Edisi 1

ISBN 978-602-14397-0-8

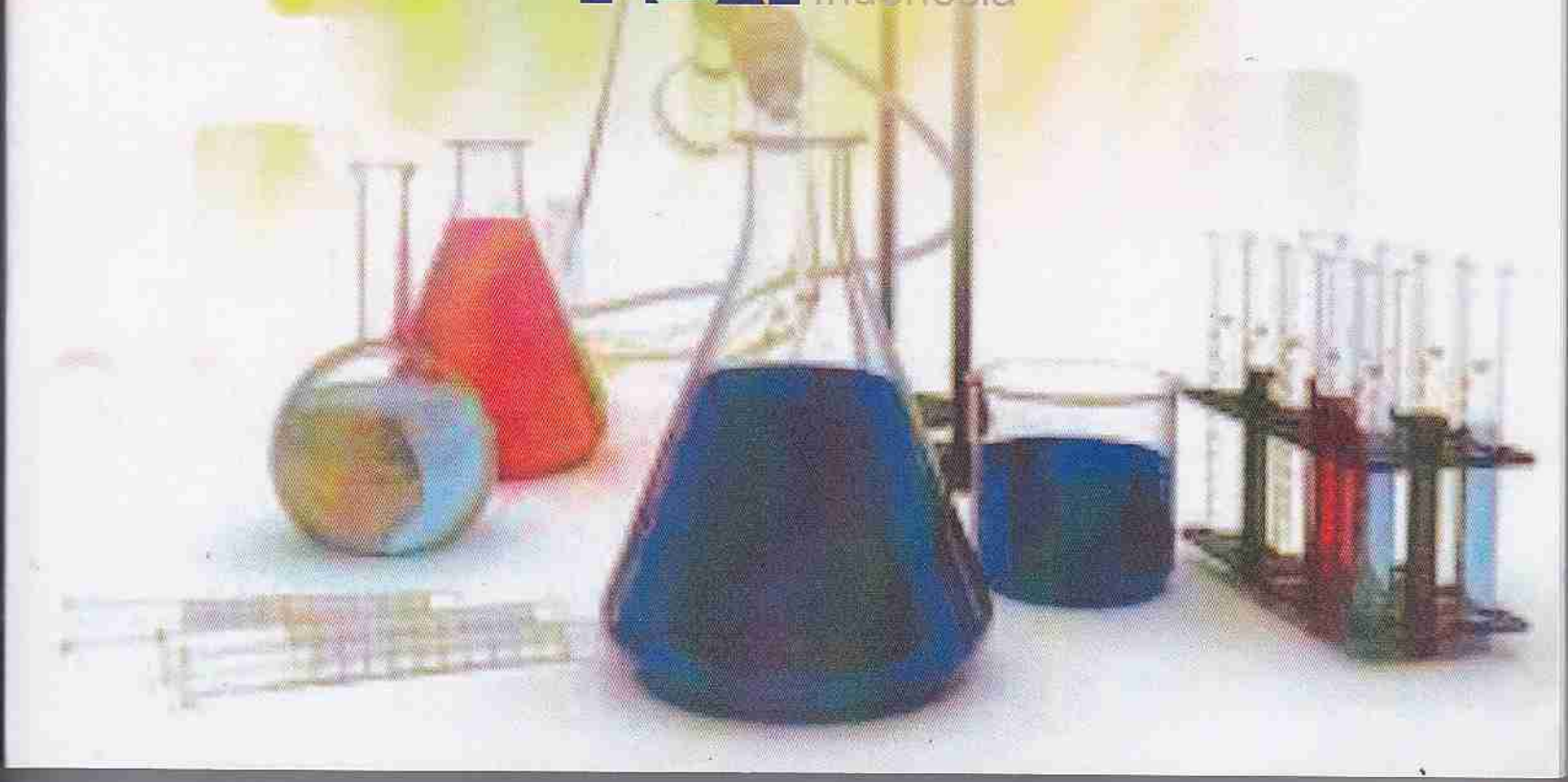
SEMINAR NASIONAL
Kimia dan Pendidikan Kimia Tahun 2013

" Save The Natural Resources by Implementation of Green Chemistry in Education, Research, and Industrial Process "

