ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

SKRIPSI

DIAN RAKHMAWATI

PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS METABOLIT JAMUR ENDOFIT *Eurotium rubrum* DARI *Aglaia odorata* Lour

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM
SURABAYA
2006

Lembar Pengesahan

PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS METABOLIT JAMUR ENDOFIT *Eurotium rubrum* DARI *Aglaia odorata* Lour

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

2006

OLEH :

DIAN RAKHMAWATI
NIM. 050112388

Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 6 November 2006 oleh

Pembimbing Utama	Pembimbing Serta
Prof. Dr. Gunawan Indrayanto, Apt	Dra. Noor Erma S., Apt., MS.
NIP. 130 541 814	NIP. 130 809 075

LEMBAR PERSEMBAHAN

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi
dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda bagi
orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah
sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring
dan mereka memikirkan penciptaan langit dan bumi
(seraya berkata) :
'Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia.
Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa api neraka'.
QS. Ali Imran (3) : 190 - 191

"Wahai jiwa, kau harus turun berlaga
atau kupaksa kau turun
Mengapa kau tampak enggan
menggapai SURGA"
(Abdullah bin Rawahah)

Kado untuk papa dan mama tersayang
Semoga Allah senantiasa memberkahi langkah kita pada umur yang tersisa

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, nikmat, dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS METABOLIT JAMUR ENDOFIT *Eurotium rubrum* DARI *Aglaia odorata* Lour" yang diajukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Penulisan skripsi ini diselesaikan dengan adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dengan hati yang tulus perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2. Prof. Dr. Gunawan Indrayanto selaku dosen pembimbing utama yang senantiasa membimbing dan banyak memberikan semangat serta bantuan, dan kepada Dra. Noor Erma M.S, Apt selaku dosen pembimbing serta yang sabar dalam memberikan bimbingan, dukungan, saran dan kritik kepada penulis.
3. Dr. Isnaeni, M.S dan Drs. Abdul Rahman, M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik serta saran kepada penulis.
4. Drs. Herra Studiawan, Apt yang telah memberikan banyak saran dan masukan kepada penulis.
5. Keluarga tercinta: papa yang jauh dimata, mama, mas Risal, dek Kiki, dek Ira, dek Ari yang telah banyak memberikan semangat, dukungan, kasih sayang serta doanya.
6. Saudara-saudariku *fillah*, Al-Ajnihah *Team*, teman-teman seperjuangan, terima kasih atas indahnya Islam yang kurasakan. Mari kita pupuk *ukhuwah* ini agar terus bersemi.
7. Teman-teman "Jamur" yang telah memberikan banyak bantuan, dukungan dan semangat.

8. Para analis dan laboran Bagian Ilmu Bahan Alam, Laboratorium Bioteknologi, *Multipurpose Laboratory*, terima kasih atas segala bantuannya.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.

Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan semua ini dengan sia-sia. Kebenaran itu hanyalah milik Allah SWT, penulis mohon maaf bila ada kekeliruan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi kalangan ilmiah dan masyarakat pada umumnya.

Surabaya, November 2006

Penulis

RINGKASAN

Keberagaman makhluk hidup mendorong para ahli untuk melakukan penelitian. Jamur, salah satu komponen makhluk hidup mendapat perhatian lebih sejak ditemukan *Taxol*, senyawa yang berkhasiat sebagai anti-tumor yang berhasil diisolasi dari *Taxomyces andreanae*, jamur endofit yang hidup pada tanaman *Taxus brevifolia*. (Stierle *et al.*, 1993)

Aglaia odorata Lour merupakan tanaman tropis yang mempunyai banyak khasiat, menghasilkan alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. (Anonim, 2000). Jamur endofit *Eurotium rubrum* diisolasi dari jaringan tanaman *Aglaia odorata* Lour.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil Kromatografi Lapis Tipis metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum*. Jamur endofit ditumbuhkan di media *Malt Extract Agar* miring sebagai inokulum, kemudian dipindahkan ke *Malt Extract Broth*. Kultur jamur endofit tersebut diinkubasi suhu kamar selama 30 hari.

Pemanenan dilakukan dengan penyaringan, didapatkan ekstrak etil asetat, ekstrak metanol dan ekstrak diklorometana. Ekstrak dipekatkan dengan rotavapour, ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F_{254} dan dieluasi dengan etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v) untuk ekstrak etil asetat dan metanol. Ekstrak etil asetat juga dieluasi dengan n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v). Ekstrak diklorometana dieluasi menggunakan n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v).

Noda dideteksi dengan sinar UV dan densitometer menggunakan penampak noda anisaldehid - asam sulfat, vanillin – asam sulfat, dragendorf, ninhidrin, dan ceri - asam sulfat. Harga Rf dan warna yang bervariasi, menunjukkan jamur endofit mengandung metabolit yang beragam.

Disarankan melakukan optimasi media dan kondisi pertumbuhan jamur endofit, serta fraksinasi dan optimasi fase gerak dan kondisi KLT, sehingga diperoleh pemisahan noda yang lebih baik serta mempermudah analisis metabolit lebih lanjut.

ABSTRAK

Study in Profile of Endophytic Jamur *Eurotium rubrum* Metabolites from *Aglaia odorata* Lour by TLC-Densitometri

The profile of the *Eurotium rubrum* metabolites were analized by TLC-Densitometri method. There were three kinds of extract applied to the chromatogram; ethyl acetate extract derived from filtrate (*Malt Extract Broth* media), methanol and dichlorometane extract from the biomass (mycelium). Ethyl acetate : methanol : water (7 : 2 : 1) (v/v) were used as mobile phase in TLC of methanol extract, and n-heksan : ethyl acetate (8 : 2) (v/v) for dichlorometane extract. Ethyl acetate extract used mobile phase ethyl acetate : methanol : water (7 : 2 : 1) (v/v) and n-heksan : ethyl acetate : (2 : 8) (v/v). Besides UV lights, some reagents were also used to analyzed the profile of metabolites, such as anisaldehid-H_2SO_4, vanillin-H_2SO_4, cerri-H_2SO_4, ninhidrin and dragendorf. Densitogram and spectra from each spot were obtained by Densitometri. Ethyl acetate extract gave the positive result with ninhidrin and vanillin, methanol extract gave the positive result with vanillin, while dichlorometane extract gave positive result with anisaldehid-H_2SO_4, vanillin-H_2SO_4 and ceri-H_2SO_4.

Key words: *Eurotium rubrum*, *Malt Extract Broth* media, metabolite profile, TLC-Densitometri

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xxv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan tentang *Aglaia odorata* Lour	4
2.2 Tinjauan tentang Jamur Endofit	5
2.3 Tinjauan tentang *Eurotium rubrum*	7
2.4 Tinjauan tentang Metabolit Sekunder	8
2.5 Tinjauan tentang KLT-Densitometri	8
2.6 Tinjauan tentang Metode Ekstraksi	12
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	13
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan Penelitian	15
4.2 Alat Penelitian	15
4.3 Rancangan Penelitian	16

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1 Makroskopis Jamur Endofit *Eurotium rubrum* pada Berbagai Media 25

5.2 Mikroskopis Jamur Endofit *Eurotium rubrum* 26

5.3 Ekstraksi Metabolit Sekunder *Eurotium rubrum* 25

5.4 Profil Kromatografi Lapis Tipis Metabolit Jamur Endofit *Eurotium rubrum* 28

BAB VI PEMBAHASAN 81

BAB VII KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan 91

7.2 Saran 92

DAFTAR PUSTAKA 93

LAMPIRAN 96

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
3.1	Skema Kerangka Konseptual	14
4.1	Skema Prosedur Kerja	24
5.1	Makroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum* umur 7 hari pada media: (A) *Malt Extract* Agar, (B) *Saboroud* Agar, (C) *Potato Dextrose* Agar.	25
5.2	Mikroskopis hifa dan spora jamur endofit *Eurotium rubrum*.	26
5.3	Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).	28
5.4	Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).	28
5.5	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 299 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.	29
5.6	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.	29
5.7	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks	30

272 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda siar UV λ 254 nm.

5.8 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 284 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 30

5.9 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 292 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 31

5.10 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 31

5.11 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 32

5.12 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 32

5.13 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 299 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 33

5.14 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 33

5.15 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 272 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 34

5.16 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 284 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 34

5.17 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 292 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 35

5.18 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 35

5.19 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 36

5.20 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – 36

asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).

5.21 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 416 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 37

5.22 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 419 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 37

5.23 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 38

5.24 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 38

5.25 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak area terbesar dengan λ maks 615 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 39

5.26 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v) 39

5.27 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ninhidrin pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 40

5.28 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 40

5.29 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 41

5.30 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 41

5.31 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 301 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 42

5.32 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 262 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 42

5.33 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 43

5.34	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 293 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.	43
5.35	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.	44
5.36	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.	44
5.37	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampal noda sinar UV λ 254 nm.	45
5.38	Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).	45
5.39	Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).	46
5.40	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 308 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel	46

F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

5.41 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 47

5.42 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 290 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 47

5.43 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 48

5.44 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silica F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 48

5.45 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 49

5.46 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 431 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 49

5.47 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 436 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 50

5.48 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 589 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 50

5.49 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 51

5.50 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). deteksi dengan penampak noda vanillin – asam sulfat. 51

5.51 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak area terbesar (puncak 3) dengan λ maks 623 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanillin – asam sulfat. 52

5.52 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 52

5.53 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ninhidrin. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase 53

gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).

5.54 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). 53

5.55 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 54

5.56 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 54

5.57 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 287 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 55

5.58 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 278 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 55

5.59 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 56

5.60 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, 56

fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

5.61 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 275 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 57

5.62 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 286 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 57

5.63 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 58

5.64 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 58

5.65 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 59

5.66 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 287 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 59

5.67 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur 60

endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 278 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

5.68 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 60

5.69 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 61

5.70 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 275 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 61

5.71 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 286 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 62

5.72 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 62

5.73 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam 63

sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).

5.74 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 63

5.75 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 599 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 64

5.76 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 608 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 64

5.77 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda vanilin – asam sulfat pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 65

5.78 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. 65

5.79 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 620 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. 66

5.80 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 619 66

nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.

5.81 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 615 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. 67

5.82 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 618 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. 67

5.83 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ceri – asam sulfat pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 68

5.84 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ninhidrin pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 68

5.85 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda dragendorf pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). 69

5.86 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 70

5.87 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. 70

Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).

5.88 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 300 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 71

5.89 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 234 nm dan 280 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 71

5.90 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm. 72

5.91 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 73

5.92 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 73

5.93 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 300 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm. 74

5.94 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur 74

endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

5.95 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 75

5.96 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 75

5.97 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 430 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 76

5.98 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 426 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 76

5.99 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 401 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. 77

5.100 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). 77

5.101	Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.	78
5.102	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 619 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.	78
5.103	Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 540 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.	79
5.104	Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).	79
5.105	Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ninhidrin. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).	80
5.106	Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).	80

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Hasil identifikasi jamur endofit	96
2	Komposisi media	97
3	Komposisi reagen penampak noda	98

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pemanfaatan tanaman sebagai obat atau bahan baku obat telah berkembang pesat. Obat-obatan tersebut sebagian besar merupakan hasil metabolit sekunder yang pembentukannya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain variasi ketinggian, tempat tumbuh, umur tanaman, iklim, jenis tanah dan mikroba atau kontaminan lainnya (Silva *et al*., 1998). Metabolit sekunder didefinisikan sebagai senyawa yang dibentuk oleh tanaman dalam kondisi tertentu. Metabolit sekunder yang dihasilkan biasanya digunakan untuk mempertahanan diri dari lingkungan sekitar, misalnya dalam menghadapi jamur atau mikroba lain (Manitto, 1981).

Keberagaman makhluk hidup mendorong para ahli biologi dan konservasi untuk melakukan penelitian. Jamur sebagai salah satu komponen dari keberagaman makhluk hidup belum dieksplorasi secara luas. Jamur endofit adalah jamur yang terdapat dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting, ataupun akar tumbuhan (Azevedo *et al*., 2000). Jamur ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan enzim dan antibiotik (Carrol, 1998; Clay, 1998).

Jamur endofit tidak meracuni tanaman inang, bahkan inang yang ditumbuhi endofit mempunyai banyak keuntungan seperti meningkatnya pertumbuhan serta kemampuan berkompetisi, lebih tahan terhadap gangguan serangga, herbivora, dan beberapa tekanan abiotik seperti kekeringan atau air yang berlebihan. Tugas tanaman inang adalah menyediakan kebutuhan nutrisi dan melindungi endofitnya (Saikkonen *et al*., 1998).

Pada sekitar tahun 1970, jamur endofit dianggap sebagai mikroorganisme yang netral, tidak memberikan keuntungan maupun kerusakan pada tanaman inangnya, tetapi jamur endofit kemudian dipelajari lebih lanjut dan baru mendapat perhatian yang lebih besar pada era tahun 2000, yaitu sejak

ditemukannya *Taxol*, senyawa yang berkhasiat sebagai anti-tumor yang berhasil diisolasi dari *Taxomyces andreanae*, jamur endofit yang hidup pada tanaman *Taxus brevifolia*. (Stierle *et al*., 1993)

Penemuan tersebut diikuti oleh banyak penelitian tentang metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, antara lain Findlay *et al*. (1995) melaporkan adanya senyawa diterpenoid yang berkhasiat sebagai racun serangga dari jamur endofit *Canoplea elegantula* yang diisolasi dari tanaman *Abies balsamifera*. Gurney *et al*. (1993) menemukan bahwa fermentasi jamur endofit *Streptomyces* sp yang diisolasi dari tanaman gandum akan menghasilkan senyawa 1-n-methylalbonoursin. Pada penelitian yang lain, Pulici *et al*. (1996) menemukan isodrimeninol baru dari jamur endofit *Pestalotiopsis* sp yang diisolasi dari tanaman *Taxus brevifolia*.

Tanaman yang tumbuh di daerah tropis sangat beragam, sehingga penelitian terhadap jamur endofit dikembangkan pada tanaman tropis terutama pada tanaman obat, antara lain jamur endofit pada tanaman *Aglaia odorata* Lour. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diketahui profil KLT metabolit yang dihasilkan oleh jamur endofit *Eurotium rubrum* yang hidup pada tanaman *Aglaia odorata* Lour, dan diharapkan dapat membantu mengetahui senyawa yang terkandung pada jamur endofit tanaman tersebut.

1.2 Rumusan masalah

Bagaimana profil Kromatografi Lapis Tipis metabolit yang dihasilkan oleh jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour?

1.3 Tujuan penelitian

Mengetahui profil Kromatografi Lapis Tipis metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour.

1.4 Manfaat penelitian

Melalui penelitian ini, akan dihasilkan profil Kromatografi Lapis Tipis metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour yang diharapkan dapat memberi informasi awal untuk mengetahui metabolit yang ada pada jamur endofit tanaman *Aglaia odorata* Lour

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Aglaia odorata* Lour

2.1.1 Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman *Aglaia odorata* Lour adalah (Anonim, 2000) sebagai berikut:

Divisi	: *Spermatophyta*
Sub divisi	: *Angiospermae*
Kelas	: *Dicotyledonae*
Bangsa	: *Rutales*
Suku	: *Meliaceae*
Marga	: Aglaia
Jenis	: *Aglaia odorata* Lour

2.1.2 Nama daerah

Sumatra : Culan, Pacar Cina (Melayu). Jawa : Culan (Sunda). Pacar Culan (Jawa). Indonesia : Pacar Cina (Anonim, 1979)

2.1.3 Penyebaran tanaman dan habitat

Aglaia odorata Lour berasal dari Asia Tenggara. Di Jawa sering di tanam di kebun dan pekarangan (Anonim, 1979).

2.1.4 Morfologi

Aglaia odorata Lour merupakan tanaman perdu, tinggi 2 m sampai 5 m dengan daun majemuk terdiri dari 3 sampai 5 helai anak daun yang licin dan mengkilat, terutama pada daun-daun yang masih muda, berbentuk sudip, bundar telur, bundar telur lonjong dan pada bagian pangkal sangat runcing, panjang sampai 7,5 cm dan lebar 7 mm sampai 3,5 cm. Pada tulang-tulang daun kadang-kadang terdapat sisik yang berbentuk bintang atau tidak

berambut, berwarna kuning, panjang sisik lebih kurang 2 mm, panjang tangkai 2 mm sampai 6 mm. Bakal buah tanaman ini berambut rapat, berwarna merah dan berbentuk bintang dengan panjang 6 mm sampai 7 mm. Di Jawa tanaman ini sangat jarang berbuah. (Anonim, 1979)

2.1.5 Kandungan kimia tanaman

Daun *Aglaia odorata* Lour mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri (Anonim, 2000). Ekstrak kloroform *Aglaia odorata* Lour mengandung rocaglaol, pirimidinon, aglaiastatin (Ohse *et al.*, 1996).

2.1.6 Kegunaan tanaman

Tanaman *Aglaia odorata* Lour mempunyai banyak khasiat antara lain bagian bunga digunakan untuk mengatasi perut kembung, sukar menelan, batuk, pusing, dan mempercepat persalinan (Anonim, 2004). Tanaman ini juga berkhasiat untuk mengobati diare, luka dan bau badan (Anonim, 2000).

2.2 Tinjauan tentang jamur endofit

2.2.1 Tinjauan tentang jamur

Jamur masuk dalam phylum Thallophyta, sebagian besar hidup sebagai saprofit dan sebagian kecil sebagai parasit pada tumbuhan, hewan dan manusia (Entjang, 2003).

Jamur memiliki sifat – sifat tertentu sama dengan tumbuhan, seperti memiliki dinding sel, vakuola berisi getah sel dan dengan mikroskop dapat diamati aliran plasma yang baik dan juga sifat nyata ketidakmampuan untuk bergerak (Schlegel, 1994). Jamur dapat tumbuh berupa sel tunggal, misalnya ragi, atau terdiri atas banyak sel yang bentuknya memanjang berupa filamen yang disebut hifa. Hifa ini ada yang berseptum ada yang tidak, bila hifa ini terus tumbuh dan bercabang-cabang, terbentuklah miselium. Miselium yang menonjol dari permukaan substrat disebut miselium aerial, miselium yang menembus ke dalam substrat dan yang mengabsorpsi zat makanan disebut miselium vegetatif (Entjang, 2003).

Jamur berkembang biak dengan jalan membelah diri, bertunas, atau dengan spora (Entjang, 2003). Sebagian besar jamur tumbuh pada suhu 0°C sampai 35°C, temperatur optimumnya adalah 20°C sampai 30°C. Jamur lebih suka tumbuh pada media asam, pH optimum untuk pertumbuhan jamur ± pH 6 (Alexopoulos, 1962).

2.2.2 Tinjauan tentang jamur endofit

Jamur endofit adalah jamur yang terdapat dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting, ataupun akar tumbuhan (Clay, 1988). Jamur ini dapat mempengaruhi terbentuknya metabolit sekunder tanaman inang (Anonim, 2004).

Jamur endofit menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan enzim dan antibiotik (Carrol, 1998; Clay, 1998). Tanaman inang tidak teracuni dengan adanya jamur endofit bahkan mendapat banyak keuntungan seperti meningkatnya pertumbuhan serta kemampuan berkompetisi, lebih tahan terhadap gangguan serangga, herbivora, dan beberapa tekanan abiotik seperti kekeringan atau air yang berlebihan. Tugas tanaman inang adalah menyediakan kebutuhan nutrisi dan melindungi endofitnya (Saikkonen *et al.*, 1998).

Menurut Strobel, asosiasi endofit dengan tanaman sedemikian kuat, hal ini memungkinkan terjadinya transfer genetik antara tanaman dan endofitnya, dengan demikian, berbagai senyawa bermanfaat yang dihasilkan tanaman juga sangat mungkin dihasilkan oleh endofitnya (Anonim, 2003). Sebagai contoh, senyawa taxol yang berkhasiat sebagai antikanker dapat dihasilkan oleh jamur endofit *Taxomyces andreanae* pada tanaman *Taxus brevifolia* (Pulici *et al.*, 1997). Diterpenoid, senyawa yang berkhasiat sebagai racun serangga, dihasilkan oleh jamur endofit *Canoplea elegantula* yang diisolasi dari tanaman *Abies balsamifera* (Findlay *et al.*, 1995).

2.3 Tinjauan tentang *Eurotium rubrum*

Klasifikasi jamur endofit *Eurotium rubrum* sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Divisi : Ascomycota
Kelas : Ascomycetes
Subkelas : Eurotiomycetes
Bangsa : Eurotiales
Suku : Trichocomaceae
Marga : Eurotium
Jenis : *Eurotium rubrum* Jos. Kõnig, Spieck & W. Bremer
Sinonim : *Aspergillus ruber* (Jos. Kõnig, Spieck & W. Bremer) Thom & Chuch [nom holomorph.]
Aspergillus sejunctus Bainer & Sartory [nom holomorph.]
Aspergillus rubrobinneus Samson & W. Gams [stat. anam.] (Pitt et al., 2000)
Aspergillus umbrosus (Traczk dan Dutkiewicz, 2000)
Eurotium repens de Bary (Anonim, 2005)
Mikotoksin : Sterigmatosistin (Anonim, 2005)

Eurotium rubrum sering ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Jamur ini dilaporkan terdapat di tanah, produk makanan kering atau konsentrat, barang-barang dari bahan kulit, kapas, dan produk kering lainnya. *Eurotium rubrum* termasuk xerofil. Belum ada laporan tentang racun atau penyakit yang ditimbulkan oleh jamur ini (Anonim, 2005). Namun, telah ada percobaan yang menyebutkan bahwa jamur ini potensial menyebabkan inflamasi pada percobaan aktifasi non spesifik sel komplemen dan imunokompeten hewan yang menghirup spora jamur *Eurotium rubrum* (Traczyk dan Dutkiewicz, 2000).

2.4 Tinjauan tentang metabolit sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa yang dibentuk oleh tanaman dalam keadaan tertentu. Metabolit sekunder yang dihasilkan digunakan untuk mempertahankan diri dari lingkungan sekitar, misalnya dalam menghadapi spesies lain seperti jamur dan mikroba. (Manitto, 1981)

Metabolit sekunder mempunyai karakteristik tertentu, yaitu proses terbentuknya spesifik, jenisnya bermacam-macam dan adanya kelompok kimia dan struktur unit yang tidak terdapat pada metabolit primer. Fungsi metabolit sekunder yaitu sebagai produk penyimpangan dari metabolit primer, hasil samping proses biokimia, produk sampah, hasil metabolit antara yang salah, produk mekanisme detoksifikasi, dan sebagai hasil metabolisme yang terhambat (Präve *et al*., 1987). Hampir semua metabolit sekunder tanaman terjadi pada kelompok-kelompok alkaloid, antrakuinon, kumarin, minyak esensial (terpenoid dan fenilpropanoid), flavanoid, steroid, dan terpenoid (kardenolid) diterpenoid, iridiol, monoterpenoid, sesquiterpen (termasuk seskuiterpen lakton) dan triterpenoid (Cannell, 1998).

