

Deteksi Awal Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan Jamur *Trichoderma harzianum*

Yeti Elfina.S¹. dan Amri Bachtiar²

¹Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Faperta Universitas Riau

²Laboratorium Penelitian Jurusan Farnasi FMIPA Universitas Andalas Padang

ABSTRACT

The research was conducted to early detection antimicrobial compound produced by *Trichoderma harzianum* fungi on March 2003. *T. harzianum* cultured during 7 days at temperature 25-30°C and shake velocity at 180 rpm. The secondary metabolite formed isolated and fractionated with wtile acetate and n-butanol, then antibiosis activity tested against *Sclerotium rolfsii* Sacc., caused foot rot in pepper plant and pepper seeds. The results of experiment showed fractionated compound n-butanol indicated antimicrobial activity against *S. rolfsii*.

Key Words: detection, antimicrobial (antibiosis), *Trichoderma harzianum*.

PENDAHULUAN

Penyakit yang sering menimbulkan masalah pada usaha budidaya cabai adalah penyakit busuk pangkal batang pada tanaman cabai dan penyakit rebah kecambah pada bibit cabai yang disebabkan oleh jamur *Selectrotorium rolfsii* Sacc (Agrios, 1977; Purseglove *al, et.* 1977). Akibat penyakit ini dapat menurunkan hasil tanaman cabai hingga 43% (Jenkins dan Avere, 1986). Bahkan Sugiarso dan Suseno (1982) mengemukakan bahwa serangan jamur ini dapat menimbulkan kerugian sampai 80%, bila keadaan mendukung untuk perkembangan jamur ini kerugian dapat mencapai 100%.

Sampai saat ini usaha pengendalian penyakit ini masih mengutamakan pema-

kain pestisida. Namun penggunaan pestisida yang tidak tepat akan menimbulkan dampak negatif terhadap manusia, hewan ternak, lingkungan (Sinaga, 1989).

Akhir-akhir ini dikembangkan usaha pengendalian hama secara terpadu, yang intinya adalah pengendalian hayati, dan penggunaan pestisida merupakan alternatif terakhir (Untung, 1993). Salah satu cara pengendalian hayati untuk penanggulangan serangan jamur *S. Rolfsii* ini adalah penggunaan jamur *Trichoderma* yang bersifat antagonis terhadap jamur *S. rolfsii*. Jamur *Trichoderma* diinokulasikan ke dalam tanah tempat penanaman cabai menggunakan substrat organik berupa jerami. Dilaporkan cara ini dapat menekan serangan penyakit busuk pangkal batang

pada tanaman cabai dan penyakit rebah kecambah bibit cabai (Habazar *et al*, 1994, Elfina 2001).

Berdasarkan prinsip antagonis, diduga jamur *Trichoderma harzianum* menghasilkan zat toksis yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* (sifat antibiosis). Senyawa antibiosis yang dihasilkan oleh jamur *T. harzianum* tersebut merupakan metabolik sekunder yang dihasilkan oleh jamur itu selama fase stasioner dalam kene­tika pertumbuhannya.

Pada penelitian ini dicoba membiakkan jamur *T. harzianum* dalam media cair, kemudian diisolasi produk metabolit sekundernya yang bersifat antibiosis terhadap *S. rolfsii*. Tujuan penelitian ini melakukan pembiakan jamur *T. harzianum* secara fermentasi dalam media cair, mengisolasi dan memfraksinasi metabolit sekunder yang terbentuk dan menguji aktifitas antibiosisnya terhadap jamur *S. rolfsii*. Penelitian ini merupakan salah satu tahapan dalam upaya menemukan zat aktif baru yang bersifat antibiosis, yang dapat dikembangkan sebagai fungisida alamiah terutama dalam penanggulangan penyakit tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan FAPERTA dan Laboratorium Penelitian Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas pada bulan Maret 2003, penelitian dilakukan secara diskriptif. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk gambar.

Perbanyakan isolat *Trichoderma* sp. dilakukan berdasarkan metoda Akmal (1997) pada medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari. Selanjutnya isolat tersebut diaktivasi pertumbuhannya dalam media cair (3% ekstrak kentang, 2,5 % pati terlarut, 0.1% Kalsium karbonat dan 100% Aquades). Hasil aktivasi pertumbuhan digunakan sebagai starter pada proses fermentasi.