Penyelenggara :

KERJASAMA :
JURUSAN KIMIA
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG,
UNDIP SEMARANG
UNS SURAKARTA DAN
PRODI KIMIA UNSOED PURWOKERTO

Himpunan Kimia Indonesia



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2013

Reviewer:
Prof. Dr. Supartono, M.S. (Unnes)
Dr. Sudarmin, M.Si. (Unnes)
Dr. rer. nat. Fajar Rakhman Wibowo, M.Si. (UNS)
Dr. Khairul Anam, M.Si. (Undip)
Dr. Agustina L.N. Aminin, M.Si (Undip)
Dr. Ponco Iswanto, M.Si (Unsoed)
Dr. Edy Cahyono, M.Si. (Unnes)

Editor:
Arif Widiyatmoko, M.Pd. (Unnes)
Nuni Widiarti, S.Pd.,M.Si. (Unnes)
Miranita Khusniati, M.Pd. (Unnes)

ISBN: 978-602-14397-0-8

Dicetak Oleh :
CV. SWADAYA MANUNGGAL
Jl. Kelud Raya No. 78, Semarang
Telp. (024) 8411006 / Fax. (024) 8505723
Email. percetakanswadaya@yahoo.com

2 AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH SIRSAK (Annona muricata L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia* DAN *Pseudomonas aeruginosa* BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS 137
Hanugrah Ardya CS, Haryoto, Peni Indrayudha, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

3 AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa,* DAN *Klebsiella pneumoniae* SERTA BIOAUTOGRAFINYA 142
Rachmat Handoko, Haryoto dan Peni Indrayudha, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

4 AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI POLAR EKSTRAK ETANOL DAGING BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei* DAN *Staphylococcus aureus* BESERTA BIOAUTOGRAFINYA 150
Aninditya Laras Pangestuti, Haryoto, dan Peni Indrayudha, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

5 EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL JAMUR ENDOFITIK *ASPERGILLUS* SP DARI TUMBUHAN BROTOWALI (*Tinaspora Crispa*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Salmonella typhi* Dan *Shigella dysentriae* PADA FESES MENCIT 155
Elfita[1], Munawar[2], Muharni[3], Jeni Sitanggang[4]
[1,3]Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan
[2,4] Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan

6 IDENTIFIKASI SENYAWA-SENYAWA SITOTOKSIK EKSTRAK *N*-HEKSANA DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) 161
Tifa Nurmaya, Dewi Kusrini, Enny Fachriyah, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang

7 IDENTIFIKASI BUNGA KUBIS (*Brassica oleracea var.botrytis* L) DAN PENGARUHNYA TERHADAP PERUBAHAN JUMLAH TROMBOSIT TIKUS (*Rattus Norvegitus*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL 164
Endang Sri Sunarsih, Bagian Farmasi Kedokteran, Fakultas Kedokteran. UNDIP, Semarang

8 POTENSI ANTIDIABETES DARI AKTINOMISET ENDOFIT DAUN MIMBA *(Azadirachta Indica)* 168
Lina Maharani, Nies Suci Mulyani, Purbowatiningrum Ria Sarjono, Department Biokimia, Universitas Diponegoro, Semarang

9 PROFIL DAN DINAMIKA SENYAWA DAIDZEIN UMBI BENGKUANG *(Pachyrhizus erosus)* DALAM SERUM DARAH TIKUS PUTIH BETINA 174
Cicilia Novi Primiani, FP MIPA IKIP PGRI Madiun

10 SENYAWA FLAVANOID DARI KULIT BATANG *Bauhinia hullettii* Prain DAN UJI *IN VITRO* SEL KANKER MURINE P388 182
Lenny Anwar, Herdini dan Jhon Azmi, Prodi Kimia, Jurusan PMIPA FKIP Universitas Riau

EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL JAMUR ENDOFITIK *ASPERGILLUS* SP DARI TUMBUHAN BROTOWALI (*Tinaspora Crispa*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Salmonella typhi* Dan *Shigella dysentriae* PADA FESES MENCIT

