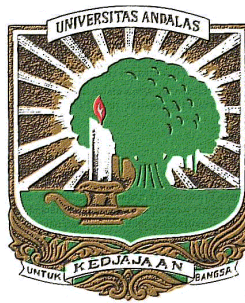


**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIMIKROBA SENYAWA METABOLIT  
SEKUNDER DARI JAMUR ENDOFIT TUMBUHAN BRATAWALI (*Tinospora  
crispa*)**

**SKRIPSI**



**OLEH :**

**RAHMASEPTIANA H.N DJABAT**

**No. BP 0810412060**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIMIKROBA SENYAWA METABOLIT  
SEKUNDER DARI JAMUR ENDOFIT TUMBUHAN BRATAWALI (*Tinospora  
crispa*)**

**OLEH :**

**RAHMASEPTIANA H.N DJABAT**

**No. BP 0810412060**

Skripsi diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sain  
Pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Andalas

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 <i>Tinospora crispa</i> .....	4
2.2 Jamur Endofit .....	5
2.3 Kromatografi .....	8
2.4 Bakteri .....	10
2.5 Jamur <i>Candida albicans</i> .....	12
2.6 Antimikroba .....	13
2.7 Identifikasi Senyawa .....	15
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1 Waktu dan Tempat penelitian .....	18
3.2 Alat dan Bahan .....	18
3.3 Prosedur Kerja .....	18
3.3.1 Kultivasi Jamur Endofit .....	18
3.3.2 Proses Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Kolom .....	19
3.3.3 Uji Bioaktivitas Antibakteri .....	19
3.3.3.1 Pembuatan Media .....	19
3.3.3.2 Kultivasi Mikroba .....	20
3.3.3.3 Persiapan <i>Stock Solution</i> .....	20
3.3.3.4 Penentuan Nilai MIC .....	21

3.3.4 Elusidasi Struktur dengan spektroskopi NMR .....	22
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Pemisahan F.4 TCDC-2 .....	23
4.2 Hasil MIC Senyawa F.4.6.1 .....	25
4.3 Penentuan Struktur senyawa F.4.6.1 dengan Spektroskopi NMR ..	27
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
5.1 Kesimpulan .....	32
5.2 Saran .....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>33</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Tinospora Crispa</i> .....	4
Gambar 2. Isolat jamur endofit TCDC-2 .....	6
Gambar 3. Struktur senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dari mikroba endofit .....	7
Gambar 4. Kromatogram KLT F.4.1- F.4.9 .....	23
Gambar 5. Kromatogram KLT F.4.6.1 .....	25
Gambar 6. Hasil MIC F.4.6.1 dengan <i>B.Subtilis</i> dan <i>S. Aureus</i> ..	26
Gambar 7. Hasil MIC <i>B. Subtilis</i> dan <i>S. Aureus</i> pada kloramfenikol .....	26
Gambar 8. Hasil MIC <i>C. Albicans</i> dengan F.4.6.1 dan nystatin .....	26
Gambar 9. Senyawa Alkaloid turunan 2,7-naftiridin .....	29
Gambar 10. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa hasil isolasi dan senyawa alkaloid turunan 2,7- naftiridin .....	30
Gambar 11. Kromatogram KLT senyawa isolasi dan senyawa alkaloid turunan 2,7- naftiridin .....	31

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Data berat masing-masing fraksi hasil kromatografi kolom.....	24
Tabel 2. Hasil MIC ekstrak terhadap mikroba uji .....	26
Tabel 3. Data pergeseran kimia spektrum <sup>1</sup> H-NMR dari kedua senyawa yang dibandingkan .....	29

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir Penelitian .....	35
Lampiran 2. Pembuatan media PDB ( <i>Peptone Dextrose Broth</i> ) .....	36
Lampiran 3. Pembuatan media GYP ( <i>Glucose Yeast extract peptone</i> ) .....	37
Lampiran 4. Skema kerja kultivasi mikroba .....	38
Lampiran 5. Skema kerja penentuan MIC .....	39
Lampiran 6. Gambar alat .....	40
Lampiran 7. Data korelasi HSQC ( <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> ) dari senyawa isolasi .....	43
Lampiran 8. Spektrum-spektrum spektroskopi NMR .....	44