2.5 Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri

2.5.1 Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran zat-zat kimia yang berdasar pada perbedaan migrasi masing-masing komponen campuran yang terpisah pada fase diam di bawah pengaruh pergerakan fase yang bergerak (fase mobil).

Salah satu jenis kromatografi yang sering digunakan adalah kromatografi planar. Ada tiga macam kromatografi planar, yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Kertas, dan Elektro Kromatografi (elektroforesa).

KLT merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur. Pemilihan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan. Fase gerak lebih dari

satu sebaiknya digunakan untuk pemisahan senyawa dengan KLT agar diperoleh pemisahan sempurna (satu noda untuk satu senyawa).

Fase diam yang umum dan banyak dipakai adalah silika gel yang dicampur dengan $CaSO_4$ untuk menambah daya lekat partikel silika gel pada pendukung (lempeng). Adsorban lain yang banyak dipakai adalah alumina, kieselguhr, celite, serbuk selulosa, serbuk poliamida, kanji dan sephadex. Perlu diperhatikan bahwa ukuran partikel dibuat pada rentang kehalusan tertentu (1-25 μm) dalam keadaan uniform. Keadaan uniform fase diam ini untuk tujuan pemisahan yang baik, laju alir pelarut pengembang yang cepat dan merata.

Sebelum menggunakan lempeng KLT, lempeng diaktifkan dulu dengan pengeringan selama 1 jam pada 100°C sampai 105°C. Bejana kromatografi dilapisi kertas saring dan pada dasar bejana diisi pelarut pengembang setinggi 1,5 cm. Tutup dirapatkan kembali, diamkan selama 1 jam pada suhu kamar (Roth dan Blaschke, 1994).

Kromatogram pada KLT merupakan noda-noda yang terpisah setelah visualisasi. Metode visualisasi yang baik adalah visualisasi yang dapat menampakkan warna yang kontras antara noda dengan latar belakang. Ada 2 macam cara visualisasi yaitu cara fisika dan cara kimia (Tuchstone dan Dobbins, 1983). Visualisasi cara fisika yaitu dengan melihat noda kromatogram yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet atau berfluoresensi dengan radiasi ultraviolet pada λ 254 nm atau λ 365 nm. Senyawa yang mengabsorbsi sinar pada panjang gelombang tersebut akan terlihat sebagai noda berwarna gelap. Visualisasi cara kimia yaitu mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna yang memberikan warna atau fluoresensi yang spesifik dengan cara penyemprotan melalui atomizer atau memberikan uap zat kimia atau cara pencelupan ke dalam pereaksi penampak warna (Cannell, 1998).

Beberapa pereaksi warna yang dapat digunakan diantara lain vanilin, ninhidrin, anisaldehid - asam sulfat, reagen borntrager, reagen dragendorff dan lain-lain. Pada beberapa kasus, pemanasan diperlukan untuk membantu

reaksi warna. Pemanasan ini dapat dilakukan dengan menggunakan *hair dryer* atau menggunakan oven pengering. (Cannell, 1998)

Penampak noda anisaldehid – asam sulfat menunjukkan senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen dan lain-lain dengan noda warna merah sampai ungu pada lempeng KLT (Wagner *et al.*, 1984; Pulici *et al.*, 996). Penampak noda ini juga menunjukkan senyawa steroid, fenol, terpen, dan gula (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Penampak noda vanilin – asam sulfat menunjukkan senyawa golongan alkohol tinggi dan keton dengan adanya noda biru sampai hijau pada lempeng KLT, juga menunjukkan senyawa golongan asam empedu dan steroid (Touchstone dan Dobbins, 1983). Munculnya warna merah dan biru menunjukkan adanya senyawa golongan terpen (Gibbon dan Gray, 1998). Menurut Wagner *et al.* (1984), penampak noda vanilin menunjukkan senyawa golongan senyawa pahit (muncul noda warna merah sampai coklat, kuning sampai coklat, atau hijau gelap), saponin, dan minyak esensial (munculnya noda warna biru, coklat atau merah).

Penampak noda ceri – asam sulfat dapat menunjukkan senyawa golongan fenol (Yuliani *et al.*, 2003). Sedangkan penampak noda ninhidrin menunjukkan asam amino (berwarna lembayung, biru, kelabu), amina dan sebagai deteksi alkaloid yang umum (warna merah) (Gibbons dan Gray, 1998; Harborne, 1987).

Penampak noda dragendorf dapat menunjukkan alkaloid dengan timbul noda merah atau orange gelap sampai coklat (Wagner *et al.*, 1984; Gibbons dan Gray, 1998). Sedangkan noda orange atau merah sampai orange, menunjukkan senyawa termasuk golongan fosfolipid (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Pada KLT dikenal istilah faktor retardasi (R_F) untuk tiap-tiap noda kromatogram yang didefinisikan sebagai :

$$R_F = \frac{\text{jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi fase mobil}} = \frac{d_R}{d_M} = \frac{hR_F}{100}$$

Nilai R_F selalu dalam bentuk rasio, tidak pernah lebih besar dari 1, dan sangat tergantung dari fase diam dan komposisi fase gerak yang digunakan. (Cannell, 1998)

2.5.2 Tinjauan tentang Densitometri

Densitometri adalah alat yang mengukur cahaya yang diserap dari sinar UV, sinar tampak, atau fluoresense pada lempeng KLT. Pengukuran terjadi dari cahaya yang melewati lempeng (transmisi), terefleksi dari lempeng, atau refleksi dan tranmisi yang terjadi bersamaan melalui sorotan tunggal, ganda atau kombinasi keduanya yang digunakan saat mengoperasikan instrumen (Fried dan Sherma, 1994). Ada beberapa lampu yang bisa digunakan sebagai sumber cahaya pada densitometer. Lampu halogen atau lampu tungsten digunakan untuk daerah sinar tampak, sedangkan lampu deuterium digunakan untuk daerah UV. Sumber lampu merkuri yang intensitasnya tinggi atau xenon disarankan untuk pengukuran fluoresensi. Untuk memilih panjang gelombang, digunakan monokromator atau filter (Poole dan Poole, 1994).

Analisis kualitatif dengan densitometer dapat dilakukan dengan dua cara yaitu menghitung harga R_f dari hasil pemisahan atau noda eluasi zat tunggal dibandingkan dengan harga R_f standar atau pembanding, atau dapat juga dilakukan dengan membandingkan panjang gelombang maksimum sampel dengan panjang gelombang maksimum noda pembanding. Bila antara sampel dan pembanding mempunyai harga R_f dan panjang gelombang maksimum yang sama, maka kemungkinan kedua zat itu sama.

2.6 Tinjauan tentang metode ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Dengan mengetahui sifat-sifat dari senyawa yang akan diekstraksi, akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. (Anonim, 2000)

Keefektifan ekstraksi digambarkan sebagai faktor pemisahan (β) dimana rasio distribusi digambarkan sebagai berikut :

$$\beta = \frac{(C_1)o / (C_2)o}{(C_1)_w / (C_2)_w} = \frac{(C_1)o / (C_1)_w}{(C_2)o / (C_2)_w}$$

Dimana C_1 adalah konsentrasi komponen pertama di fase organik atau air, dan C_2 adalah konsentrasi komponen kedua di masing-masing fase.

Pada keadaan dimana rasio distribusi suatu senyawa sangat kecil dibanding senyawa lain, pemisahan sempurna dapat lebih mudah dan cepat. Kesempurnaan pemisahan akan diperoleh tergantung dari metode yang digunakan.

Ada 3 tipe ekstraksi yang sering digunakan dalam analisis. Yang paling sederhana adalah *batch extraction* yaitu mengekstraksi solut dari satu lapisan tidak campur atau tidak larut yang dikocok sedarhana sampai didapat kesetimbangan. Lapisan tersebut kemudian dipisahkan. Tipe kedua adalah ekstraksi berkelanjutan, yaitu membuat aliran berkelanjutan dari solven yang tidak larut melalui padatan atau aliran berkelanjutan pada kedua fase. Pada ekstraksi ini, dipakai solven secara terbuka dan memutar ulang dengan distilasi atau solven segar dari reservoir. Tipe yang terakhir adalah ekstraksi alir tidak berkelanjutan, digunakan untuk tujuan fraksinasi.
(Morrison dan Freiser, 1966)

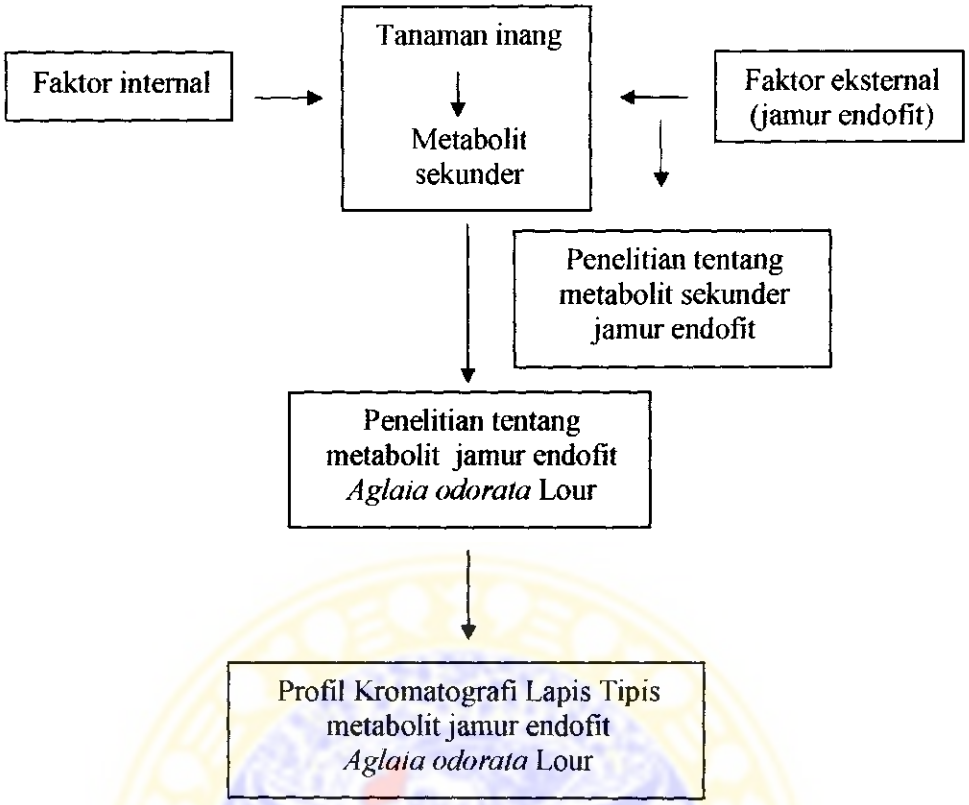
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

Pemanfaatan tanaman sebagai obat telah berkembang pesat. Obat-obatan tersebut sebagian besar merupakan metabolit sekunder yang pembentukannya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain variasi ketinggian tempat tumbuh, umur tanaman, iklim, jenis tanah dan mikroba atau kontaminan lainnya (Silva *et al.*,1998).

Jamur endofit adalah jamur yang terdapat dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting, ataupun akar tumbuhan (Azevedo *et al.*, 2000). Jamur ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan enzim dan antibiotik (Carrol, 1998; Clay, 1998). Jamur endofit yang hidup pada tanaman dapat mempengaruhi terbentuknya metabolit sekunder tanaman inang (Anonim, 2004).

Hal-hal tersebut di atas mendasari penelitian ini untuk menggambarkan profil kromatografi metabolit pada jamur endofit yang diisolasi dari tanaman *Aglaia odorata* Lour sebagai dasar yang dapat digunakan pada penelitian lebih lanjut untuk meneliti tentang metabolit sekunder. Metabolit yang dihasilkan oleh jamur endofit ini akan diamati menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.



Gambar 3.1 Skema kerangka konseptual

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan penelitian

4.1.1 Bahan tanaman

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah jamur endofit yang telah diisolasi dari kulit batang tanaman *Aglaia odorata* Lour yang pengadaannya dilakukan di Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Tanaman *Aglaia odorata* Lour diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

4.1.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Media *Malt Extract Agar,* Media *Saboroud Agar,* Media *Potato Dextrose Agar, dan* Media *Malt Extract Broth.*

4.1.3 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air suling, *Malt Extract Agar (Oxoid), Saboroud Agar (Oxoid), Potato Dextrose Agar (Merck Darmstadt, Germany),* sukrosa, agar, dekstrosa, etanol 70%, larutan NaOH 0,1 N, larutan HCl 0,1 N, etil asetat, metanol 80% dan diklorometana teknis yang telah diredistilasi, etil asetat p.a *(Riedel-de Haen)*, metanol p.a *(Riedel-de Haen)*, n-heksan p.a *(Riedel-de Haen)*, aqua bidestilasi. Digunakan juga penampak noda yaitu anisaldehid – asam sulfat, vanillin – asam sulfat, ceri – asam sulfat, ninhidrin, dragendorf.

4.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Öse, pHmeter merk *WinLab Data Line pHmeter Windows Labortechnic No. 1046016, HL*

340 Speedy Autoclave (Vertical Type Steam Steriliser), *rotavapour* merk Heidolph, *Laminar Air Flow Cabinet* (Dalton), mikroskop Trinokuler BX41TF (foto) merk Olympus, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis, Thin Layer Chomatography Shimadzu Model CS–930, bejana kromatografi, densitometer, timbangan merk Alsep, *Oven Venticell MMM Medcenter Type 111* dan *222*, ultrasonik (Jinwoo-Alex JAC-Ultrasonic 2010), *rotary shaker* modifikasi, dan berbagai alat gelas.

4.3 Rancangan penelitian

4.3.1 Penyiapan bahan

4.3.1.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar*

Potato Dextrose Agar (39 g) dilarutkan dalam air suling (1 L) melalui pemanasan sampai terbentuk larutan yang jernih. Apabila air suling menyusut akibat penguapan, maka dapat ditambahkan air suling hingga tepat tanda. Larutan jernih tersebut kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 8 mL, ditutup kapas dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121°C. Larutan dalam tabung reaksi yang telah disterilkan selanjutnya dimiringkan lalu dibiarkan sampai terbentuk media agar miring.

Media steril disimpan dalam ruangan bersih bersuhu kamar selama 3 hari. Apabila tidak terjadi kontaminasi, maka media miring tersebut dapat digunakan untuk inokulasi jamur endofit.

4.3.1.2 Pembuatan Media *Malt Extract Agar*

Malt Extract Agar (6 g) dan agar (6 g) dilarutkan dalam air suling (400 mL) melalui pemanasan sampai diperoleh larutan yang jernih. Apabila air suling menyusut akibat penguapan, maka dapat ditambahkan air suling hingga tepat tanda. Larutan jernih tersebut kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 8 mL, ditutup kapas dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121°C.

Media steril disimpan dalam ruangan bersih bersuhu kamar selama 3 hari. Apabila tidak terjadi kontaminasi, maka media tersebut dapat digunakan untuk inokulasi jamur endofit.

4.3.1.3 Pembuatan Media *Malt Extract Broth*

Malt Extract Agar (15 g) dilarutkan dalam air suling (1 L) kemudian dilakukan pengukuran pH sampai pH yang diinginkan. Penyesuaian pH menggunakan NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N. Setelah itu, dituang ke botol-botol kultur masing-masing sebanyak 50 mL, ditutup kapas dan kertas aluminium foil, disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121°C.

Media cair disimpan dalam ruangan bersih bersuhu kamar selama 3 hari. Apabila tidak terjadi kontaminasi, media tersebut dapat digunakan sebagai media kultivasi jamur endofit.

4.3.1.4 Pembuatan Media *Saboroud Agar*

Saboroud Agar (15 g) dilarutkan dalam air suling (250 mL) dengan pemanasan sampai terbentuk larutan yang jernih. Apabila air suling menyusut akibat penguapan, maka dapat ditambahkan air suling hingga tepat tanda. Larutan jernih tersebut kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 8 mL, ditutup kapas dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121°C

Media steril disimpan dalam ruangan bersih bersuhu kamar selama 3 hari. Apabila tidak terjadi kontaminasi, maka media tersebut dapat digunakan untuk inokulasi jamur endofit.

4.3.2 Pengamatan Makroskopis *Eurotium rubrum*

Alat dan bahan yang akan digunakan untuk pengamatan mikroskopis disterilkan dengan autoklaf. Media pertumbuhan yang digunakan adalah Media *Malt Extract Agar*. Proses inokulasi dilakukan di Laminar Air Flow Cabinet (LAFC). Media *Malt Extract Agar* yang telah disediakan sebelumnya dicairkan kemudian dituang kedalam cawan petri setangkup secara aseptis di LAFC. Media ditunggu beberapa saat sampai mengeras,

kemudian jamur endofit diinokulasikan ke media tersebut. Cawan petri ditutup dengan parafin film. Jamur endofit diinkubasi sampai terlihat jamur tumbuh memenuhi hampir separuh petri.

Proses diatas dilakukan juga pada Media *Saboroud Agar* dan Media *Potato Dextrose Agar.*

4.3.3 Pengamatan Mikroskopis *Eurotium rubrum*

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf. Media pertumbuhan yang digunakan adalah Media *Malt Extract Agar.* Proses inokulasi dilakukan di Laminar Air Flow Cabinet.

Pipa U dimasukkan dalam cawan petri setangkup, diatas pipa U tersebut diletakkan obyek gelas. Setelah itu dituangkan air suling steril pada dasar petri. Media *Malt Extract Agar* yang telah disediakan sebelumnya dicairkan kemudian dituang satu tetes di atas gelas obyek secara aseptis. Media ditunggu sampai mengeras, kemudian jamur endofit diinokulasikan ke media tersebut. Cawan petri kemudian ditutup dengan parafin film. Jamur endofit diinkubasi beberapa hari sampai jamur tumbuh. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop Trinokuler (foto).

4.3.4 Pembuatan stok kultur

4.3.4.1 Inokulasi Jamur Endofit ke Media *Malt Extract Agar*

Kultur jamur endofit *Eurotium rubrum* dalam Media *Potato Dextrose Agar* yang disimpan oleh Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga diinokulasi pada Media *Malt Extract Agar* baru. Inokulasi dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* menggunakan Öse steril (Findlay *et al.*, 1995). Kultur lalu diinkubasi dalam ruangan bersih pada suhu kamar selama 3 – 7 hari untuk melihat apakah jamur telah tumbuh dan tidak terkontaminasi. Kemudian jamur dapat dipindahkan ke Media *Malt Extract Broth* untuk dikultivasi.

4.3.4.2 Kultivasi Jamur Endofit ke Media *Malt Extract Broth*

Kultur Jamur Endofit dari Media *Malt Extract Agar* yang telah diinokulasi selama 7 hari, selanjutnya dipindahkan ke Media *Malt Extract Broth* steril dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dengan Öse steril. Kultur lalu diinkubasi pada ruangan bersih pada suhu kamar selama 1 bulan. Apabila jamur endofit telah tumbuh dan tidak terkontaminasi, dapat dilakukan pemanenan.

4.3.5 Pemanenan Jamur Endofit

Setelah inokulan berusia 1 bulan, dilakukan pemanenan dengan memisahkan antara miselia (bentuk padat) dan filtrat media (bentuk cair) dengan penyaringan. Filtrat media yang didapat diukur volumenya. Miselia dibilas dengan sedikit air suling. Hasil bilasan dicampur dengan filtrat media. Miselia ditimbang, lalu dikeringkan pada oven 50°C selama 12 jam, selanjutnya ditimbang lagi untuk mengetahui berat keringnya.

4.3.6 Ekstraksi Metabolit Jamur Endofit

4.3.6.1 Ekstraksi Filtrat Media

Filtrat media ditambah etil asetat dengan volume sama banyak dengan volume filtrat media, lalu dikocok dengan *rotary shaker* selama 1 jam. Fase etil asetat selanjutnya dipisahkan dari fase media. Prosedur diatas diulang sebanyak 3 kali. Kemudian fase etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapour pada suhu 35°C sampai hampir kering. Ekstrak kental tersebut kemudian diuapkan di lemari asam sampai didapat ekstrak kering.

4.3.6.2 Ekstraksi Miselia

Miselia direndam metanol 80% sampai ± 1 cm diatas permukaan miselia. Rendaman miselia kemudian diultrasonik selama 15 menit, dikocok dengan *rotary shaker* selama 10 menit. Fase metanol dipisahkan dari miselia dengan penyaringan. Prosedur tersebut diulang sebanyak 3 kali. Fase metanol lalu dipekatkan dengan *rotavapour* pada suhu 50°C

sampai hampir kering. Ekstrak kental tersebut kemudian diuapkan di lemari asam sampai didapat ekstrak kering.

Miselia yang telah diekstraksi dengan metanol, kemudian direndam dengan diklorometana sampai ± 1 cm diatas permukaan miselia. Rendaman miselia kemudian diultrasonik selama 15 menit, dikocok dengan *rotary shaker* selama 10 menit. Fase diklorometana dipisahkan dari miselia dengan penyaringan. Prosedur tersebut diulang sebanyak 3 kali. Fase diklorometana lalu dipekatkan dengan *rotavapour* pada suhu 35°C sampai hampir kering. Ekstrak kental tersebut kemudian diuapkan di lemari asam sampai didapat ekstrak kering.

4.3.7 Pengamatan Profil Metabolit *Eurotium rubrum*

Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dengan fase diam silika gel (Merck Si 60 F_{254}) kemudian dieluasi dengan fase gerak tertentu. Untuk ekstrak etil asetat digunakan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2: 1) (v/v) dan n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v). Untuk ekstrak metanol digunakan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v). Sedangkan untuk ekstrak diklorometana digunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v).

Setelah dieluasi, noda yang muncul pada lempeng KLT dilihat di bawah lampu UV untuk melihat warna dan Rf masing-masing noda. Lempeng KLT tersebut kemudian dipayar dengan densitometer untuk melihat profil spektra dan densitogram masing-masing noda pada λ 200 – 400 nm. Selanjutnya tiap noda dideteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat, vanilin – asam sulfat, ceri – asam sulfat, dragendorf, ninhidrin. Masing-masing noda diamati warna dan harga Rf-nya. Pada tahap akhir, lempeng dipayar kembali dengan KLT – Densitometri di daerah sinar tampak pada λ 400 – 800 nm untuk mendapatkan spektra dan densitogram masing-masing noda.

