. Metabolit sekunder tersebut dapat bermanfaat di bidang industri pertanian maupun farmasi, diantaranya dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, zat pengatur tumbuh tanaman dan sebagai anti tumor (Syarmalina *et al*. 2007). Kapang endofit diketahui dapat dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya yang mempunyai potensi besar sebagai senyawa bioaktif (Qin *et al*. 2009).

Salah satu tanaman yang telah berhasil diisolasi kapang endofitnya adalah terong pungo (*Solanum* sp.), yaitu kapang TP6 dan kapang TPL2 (Ukhty 2015). Terong pungo merupakan tanaman pesisir di wilayah perairan Provinsi Aceh, tanaman ini telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional penghilang rasa sakit pada gigi. Penelitian sebelumnya, ekstrak kasar etil asetat daun terong pungo telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan memiliki aktivitas inhibitor topoisomerase-I (Hardjito 2008). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan mengeksplorasi senyawa metabolit sekunder dari kapang endofit TP6 dan TPL2 yang diduga memiliki manfaat untuk kesehatan.

**2. Metode Penelitian**

**2.1. Bahan dan Alat**

Bahan utama dalam penelitian ini adalah kapang endofit TP6 dan TPL2 (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor). Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu aquades, air laut, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), etil asetat, dan bahan-bahan uji fitokimia.

Alat yang digunakan yaitu *clean bench* (Thermo Scientific 1300 Series A2), autoklaf (Yamato SM52), *orbital shaker,* spektrofotometer (UV Vis UV-2500), inkubator (Thermolyne type 42000), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph VV 2000)*, vortex* (Pasolina type NS-8), timbangan digital (Max 410 g and HF400), dan peralatan gelas (Iwaki Pyrex).

* 1. **Tahapan Penelitian**

Tahapan penelitian yang dilakukan terdiri dari empat tahapan, yaitu peremajaan kapang endofit, kultivasi kapang endofit, ekstraksi senyawa aktif dan pengujian fitokimia.

* + 1. **Peremajaan Isolat Kapang Endofit (Noverita *et al*. 2009)**

Isolat kapang endofit diremajakan pada media *Potato dextrose agar* (PDA) steril yang baru, Dengan menggunakan ose, isolat diambil sebanyak 4 potong dengan ukuran 1 × 1 × 1 cm dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang telah terisi media agar PDA. Isolat kapang TP6 menggunakan media PDA air tawar dan isolat kapang TPL2 menggunakan media PDA air laut. Selanjutnya isolat kapang yang baru, diinkubasi dalam lemari kaca bersuhu ruang (37 ºC) selama 7 hari. Masing-masing kapang diinokulasikan ke dalam 4 cawan petri. Isolat kapang yang telah diinkubasi selama 7 hari, selanjutnya dikultivasi pada media cair *Potato dextrose broth* (PDB).

**2.2.2 Kultivasi Kapang Endofit (Srikandace *et al.* 2007)**

Tahapan kultivasi ini bertujuan untuk mendapatkan media pertumbuhan kapang endofit yang diduga mengandung metabolit sekunder. Fase stasioner dipilih sebagai waktu panen terbaik dalam menghasilkan metabolit sekunder, TP6 pada hari ke 12 dan TPL2 pada hari ke 9. Kapang endofit diinokulasikan ke dalam media cair PDB, TP6 menggunakan PDB air tawar sedangkan TPL2 menggunakan PDB air laut sebanyak 250 mL. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu ruang menggunakan *orbital shaker*.

**2.2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Kapang Endofit (Nursid *et al*. 2010)**

Kapang yang telah dikultur, kemudian dipanen melalui proses penyaringan menggunakan kertas saring. Proses penyaringan ini bertujuan untuk memisahkan miselium dan media. Media kultur (*broth*) masing-masing kapang diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 3x24 jam. Hasil ekstraksi dipisahkan menggunakan corong pisah, lalu ekstrak terpilih dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 45 °C.

