

ANALISIS PROFIL METABOLIT SEKUNDER JAMUR ENDOFIT DARI BUNGA TAPAK DARA (*Catharantus Roseus*) YANG TUMBUH DI LAHAN KERING

Theo M. da Cunha¹, Antonius R. B. Ola¹, Yermia Tefa²

¹ *Staf Pengajar Prodi Kimia FST Undana Kupang*

² *Anggota Peneliti Prodi Kimia FST Undana Kupang*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Analisis Profil Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Bunga Tapak Dara (*Catharantus roseus*) Menggunakan (HPLC) Dan (LC-MS). Penelitian bertujuan untuk mengisolasi senyawa kimia dari tanaman tapak dara menggunakan jamur endofit menggunakan HPLC dan LC-MS, mengetahui sensitivitas bakteri terhadap jamur endofit dari bunga tapak dara. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan cara maserasi untuk proses pengikatan senyawa kimia serta metode cakram kertas untuk uji aktivitas anti bakteri. Hasil HPLC menunjukkan adanya beberapa senyawa kimia di dalam ekstrak tapak dara. Jamur endofit yang diperoleh adalah jenis *penicillium*. Hasil LC-MS menunjukkan 5 senyawa kimia di dalam ekstrak yaitu senyawa Cissogenin, 3',4',5',5,7,8-Hexa methoxy flavone, Fibleucin, Feralolide, Kansuiphorin D . Hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* menunjukkan respon hambatan kuat dengan DDH sebesar 13,1 mm sedangkan pada bakteri gram negatif *Escherichia coli* menunjukkan respon hambatan yang sedang dengan DDH sebesar 10,3 mm.

Kata kunci : *Catharantus roseus* jamur endofit, *penicillium*, metabolit sekunder, aktivitas antibakteri, Lahan Kering

Hasil Penelitian

Tapak Dara atau *Catharanthus roseus* (L.) merupakan tumbuhan tropis yang berasal dari Madagaskar. Tumbuhan ini banyak dijumpai sebagai tanaman hias dengan bunga berwarna merah muda, putih atau ungu. Di berbagai negara tumbuhan ini dikenal dengan berbagai macam nama yaitu, Chang Chun Hua (china), Hoa Hai Dong (Vietnam), Tsitsirika (Filipina), Soldaten Bolem (Belanda), Rose Periwinkle (Inggris) dan Kemuting Cina (Malaysia). Sedangkan di Indonesia, masing-masing daerah memiliki julukannya sendiri, seperti Kembang Tembaga (Sunda), Kembang Tapak Dara (Jawa), Sindapor (Sulawesi) dan Bunga Pica Piring (Timor).

Masyarakat di wilayah Timor dan masyarakat tradisional lainnya yang hidup di Daerah Lahan Kering sejak dulu banyak memanfaatkan tanaman ini sebagai obat herbal. Daun hingga bunganya dipercaya berkhasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Umumnya, masyarakat membuat Obat herbal ini dengan cara, merebus daun atau bunganya untuk kemudian diminum. Khasiat yang diperoleh dari tanaman ini meliputi : mampu menyembuhkan demam, luka bakar, batuk, bisul/bengkak, radang perut/ disentri, Hipertensi (tekanan darah tinggi), malaria, demam berdarah, penyakit gula dan terkhusus aktivitasnya sebagai obat antikanker yang banyak menarik perhatian. Masyarakat di wilayah Timor dan masyarakat tradisional lainnya sejak dulu banyak memanfaatkan tanaman ini sebagai obat herbal. Daun hingga bunganya dipercaya berkhasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Umumnya, masyarakat membuat Obat herbal ini dengan cara, merebus daun atau bunganya untuk kemudian diminum. Khasiat yang diperoleh dari tanaman ini meliputi :

mampu menyembuhkan demam, luka bakar, batuk, bisul/bengkak, radang perut/ disentri,

Menurut hasil penelitian Ariffudin M., dkk tahun 2017 hasil isolasi jamur endofit dari tapak dara memperoleh 7 fungi endofit dengan frekuensi tumbuh koloni segmen daun dan akar masing-masing ialah 19,23 % dan 21,43 %. Menurut penelitian lain, Strain Endofit *Alternaria sp.*(Guo, 1997) dan *F. Oxysporum* (Zhang, 2000) dari tapak dara masing-masing menghasilkan vinblastin dan vicristin. Sedangkan pada penelitian Yin tahun 2011, strain yang tak dikenal dilaporkan dapat memproduksi vincamine.