4.3.8 Prosedur Kerja

4.3.8.1 Pembuatan Media

4.3.8.1.1 Pembuatan Media *Malt Extract Agar*

Malt Extract Agar (6 g) + agar (6 g) + air suling (400 mL)

↓ dipanaskan sampai larutan jernih

Larutan *Malt Extract Agar*

↓ dituang ke tabung reaksi ± 8 mL / tabung

Malt Extract Agar dalam tabung reaksi

↓ disterilkan di autoklaf 121°C 15 menit

Malt Extract Agar steril

↓ tabung diletakkan miring

Media agar miring padat

↓ disimpan pada suhu kamar selama 3 hari

Media dapat digunakan untuk inokulasi (bila steril)

4.3.8.1.2 Pembuatan Media *Malt Extract Broth*

Malt Extract Agar (15 g) + air suling (1 L)

↓ pengukuran pH

Larutan media dengan pH tertentu

↓ dituang ke botol ± 50 mL tiap botol

Media cair dalam botol

↓ disterilkan di autoklaf 121°C 15 menit

Media cair steril

↓ disimpan pada suhu kamar selama 3 hari

Media digunakan untuk kultivasi (bila steril)

4.3.8.1.3 Pembuatan Media *Saboroud Agar*

Saboroud Agar (15 g) + air suling (250 mL)

↓ dipanaskan sampai larutan jernih

Larutan media

↓ dituang ke tabung reaksi ± 8 mL / tabung

Saboroud Agar dalam tabung reaksi

↓

Saboroud Agar steril

↓

Saboroud Agar miring steril

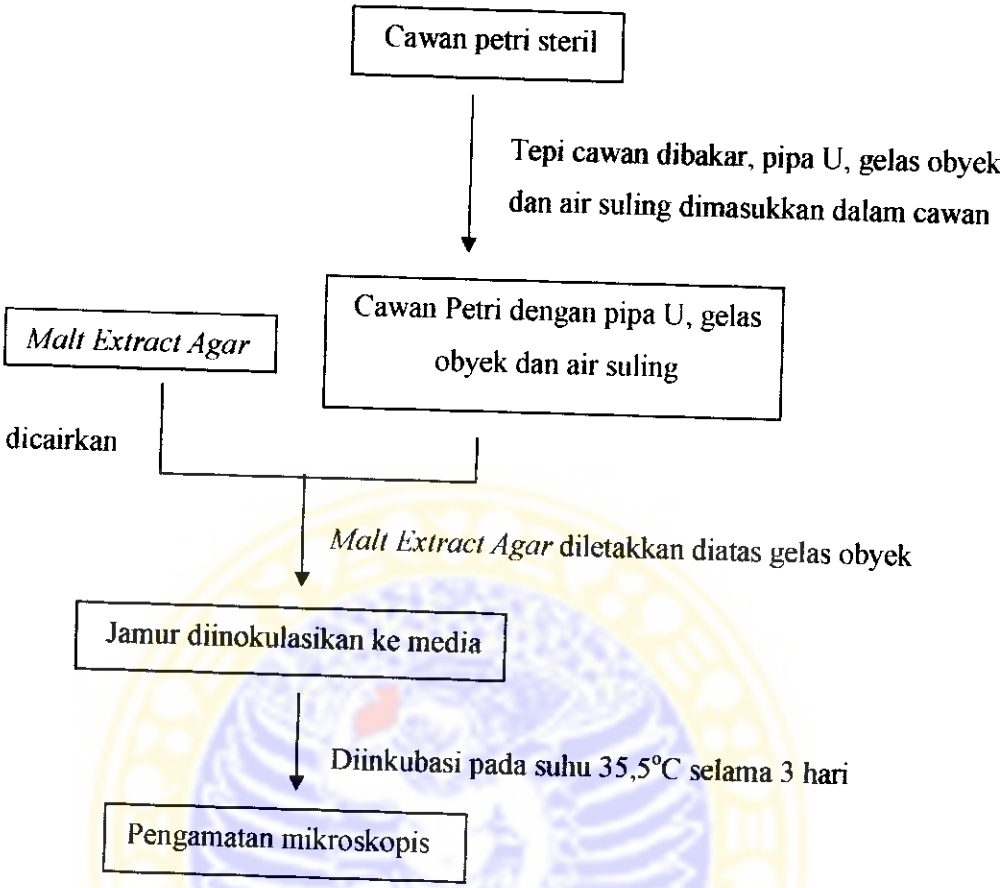
↓

Media digunakan untuk inokulasi (bila steril)

4.3.8.2 Makroskopis *Eurotium rubrum*

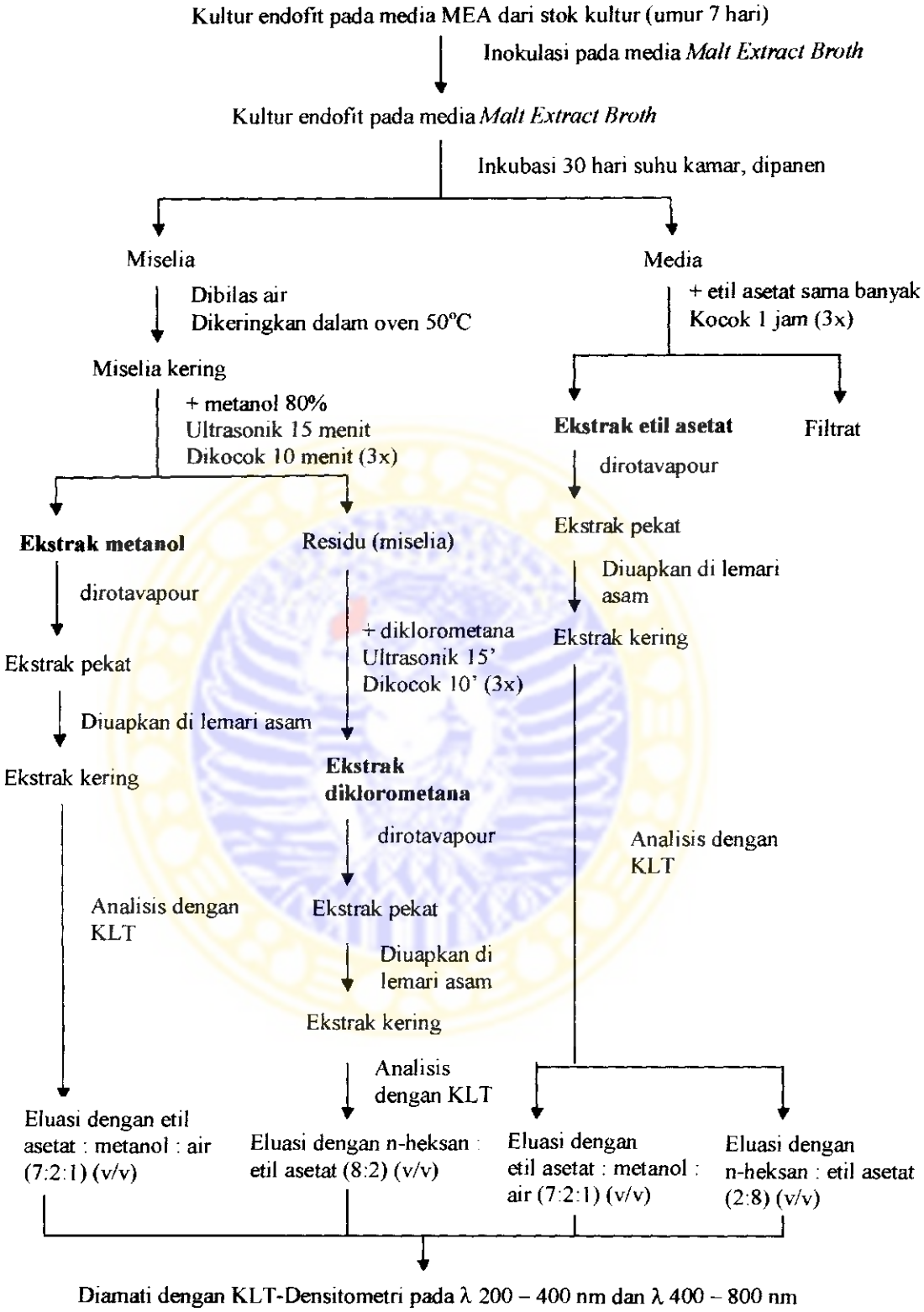
Proses diatas dilakukan juga untuk media *Potato Dextrose Agar* dan *Saboroud Dextrose Agar*.

4.3.8.3 Mikroskopis *Eurotium rubrum*



MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

4.3.8.4 Inokulasi, ekstraksi dan pengamatan profil



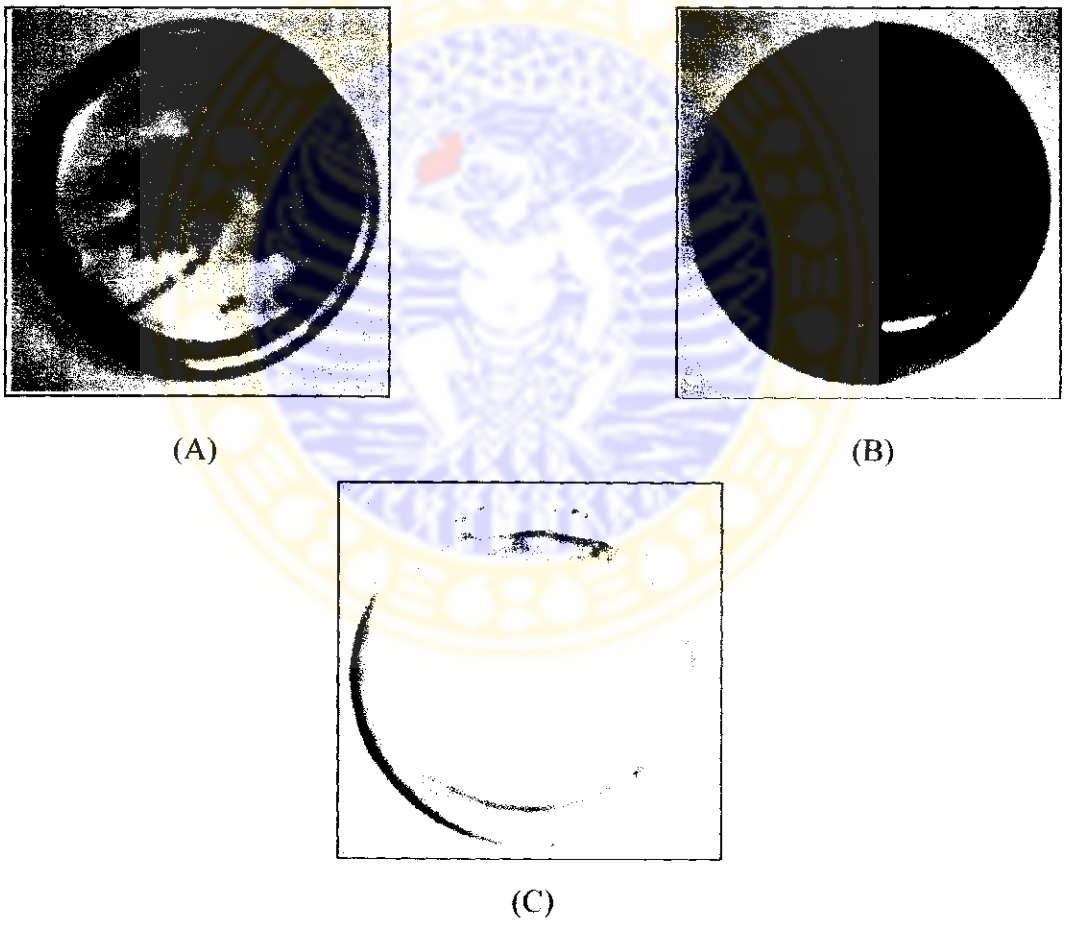
Gambar 4.1 Skema Prosedur Kerja

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Makroskopis Jamur Endofit *Eurotium rubrum* pada Berbagai Media

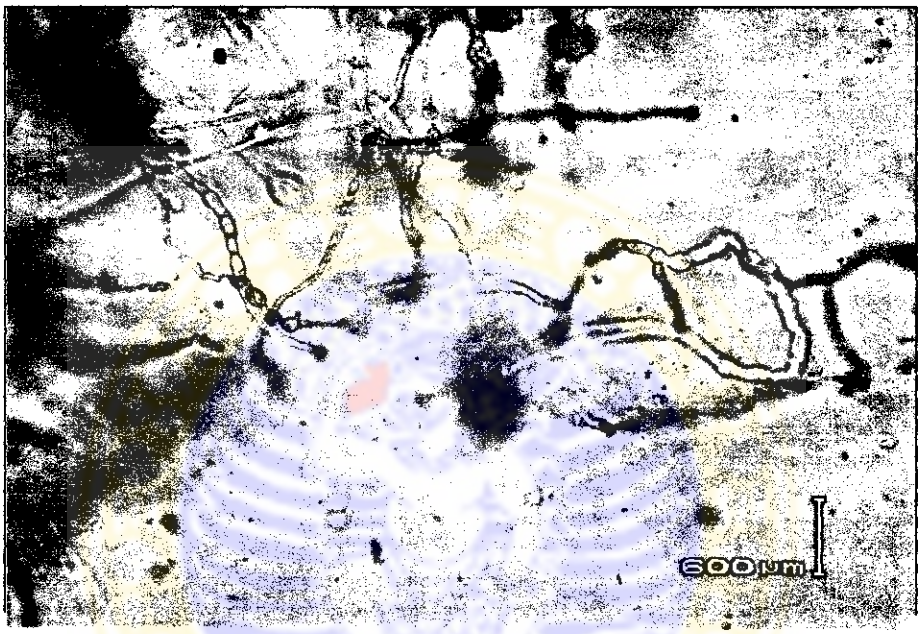
Jamur endofit *Eurotium rubrum* yang telah diinokulasi pada media *Malt Extract Agar*, *Saboroud Agar*, dan *Potato Dextrose Agar*, diinkubasi pada suhu kamar sampai jamur tumbuh dan dapat diamati. Hasil pengamatan makroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum* pada hari ke-7 dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Makroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum* umur 7 hari pada media (A) *Malt Extract Agar*, (B) *Saboroud Agar*, (C) *Potato Dextrose Agar.*

5.2 Mikroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum*

Jamur endofit yang telah diinokulasi pada media *Malt Extract Agar* di atas gelas obyek, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35,5°C. Setelah 3 hari, jamur endofit diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400X. Hasil. pengamatan mikroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum* dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Mikroskopis hifa dan spora jamur endofit *Eurotium rubrum*

5.3 Ekstraksi Metabolit *Eurotium rubrum*

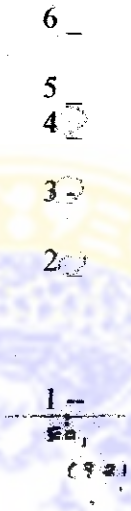
Tabel 5.1 Hasil ekstraksi metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum*

No.	Jumlah botol	Volume filtrat media	Berat misel	Berat ekstrak kering etil asetat	Berat ekstrak kering diklorometana	Berat ekstrak kering metanol
1.	3	142 ml	0.3952 g	0.070 g	0,015 g	0,217 g
2.	4	165 ml	0.1960 g	0.020 g		
3.	3	92 ml	0.3348 g	0.015 g		
4.	5	224 ml	0.4646 g	0.025 g		
5.	10	439 ml	0.2374 g	0.039 g		
6.	10	464.5 ml	0.9646 g	0.024 g		
7.	14	646 ml	0.7624 g	0.038 g		
8.	1	45 ml	0.3122 g	0.002 g		
9.	2	80 ml	0.2878 g	0.002 g		
10.	10	45 ml	0.2182 g	0.048 g		
11.	17	650 ml	0.5150 g	0.095 g		
12.	11	546 ml	0.3606 g	0.029 g		
13.	3	163 ml	0.5119 g	0.037 g		
Σ	93	4111.5 ml	5.5607 g	0.444 g	0,015 g	0,217 g

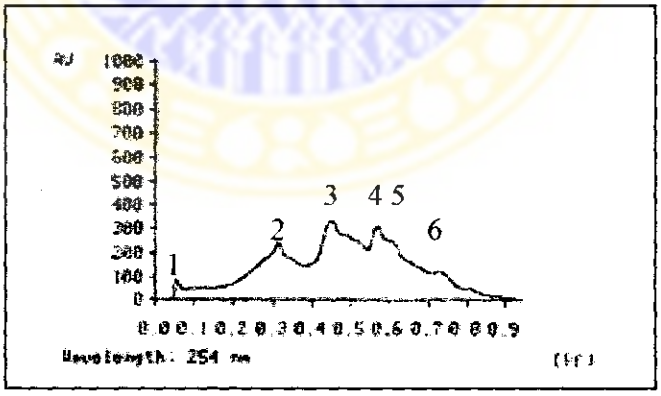
5.4 Profil Kromatografi Lapis Tipis Metabolit Jamur Endofit *Eurotium rubrum*

5.4.1 Ekstrak Etil Asetat dengan Fase Gerak Etil Asetat : Metanol : Air = 7 : 2 : 1 (v/v)

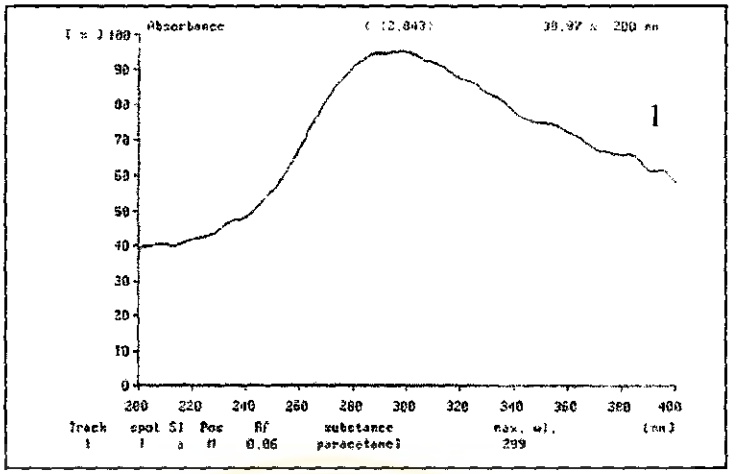
5.4.1.1 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 254 nm



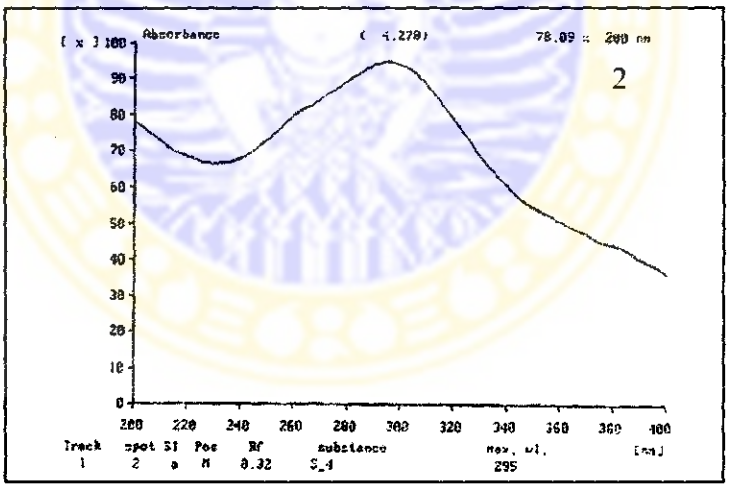
Gambar 5.3 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,32 (3) Rf=0,45 (4) Rf=0,49 (5) Rf=0,57 (6) Rf=0,73.



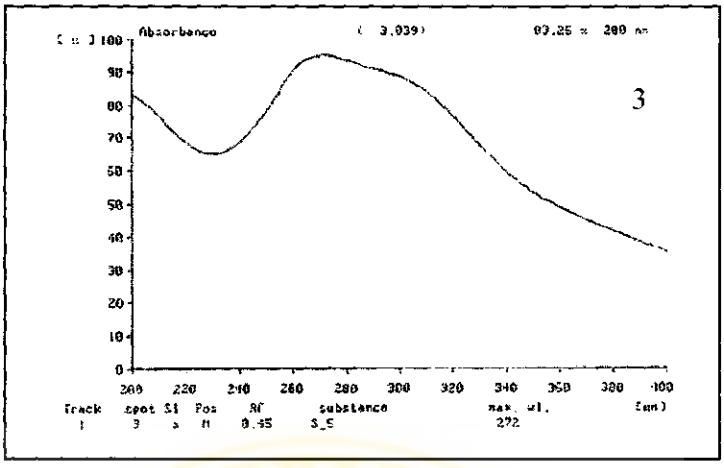
Gambar 5.4 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,32 (3) Rf=0,45 (4) Rf=0,49 (5) Rf=0,57 (6) Rf=0,73.



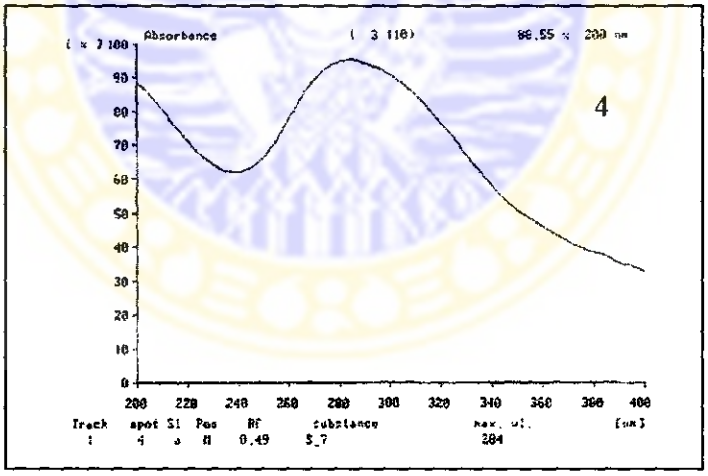
Gambar 5.5 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 299 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



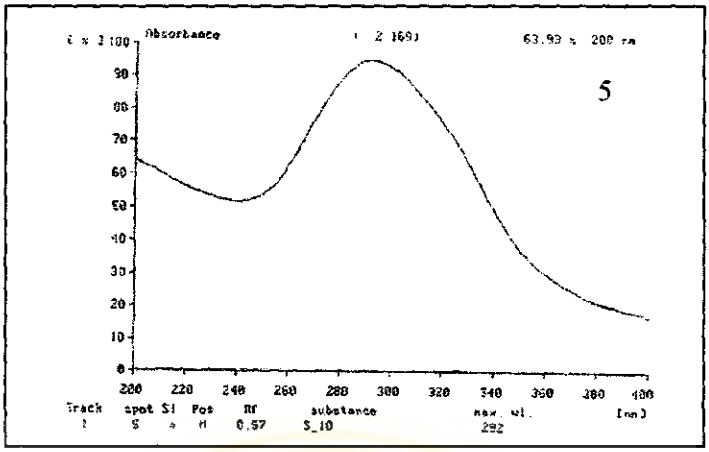
Gambar 5.6 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



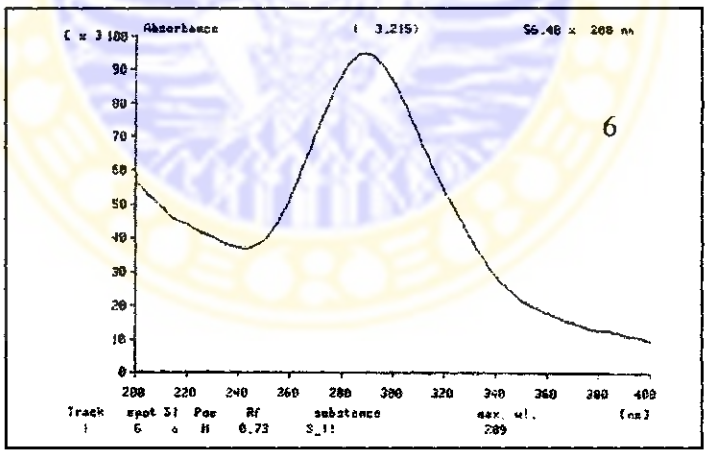
Gambar 5.7 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 272 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda siar UV λ 254 nm.