**2.2.4 Uji Fitokimia (Harborne 1987)**

1. **Uji alkaloid** : Sampel 0,05 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilakukan penambahan H2SO4 dan dikocok hingga benar-benar tercampur. Kemudian disaring dan dilakukan penambahan pereaksi Meyer dengan melihat endapan putih, Wagner dengan melihat endapan coklat dan Dragendorff dengan endapan jingga, jika terdapat endapan tersebut maka sampel dikatakan positif.
2. **Uji flavonoid** : Sampel 0,05 g ditambahkan serbuk Mg 0,05 mg, setelah itu ditambahkan 0,2 mL amil alkohol dan 4 mL alkohol. Hasil uji positif bila larutan berwarna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.
3. **Uji terpenoid dan steroid** :Sampel 0,05 g ditambahkan dengan kloroform kemudian ditetesi dengan anhidrida asam asetat 5 tetes. Setelah itu ditetesi dengan H2SO4 3 tetes. Larutan akan berwarna merah. Hasil uji steroid positif bila warna larutan berubah menjadi biru atau hijau, sedangkan hasil uji triterpenoid positif bila terbentuk warna merah kecoklatan atau ungu pada lapisan permukaan sampel.
4. **Uji fenol hidrokuinon** : Sampel 0,05 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dicampurkan dengan 0,25 mL etanol. Selanjutnya ditambahkan FeCl3 5% 2 tetes. Terbentuknya warna hijau/biru yang berubah menjadi merah menunjukkan adanya senyawa fenol hidrokuinon dalam bahan uji.

**3. Hasil dan Pembahasan**

Senyawa metabolit yang diproduksi oleh suatu organism diklasifikasikan menjadi dua, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer yang dibentuk dalam jumlah terbatas adalah penting untuk pertumbuhan dan kehidupan mahluk hidup. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan, melainkan diproduksi untuk melindungi tubuh organisme itu sendiri terhadap lingkungannya, serta diproduksi pada kondisi stress (Dewick 1999). Senyawa metabolit sekunder antara lain berfungsi sebagai antibiotik, pigmen, toksin, efektor kompetisi ekologi dan simbiosis, feromon, inhibitor enzim, agen immunomodulasi, reseptor antagonis dan agonis, pestisida, agen antitumor, dan promotor pertumbuhan binatang dan tumbuhan. Hasil uji fitokimia isolat kapang TP6 dan TPL2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar etil asetat isolat TP6

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Uji Fitokimia | Ekstrak Media TP6 | Ekstrak Media TPL2 | Standar warna  |
| Alkaloid |  |  |   |
| a.    Dragendorff | + | + | Endapan merah atau jingga |
| b.   Meyer | - | - | Endapan putih kekuningan |
| c.    Wagner | + | - | Endapan coklat |
| Flavonoid | + | + | Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau |
| Fenol Hidrokuinon | + | + | Warna jingga, hijau hingga hijau kebiruan |
| Terpenoid | + | + | Merah menjadi biru/hijau |
| Steroid | - | - | Perubahan dari merah menjadi biru/hijau |

Ekstrak kasar etil asetat media kapang TP6 dan TPL2 mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon dan triterpenoid, sedangkan senyawa steroid tidak ditemukan. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berasal dari golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, anthrakuinon, alifatik, dan senyawa bioaktif lainnya telah diisolasi dan dikarakterisasi dari fungi endofit (Agusta 2009). Lai *et al*. (2010) dan Pragathi *et al*. (2013) melaporkan bahwa kapang endofit mengandung senyawa bioaktif alkaloid, senyawa fenolik dan flavonoid yang diketahui sangat berperan penting sebagai antimikroba, antikanker dan antioksidan. Lumyong *et al.* (2004) menyebutkan bahwa alkaloid yang terkandung di dalam kapang endofit digunakan untuk meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap penyakit dan senyawa fenol dapat menghambat metabolisme sel. Cushnie dan Lamb (2005) menyatakan bahwa senyawa flavonoid disintesis oleh organisme maupun mikroorganisme sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme.