Elfita[1*], Munawar[2], Muharni[3], Jeni Sitanggang[4]
[1, 3]Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya
[2,4] Munawar, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya
*email: el_fi_ta@yahoo.com

ABSTRAK

Telah diisolasi jamur endofitik *Aspergillus* sp dari batang brotowali. Kultivasi dilakukan dalam media beras selama 4 minggu yang diakhiri dengan ekstraksi menggunakan pelarut metanol selama 3 hari. Ekstrak disaring dan evaporasi. Ekstrak metanol dilakukan uji in vivo menggunakan mencit putih untuk mengetahui efektivitasnya menurunkan populasi bakteri patogen *S. typhi* dan *S. dysentriae* pada feses mencit. Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah 10, 100, dan 1000 mg/kg BB. Dari hasil Anova dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan, diketahui bahwa dosis 1000 mg/kg BB memiliki aktivitas yang setara dengan standar antibiotik yang digunakan dengan dosis 10 mg/kg BB dalam menurunkan populasi bakteri *S. typhi* dan *S. dysentriae* pada feses mencit.

Kata kunci: Jamur endofitik, Aspergillus sp, brotowali, Salmonella typhi, dan Shigella dysentriae

ABSTRACT

Endophytic fungi were isolated from the stem brotowali *Aspergillus* sp. Cultivation has done in the rice medium during incubated during 4 weeks than extraction using methanol for 3 days. The extract was filtered and evaporated. Methanol extracts tested in vivo using white mice to determine its effectiveness reduce the population of pathogenic bacteria *S. typhi* and *S. dysentriae* the feces of mice. Dose of the extract used in this study were 10, 100, and 1000 mg/kg BW. From the results of ANOVA, followed by Duncan's multiple range test, it is known that a dose of 1000 mg/kg BW had activity equivalent to the standard antibiotics used at a dose of 10 mg/kg BW in reducing the bacterial population *S. typhi* and *S. dysentriae* the feces of mice.

Key words: Endophytic fungi, *Aspergillus* sp, *Tinaspora crispa*, *Salmonella typhi,* dan *Shigella dysentriae*

1. PENDAHULUAN

Sampai saat ini di Indonesia, penyakit gastroenteritis yaitu peradangan lambung, usus kecil, dan usus besar, masih merupakan masalah kesehatan yang utama. Lingkungan yang buruk disertai rendahnya tingkat kesadaran masyarakat akan pola makan yang sehat menjadi penyebab seringnya penyakit ini mewabah di Indonesia [1]

Survei morbiditas yang dilakukan oleh Subdit Diare, Departemen Kesehatan dari tahun 2000-2010 terlihat kecenderungan insiden naik. Pada tahun 2000, penderita penyakit diare 301/1000 penduduk, tahun 2003 naik menjadi 374/1000 penduduk, tahun 2006 naik menjadi 423/1000 penduduk, dan tahun 2010 menjadi 411/1000 penduduk. Kejadian Luar Biasa (KLB) diare juga masing sering terjadi dengan persentasi yang tinggi. Pada Tahun 2008 terjadi KLB di 69 kecamatan dengan jumlah kasus 8.133 orang dengan kematian 239 orang (2,94%). Tahun 2009 terjadi KLB di 24 kecamatan dengan jumlah kasus 5.756 orang dengan kematian 100 orang (1,74%), sedangkan tahun 2010 terjadi KLB diare di 33 kecamatan dengan jumlah penderita 4.204 orang dengan kematian 73 orang (1,74%) [1]. Bakteri merupakan patogen yang paling penting sebagai penyebab penyakit diare. Penggunaan antimikroba pada diare tanpa indikasi yang jelas telah menyebabkan banyak jenis kuman enterik menjadi resisten. Di Indonesia dilaporkan bahwa hampir semua spesies *Shigella,* termasuk *Shigella dysentriae* telah resisten terhadap antibiotik [2].

Demam tifoid ialah penyakit infeksi sistemik akut yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang bersifat endemis dan masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Kejadian penyakit ini di Indonesia cendrung meningkat. Penyakit ini tersebar merata diseluruh dunia. Insiden penyakit demam tifoid di seluruh dunia mencapai 17 juta setahun dengan jumlah kematian sebanyak 600.000 orang. Sekarang sering ditemukan strain yang resisten terhadap kloramfenicol dan terhadap antibiotika lain yang umum digunakan untuk demam tifoid seperti amoksisilin, trimetropin, dan sulfametoksasol [3, 4].