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Hutan di Indonesia dengan keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki merupakan sumber daya hayati yang sangat potensial untuk menemukan senyawa bioaktif terutama yang berasal dari mikroba endofit untuk mengobati berbagai penyakit. Mikroba endofit yang diisolasi dari daerah tropis lebih potensial sebagai sumber senyawa bioaktif<sup>[1]</sup>. Secara potensial, bahan baku obat, metabolit sekunder, agen kontrol biologis dan berbagai karakteristik lainnya telah ditemukan di dalam endofit yang hidup pada kondisi tropis<sup>[2]</sup>. Laporan pertama berkaitan dengan isolasi jamur endofit dari tanaman inang yang berasal dari daerah tropis adalah oleh Petrini dan Dreyfuss (1981) dan Dreyfuss dan Petrini (1984) dengan *Araceae*, *Bromeliaceae* dan *Orchidaceae* dari Guina Prancis, Brasil dan Kolombia (Amerika Selatan)<sup>[3]</sup>. Dari hasil-hasil penelitian yang dilakukan tersebut, menggugah kita untuk mulai berusaha menggali sumber kekayaan alam negara kita untuk mengatasi masalah kesehatan yang melanda negara kita, dalam hal ini berusaha menemukan sumber antibiotik yang potensial. Kekayaan ini tidak dapat dibiarkan begitu saja tanpa kita tindak lanjuti untuk lebih dalam lagi menggali dan memanfaatkannya secara maksimal.

Mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya<sup>[4]</sup>. Keunggulan lain yang ditawarkan mikroba endofit adalah siklus hidup mikroba endofit yang singkat dan senyawa-senyawa yang dihasilkan dapat diproduksi dalam skala besar melalui proses fermentasi. Isolasi senyawa bioaktif dari tumbuhan banyak menemui kendala dikarenakan jumlahnya yang terbatas dan siklus hidup tumbuhan yang relatif lama. Oleh karena itu, mikroba endofit memiliki prospek yang baik dalam penemuan senyawa-senyawa baru.

Banyak penelitian yang mempelajari tentang kemampuan mikroba endofit yang berada di dalam tumbuhan dan hubungannya dengan inang. Endofit ini di dalam tanaman berada di ruang antarsel. Endofit awalnya, ada di luar tubuh tanaman yang kemudian masuk jika terjadi luka pada tanaman. Jika sudah berada dalam tanaman, endofit akan menetap. Endofit berkembang biak di dalam tanaman tanpa menyebabkan penyakit bagi tanaman inangnya. Masih belum ada penelitian yang membuktikan apakah endofit memiliki spesifikasi tertentu, misalnya apakah satu endofit selalu muncul pada jenis tumbuhan yang sama di tempat yang berbeda. Banyak faktor luar seperti curah hujan dan polusi yang mempengaruhi populasi endofit dalam tanaman.

Isolat jamur endofit yang digunakan pada penelitian ini didapat dari daun tumbuhan *Tinospora crispa* (bratawali) yang diambil dari daerah Ciwidey, Jawa Barat. Manfaat tumbuhan ini mungkin berkaitan dengan banyaknya jenis senyawa kimia yang dikandungnya, antara lain alkaloid, dammar lunak, pati, glikosida, zat pahit, pikroretin, harsa, barberin, palmatin, kolumbin, dan jatrorhize. Zat pahit pikroretin merangsang kerja urat saraf sehingga alat pernafasan dapat bekerja dengan baik. Kandungan alkaloid barberin berguna untuk membunuh bakteri pada luka. Selain itu, bratawali juga bermanfaat untuk menambah nafsu makan dan menurunkan kadar gula. Bratawali menyebar merata hampir di seluruh wilayah Indonesia dan beberapa negara lain di Asia Tenggara dan India. Bratawali tumbuh baik di hutan terbuka atau semak belukar di daerah tropis <sup>[5]</sup>.

Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan / program penelitian yang berjudul “Discovery metabolit sekunder dari sumber daya hayati Indonesia sebagai antibiotika dan antikanker” yang dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia, PUSLIT BIOLOGI LIPI.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Jamur endofit dari TCDC-2 telah diketahui mampu menghasilkan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroba patogen. Dari hal ini, dapat dirumuskan langkah – langkah sebagai berikut :

1. Mengisolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada jamur endofit dari tumbuhan *Tinospora crispa* (TCDC-2).
2. Uji aktivitas biologi dari senyawa metabolit sekunder tersebut terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam jamur endofit TCDC-2.
2. Mengetahui aktivitas biologi dari senyawa metabolit sekunder tersebut sebagai antimikroba.

## **1.4 Manfaat Penelitian**



Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan potensi senyawa bioaktif yang diproduksi oleh salah satu jamur endofit TCDC-2 yang berasosiasi dengan tumbuhan *Tinospora crispa* dan diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan baku obat.