MATERI DAN METODE

Persiapan Sampel

Sampel bunga tapak dara ungu (*Catharantus roseus*) diambil dari Dusun Binilaka, Desa Oeltua, Kabupaten Kupang .

Isolasi Jamur Endofit

Sampel daun tapak dara dipotong menjadi 4 bagian dengan masing-masing ukuran 0,5 cm x 0,5 cm. Potongan sampel kemudian direndam selama 30 detik secara bergantian dengan alkohol 70% dan aquades, sebanyak 3x untuk menghindari kontaminasi silang jamur epifit dan untuk menghilangkan zat-pengotor pada daun. Setelah itu potongan sampel ditiriskan dalam cawan petri berisi tissue, lalu dipindahkan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas media PDA pada cawan petri. Di setiap cawan petri diletakkan 4 potongan sampel dan disamping cawan petri diisolasi menggunakan parafilm kemudian diinkubasi. Proses ini dilakukan dalam laminar flow.

Hasil Penelitian

Pemurnian Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh pada media PDA, diamati secara mikroskopi. Koloni yang menunjukkan perbedaan dianggap sebagai isolat yang berbeda. Pemurnian jamur dilakukan dengan memotong jamur menjadi 3 bagian yaitu ujung, tengah dan depan sampel. Selanjutnya bagian dari jamur tersebut diambil menggunakan jarum ose yang sebelumnya dipijarkan terlebih dahulu diatas bunsen, kemudian diletakkan kedalam media PDA baru dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu ruangan.

Kultivasi

Sebanyak 50 gram beras cap nona kupang dimasukkan kedalam erlenmeyer 1000 ml, kemudian ditambahkan dengan 75 ml aquades. Setelah itu erlenmeyer ditutup dengan kapas steril dan alumunium foil, lalu diautoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm dan waktu 30 menit.

Jamur endofit murni dimalt menjadi 5 bagian dan setiap bagian jamur dipotong kotak-kotak. Selanjutnya setiap bagian yang telah dipotong kotak-kotak dimasukkan kedalam masing-masing media beras yang telah diautoclave. Setelah itu erlenmeyer ditutup dengan kapas steril dan alumunium foil, lalu diisolasi dengan parafilm. Selanjutnya disimpan pada suhu ruangan (25°C) dan diamati pertumbuhan jamur 2-3 minggu.

Maserasi dan Evaporasi

Jamur hasil kultifasi yang telah tumbuh memenuhi media beras hingga bagian bawah erlenmeyer selanjutnya dimasukkan etil asetat sebanyak 100 ml lalu diaduk hingga tercampur sempurna. Kemudian didiamkan selama 1 malam dan disaring menggunakan kertas saring whatman. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi

pada suhu 40°C untuk memisahkan antara ekstrak dan pelarutnya.

Analisis HPLC

Ekstrak yang diperoleh dari hasil evaporasi kemudian dianalisis menggunakan HPLC untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam senyawa metabolit sekunder jamur endofit dari daun tapak dara.

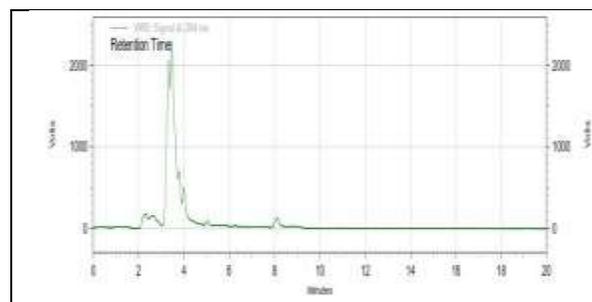
Analisis LC-MS

Ekstrak yang diperoleh dari hasil evaporasi kemudian dianalisis menggunakan LC-MS untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam senyawa metabolit sekunder jamur endofit dari daun tapak dara.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Hasil analisis HPLC ini dinyatakan dalam bentuk kromatogram. Kromatogram ini berupa grafik antara waktu retensi dan tinggi puncak dari senyawa. Tinggi puncak (peak) yang ada menandakan banyaknya senyawa yang ada dalam sampel. Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar di bawah ini :