Resistensi antibiotik dari bakteri merupakan suatu masalah kesehatan masyarakat yang sifatnya global. Masalah ini menjadi bertambah penting dalam hal pengobatan infeksi

gastroenteritis. Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa antibiotik ini yaitu dengan memanfaatkan jamur endofitik yang terdapat pada setiap tumbuhan. Salah satunya adalah tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani yang terkait dengan beberapa penggunaannya dalam pengobatan gastroenteritis, sehingga peluang untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru akan lebih besar [5]. Dengan mengisolasi mikroba endofitik dari tumbuhan inangnya, maka mikroba ini dapat dikultivasi dalam waktu yang singkat sehingga menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah yang sesuai dengan kebutuhan. Cara ini perlu dikembangkan karena memiliki keunggulan dari segi waktu dan biaya [6].

Makalah ini melaporkan efektivitas ekstrak metanol jamur endofitik *aspergillus* sp dari batang tumbuhan brotowali dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi* dan *S. dysentriae* pada feses mencit. Dari penelitian sebelumnya sudah dilaporkan satu senyawa alkaloid asam-7-hidroksi-3,4,5-trimetil-6-on-2,3,4,6-tetrahidroisokuinolin-8-oat dari jamur endofitik *Penicillium citrinum* yang aktif sebagai antimalaria [7].

2. METODE

2.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Indralaya pada bulan Mei 2013, batang brotowali yang sudah tua berwarna hijau kecoklatan diambil ± 10 cm. Batang brotowali kemudian di potong menjadi 2 bagian selanjutnya dilakukan proses sterilisasi.

2.2. Sterilisasi Sampel dan Isolasi Jamur Endofitik

Sampel berupa bagian batang tumbuhan dicuci dengan air mengalir sampai bersih ± 5 menit. Kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan cara masing-masing sampel diolesi alkohol 70 % selama ± 3 menit dengan menggunakan kapas, dilanjutkan dengan dibilas dengan akuades steril ± 1 menit, diolesi kembali dengan $HgCl_2$ (merkuri klorida) 5% (b/v)) secukupnya selama 1 menit, dibilas akuades steril kembali selama ± 1 menit. Sampel yang telah steril dipotong membujur secara aseptik, kemudian ditanam pada cawan petri yang berisi media PDA. Diinkubasi pada suhu 37^0C selama 2 x 24 jam. Pengamatan dilakukan setiap hari berkisar 3-7 hari sampai tampak jamur yang tumbuh [8].

2.3. Pemurnian Jamur Endofitik

Koloni jamur yang tumbuh pada medium PDA yang menunjukan sifat morfologi berbeda (bentuk, warna dan ukuran) selanjutnya di murnikan. Pemurnian dilakukan dengan memindahkan koloni ke medium PDA yang baru dengan cara cawan gores (*streak plate*), diinkubasi pada suhu 37^0C selama 2 x 24 jam. Koloni jamur yang terpisah telah murni lalu dibuat kultur kerja dan stok dengan cara menumbuhkan pada media PDA miring [9].

2.4. Identifikasi

Identifikasi isolat jamur endofitik yang diperoleh dilakukan di sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB bandung.

2.5. Kulturisasi dan Ekstraksi Jamur Endofitik

Inokulum jamur endofitik diinokulasikan sebanyak 10% yaitu 20 mL pada botol 1 L yang berisi 200 mL medium beras (masing-masing 100 mL air dan 100 g beras). Kemudian kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 30 hari yang akan digunakan sebagai bahan ekstrak. Setelah 30 hari, kultur yang telah diperoleh diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut metanol selama 3 hari. Selanjutnya kultur disaring dengan menggunakan kertas saring hingga terpisah antara medium dan pelarut. Ekstraksi dilakukan dengan dua kali pengulangan. Ekstrak metanol yang diperoleh dievaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga akan didapatkan ekstrak pekat metanol [10].