Proses fermentasi isolat *Trichoder-*

ma sp. menggunakan metoda Akmal (1997), 100 ml starter dibiakkan dalam medium cair (3% air rendaman jagung, 3% sukrosa, 0,5% kalsium karbonat, 0,1% Ferro heltrat, 0,2 % Magnesium Klorida dan 100 % aquades). Untuk mendapatkan filtrat yaitu dengan menyaring biakan tersebut dengan penyaring Buchner

Filtrat dikocok kuat dan diekstraksi dengan pelarut etil asetat dan n-butanol dengan volume pelarut 300 ml dan diulangi 3 kali. Untuk fraksi n-butanol dicampur dengan NaCl jenuh. Fraksi senyawa bioaktif ini dipekatkan dengan bantuan "vacuum evaporator", sehingga didapatkan ekstrak pekat etil asetat dan n-butanol.

Ekstrak pekat etil asetat dan n-butanol dilarutkan dengan pelarut metanol dan dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan silika gel 60 F 254 dengan pengembang n-butanol-asam asetat-air (BAA) (4:1:5), kloroform-metanol-air (KMA) (65:35:5), dan etil asetat-metanol (1:1). Hasil KLT dilihat di bawah lampu ultra-violet (365 nm) dan disemprot dengan beberapa penampak noda yaitu asam sulfat 10% dalam metanol dan FeCl₃.

Senyawa hasil fraksinasi berupa fraksi n-butanol dan fraksi etil asetat diuji aktifitasnya terhadap *S. rolfsii* pada medium PDA. Jamur ini ditumbuhkan pada bagian tengah cawan petri, kemudian kertas cakram steril direndamkan ke dalam larutan senyawa fraksi n-butanol, etil asetat dan akuades steril, kemudian dikering anginkan. Selanjutnya kertas cakram tersebut diletakkan pada bagian pinggir di sekeliling jamur *S. rolfsii*, dan diinkubasi pada suhu kamar sampai terlihat adanya hambatan (5 hari).

HASIL DAN PEMBAHASAN

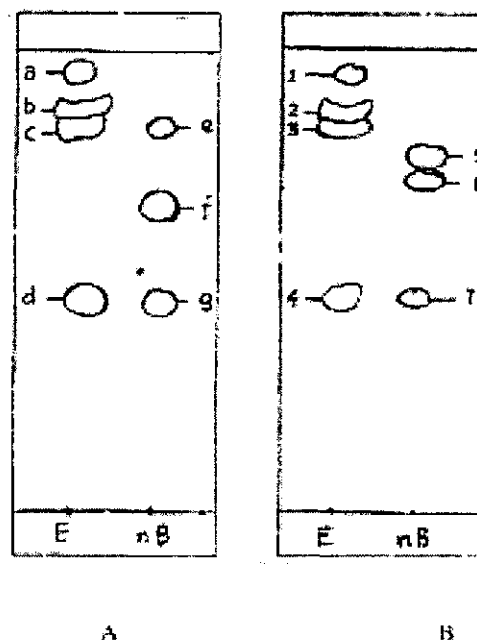
A. Deskripsi senyawa antimikroba jamur *T. harzianum*

KLT ekstrak pekat etil asetat dan n-butanol dari isolat *T. harzianum* menggunakan silika gel 60 F 254 dengan 3 pengembang yaitu n-butanol-asam asetat-air (BAA)

(4:1:5), kloroform-metanol-air (KMA) (65:35:5), dan etil asetat-metanol (1:1). Penampak noda yang digunakan adalah lampu UV (365 nm), asam sulfat 10 % dalam metanol dan besi (III) klorida (FeCl₃)

Pengembang yang dapat memisahkan senyawa dengan baik adalah BAA. Peny-

narannya dengan lampu UV (365 nm) (Gambar 1A) pada fraksi etil asetat terlihat 4 senyawa yaitu; noda a Rf 0,95 berfluoresensi biru muda, noda b Rf 0,86 berfluoresensi biru, noda c Rf 0,83 berfluoresensi biru muda dan noda d Rf 0,45 berfluoresensi jingga, sedangkan pada fraksi n-butanol terlihat 3



Gambar 1. Pola kromatogram fraksi etil asetat dan n-butanol dari isolat T-kts/s menggunakan pengembang BAA (4:1:5)