Gambar 1 . Hasil HPLC

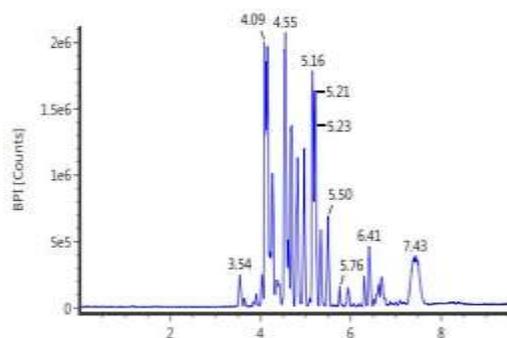
Gambar 1 menunjukkan adanya beberapa peak yang menandakan bahwa

Hasil Penelitian

jamur endofit memiliki beberapa senyawa kimia .

Analisis Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy (LC-MS)

Hasil analisis dari LC- MS yang diperoleh dapat dilihat pada gambar berikut :



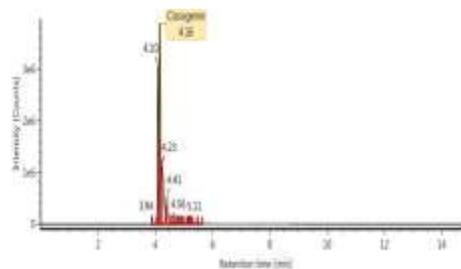
Gambar 2. Hasil analisis instrumen LC-MS

Hasil uji di laboratorium menunjukkan bahwa terdapat 5 senyawa di dalam sampel tersebut, yaitu 3', 4', 5', 5', 7, 8 – hexa methoxy flavone, cissogenin, feralolide, fibleucin, kansuiphorin D. Variasi ini tersaji pada tabel berikut :

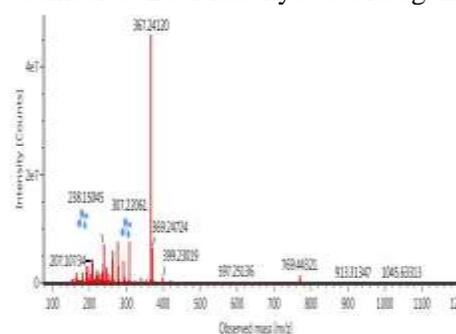
Tabel 1. Data analisis LC-MS

	Waktu retensi	Berat molekul
1	4.12	366.2405
2	4.55	402.1418
3	4.97	356.1372
4	5.16	344.0997
5	6.42	478.2423

1. Senyawa Cissogenin

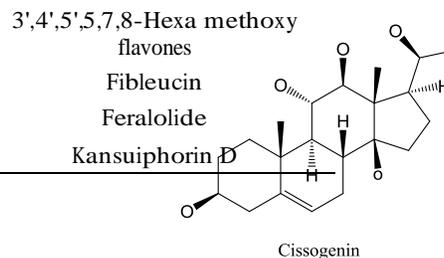


Gambar 3. LC-MS Senyawa Cissogenin



Gambar 4. Fragmentasi Senyawa Cissogenin

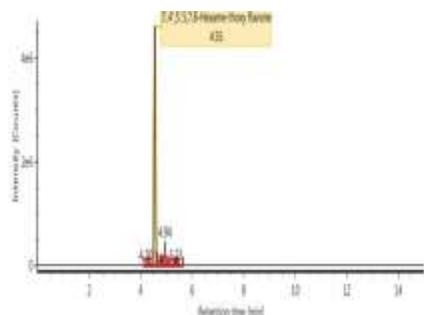
Kromatogram diatas menunjukkan bahwa senyawa cissogenin memiliki waktu retensi 4.12 menit. Senyawa ini diperkirakan memiliki ion molekul massa dengan m/z 366.2045 (M+H=367.2045, M+Na=389). Struktur dari senyawa cissogenin dapat dilihat pada gambar berikut :