2.6. Uji in vivo terhadap ekstrak metanol

2.6.1. Persiapan hewan percobaan

Pada penelitian ini digunakan mencit putih *Mus musculus* Swiss Webster jantan dan betina yang sehat sebagai hewan percobaan dengan berat 20-25 g sebanyak 50 ekor. Sebelum diperlakukan hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari dengan lingkungan percobaan dan diberi makan standar. Hewan percobaan dinyatakan sehat bila secara visual menunjukkan prilaku normal.

2.6.2. Perencanaan dosis

Dosis yang digunakan pada percobaan ini adalah 10, 100, dan 1000 mg/kg BB ekstrak metanol jamur endofitik.

2.6.3. Perlakuan pada hewan percobaan

Bakteri uji setelah ditumbuhkan, kemudian disentrifus dan dicuci dengan phosphate-buffered saline (PBS). Selanjutnya dilarutkan dalam larutan 20% sukrosa hingga mencapai konsentrasi 1 × 10^5 CFU/ml dan diberikan kepada mencit secara oral dalam volume 0,1 mL.

Masing-masing ekstrak dilakukan uji in-vivo menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan yang terdiri dari 4 mencit, yang meliputi:

Kelompok I : mencit hanya diberi ransum sebagai kontrol negatif
Kelompok II : mencit terinfeksi bakteri uji + ransum sebagai kontrol positif
Kelompok III : mencit terinfeksi bakteri uji + standar antibiotik dosis 10 mg/kg BB
Kelompok IV : mencit terinfeksi bakteri uji + senyawa aktif dengan dosis 10 mg/kg BB
Kelompok V : mencit terinfeksi bakteri uji + senyawa aktif dengan dosis 100 mg/kg BB
Kelompok VI : mencit terinfeksi bakteri uji + senyawa aktif dengan dosis 1000 mg/kg BB

Pengamatan dilakukan dengan menghitung populasi bakteri penyebab gastroenteristik dalam feses hewan uji pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 hari [11].

2.6.4. Analisa data

Data hasil penelitian dianalisa secara statistik dengan menggunakan metode analisa varian (ANOVA) dua arah dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Duncan Multiple T-test), hingga diketahui dosis yang tepat penggunaan ekstrak sebagai antibakteri untuk menyembuhkan gastroenteristik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi jamur endofitik yang telah dilakukan pada batang tumbuhan brotowali berhasil diperoleh 2 isolat jamur. Kedua jamur tersebut diidentifikasi sebagai *Aspergillus* sp_1 dan *Aspergillus* sp_2 (Gambar 1).

A B

Gambar 1. Isolat jamur endofitik *Aspergillus* sp_1 (A) dan *Aspergillus* sp_2 (B)

Efektivitas isolat jamur yang dilaporkan pada makalah ini adalah *Aspergillus* sp_1. Setelah dikultivasi selama 30 hari dalam 40 botol media beras, kultur dimaserasi dalam pelarut metanol selama 3 hari dengan pengulangan dua kali, yang selanjutnya dievaporasi hingga didapatkan 154 g ekstrak metanol (Gambar 2).