- A = penampak noda lampu UV (365 nm).
- B = penampak noda asam sulfat 10 % dalam metanol
- E = fraksi etil asetat
- nB = fraksi n-butanol
- a = Rf 0,95 berfluoresensi biru muda
- b = Rf 0,86 berfluoresensi biru
- c = Rf 0,83 berfluoresensi biru muda
- d = Rf 0,45 berfluoresensi jingga
- e = Rf 0,82 berfluoresensi biru
- f = Rf 0,65 berfluoresensi jingga
- g = Rf 0,45 berfluoresensi jingga
- 1 = Rf 0,95 berwarna ungu kecoklatan
- 2 = Rf 0,86 berwarna ungu kecoklatan muda
- 3 = Rf 0,83 berwarna biru muda
- 4 = Rf 0,45 berwarna kuning
- 5 = Rf 0,76 berwarna kuning muda
- 6 = Rf 0,71 berwarna kuning muda
- 7 = Rf 0,45 berwarna kuning

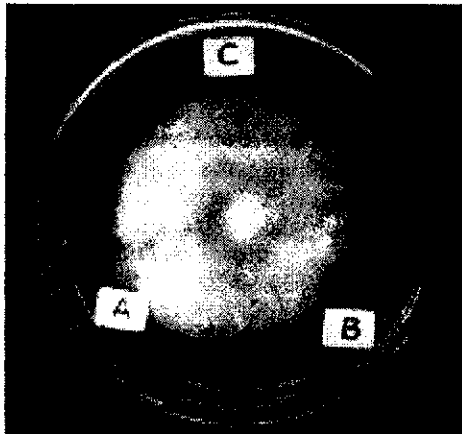
senyawa, yaitu ; noda e Rf 0,82 berfluoresensi biru, noda f Rf 0,65 berfluoresensi jingga dan noda g Rf 0,45 berfluoresensi jingga.

Hasil KLT yang lain setelah penyinaran dengan lampu UV (365 nm), selanjutnya disemprot dengan penampak noda asam sulfat 10 % dalam metanol, hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1B. Dari Gambar 1B terlihat bahwa pada fraksi etil asetat terdapat 4 senyawa yaitu ; noda 1 Rf 0,95 berwarna ungu kecoklatan, noda 2 Rf 0,86 berwarna ungu kecoklatan muda, noda 3 Rf 0,83 berwarna ungu kecoklatan muda dan noda 4 Rf 0,45 berwarna kuning sedangkan pada fraksi n-butanol hanya terlihat 3 noda, yaitu ; noda 5 Rf 0,76 berwar-warna kuning muda, noda 6 Rf 0,71 berwarna kuning muda dan noda 7 Rf 0,45 berwarna kuning. Noda a, b, c dan d pada Gambar 1.A dan noda 1, 2, 3 dan 4 Gambar 1B merupakan senyawa yang sama. Noda f pada Gambar 1A merupakan senyawa yang sama dengan noda 6 pada Gambar 1B. Sedangkan noda e pada Gambar 1A tidak terlihat pada Gambar 1B tetapi ada 2 senyawa lain yang terlihat yaitu noda 5 dan 6.

Hasil KLT fraksi etil asetat dan n-butanol dari isolat *T.harzianum* dengan pengembang yang sama seperti diatas menggunakan penampak noda FeCl₃ hasilnya negatif, artinya fraksi etil asetat maupun n-butanol tersebut tidak tergolong fenol. Sedangkan hasil KLT fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol dari isolat *T.kts/s* menggunakan pengembang Kloroform-metanol-air (KMA) (65:35:5) dengan penyinaran lampu UV (365 nm) pada pola kromatogramnya terlihat terjadi penumpukan noda-noda pada satu tempat dekat garis batas atas plat KLT. Demikian juga hasil KLT fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol dari isolat *T.harzianum* menggunakan pengembang etil asetat-metanol (1:1) dengan penyinaran lampu UV (365 nm) dan disemprot dengan penampak noda asam sulfat 10 % dalam metanol memperlihatkan pola kromatogram kurang bagus, yang berarti kedua pengembang ini bukan merupakan pengembang yang bagus digunakan untuk mendeteksi komponen senyawa tersebut.