Gambar 5.8 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 284 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



Gambar 5.9 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 292 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



Gambar 5.10 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7:2:1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

5.4.1.2 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 365 nm

6

5

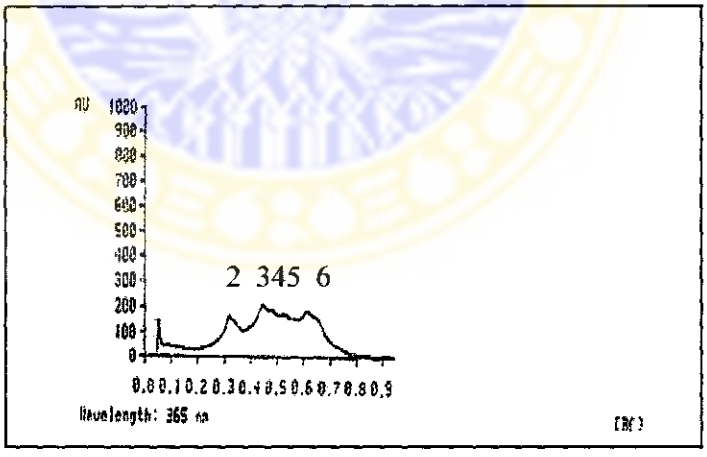
4

3

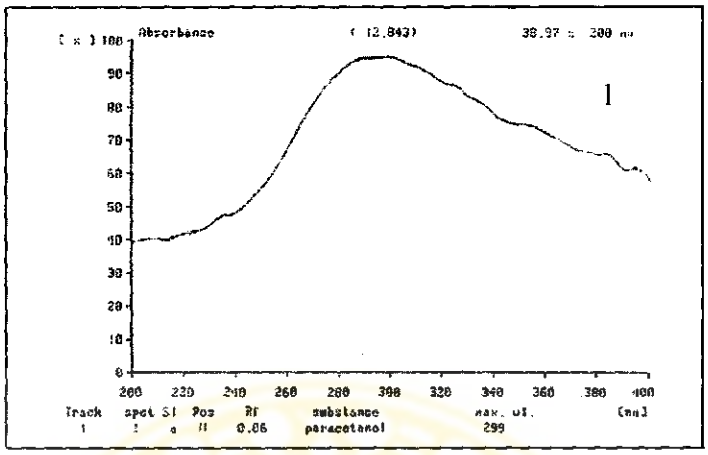
2

1

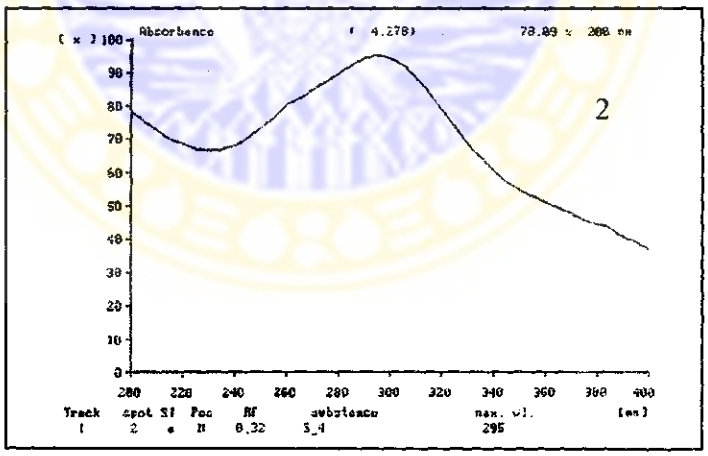
Gambar 5.11 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,32 (3) Rf=0,45 (4) Rf= 0,49 (5) Rf=0,57 (6) Rf= 0,73



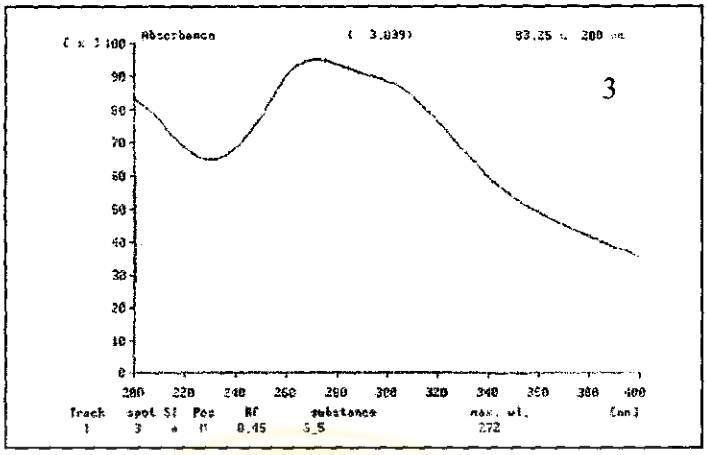
Gambar 5.12 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,32 (3) Rf=0,45 (4) Rf= 0,49 (5) Rf=0,57 (6) Rf= 0,73



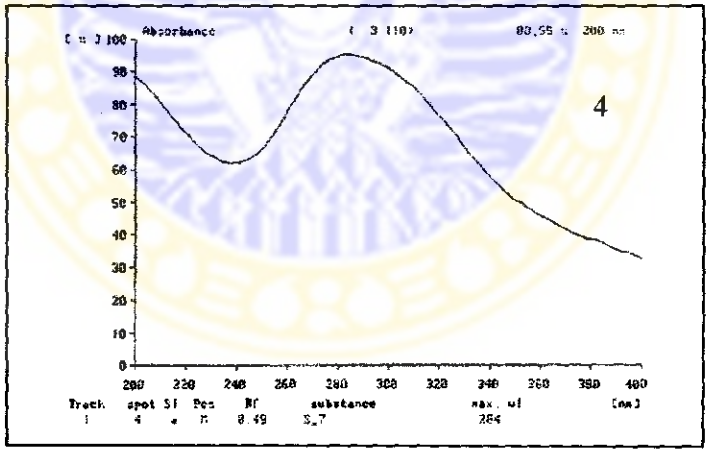
Gambar 5.13 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 299 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



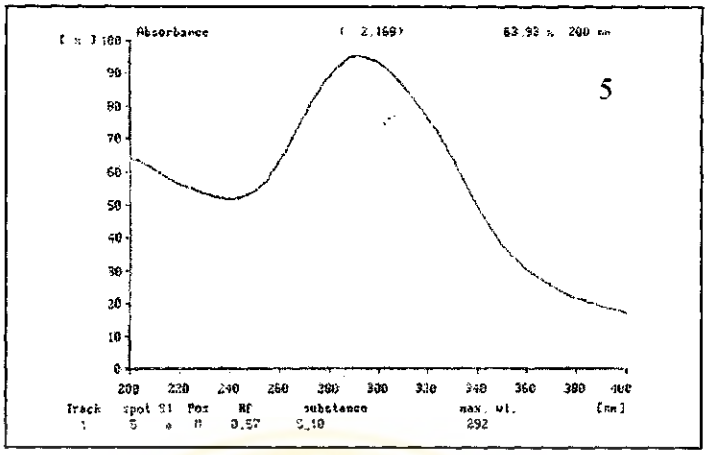
Gambar 5.14 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



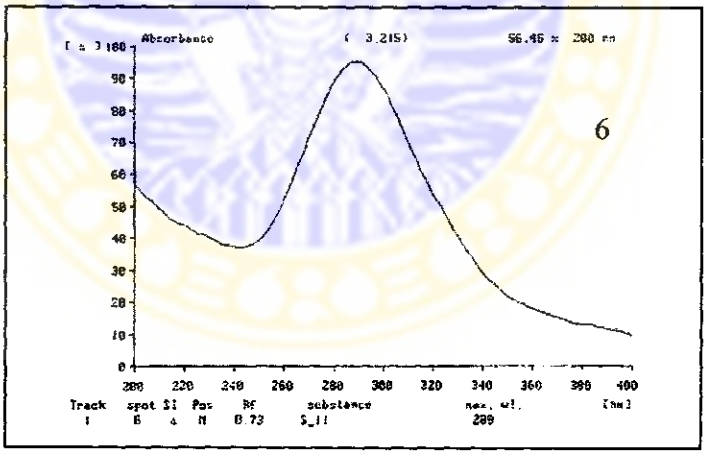
Gambar 5.15 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 272 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



Gambar 5.16 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 284 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



Gambar 5.17 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 292 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



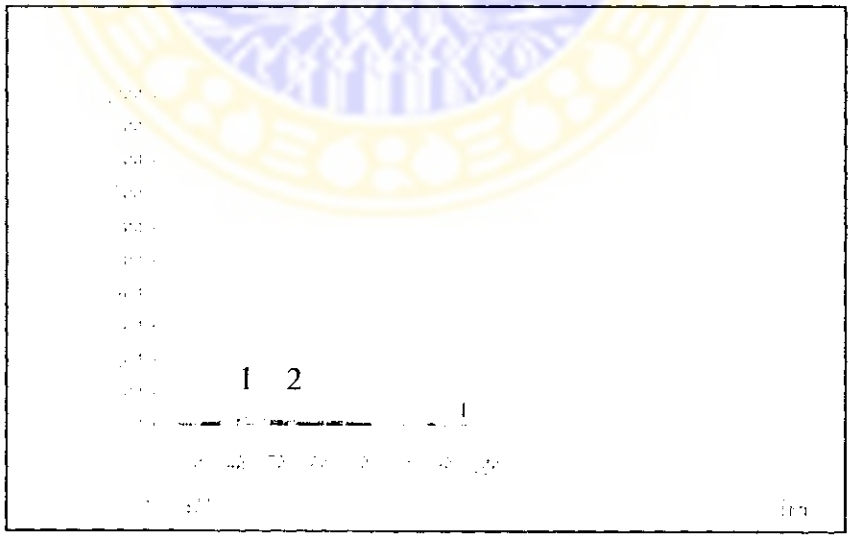
Gambar 5.18 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

5.4.1.3 Deteksi dengan Penampak Noda Anisaldehid – Asam Sulfat

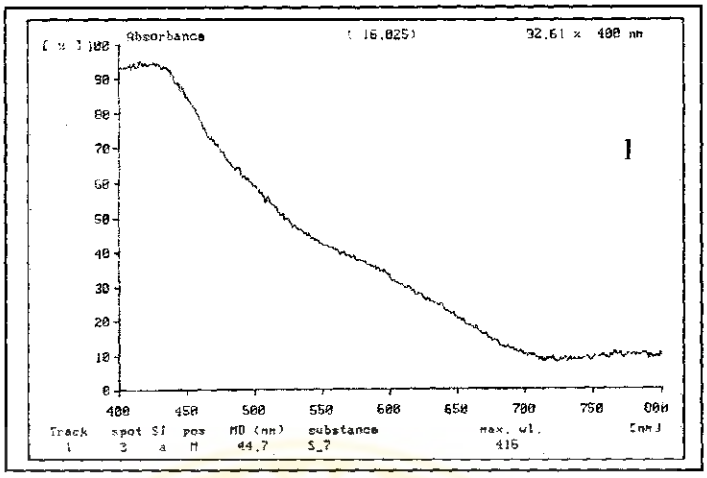
2

1

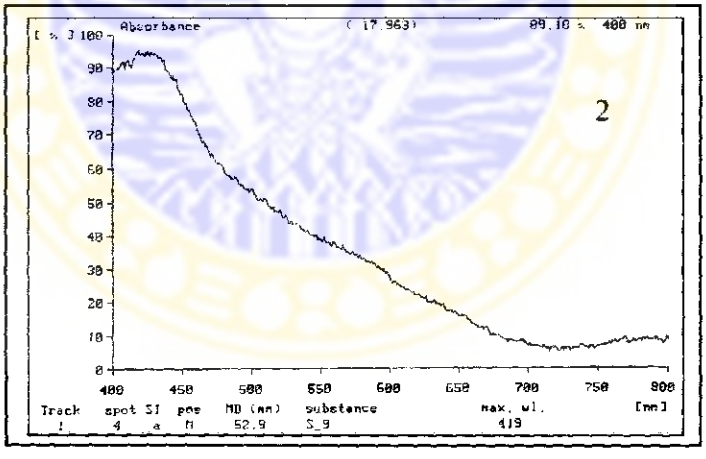
Gambar 5.19 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,3293 (2) Rf = 0,4386.



Gambar 5.20 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Identitas puncak: (1) Rf = 0,3293 (2) Rf = 0,4386. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).



Gambar 5.21 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 416 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

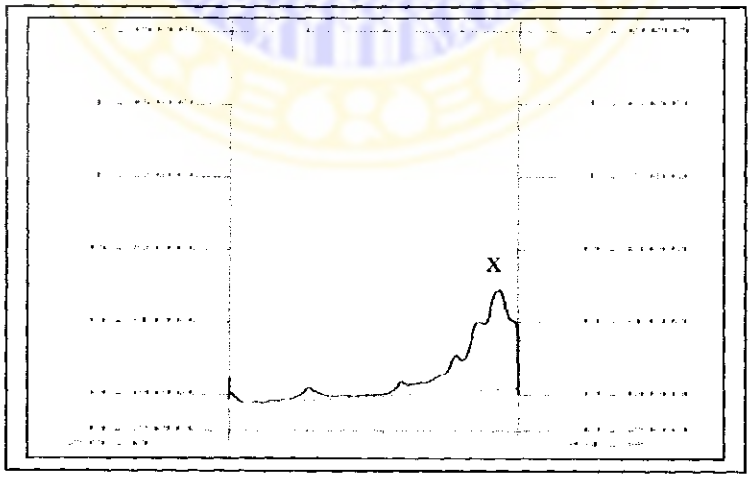


Gambar 5.22 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 419 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

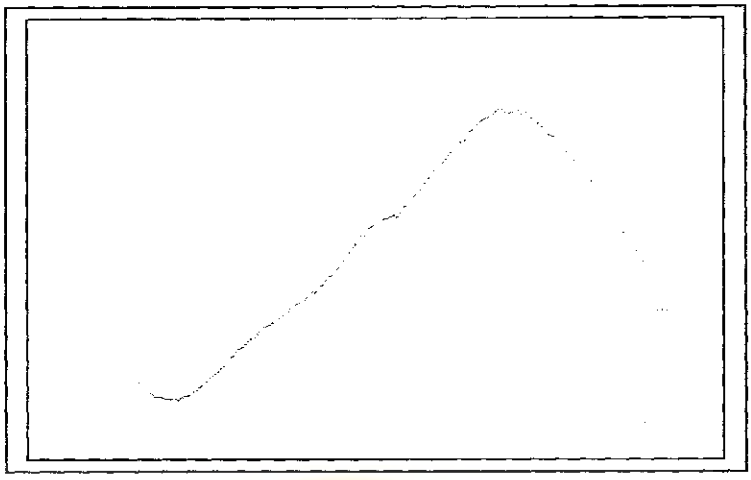
5.4.1.4 Deteksi dengan Penampak Noda Vanilin – Asam Sulfat

x

Gambar 5.23 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Identitas puncak: Rf = 0,849. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).



Gambar 5.24 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Identitas puncak: Rf = 0,849. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).

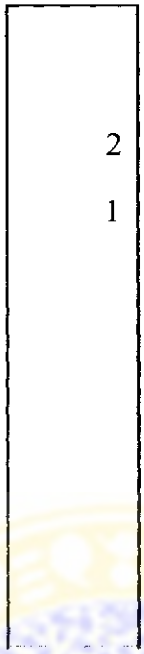


Gambar 5.25 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak area terbesar dengan λ maks 615 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

5.4.1.5 Deteksi dengan Penampak Noda Ceri – Asam Sulfat

Gambar 5.26 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v)

5.4.1.6 Deteksi dengan Penampak Noda Ninhidrin



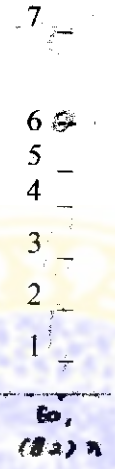
Gambar 5.27 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ninhidrin pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,7430 (2) Rf = 0,8362

5.4.1.7 Deteksi dengan Penampak Noda Dragendorf

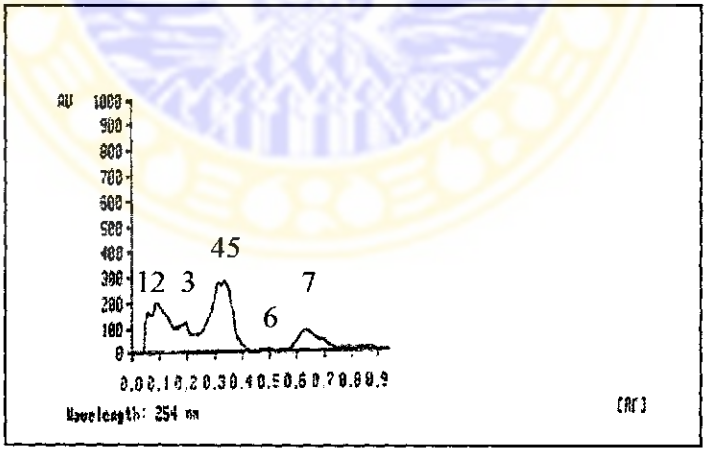
Gambar 5.28 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v)

5.4.2 Ekstrak Etil Asetat dengan Fase Gerak n-Heksan : Etil Asetat = 2 : 8 (v/v)

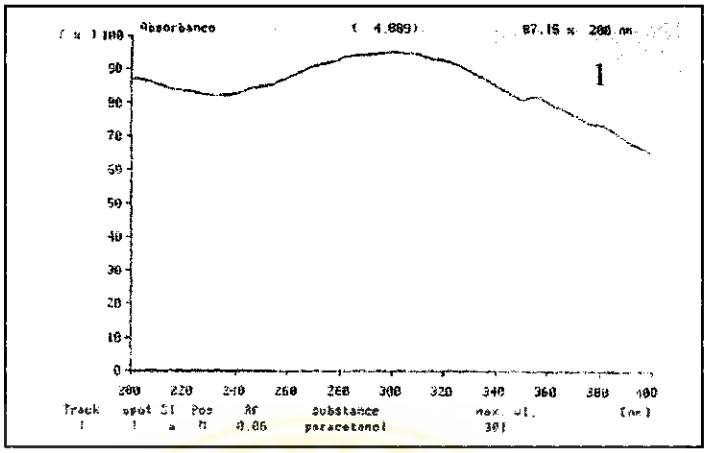
5.4.2.1 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 254 nm



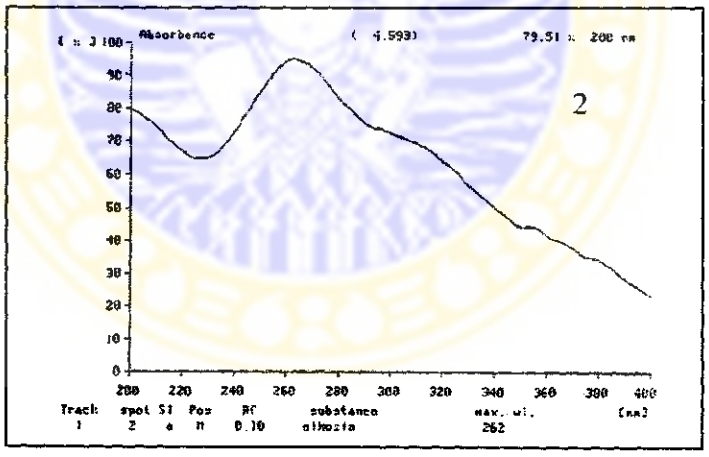
Gambar 5.29 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,10 (3) Rf=0,20 (4) Rf=0,32 (5) Rf=0,34 (6) Rf=0,50 (7) Rf=0,64



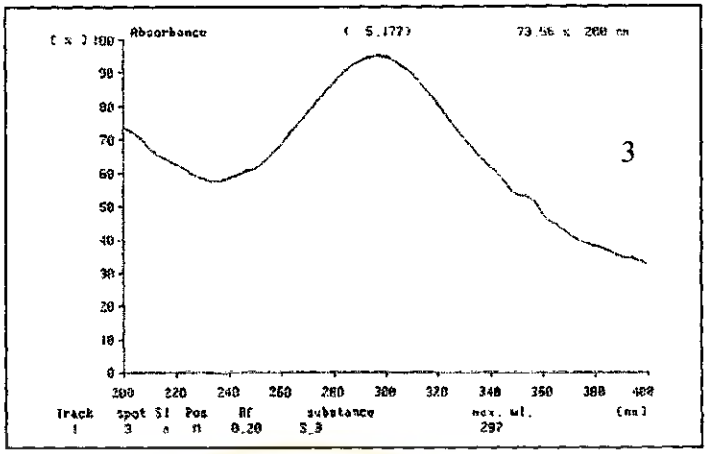
Gambar 5.30 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,10 (3) Rf=0,20 (4) Rf=0,32 (5) Rf=0,34 (6) Rf=0,50 (7) 0,64



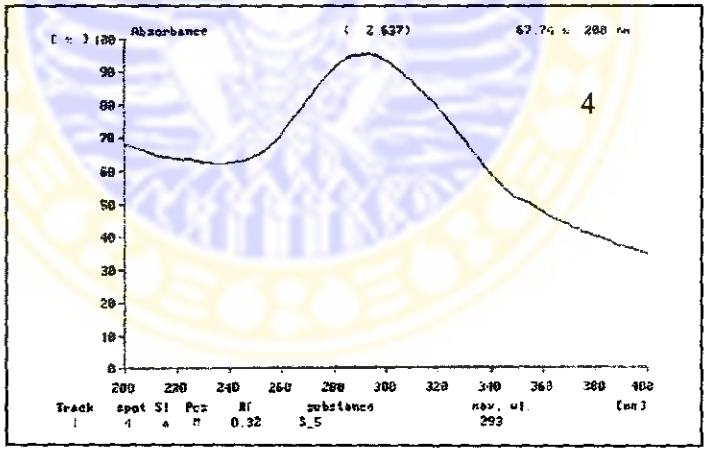
Gambar 5.31 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 301 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