Gambar 2. Kultur jamur *Aspergillus* sp_1 dalam media beras

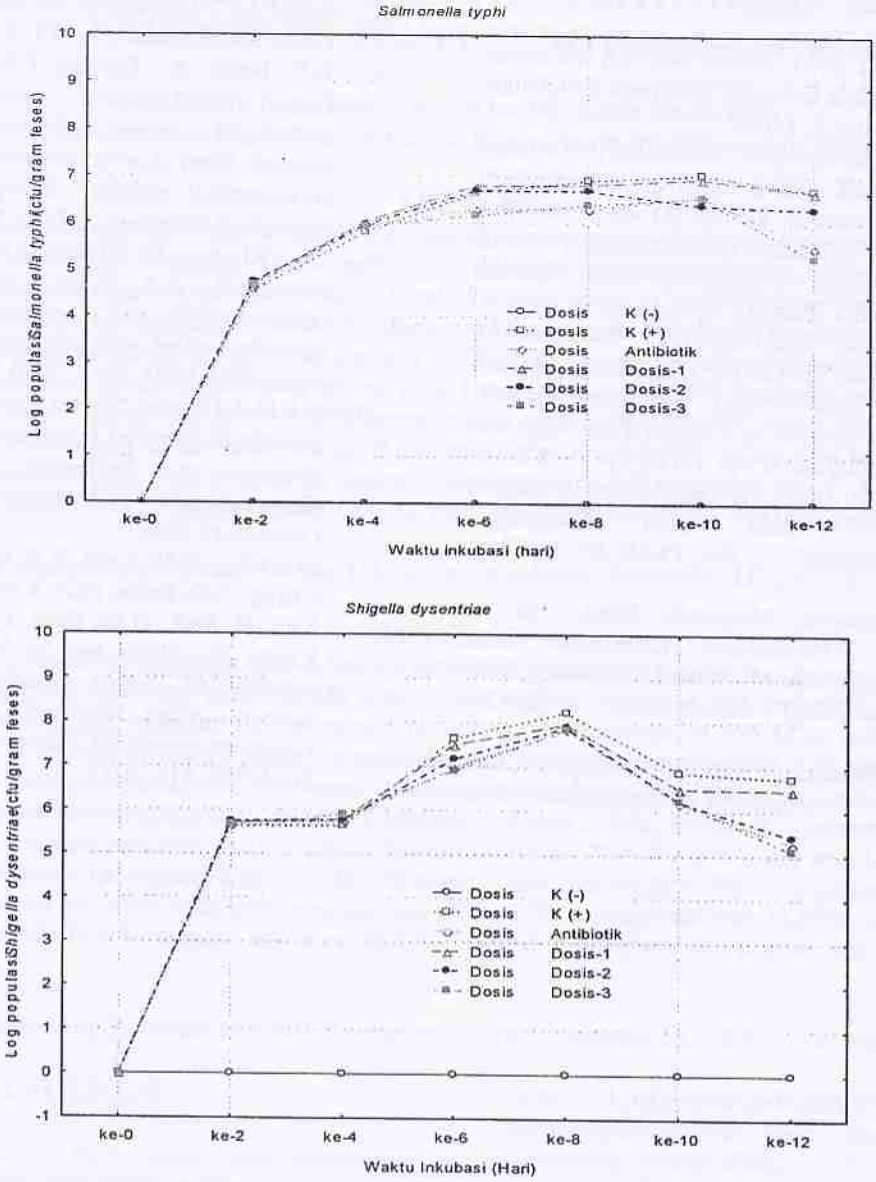
Hasil uji in vivo ekstrak metanol terhadap penghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Shigella dysentriae* pada feses mencit putih menggunakan dosis 10, 100, dan 1000 mg/kg BB tertera pada Gambar 3 dan 4. Hasil analisis data dengan Anova dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa dosis, lama waktu pendedahan (hari), dan interaksi dosis dengan lama waktu pendedahan berpengaruh terhadap populasi *S. dysentriae* pada feses mencit.

Uji Duncan menunjukkan bahwa dosis 1000 mg/kg BB dan antibiotik menunjukkan populasi bakteri yang sama rendahnya, artinya dosis 1000 mg/kg BB mempunyai efektifitas yang sama dengan perlakuan standar antibiotik dalam mengambat pertumbuhan bakteri *S. dysentriae* pada feses mencit. Interaksi antara dosis dengan lama hari merekomendasikan bahwa penggunaan dosis 1000 mg/kg BB lebih efektif dibandingkan antibiotik sampai hari ke-12.

Gambar 3. Foto uji in vivo ekstrak metanol terhadap penghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Shigella dysentriae* pada feses mencit putih

Hasil analisis data dengan Anova dengan taraf kepercayaan 95% pada uji in vivo ekstrak metanol terhadap penghambat pertumbuhan *S. typhi* pada feses mencit putih menunjukkan bahwa dosis, lama waktu pendedahan (hari), interaksi dosis dengan lama waktu pendedahan berpengaruh terhadap populasi *S. typhi* pada feses mencit.