B. Aktivitas Antimikroba

Hasil uji aktivitas antimikroba dari eks-



Gambar 2. Hasil uji aktivitas anti mikroba ekstrak fraksi etil asetat dan n- butanol isolat *T.harzianum*

A = fraksi n-butanol
B = fraksi etil asetat
C = Kontrol

trak fraksi etil asetat dan n-butanol isolat *T.harzianum* terhadap jamur *S. rolfsii* terlihat adanya hambatan pertumbuhan *S. rolfsii* (Gambar 2). Aktivitas antimikroba terhadap *S. rolfsii* hanya terlihat pada fraksi n-butanol (Gambar 2.A). Sedangkan pada fraksi etil asetat dan akuades steril sebagai kontrol terlihat tidak adanya hambatan pertumbuhan (Gambar 2B dan C)

Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Sivan, Elad dan Chet (1984) yang menyatakan bahwa produk metabolit sekunder dari filtrat *T. harzianum* mengandung senyawa yang bersifat inhibitor (menghambat) pertumbuhan dan perkembangan organisme lain, seperti suzukalin dan alametisin yang tergolong peptida yang dihasilkan dengan sifat anti jamur dan anti bakteri (Well, 1986). Dan Akmal (1996) menemukan bahwa *T. koningii* mempunyai aktivitas antibiosis terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* secara in vitro, aktivitas tertinggi diperlihatkan oleh senyawa dari fraksi n-butanol. Dari hasil KLT dan uji aktivitas anti mikroba di atas diduga senyawa yang bersifat anti mikroba adalah senyawa pada noda f (Gambar 1A) atau noda 5 (Gambar 1B) dan noda 6 (Gambar 1B), karena senyawa ini dari hasil KLT tidak ditemukan pada fraksi etil asetat.

KESIMPULAN

1. Jamur *T. harzianum* yang telah diteliti dapat menghasilkan senyawa anti mikroba terhadap *S. rolfsii*
2. Aktivitas antibiosis (antimikroba) tersebut terdapat pada senyawa fraksi n-butanol.

SARAN

Disarankan untuk melanjutkan penelitian ini ke tahap selanjutnya, yaitu karakteristik dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan *T. harzianum*, sehingga dapat digunakan lebih lanjut sebagai bahan bioaktif fungisida alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. Fourth edition. Academic Press. New York. 635 p
- _____. 1996. Optimasi teknik produksi senyawa bioaktif dari jamur *Trichoderma koningii* secara fermentasi untuk mendapatkan bahan baku fungisida alamiah baru. Laporan Penelitian Dosen Muda (BBI) FMIPA UNAND. Padang. 32 hal.
- _____. 1997. Isolasi metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur *Trichoderma koningii* dan uji aktifitasnya terhadap *Sclerotium rolfsii* Sacc penyebab penyakit busuk pangkal batang tanaman cabai. Lembaga Penelitian UNAND. Padang. 33 hal.
- Elfina, Y.S. 2001 Studi Kemampuan isolat *Trichoderma* yang beredar di Sumatera Barat untuk pengendalian jamur patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc pada cabai. Tesis Pasca Sarjana Unand. Padang 78 hal. Tidak dipublikasikan.
- Habazar, T., Darnetty, E. Sulyanti., M. Kasim., dan U. Khairul. 1994. Pemamfaatan jamur *Trichoderma* spp dalam pengendalian patogen tanah pada persemaian sayur-sayuran. Laporan Penelitian ARMP-UNAND. Padang. 89 hal.
- Jenkins, S.F and C.W. Avere, 1996. Problem and Progressan Integrated of Southern Blight of Vegetables. Jurnal. Plant Disease 70 ; 614-619.
- Purseglove, J.W., E.G. Brown; C. L. Green and S.R.J. Robin. 1979. Tropical Agriculture Series Vol:1. Tropical Intitute Overseas. Development Administrasion. London
- Sivan, A., Y. Elad., and I. Chet. 1984. Biological control effect a new isolat of *Trichoderma harzianum* under field conditions. Plant Disease 74 : 498-501.
- Sugiharso dan R. Suseno. 1982. Penuntun praktikum ilmu penyakit tumbuhan (Symptomatologi). Fakultas Pertanian IPB.
- Untung, K. 1993. Konsep Pengendalian Hama Terpadu Gajah Mada University Press. 150 hal.
- Wells, H.D., D.K Bell, and C.A. Jaworski. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. Phytopato.