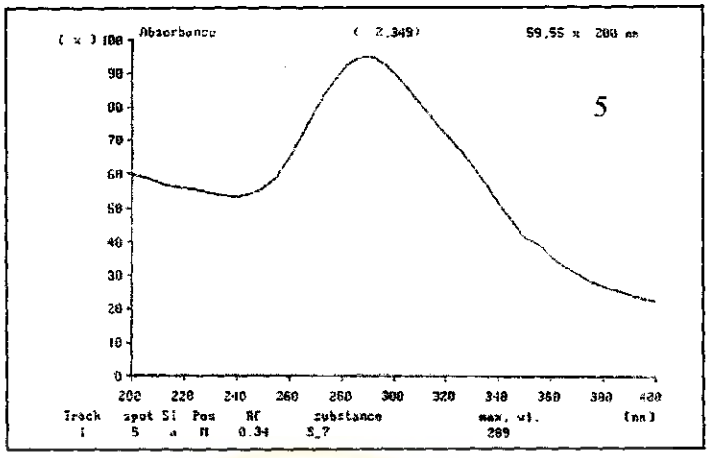
Gambar 5.32 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 262 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



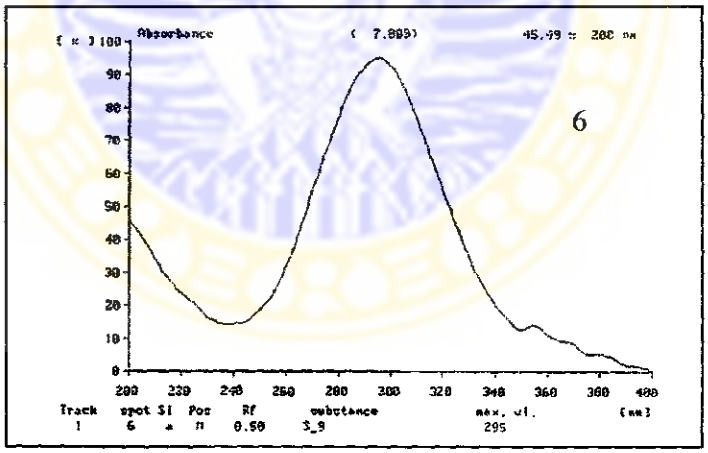
Gambar 5.33 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



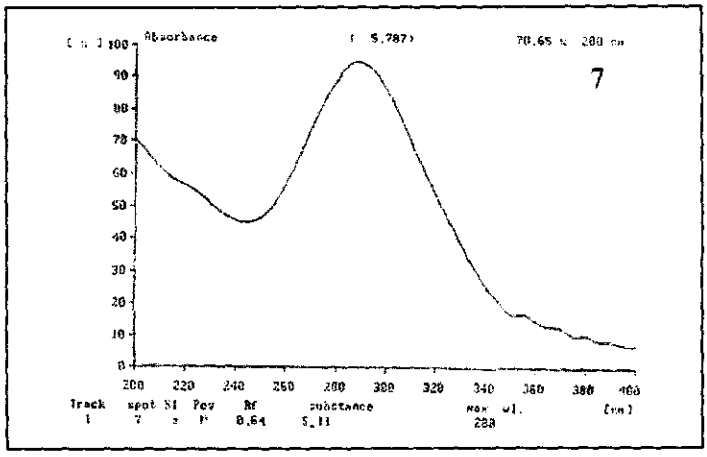
Gambar 5.34 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 293 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



Gambar 5.35 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



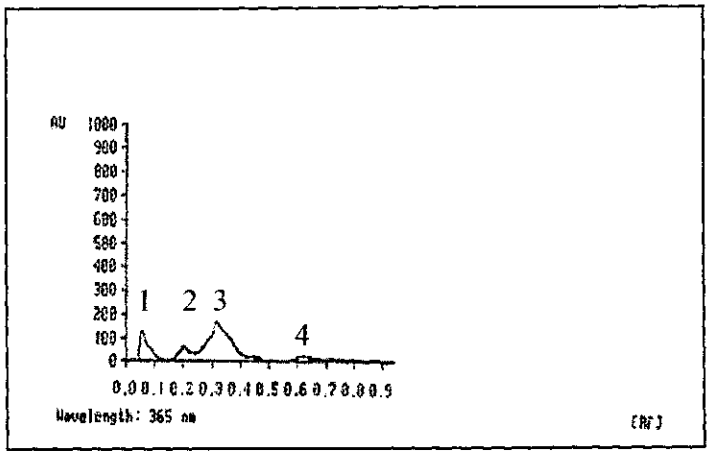
Gambar 5.36 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



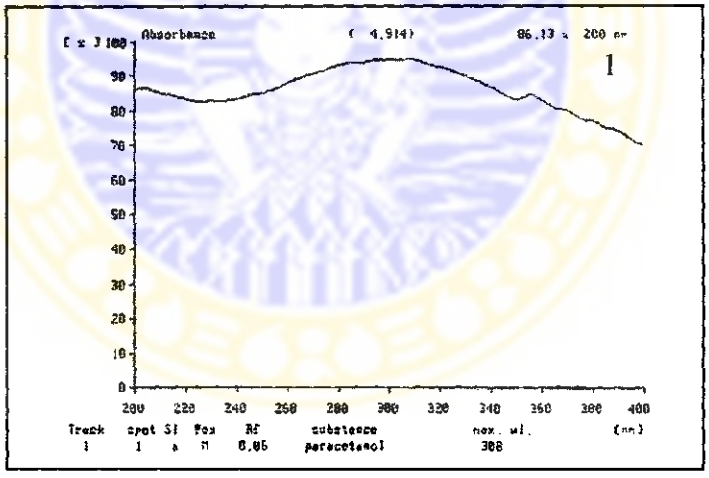
Gambar 5.37 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

5.4.2.2 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 365 nm

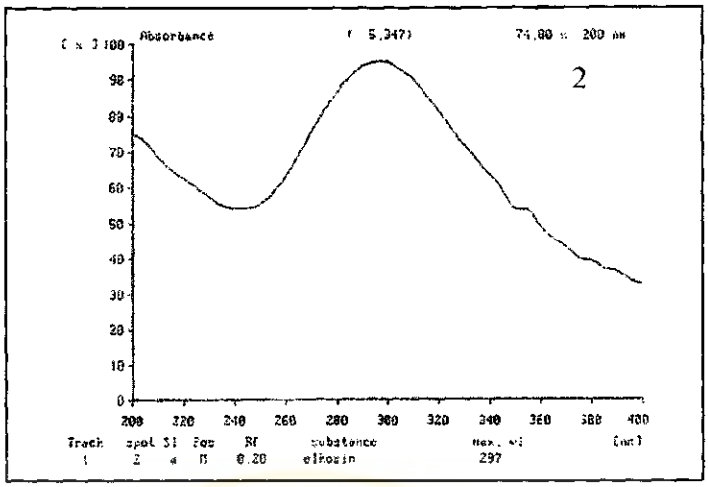
Gambar 5.38 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,20 (3) Rf=0,32 (4) Rf=0,62



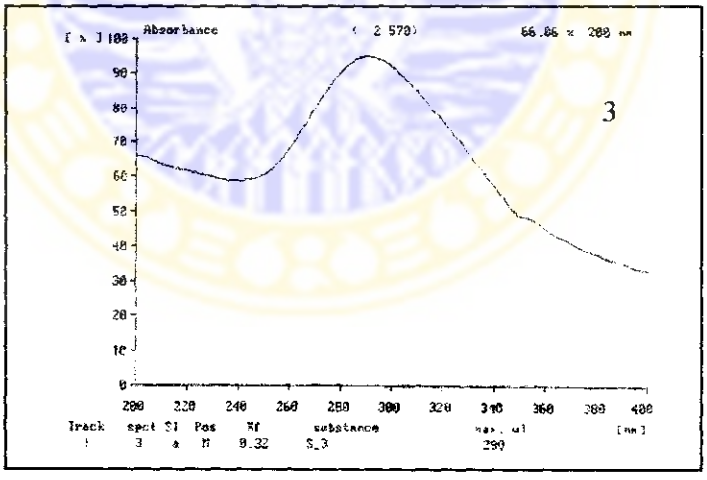
Gambar 5.39 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,20 (3) Rf=0,32 (4) Rf=0,62



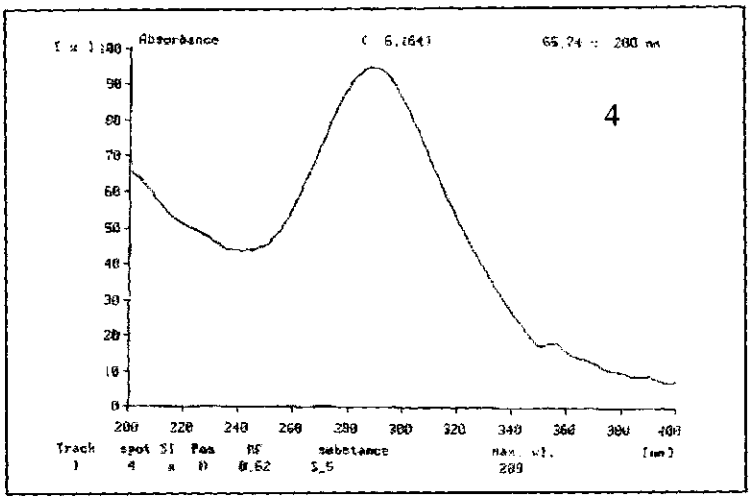
Gambar 5.40 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 308 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



Gambar 5.41 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

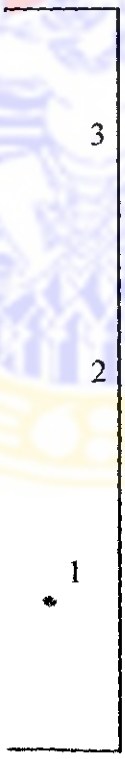


Gambar 5.42 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 290 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

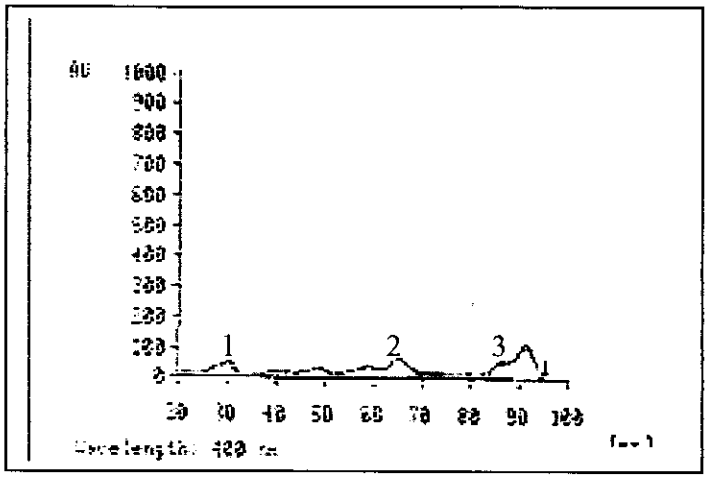


Gambar 5.43 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 289 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

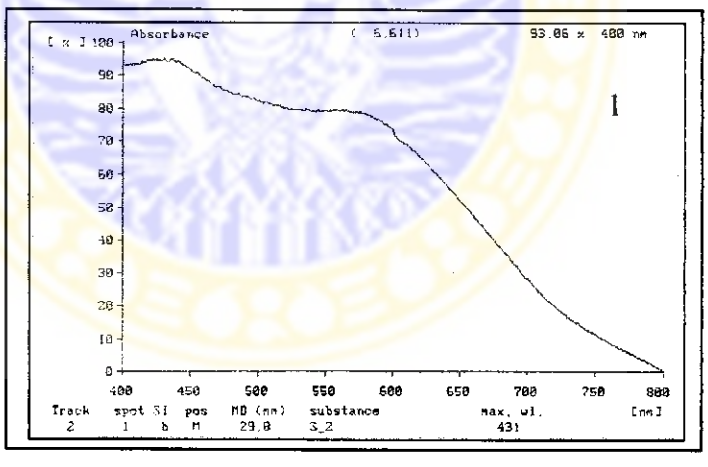
5.4.2.2 Deteksi dengan Penampak Noda Anisaldehid – Asam Sulfat



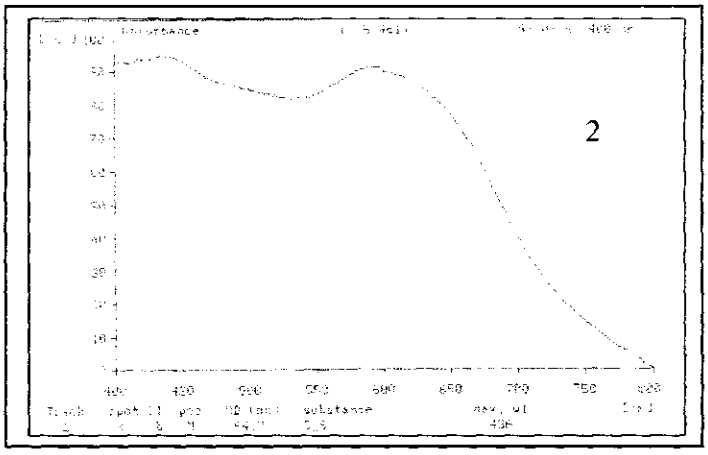
Gambar 5.44 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,1306 (2) Rf = 0,596 (3) Rf = 0,8813



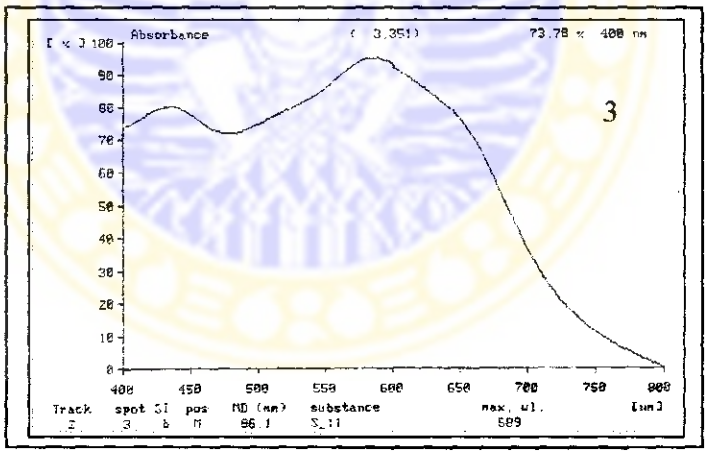
Gambar 5.45 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Identitas puncak: (1) Rf = 0,1306 (2) Rf = 0,596 (3) Rf = 0.8813. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat



Gambar 5.46 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 431 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

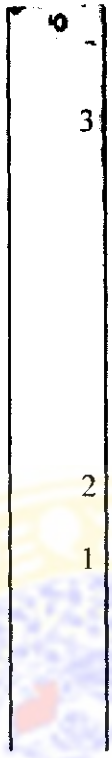


Gambar 5.47 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 436 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

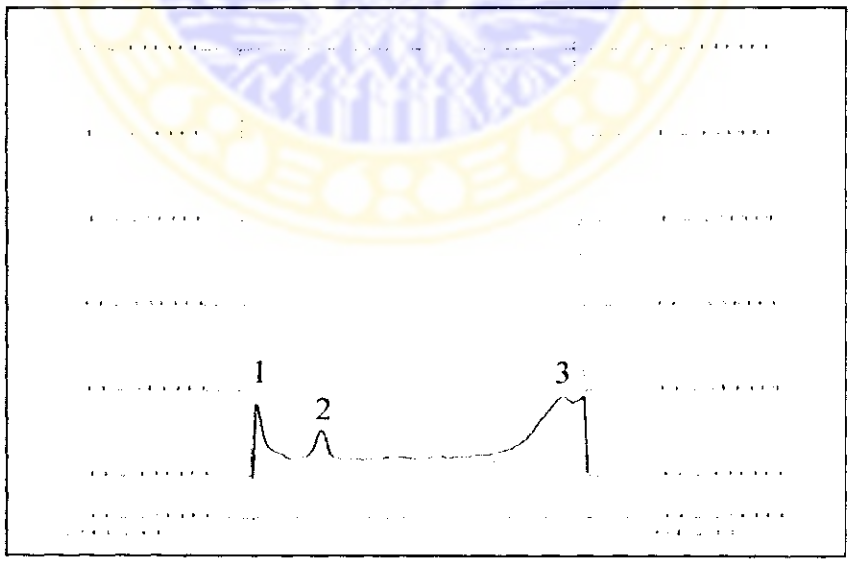


Gambar 5.48 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 589 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

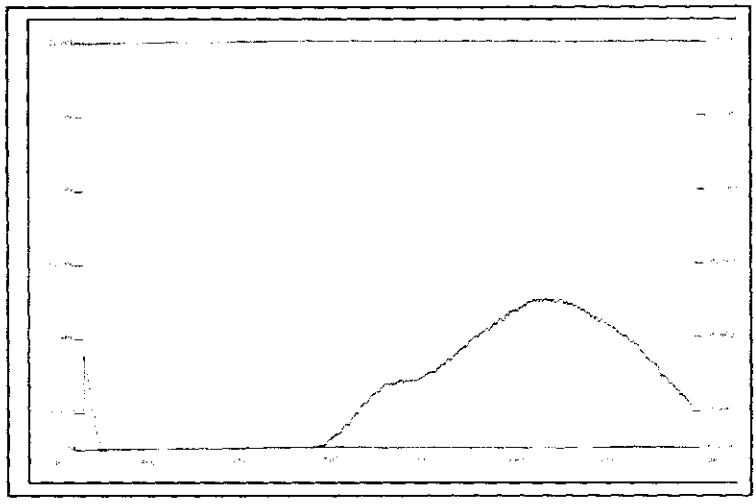
5.4.2.3 Deteksi dengan Penampak Noda Vanilin – Asam Sulfat



Gambar 5.49 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda vanilin – asam sulfat. Identitas noda : (1) Rf = 0,0613 (2) Rf = 0,2 (3) Rf = 0,78. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).



Gambar 5.50 Densitogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Identitas puncak: (1) Rf = 0,0613 (2) Rf = 0,2 (3) Rf = 0,78. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.

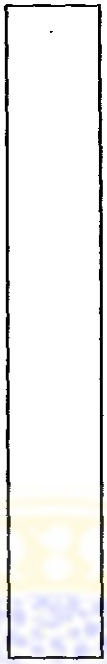


Gambar 5.51 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak area terbesar (puncak 3) dengan λ maks 623 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.

5.4.2.4 Deteksi dengan Penampak Noda Ceri – Asam Sulfat

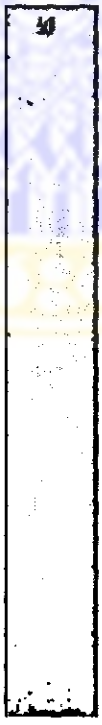
Gambar 5.52 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).

5.4.2.3 Deteksi dengan Penampak Noda Ninhidrin



Gambar 5.53 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ninhidrin. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).

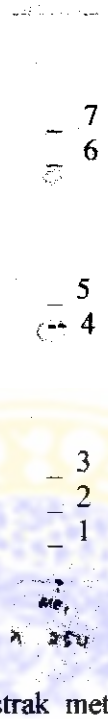
5.4.2.3 Deteksi dengan Penampak Noda Dragendorf



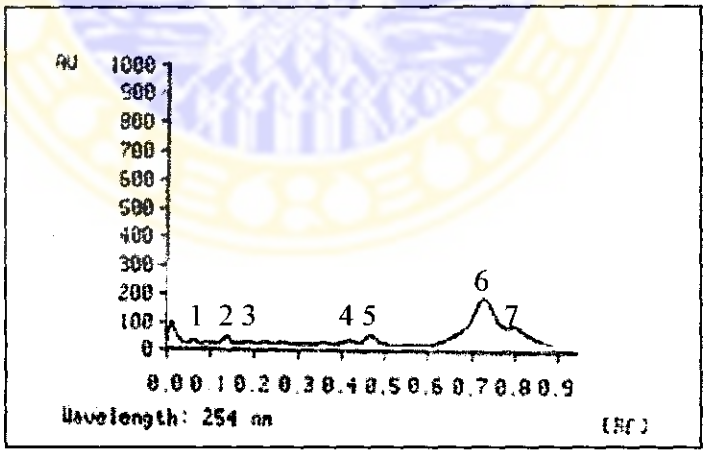
Gambar 5.54 Hasil KLT ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 2 : 8 (v/v).