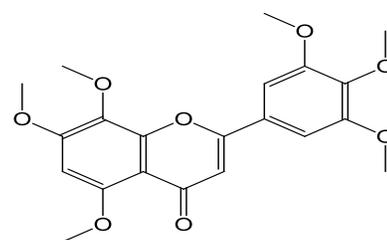
Gambar 5. Struktur senyawa cissogenin

Hasil Penelitian

2. Senyawa 3',4',5',5,7,8- Hexame-thoxy flavone



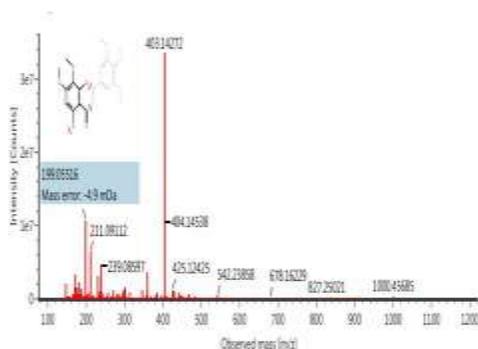
Gambar 6. Senyawa 3',4',5',5,7,8- Hexame-thoxy flavone



3',4',5',5,7,8-Hexame-thoxy flavone

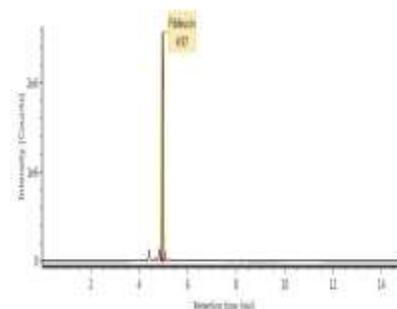
Gambar 8. Struktur senyawa 3',4',5',5,7,8- Hexame-thoxy flavones

3. Senyawa Fibleucin

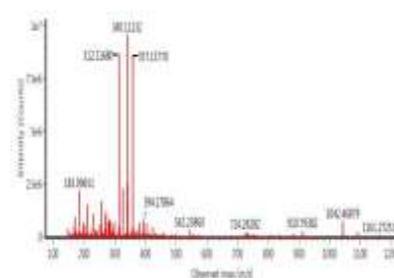


Gambar 7. Fragmentasi 3',4',5',5,7,8- Hexame-thoxy flavone

Hasil kromatogram diatas menunjukkan bahwa senyawa 3',4',5',5,7,8-Hexame-thoxy flavone memiliki waktu retensi 4,55. Senyawa ini memiliki ion molekul dengan massa m/z 402,1418 ($M+H=403.1418, m+Na=827,25021$) Struktur dari senyawa ini dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 9. Senyawa fibleucin

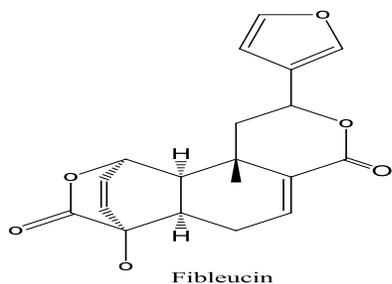


Gambar 10. Fragmentasi Senyawa Fibleucin

Kromatogram diatas menunjukkan bahwa senyawa fibleucin memiliki waktu

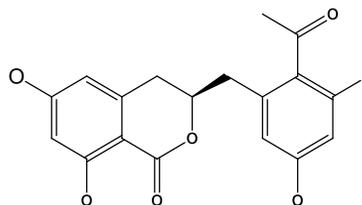
Hasil Penelitian

retensi 4.97 menit. Senyawa ini diperkirakan memiliki ion molekul massa dengan m/z 356.1372. Senyawa ini memiliki struktur kimia sebagai berikut :