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan 1999).

Senyawa fitokimia memiliki fungsi tertentu yang berguna bagi kesehatan pada manusia dan hewan, antara lain dapat menghasilkan enzim-enzim sebagai penangkal racun (detoksifikasi), merangsang sistem pertahanan tubuh (imunitas), mencegah penggumpalan keping-keping darah (trombosit), menghambat sintesa kolesterol di hati, meningkatkan metabolisme hormon, meningkatkan pengenceran dan pengikatan zat karsinogen dalam liang usus, menimbulkan efek antibakteri, antivirus dan antioksidan, serta dapat mengatur gula darah (Mahanom *et al*. 1999; Heneman dan Zidenberg-Cher 2008).

**4. Kesimpulan**

Ekstrak kasar etil asetat media pertumbuhan isolat kapang endofit TP6 dan TPL2 yang dipanen pada fase awal stasioner mengandung senyawa metabolit sekunder, antara lain alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon, dan terpenoid.

**Daftar Pustaka**

Agusta A. 2009. Biologi dan kimia jamur endofit. Bandung (ID): ITB.

Cushnie TP, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343-356.

Cowan M. 1999. Plant product as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4):564-582.

Dewick PM. 1999. Medicinal Natural Product: A Biosynthetic Approach. England: John Wiley & Sons Ltd.

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung (ID): ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods.* 10-230.

Heneman K, Zidenberg-cherr S. 2008. Nutrition and health: Some facts about phytochemicals. *Nutrition research*, 1-4.

Lai HY, Yau YY, Kim KH. 2010. *Blechnum orientale* Linn- a fern with potential as antioxidant, anticancer and antibacterial agent. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 10-15.

Lumyong S, Lumyong P, Hyde KD. 2004. Endophytes. *In* Jones, E. B. G., M. Tantichareon and K. D. Hyde (Ed.), Thai Fungal Diversity. *BIOTEC Thailand and Biodiversity Research and Training Program* (BRTI/TRF. Biotec). 197–212.

Mahanom H, Azizah AH, Dzulkifly MH. 1999. Effect of different drying methods on concentration of several phytochemicals in herbal preparation of 8 medicinal plants leaves. *Malaysian Journal of Nutrition*. 5: 47-54.

Noverita, Fitria D, SInaga E. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensi* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4): 171-176.

Nursid M, Pratitis A, Chasanah E. 2010. Kultivasi kapang MFW-01-08 yang diisolasi dari ascidia *Aplidium longithorax* dan uji aktivitas sitotoksinya terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(2):103-110.

Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. 1992. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Nat.* Toxins. 1:185-196.

Qin JC, Zhang YM, Gao JM, Bai MS, Yang SX, Laatsch H, Zhang AL. 2009. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo* *biloba*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 19:1572-1574.

Srikandace Y, Hapsari Y dan Simanjuntak P. 2007. Seleksi mikroba endofit *Curcuma zedoaria* dalam memproduksi senyawa kimia antimikroba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.5(2): 77-84.

Strobel GA, Daisy B. 2003. Bioprospecting For Microbial Endophytes And Their Natural Products. *Microbiology And Molecular Biology* *Reviews*.67**:**491 -502.

Syarmanila W. Lely, LAUPA N. 2007. Uji sitotoksik hasil fermentasi kapang endofit
buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap sel MCF-7. J. Ilmu Kefarmasian Indonesia 5(1): 23 – 24.

Tan RX, Zou WX. 2001. Endophytes : A Rich Source Of Functional Metabolites. *Nat*ural *Product Report*.18 : 488 - 459.

Ukhty N. 2015. Isolasi Kapang Endofit Tumbuhan Pesisir Terong Pungo (*Solanum* sp.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri Patogen Mulut [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.