5.4.3 Ekstrak Metanol dengan Fase Gerak Etil Asetat : Metanol : Air (7 : 2 : 1) (v/v)

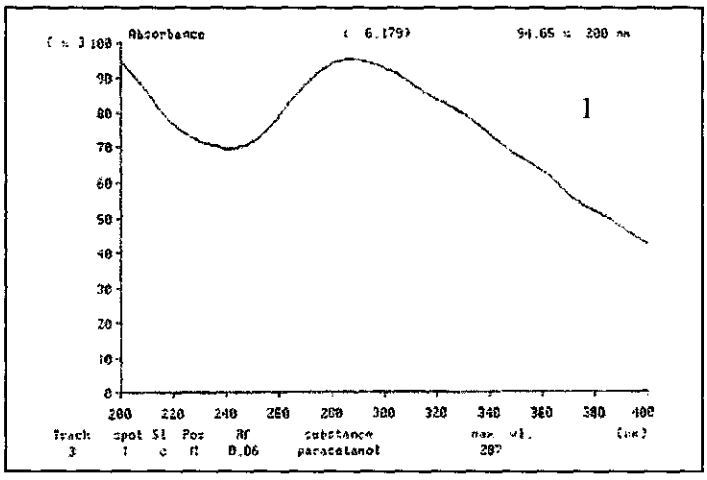
5.4.3.1 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 254 nm



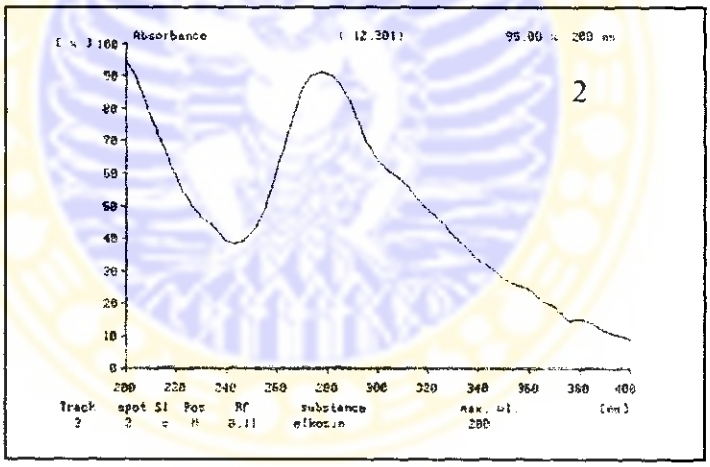
Gambar 5.55 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,11 (3) Rf= 0,18 (4) Rf=0,47 (5) Rf=0,51 (6) Rf=0,77 (7) Rf=0,84



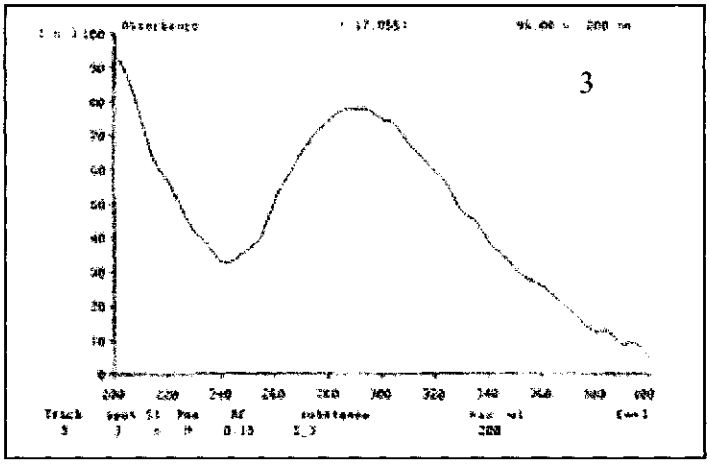
Gambar 5.56 Densitogram ekstrak metanol media jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,11 (3) Rf= 0,18 (4) Rf=0,47 (5) Rf=0,51 (6) Rf=0,77 (7) Rf=0,84



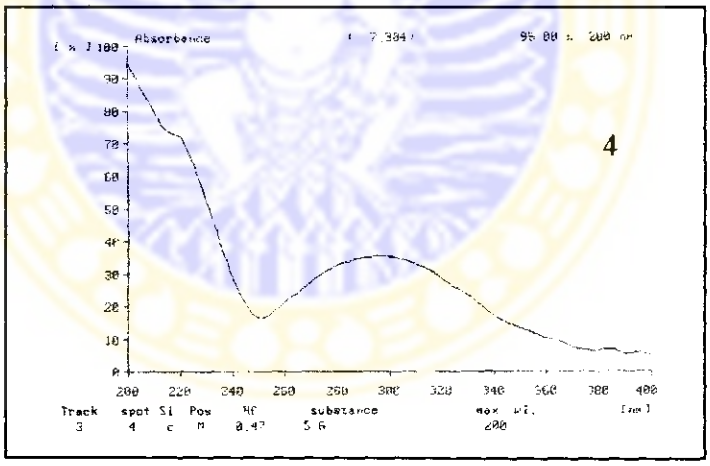
Gambar 5.57 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 287 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



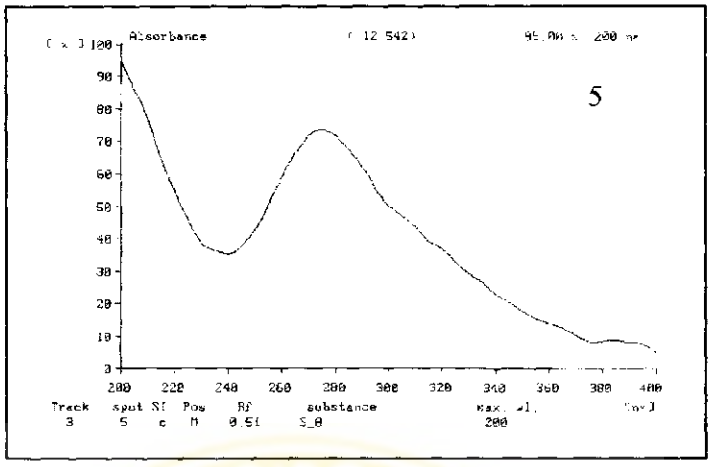
Gambar 5.58 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 278 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



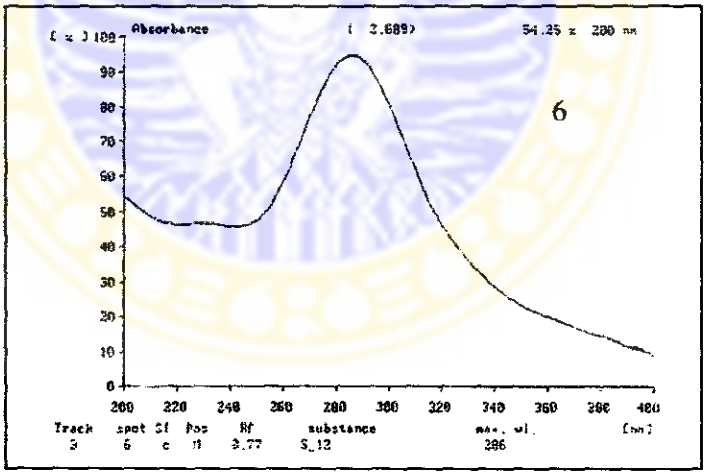
Gambar 5.59 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



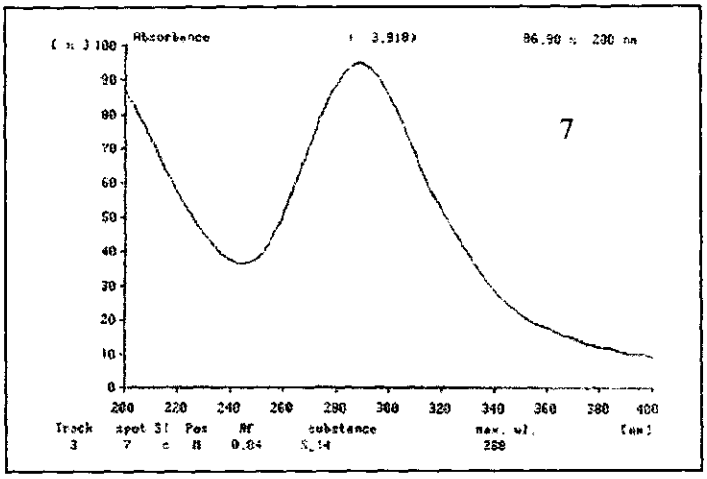
Gambar 5.60 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



Gambar 5.61 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 275 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

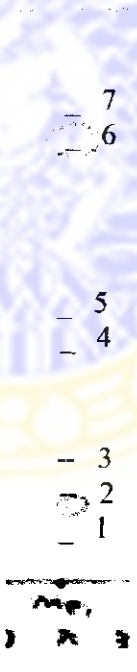


Gambar 5.62 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 286 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

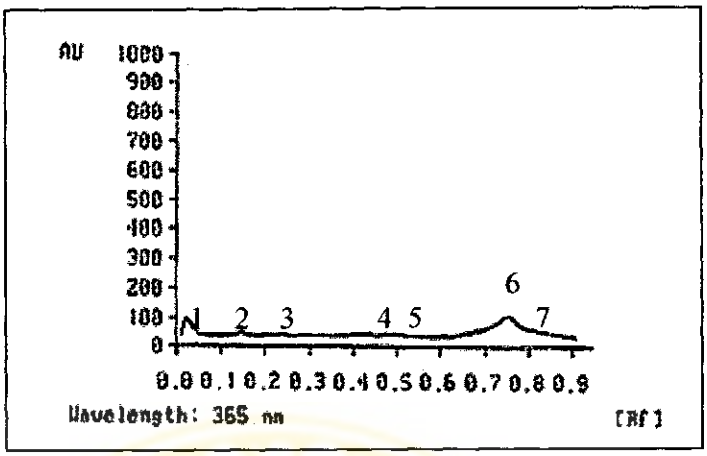


Gambar 5.63 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

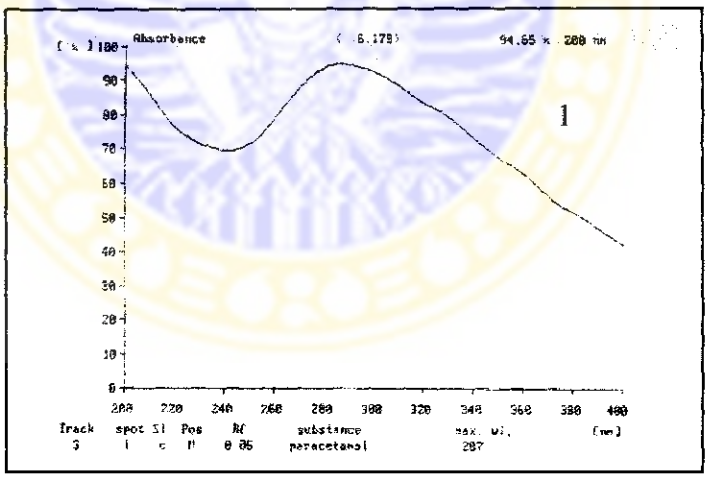
5.4.3.2 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 365 nm



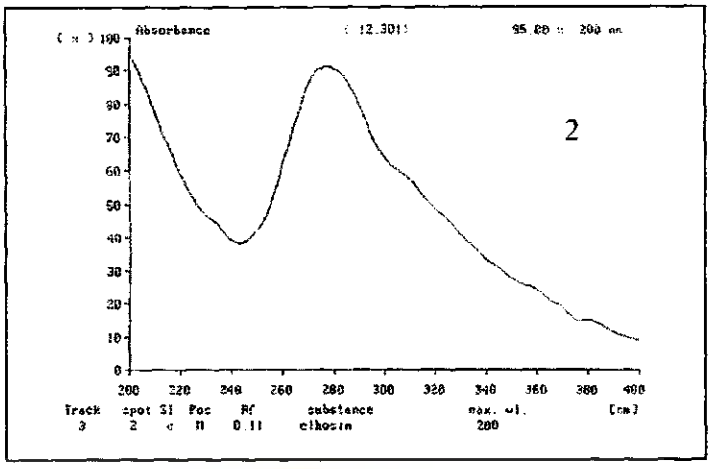
Gambar 5.64 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,11 (3) Rf=0,18 (4) Rf=0,47 (5) Rf=0,51 (6) Rf=0,77 (7) 0,84



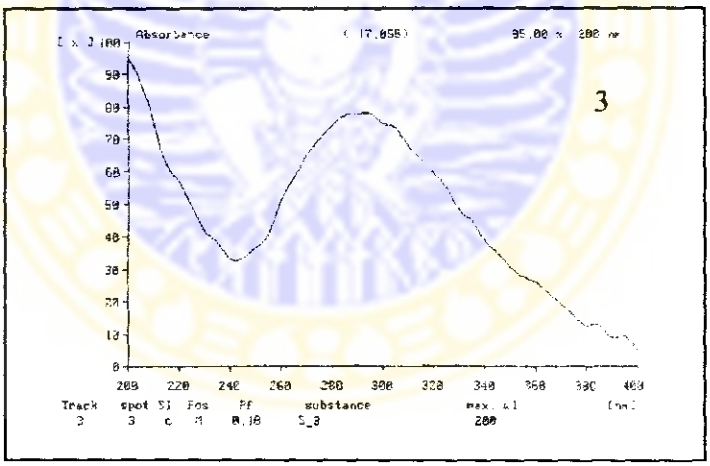
Gambar 5.65 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,77 (3) Rf=0,84



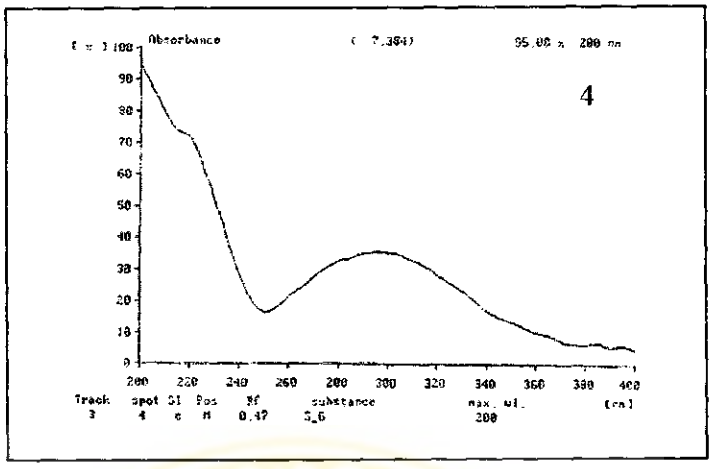
Gambar 5.66 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 287 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



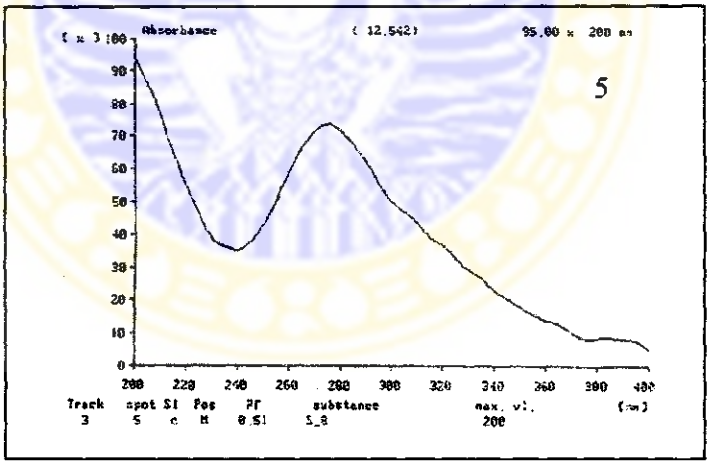
Gambar 5.67 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 278 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



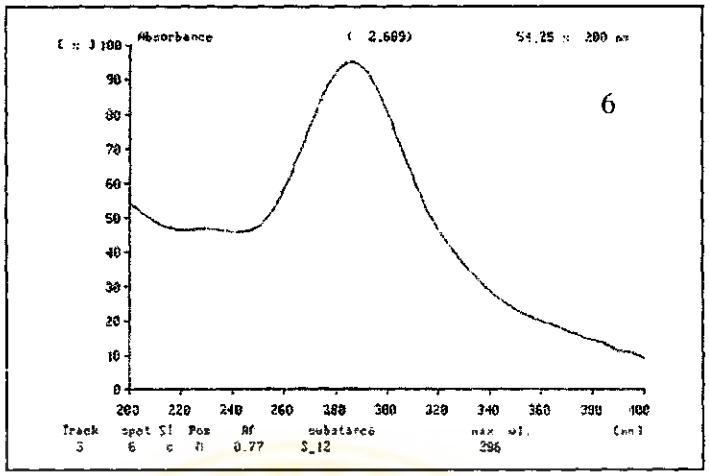
Gambar 5.68 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



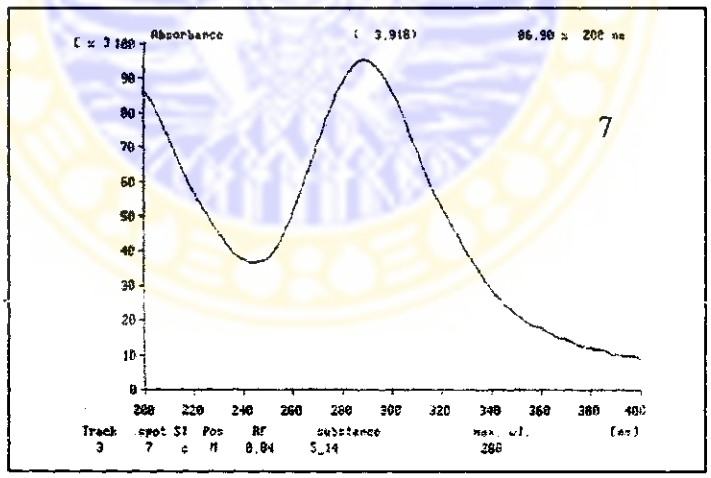
Gambar 5.69 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 297 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



Gambar 5.70 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 275 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

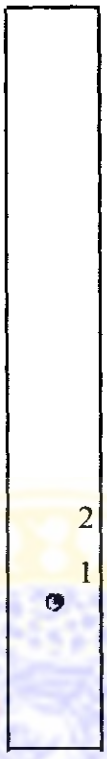


Gambar 5.71 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 6 dengan λ maks 286 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

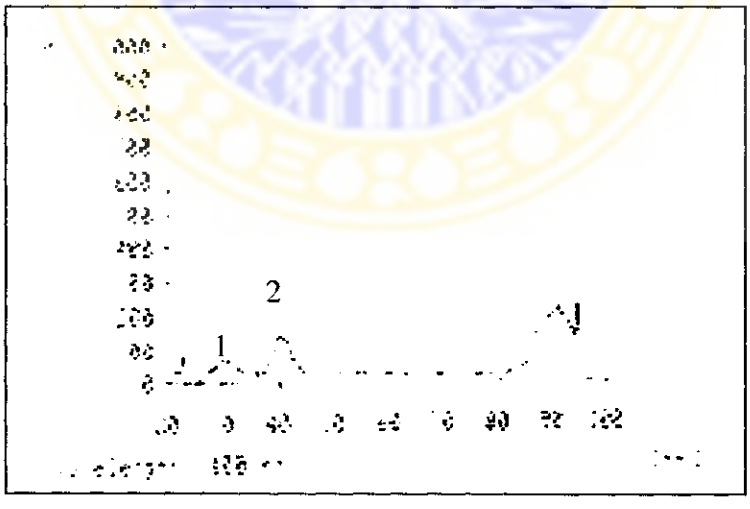


Gambar 5.72 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 7 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

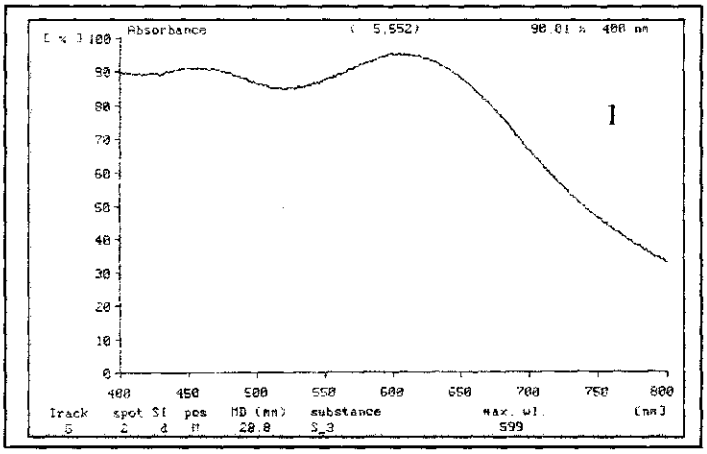
5.4.3.3 Deteksi dengan Penampak Noda Anisaldehid – Asam Sulfat



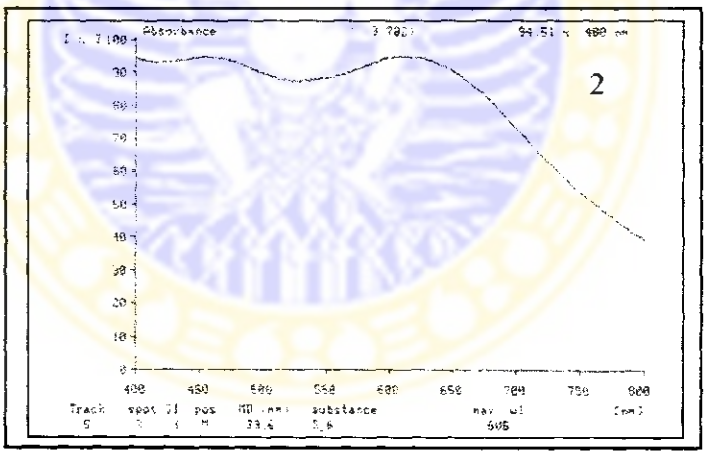
Gambar 5.73 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,1173 (2) Rf=0,2613



Gambar 5.74 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Identitas puncak: (1) Rf = 0,1173 (2) Rf = 0,2613. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.



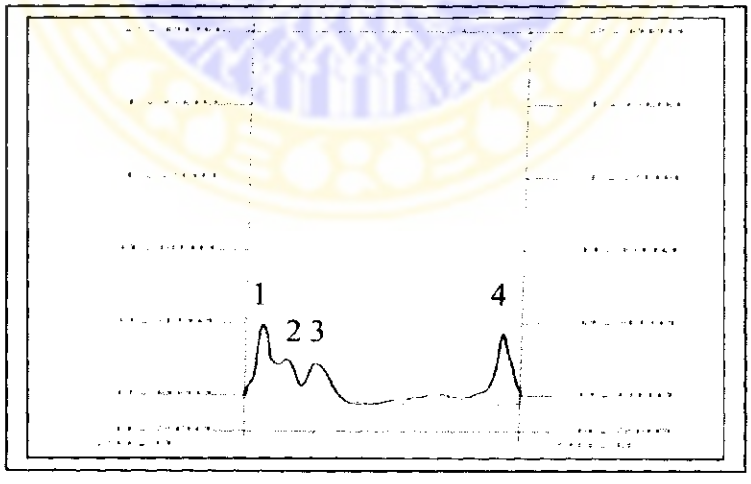
Gambar 5.75 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 599 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.