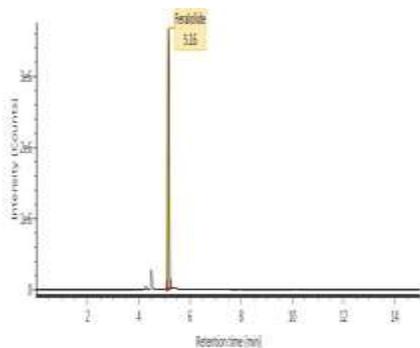
Gambar 11. Struktur Senyawa Fibleucin

retensi 5.16 menit. Senyawa ini diperkirakan memiliki ion molekul massa dengan m/z 344.0997. Senyawa ini memiliki struktur kimia sebagai berikut :



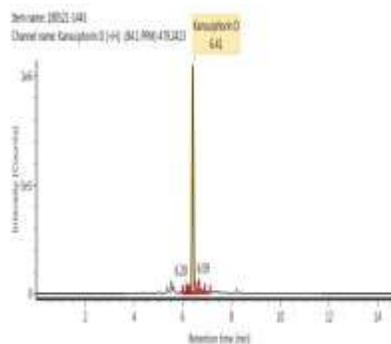
Gambar 14. Struktur senyawa feralolide

4. Senyawa Feralolide

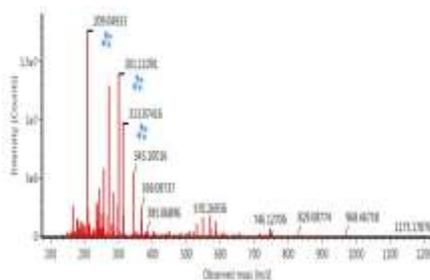


Gambar 12. Senyawa feralolide

5. Kansuiphorin D

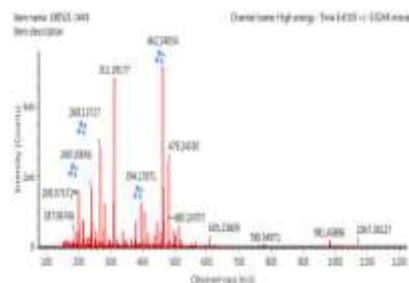


Gambar 15. Grafik kansuiphorin D



Gambar 13. Fragmentasi Senyawa Feralolide

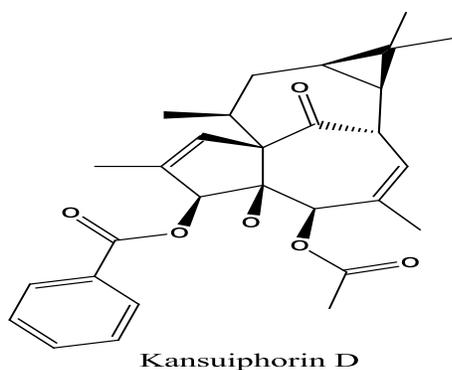
Kromatogram diatas menunjukkan bahwa senyawa feralolide memiliki waktu



Gambar 6. Fragmentasi Senyawa Kansuiphorin D

Hasil Penelitian

Hasil kromatogram diatas menunjukkan bahwa senyawa kansuiphorin D memiliki waktu retensi 6.41 menit. Senyawa ini diperkirakan memiliki ion molekul massa dengan m/z 478.2423(M+H=479.2423) . Struktur kimia dari senyawa ini dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 7. Struktur senyawa kansuiphorin D

PENUTUP

Simpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam jamur endofit dari daun tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.) ada 5, yaitu : 3',4',5',5',7,8-Hexa methoxy flavone, Cissogenin, Feralolide, Fibleucin, Kansuiphorin D.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
Ahara. 2011. *Tumbuhan langka Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi. LIPI. Balai Penelitian Botani.

Herbarium Bogoriense. Bogor. Indonesia.

Anonim, 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. ITB Press. Bandung.

Ardrey, E.R. 2003. *Liquid Chromatography- Mass Spectrometry: An Introduction*. John Wiley & Sons Ltd.

Arifuddin M, mahfuzun Bone, Iswahyudi, Arsyik Ibrahim, La Ode Rijai. 2017. *Isolasi dan karakterisasi fungi endofit tanaman tapak dara (catharanthus roseus)*. J.Trop.Pharm. Chem. **Vol 4**. No 1. Samarinda

Dalimartha, W. 2007. *Senyawa bioaktif Fungi Endofit Akar kuning (Fibraurea chloroleuca Miers) sebagai senyawa antimikroba*. Tesis. Sekolah Pascasarjana UGM.