Uji Duncan menunjukkan bahwa pada hari ke-2 semua perlakuan dosis (dosis 10, 100, dan 1000 mg/kg BB, dan standar antibiotik serta kontrol +) menunjukkan populasi bakteri yang sama, sedangkan pada hari ke-12 menunjukkan populasi *S. typhi* yang sama dengan dosis 1000 mg/kg BB, artinya sampai hari ke-12 dosis 1000 mg/kg BB memiliki efektifitas yang sama dengan antibiotik.



Keterangan: K (-) = Kontrol negatif Dosis-1= 10 mg/kg BB Dosis-3 = 1000 mg/kg BB
K(+) = Kontrol positif Dosis-2= 100 mg/kg BB

Gambar 4. Grafik interaksi antara dosis dan waktu inkubasi terhadap penghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Shigella dysentriae* pada feses mencit

4. SIMPULAN

Dosis, lama waktu pendedahan (hari), dan interaksi dosis dengan lama waktu pendedahan (hari) berpengaruh terhadap populasi *Salmonella typhi* dan *Shigella dysentriae* pada feses mencit. . Interaksi antara dosis dengan lama hari merekomendasikan bahwa penggunaan dosis 1000 mg/kg BB lebih efektif menghambat pertumbuhan *Shigella dysentriae* pada feses mencit dibandingkan antibiotik sampai hari ke-12. Sedangkan penghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada feses mencit sampai hari ke-12, dosis 1000 mg/kg BB memiliki efektifitas yang sama dengan antibiotik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana melalui Hibah Bersaing Tahun 2013, dengan judul: "Pengembangan Obat Gastroenteristik dari Jamur Endofitik Tumbuhan Brotowali (*Tinaspora crispa* L)".

REFERENSI

1. Kemenkes RI. 2011. Situasi Diare Di Indonesia. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan, vol. 2, triwulan 2, 1-18.
2. Yenny dan E.Herwana, "Resistensi dari bakteri enterik: aspek global terhadap antimikroba", *Universa Medicina*, Vol. 26 (1): 46-56, 2007.
3. J. Chin, "Manual Pemberantasan Penyakit Menular", Edisi 17, diterjemah oleh I Nyoman Kandun, Bakti Husada, 2000.
4. P. Wardhani, Prihatini, M.Y. Probohoesodo, "Kemampuan Uji Tabung Widal Menggunakan Antigen Import dan Antigen Lokal", *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, vol. 12(1): 31-37, 2005.
5. G. Strobel, B. Daisy, U. Castillo, and J. Harper, "Natural Products from Endophytic Mikroorganisms", *J. Nat. Prod.*, 67, 257-268, 2004.
6. Elfita, Muharni, Munawar, Salni, dan A. Oktasari, "Antimalarial Compound from Endophytic Fungi of Sambiloto (*Andographis paniculata* Nees)", *Jurnal Natur*, 13(2):123-129, 2011.
7. Elfita, Muharni, Munawar, L. Legasari, dan Darwati, "Antimalaria Compounds from Endophytic Fungi of Brotowali (*Tinaspora crispa* L)", *Indonesian Journal of Chemistry*, 11(1): 53-58, 2011.
8. B.P. Barik, K. Tayung, P.N. Jagadev, S.K. Dutta, "Phylogenetic placement of an endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Acorus calamus* rhizomes with antimicrobial activity", *European Journal of Biological Sciences*, 2, 8-16, 2010.
9. R. Khan S. Shahzad, M.I Choudhary, A.Shakeel, S.A Khan, dan A. Ahmad, "Communities of endophytic fungi in medicinal plant *withania somnifera*", *Pak. J. Bot.*, 42(2): 1281-1287, 2010.
10. A.E.H.A Hassan, "Novel natural products from endophytic fungi of Egyptian medicinal plants-chemical and biological characterization", [Dissertation]. Düsseldorf: Universität Düsseldorf, 2007.
11. J.G. Choi, O.H. Kang, Y.S. Lee, H.S. Chae, Y. Chang, O.O. Brice, M.S. Kim, D.H. Sohn, H.S. Kim, H. Park, D.W. Shin, J.R. Rho, and D.Y. Kwon, "In Vitro and In Vivo Antibacterial Activity of Punica granatum Peel Ethanol Extract against Salmonella", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2011, 105-113, 2011.