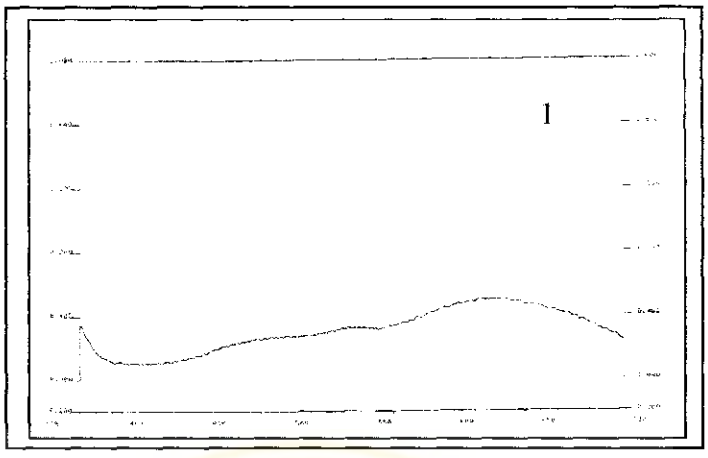
Gambar 5.76 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 608 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

5.4.3.4 Deteksi dengan Penampak Noda Vanilin – Asam Sulfat

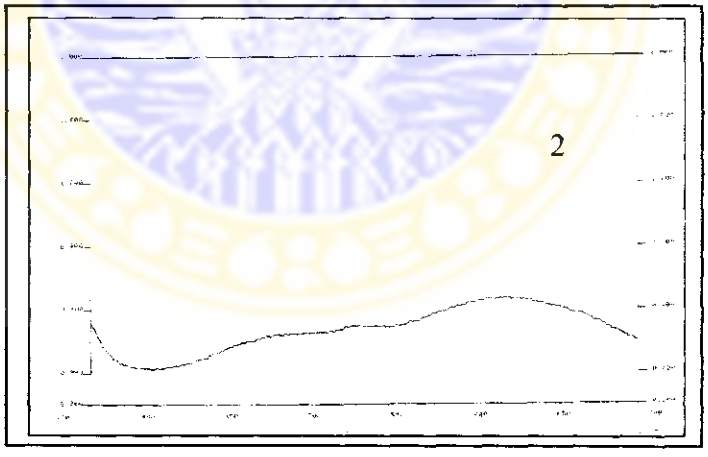
Gambar 5.77 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda vanilin – asam sulfat pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,066 (2) Rf = 0,176 (3) Rf = 0,324 (4) Rf = 0,6413



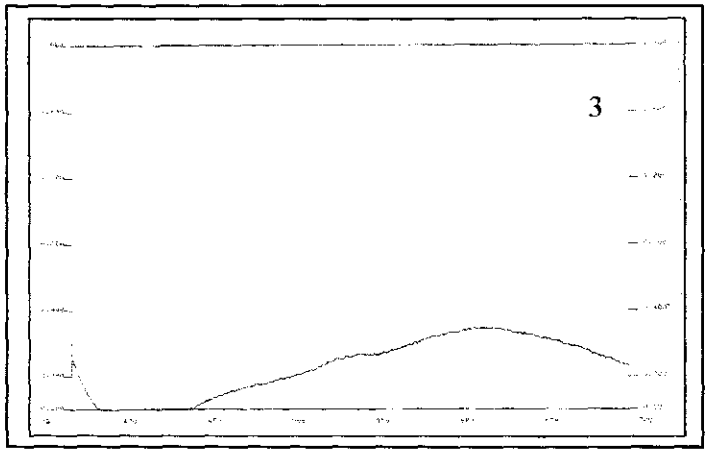
Gambar 5.78 Densitogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Identitas puncak: (1) Rf = 0,066 (2) Rf = 0,176 (3) Rf = 0,324 (4) Rf = 0,6413. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 :1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat



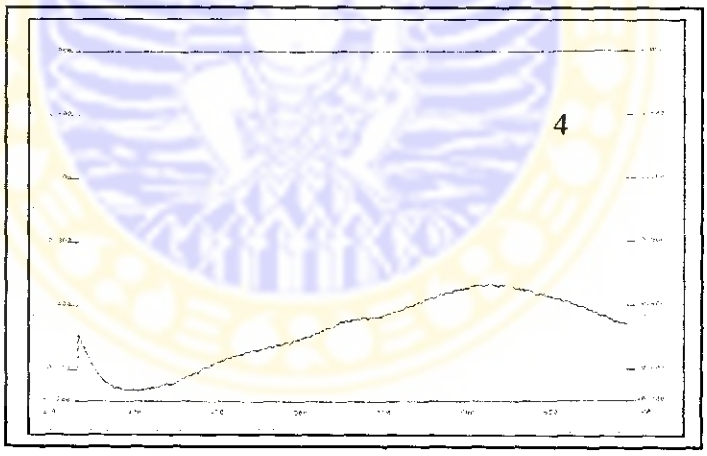
Gambar 5.79 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 620 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 :1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat



Gambar 5.80 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 619 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 :1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat

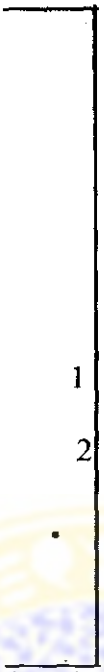


Gambar 5.81 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 615 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 :1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat



Gambar 5.82 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 4 dengan λ maks 618 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 :1 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat

5.4.3.5 Deteksi dengan Penampak Noda Ceri – Asam Sulfat



Gambar 5.83 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ceri – asam sulfat pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,116 (2) Rf = 0,244

5.4.3.6 Deteksi dengan Penampak Noda Ninhidrin

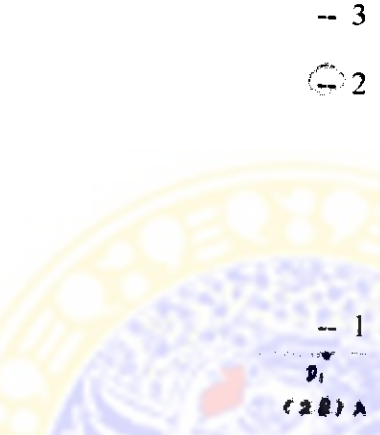
Gambar 5.84 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda ninhidrin. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).

5.4.3.7 Deteksi dengan Penampak Noda Dragendorf

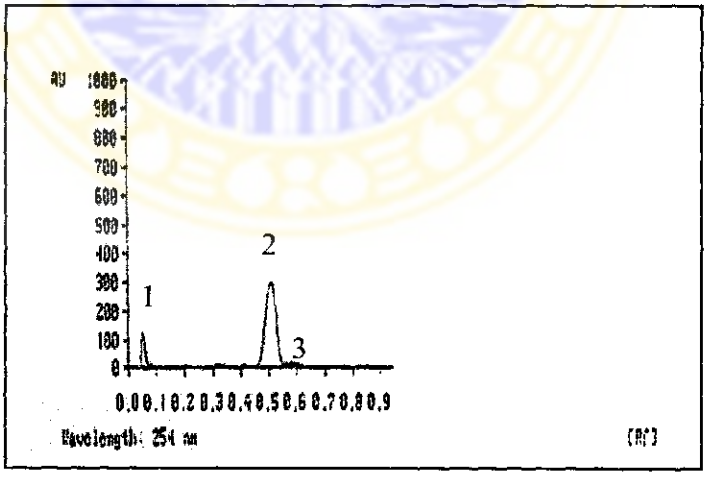
Gambar 5.85 Hasil KLT ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda dragendorf pada λ 400 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak etil asetat : metanol : air = 7 : 2 : 1 (v/v).

5.4.4 Ekstrak Diklorometana dengan Fase Gerak n-Heksan : Etil Asetat = 8 : 2 (v/v)

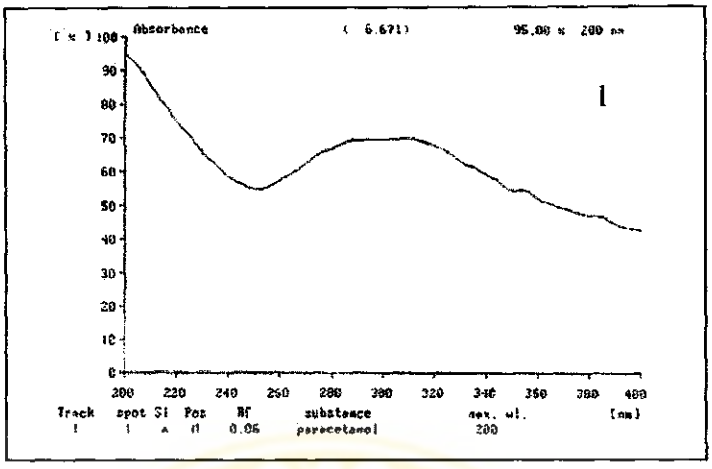
5.4.4.1 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 254 nm



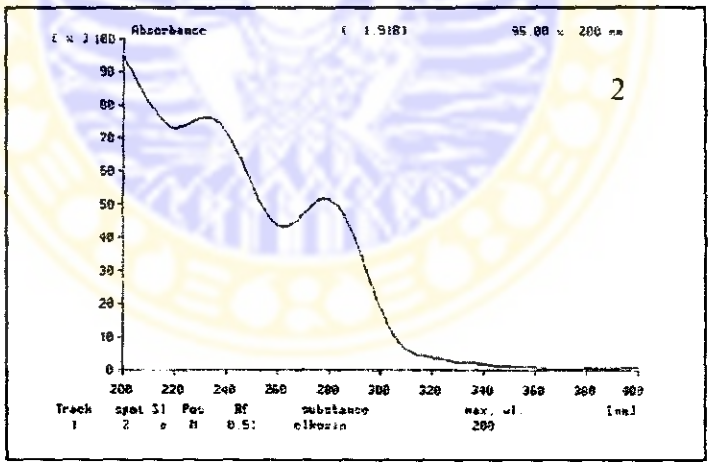
Gambar 5.86 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,51 (3) Rf=0,58



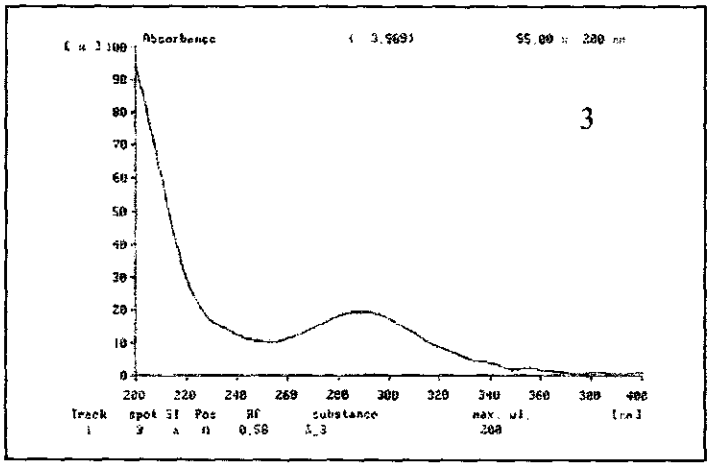
Gambar 5.87 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 254 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas puncak : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,51 (3) Rf=0,58



Gambar 5.88 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 300 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



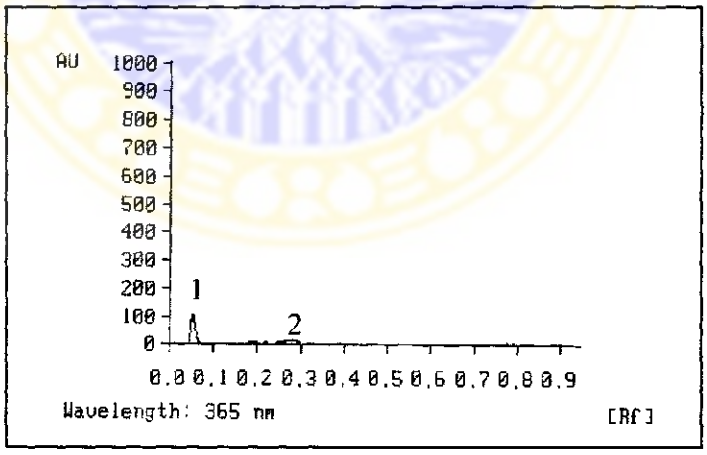
Gambar 5.89 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 234 nm dan 280 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.



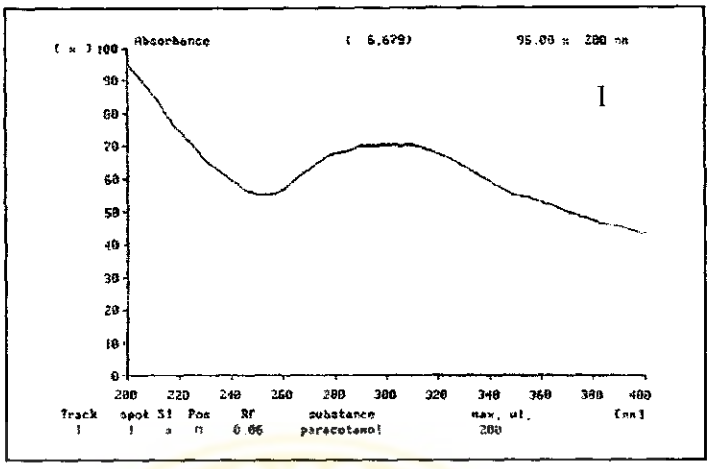
Gambar 5.90 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 288 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 254 nm.

5.4.4.2 Deteksi dengan Penampak Noda Sinar Ultra Violet λ 365 nm

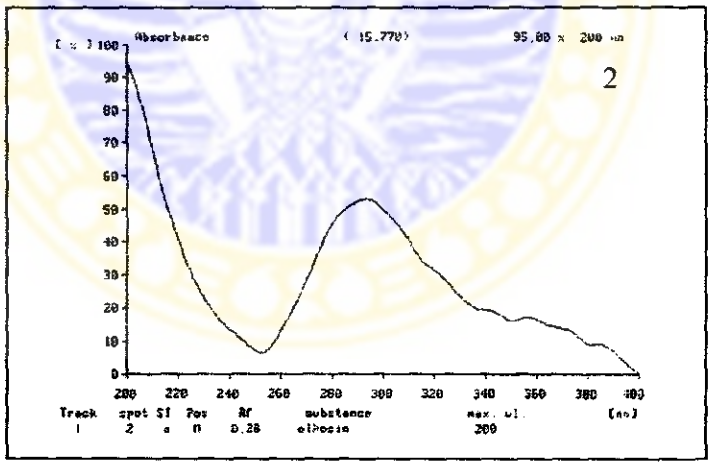
Gambar 5.91 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas noda : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,28



Gambar 5.92 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dengan penampak noda sinar UV pada λ 365 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas puncak : (1) Rf=0,06 (2) Rf=0,28

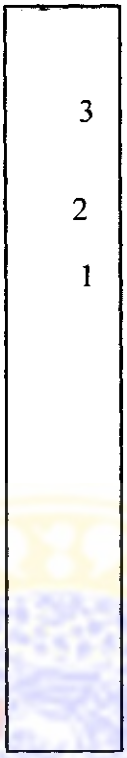


Gambar 5.93 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 300 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.



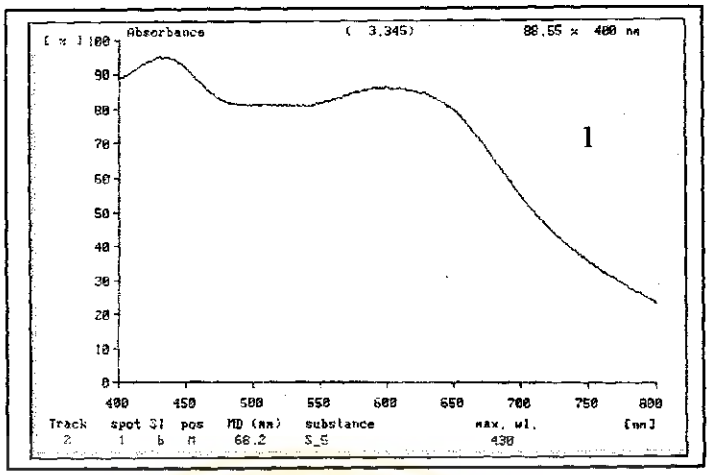
Gambar 5.94 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 295 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda sinar UV λ 365 nm.

5.4.4.2 Deteksi dengan Penampak Noda Anisaldehid – Asam Sulfat

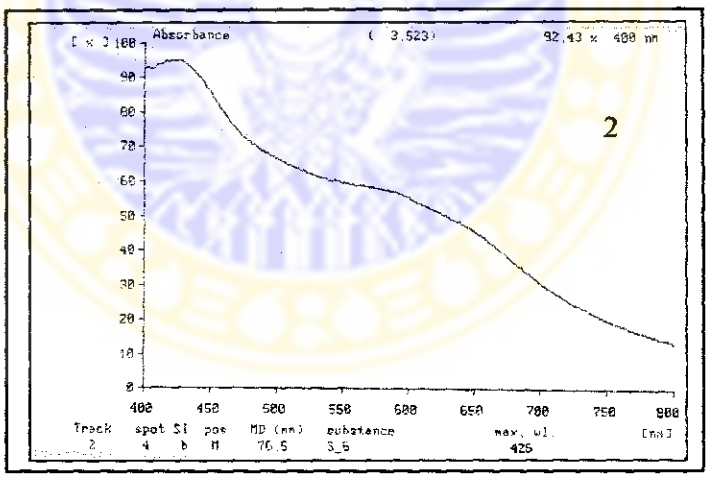


Gambar 5.95 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak anisaldehid – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas noda: (1) Rf = 0,6426 (2) Rf = 0,753 (3) Rf = 0,8826

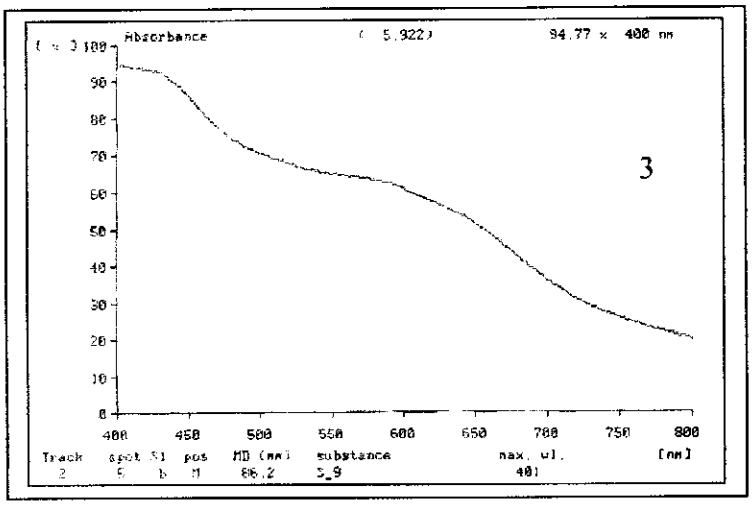
Gambar 5.96 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat. Identitas puncak: (1) Rf = 0,6426 (2) Rf = 0,753 (3) Rf = 0,8826. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).



Gambar 5.97 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 1 dengan λ maks 430 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.



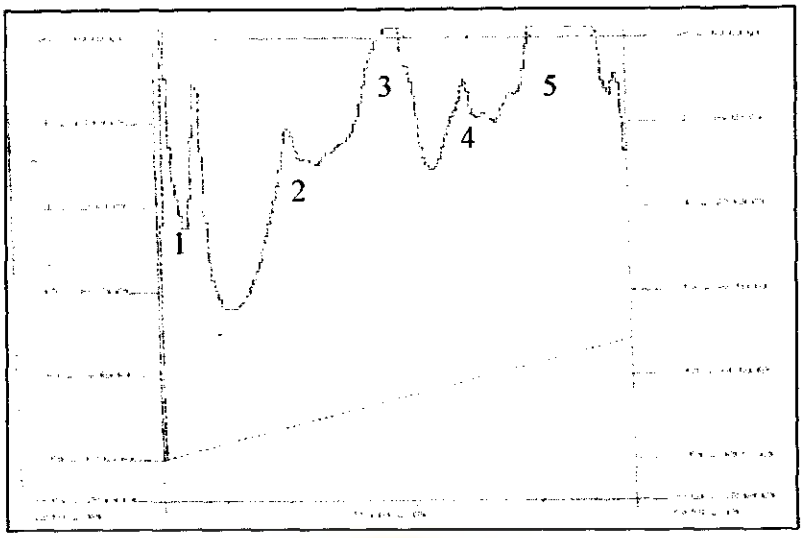
Gambar 5.98 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 2 dengan λ maks 426 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.



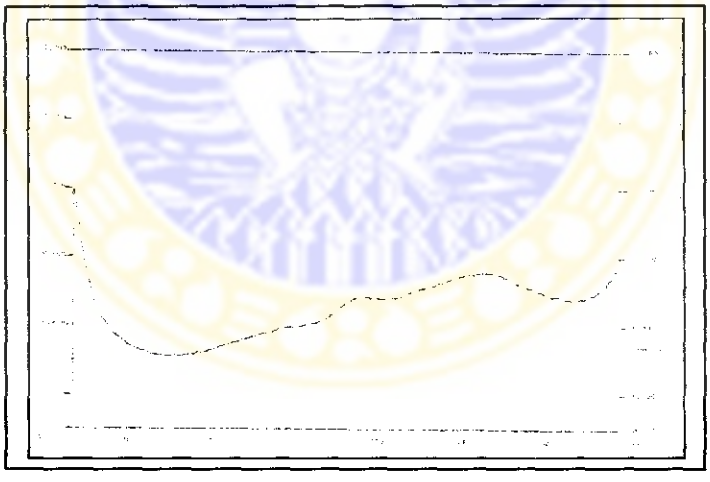
Gambar 5.99 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 401 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat.

5.4.4.3 Deteksi dengan Penampak Noda Vanilin – Asam Sulfat

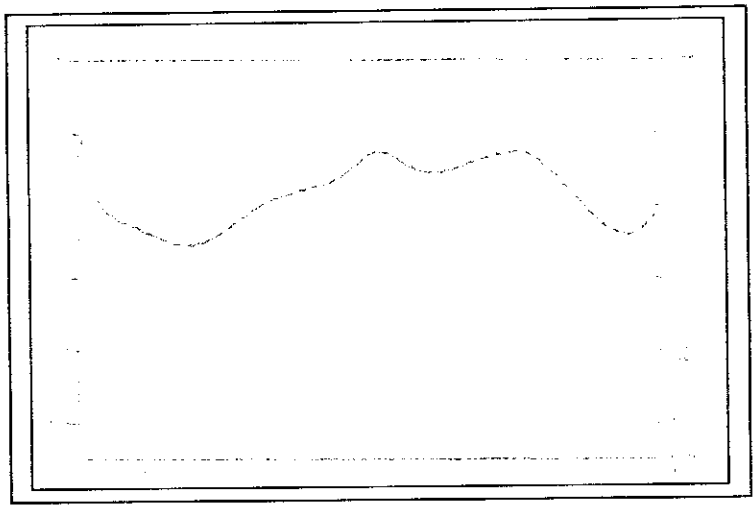
Gambar 5.100 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak vanilin – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas noda: (1) Rf=0,0293 (2) Rf=0,2493 (3) Rf=0,4693 (4) Rf=0,6426 (5) Rf = 0,8426



Gambar 5.101 Densitogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm. Identitas puncak: (1) Rf=0,0293 (2) Rf=0,2493 (3) Rf=0,4693 (4) Rf=0,6426 (5) Rf = 0,8426. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.



Gambar 5.102 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 3 dengan λ maks 619 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel $F_{254,}$ fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.

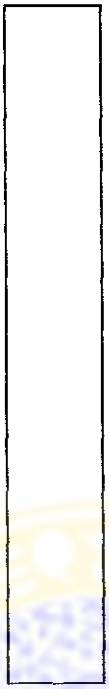


Gambar 5.103 Spektra absorban reflektan *in situ* ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari puncak 5 dengan λ maks 540 nm. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Deteksi dengan penampak noda vanilin – asam sulfat.

5.4.4.4 Deteksi dengan Penampak Noda Ceri – Asam Sulfat

Gambar 5.104 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ceri – asam sulfat. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v). Identitas noda : (1) Rf = 0,1066 (2) Rf = 0,28 (3) Rf = 0,32 (4) Rf = 0,5386 (5) Rf = 0,82 (6) Rf = 0,888 (7) Rf = 0,948

5.4.4.5 Deteksi dengan Penampak Noda Ninhidrin



Gambar 5.105 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda ninhidrin. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).