Dwidjosepturo. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan : Surabaya.

Eichhorn, P. and Knepper, T.P. 2001. *Electrospray ionization mass spectrometric studies on the amphoteric surfactant cocamidopropylbetaine*. *J. Mass Spectroscopy*, 36: 677-684.

Guo, B.; Li, H.; Zhang, L. 1997. *Isolation of a fungus producing vinblastine*. *J. Yunnan Univ. (Natural Science Edition)*. **20**. 214-215.

Harborne, N.J. 1987. *Struktur Elucidation of Bioactive Compounds Isolated from Endophytes of Alstonia Scholaris and Acmena Graveolens*. Thesis Department of Chemistry and Biochemistry. Brigham Young University.

Ivorra, L. 1989. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press : Malang.

Katzung, Bertram, G. 1994. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-6, San Fransisco : A Publishing Division of Prentice Hall.

Hasil Penelitian

- Katzung, B.G., Masters, S.B., Trevor, A.J. 2007. *Basic & Clinical Pharmacology*, 10thEd. New York : McGraw-Hill.
- Kemp, T. 2003. *Microbiologi Dasar*. Edisi V. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Khopkar, 2007. *Analisis Instrumen*. Pusat antar Universitas Gajah Mada.
- Kim and Sura. 1994. *The Fungi*. Academic Press. London.
- Liang, A, *et al.*, 2004. In vitro antioxidant studies of *annona squamosa L.* Leaves. *J. Ethnopharmacol.* 91 : 171 - 175. Diakses dari <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np0704957>. Tanggal 7 Juli 2010.
- Nammi. 2003. *Budidaya Tanaman Tapak Dara*. Kanisi. Yogyakarta.
- Ola, A. R. B., Amal, H. A., Ilka, Z., Alexandra, H., Attila, M., Matthias, K., Heike, B. O., Tibor, K., Peter, Proksch., Abdessamad, D., 2014, Absolute Configuration and Antibiotic Activity of Neosartorin from the Endophytic Fungus *Aspergillus Fumigati*affinis, *Tetrahedron Letters.*, 55, 1020- 1023
- Petrini, J.; Jacobs, D.I.; Snoeijer, W.; Hallard, D.; Verpoorte, R. 1992. *The Catharanthus Alkaloid Pharmacognosy and biotechnology*. *Current Medicinal Chemistry* **11**.1241-1253.
- Radji, J. 2005. *Budidaya Srikaya*. Kanisius : Yogyakarta.
- Sari, D. K. 2008. *Penapisan Antibakteri dan Inhibitor Topoisomerase I dari Xylocarpus granatum*. Tesis. Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X. and Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric Identification Of Organic Compounds*. 7thEdition. State University of New York. John Wiley & Sons, Inc.
- Strobel G., Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4):491-502.
- Tjay, T. H., dan Rahardja, K. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi ke VI. PT Elex Media Komputindo, hal. 193 : Jakarta.
- Tolambiya P., and Mathur S. 2016. *A Study on Potential Phytopharmaceuticals Assets in Catharanthus Roseus L. (Alba)*. *Internasional Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. **Vol. 5**. No. 1.
- Verpoorte., Atria Martina., Rodesia Mustika Roza. 2000. *Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Dari kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L) Sebagai Anti Mikroba Terhadap Candida albicans, Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Binawidya Pekanbaru. Indonesia.
- Yin, H.; Sun, Y.H. 2011. *Vincamine-producing endophytic fungus isolated from vinca minor*. *Phytomedicine*. **18**. 802-805.
- Zaifblo, C. 2009. What are endophytes, in: B. Schulz, et al.(Eds.), *Soil Biology: Microbial Root Endophytes*. Berlin : Springer-Verlag, pp. 1-13.
- Zhang, L.; Guo, B.; Li, H.; Zeng, S.; Shao, H.; Gu, S.; Wei, R. 2000. *Preliminary Study on the isolation of endophytic fungus of Catharanthus roseus and its fermentation to products of therapeutic value*. *Chinese traditional and herbal and Drugs*. **31**. 805-807.