5.4.4.6 Deteksi dengan Penampak Noda Dragendorf

Gambar 5.106 Hasil KLT ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* pada λ 400 nm dengan penampak noda dragendorf. Komponen dipisahkan dengan lempeng silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan : etil asetat = 8 : 2 (v/v).

BAB VI

PEMBAHASAN

Adanya penemuan *Taxol*, senyawa yang berkhasiat sebagai anti-tumor yang berhasil diisolasi dari *Taxomyces andreanae*, jamur endofit yang hidup pada tanaman *Taxus brevifolia*, mendasari penelitian tentang profil KLT metabolit yang dihasilkan oleh jamur endofit *Eurotium rubrum* yang hidup pada tanaman *Aglaia odorata* Lour, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai metabolit yang ada pada jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour.

Penelitian ini menggunakan *Aglaia odorata* Lour sebagai tanaman inang yang berasal dari Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan. Isolat jamur endofit diperoleh dari Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan telah diidentifikasikan oleh Institut für Pharmazeutische Biologie, Universitas Düsseldorf, Jerman sebagai *Eurotium rubrum*. Jamur ini termasuk dalam genus *Eurotium* yang mempunyai banyak sinonim, yaitu *Aspergillus ruber* (Jos. König, Spieck & W. Bremer) Thom & Chuch [nom holomorph.], *Aspergillus sejunctus* Bainer & Sartory [nom holomorph.], *Aspergillus rubrobinneus* Samson & W. Gams [stat. anam.], *Aspergillus umbrosus*, dan *Eurotium repens* de Bary. Jamur *Eurotium rubrum* dilaporkan mempunyai potensi menyebabkan inflamasi pada percobaan aktifasi nonspesifik sel komplemen dan imunokompeten hewan yang menghirup spora jamur ini.

Bentuk koloni jamur diketahui dengan melakukan pengamatan makroskopis jamur pada berbagai media pertumbuhan. Media pertumbuhan jamur yang digunakan untuk pengamatan makroskopis jamur ada 3 macam yaitu *Malt Extract Agar*, *Saboroud Dextrose Agar*, *Potato Dextrose Agar*. Miselia jamur endofit *Eurotium rubrum* ditanam pada media pertumbuhan kemudian diinkubasi pada suhu kamar sampai jamur tumbuh dan dapat diamati. Pada media *Malt Extract Agar* jamur terlihat berwarna putih kekuningan (Gambar 5.1 A), sedangkan pada media *Saboroud Dextrose Agar*, jamur terlihat berwarna kuning (Gambar 5.1 B),

dan pada media *Potato Dextrose Agar*, jamur terlihat berwarna kuning kecoklatan (Gambar 5.1 C) dengan bentuk yang berbeda pula. Pengamatan pertumbuhan jamur endofit *Eurotium rubrum* secara visual menunjukkan pertumbuhan jamur pada media *Saboroud Dextrose Agar* lebih lambat dibanding pertumbuhan pada media *Malt Extract Agar* dan *Potato Dextrose Agar*. Berdasarkan hal tersebut maka media yang dapat dipilih untuk perbanyakan kultur jamur endofit *Eurotium rubrum* adalah *Malt Extract Broth* dan *Potato Dextrose Broth*, namun karena pembuatan media *Potato Dextrose Broth* lebih sulit dan kurang praktis, maka dipilih media *Malt Extract Broth* untuk media perbanyakan kultur jamur endofit *Eurotium rubrum*.

Pengamatan mikroskopis jamur endofit *Eurotium rubrum* dilakukan dengan menanam jamur endofit pada media *Malt Extract Agar* dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 35,5°C, kemudian diamati dibawah mikroskop Trinokuler (foto) dengan perbesaran 400 X (Gambar 5.2). Jamur endofit *Eurotium rubrum* mempunyai hifa panjang bersekat-sekat dan spora bentuk bulat.

Perbanyakan kultur dilakukan pada media *Malt Extract Broth*. Setelah diinkubasi pada suhu kamar selama 30 hari, dilakukan kultivasi jamur endofit *Eurotium rubrum*. Dari 93 botol kultur yang dikultivasi, diperoleh 5,5607 g miselia (residu) dan 4,1115 L media (filtrat). Selanjutnya dilakukan ekstraksi untuk menarik metabolit baik yang ada dalam media maupun dalam miselia. Digunakan etil asetat untuk mengekstraksi media untuk menarik metabolit yang bersifat semipolar, sedangkan pada miselia digunakan pengekstraksi metanol 80% untuk menarik metabolit yang bersifat polar dan diklorometana untuk menarik metabolit yang bersifat lebih nonpolar dari senyawa pada ekstrak etil asetat. Metanol 80% memiliki daya penetrasi yang cukup tinggi terhadap membran sel sehingga dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar (Silva *et al*., 1998).

Ekstraksi filtrat media dilakukan dengan pengocokan dengan *rotary shaker* selama 3 kali 1 jam. Sedangkan pada miselia dilakukan pengocokan selama 3 kali 10 menit setelah terlebih dahulu di ultrasonik selama 15 menit untuk menghancurkan dinding sel jamur endofit sehingga metabolit yang ada di dalam sel dapat ikut terekstraksi.

Sebanyak 93 botol kultur jamur endofit *Eurotium rubrum* didapatkan ekstrak kering etil asetat sebanyak 0,444 g dan ekstrak kering diklorometana sebanyak 0,015 g, setelah terlebih dahulu dipekatkan dengan rotavapour pada suhu 35°C sampai kering. Selain itu didapat juga ekstrak kering metanol sebanyak 0,217 g setelah terlebih dulu dipekatkan dengan rotavapour pada suhu 50°C.

Profil kandungan metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum* dalam masing-masing ekstrak didapatkan melalui metode KLT - Densitometri. Silika bersifat higroskopis yang mengakibatkan menjadi tidak aktif dan kehilangan kemampuan untuk memisahkan senyawa, sehingga sebelum dilakukan penotolan, lempeng silika gel F_{254} diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam (Heftmann, 1983).

Pemisahan ekstrak etil asetat dilakukan dengan dua macam fase gerak, yaitu etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v) dan n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v). Sebelumnya pernah dilakukan pemisahan dengan menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (9 : 1) (v/v) dan n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v), tetapi senyawa tidak tereluasi optimal. Pada fase gerak n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v) senyawa tereluasi namun pemisahannya kurang optimal dibanding fase gerak n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v), hal ini ditunjukkan dengan noda yang teriaiu rendah. Selain itu dilakukan pemisahan menggunakan fase gerak etil asetat : metanol (7 : 3) (v/v), tetapi hasil pemisahan tidak sebaik fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v). Lempeng KLT yang telah dieluasi selanjutnya diuapkan di lemari asam kemudian diamati menggunakan sinar UV λ 254 nm dan λ 365 nm untuk mendeteksi senyawa yang bersifat UV aktif, yaitu menyerap sinar pada λ 200 – 400 nm dan memadamkan indikator fluoresensi yang ada pada lempeng KLT sehingga tampak sebagai bercak gelap pada latar belakang yang berfluoresensi kuning – hijau (Gibbon dan Gray, 1998). Setelah itu dilakukan pemayaran dengan densitometer pada λ yang sama sehingga didapatkan profil densitogram beserta spektra UV. Senyawa kemudian dideteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat, vanilin – asam sulfat, ceri – asam sulfat, ninhidrin, dan dragendorf dengan metode *dipping* (pencelupan) untuk memberikan hasil reaksi yang lebih homogen. Lempeng KLT kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama ± 10 menit atau sampai tampak noda pada lempeng KLT (kecuali

dragendorf, tidak perlu dilakukan pemanasan). Untuk mendapatkan profil densitogram dan spektra, dilakukan pemayaran dengan densitometer pada λ 400 – 800 nm.

Ekstrak **etil asetat** dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v) deteksi dengan sinar UV λ 254 nm, secara visual terlihat 3 noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terdapat 6 puncak dengan Rf: (1) 0,06 (2) 0,32 (3) 0,45 (4) 0,49 (5) 0,57 (6) 0,73. Berdasarkan profil spektra pada UV 254 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 299 nm (2) 295 nm (3) 272 nm (4) 284 nm (5) 292 nm (6) 289 nm. Noda ketiga pada lempeng KLT, setelah dipayar dengan densitometer, terlihat menjadi dua puncak. Hal tersebut terjadi karena noda yang tampak pada lempeng belum tunggal, merupakan dua noda yang bergabung menjadi satu. Deteksi ekstrak etil asetat menggunakan sinar UV λ 365 nm terlihat 3 noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terlihat 6 puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,32 (3) 0,45 (4) 0,49 (5) 0,57 (6) 0,73. Berdasarkan profil spektra UV λ 365 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 299 nm (2) 295 nm (3) 272 nm (4) 284 nm (5) 292 nm (6) 289 nm.

Hasil deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat yang kemudian dipayar dengan densitometer menunjukkan dua puncak dengan Rf 0,3293 dan 0,4386 dengan warna noda abu-abu. Penampak noda anisaldehid – asam sulfat dapat menunjukkan senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen dan lain-lain dengan noda warna merah sampai ungu pada lempeng KLT (Wagner *et al.*, 1984; Pulici *et al.*, 996). Penampak noda ini juga dapat menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, fenol, terpen dan gula (Touchstone dan Dobbins, 1983). Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda ini. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak tersebut mempunyai λ maks 416 nm dan 419 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda vanilin – asam sulfat terlihat satu puncak dengan Rf 0,849 dengan warna noda tidak tampak pada lempeng KLT. Warna yang tidak tampak pada lempeng disebabkan ekstrak yang terlalu encer atau jumlah ekstrak yang ditotolkan kurang sehingga warna yang muncul tidak

tampak secara visual. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak tersebut mempunyai λ maks 615 nm.

Deteksi dengan penampak noda ceri – asam sulfat dan dragendorf tidak terdapat noda pada lempeng KLT. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda ceri – asam sulfat dan dragendorf.

Hasil deteksi dengan penampak noda ninhidrin menghasilkan dua noda dengan Rf 0,7430 dan 0,8362 dengan warna merah bata dan kuning. Penampak noda ninhidrin menunjukkan asam amino (berwarna lembayung, biru, kelabu), amina dan sebagai deteksi alkaloid yang umum (warna merah) (Gibbons dan Gray, 1998; Harborne, 1987), sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak diduga mengandung senyawa golongan asam amino, amina dan alkaloid. Akan tetapi, dugaan adanya senyawa tersebut perlu didukung penelitian lebih lanjut.

Ekstrak **etil asetat** dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v) deteksi dengan sinar UV λ 254 nm, secara visual terlihat 4 noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada lempeng terlihat bahwa noda pertama dan kedua berbentuk panjang. Hal tersebut menunjukkan bahwa noda belum terpisah sempurna. Pada densitogram terdapat 7 puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,10 (3) 0,20 (4) 0,32 (5) 0,34 (6) 0,50 (7) 0,64. Berdasarkan profil spektra pada UV 254 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 301 nm (2) 262 nm (3) 297 nm (4) 293 nm (5) 289 nm (6) 295 nm (7) 288 nm. Adanya perbedaan jumlah noda yang tampak pada lempeng KLT dengan jumlah puncak pada densitogram menunjukkan bahwa densitometer lebih peka mendeteksi noda dibanding pengamatan visual. Noda kedua pada lempeng KLT, pada densitogram terlihat menjadi dua puncak yaitu puncak pertama dan kedua. Begitu pula noda kedua pada lempeng KLT, pada densitogram terlihat dua puncak yaitu puncak ketiga dan keempat. Deteksi ekstrak etil asetat menggunakan sinar UV λ 365 nm terlihat dua noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terlihat empat puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,20 (3) 0,32 (4) 0,62. Berdasarkan profil spektra UV λ 365 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 308 nm (2) 297 nm (3) 290 nm (4) 289 nm.

Hasil deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat yang kemudian dipayar dengan densitometer menunjukkan tiga puncak dengan Rf 0,1306; 0,596 dan 0,8813 dengan warna coklat abu-abu, coklat hitam, dan abu-abu hitam. Penampak noda anisaldehid – asam sulfat dapat menunjukkan senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen dan lain-lain dengan noda warna merah sampai ungu pada lempeng KLT (Wagner *et al.*, 1984; Pulici *et al.*, 996). Penampak noda ini juga dapat menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, fenol, terpen dan gula (Touchstone dan Dobbins, 1983). Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda ini. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks 431 nm, 436 nm, dan 589 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda vanilin – asam sulfat terlihat tiga puncak dengan Rf 0,0613; 0,2 dan 0,78 dengan warna biru hijau, ungu biru dan biru ungu pada lempeng KLT. Penampak noda vanilin – asam sulfat menunjukkan senyawa golongan alkohol tinggi dan keton dengan adanya noda biru sampai hijau pada lempeng KLT, menunjukkan senyawa golongan asam empedu dan steroid (Touchstone dan Dobbins, 1983). Munculnya warna merah dan biru menunjukkan adanya senyawa golongan terpen (Gibbon dan Gray, 1998). Menurut Wagner *et al.* (1984), vanilin menunjukkan senyawa golongan senyawa pahit (muncul noda warna merah sampai coklat, kuning sampai coklat, atau hijau gelap), saponin, dan minyak esensial (munculnya noda warna biru, coklat atau merah). Sehingga ekstrak diduga mengandung senyawa golongan alkohol tinggi, keton, asam empedu, steroid, terpen, saponin, dan minyak esensial. Akan tetapi dugaan tersebut perlu didukung penelitian lebih lanjut. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak dengan area terbesar mempunyai λ maks 615 nm. Dua puncak yang lain tidak dipayar dengan densitometer karena keterbatasan alat.

Deteksi dengan penampak noda ceri – asam sulfat, ninhidrin dan dragendorf, tidak terdapat noda pada lempeng KLT. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda tersebut.

Pemisahan ekstrak **metanol** dilakukan dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v). Sebelumnya pernah dilakukan pemisahan dengan

menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v) namun senyawa tidak tereluasi optimal. Selain itu dilakukan pemisahan menggunakan fase gerak etil asetat : metanol (7 : 3) (v/v), tetapi hasil pemisahan tidak sebaik fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v). Selanjutnya dilakukan analisis seperti pada ekstrak media.

Deteksi ekstrak metanol dengan sinar UV λ 254 nm, secara visual terlihat dua noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terdapat tujuh puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,11 (3) 0,18 (4) 0,47 (5) 0,51 (6) 0,77 (7) 0,84. Berdasarkan profil spektra pada UV 254 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 287 nm (2) 278 nm (3) 295 nm (4) 297 nm (5) 275 nm (6) 286 nm (7) 288 nm.

Deteksi ekstrak metanol menggunakan sinar UV λ 365 nm terlihat dua noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terlihat tujuh puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,11 (3) 0,18 (4) 0,47 (5) 0,51 (6) 0,77 (7) 0,84. Berdasarkan profil spektra UV λ 365 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 287 nm (2) 278 nm (3) 295 nm (4) 297 nm (5) 275 nm (6) 286 nm (7) 288 nm.

Hasil deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat yang kemudian dipayar dengan densitometer menunjukkan dua noda dengan Rf 0,1173 dan 0,2613 dengan warna coklat hitam dan coklat abu-abu. Penampak noda anisaldehid – asam sulfat dapat menunjukkan senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen dan lain-lain dengan noda warna merah sampai ungu pada lempeng KLT (Wagner *et al.*, 1984; Pulici *et al.*, 996). Penampak noda ini juga dapat menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, fenol, terpen dan gula (Touchstone dan Dobbins, 1983). Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda ini. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks 599 nm, dan 608 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda vanilin – asam sulfat terlihat empat noda dengan Rf 0,066; 0,176; 0,324 dan 0,6413 dengan warna hijau coklat, hijau coklat, tidak berwarna dan tidak berwarna. Penampak noda vanilin – asam sulfat menunjukkan senyawa golongan alkohol tinggi dan keton dengan adanya noda

biru sampai hijau pada lempeng KLT, juga menunjukkan senyawa golongan asam empedu dan steroid (Touchstone dan Dobbins, 1983). Munculnya warna merah dan biru menunjukkan adanya senyawa golongan terpen (Gibbon dan Gray, 1998). Menurut Wagner *et al.* (1984), penampak noda vanilin juga menunjukkan senyawa golongan senyawa pahit (muncul noda warna merah sampai coklat, kuning sampai coklat, atau hijau gelap), saponin, dan minyak esensial (munculnya noda warna biru, coklat atau merah). Sehingga ekstrak diduga mengandung senyawa golongan alkohol tinggi, keton, asam empedu, steroid, senyawa pahit. Akan tetapi dugaan tersebut perlu didukung oleh penelitian lebih lanjut. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks 620 nm, 619 nm, 615 nm dan 618 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda ceri – asam sulfat terlihat dua noda dengan Rf 0,116 dan 0,244 dengan warna abu-abu pudar. Dapat dikatakan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda ini.

Deteksi dengan penampak noda ninhidrin dan dragendorf, tidak terdapat noda pada lempeng KLT. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda tersebut.

Ekstrak **diklorometana** dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v) deteksi dengan sinar UV λ 254 nm, secara visual terlihat satu noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terdapat tiga puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,51 (3) 0,58. Berdasarkan profil spektra pada UV 254 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 300 nm (2) 234 nm (3) 288 nm.

Deteksi ekstrak diklorometana menggunakan sinar UV λ 365 nm terlihat satu noda gelap yang menunjukkan noda merupakan senyawa UV aktif. Pada densitogram terlihat dua puncak dengan Rf : (1) 0,06 (2) 0,28. Berdasarkan profil spektra UV λ 365 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks : (1) 300 nm (2) 295 nm.

Hasil deteksi dengan penampak noda anisaldehid – asam sulfat yang kemudian dipayar dengan densitometer menunjukkan tiga puncak dengan Rf 0,6426; 0,753 dan 0,8826 dengan warna ungu untuk puncak ketiga dan tidak berwarna untuk noda pertama dan kedua. Warna yang tidak tampak pada lempeng

disebabkan ekstrak yang terlalu encer atau jumlah ekstrak yang ditotolkan kurang sehingga warna yang muncul tidak tampak secara visual. Penampak noda anisaldehid – asam sulfat dapat menunjukkan senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen dan lain-lain dengan noda warna merah sampai ungu pada lempeng KLT (Wagner *et al*., 1984; Pulici *et al*., 996). Penampak noda ini juga dapat menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, fenol, terpen dan gula (Touchstone dan Dobbins, 1983). Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak mengandung senyawa golongan minyak esensial, senyawa pedas, senyawa pahit, saponin, seskuiterpen, steroid, fenol, terpen dan gula. Akan tetapi dugaan tersebut perlu didukung penelitian lebih lanjut. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks 430 nm, 426 nm dan 402 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda vanilin – asam sulfat terlihat lima noda dengan Rf 0,0293; 0,2493; 0,4693; 0,6426 dan 0,8426 dengan warna hijau gelap, hijau, ungu, hijau pudar dan hijau. Penampak noda vanilin – asam sulfat menunjukkan senyawa golongan alkohol tinggi dan keton dengan adanya noda biru sampai hijau pada lempeng KLT, juga menunjukkan senyawa golongan asam empedu dan steroid (Touchstone dan Dobbins, 1983). Munculnya warna merah dan biru menunjukkan adanya senyawa golongan terpen (Gibbon dan Gray, 1998). Menurut Wagner *et al*. (1984), penampak noda vanilin juga menunjukkan senyawa golongan senyawa pahit (muncul noda warna merah sampai coklat, kuning sampai coklat, atau hijau gelap), saponin, dan minyak esensial (munculnya noda warna biru, coklat atau merah). Sehingga ekstrak diduga mengandung senyawa golongan alkohol tinggi, keton, asam empedu, steroid, senyawa pahit. Akan tetapi dugaan tersebut perlu didukung penelitian lebih lanjut. Berdasarkan profil spektra Vis pada λ 400 – 800 nm, puncak-puncak tersebut mempunyai λ maks 620 nm, 619 nm, 615 nm dan 618 nm.

Deteksi menggunakan penampak noda ceri – asam sulfat terlihat tujuh noda dengan Rf 0,1066; 0,28; 0,32; 0,5386; 0,82; 0,888 dan 0,948 dengan warna merah ungu, merah ungu, merah ungu, ungu pudar, merah muda, coklat dan ungu. Senyawa dengan Rf 0,948 mempunyai polaritas terbesar dari senyawa lainnya.

Deteksi dengan penampak noda ninhidrin dan dragendorf, tidak terdapat noda pada lempeng KLT. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat tidak mengandung senyawa yang positif terhadap penampak noda tersebut.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah:

1. Profil kromatogram ekstrak etil asetat media jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v) menunjukkan enam noda dengan RF yang sama pada deteksi dengan sinar UV λ 254 nm dan λ 365 nm dengan Rf 0,06; 0,32; 0,45; 0,49; 0,57; 0,73, dua noda dengan pereaksi anisaldehid – asam sulfat berwarna abu-abu (Rf 0,3293 dan 0,4386), satu noda dengan pereaksi vanilin – asam sulfat (Rf 0,849), dua noda dengan pereaksi ninhidrin yaitu merah bata (Rf 0,7430) dan kuning (Rf 0,8362), dengan pereaksi ceri – asam sulfat dan dragendorf tidak terdapat noda.

2. Profil kromatogram ekstrak etil asetat media jamur *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2 : 8) (v/v) menunjukkan tujuh noda dengan sinar UV λ 254 nm dengan Rf 0,06; 0,10; 0,20; 0,32; 0,34; 0,50; 0,64, empat noda pada deteksi dengan sinar UV λ 365 nm dengan Rf 0,06; 0,20; 0,32; 0,62, tiga noda dengan pereaksi anisaldehid – asam sulfat yaitu coklat abu-abu (Rf 0,1306), coklat hitam (Rf 0,596), dan abu-abu hitam (Rf 0,8813), tiga noda dengan pereaksi vanilin – asam sulfat yaitu Rf 0,0613; 0,2; 0,78, dengan pereaksi ceri – asam sulfat, ninhidrin dan dgragendorf tidak terdapat noda.

3. Profil kromatogram ekstrak metanol jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (7 : 2 : 1) (v/v) menunjukkan tujuh noda dengan Rf yang sama pada deteksi dengan sinar UV λ 254 nm dan λ 365 nm dengan Rf 0,06; 0,11; 0,18; 0,47; 0,51; 0,77; 0,84, dua noda dengan pereaksi anisaldehid – asam sulfat yaitu coklat hitam (Rf

0,1173) dan coklat abu-abu (Rf 0,2613), empat noda dengan pereaksi vanilin – asam sulfat yaitu hijau coklat (Rf 0,066), hijau coklat (Rf 0,176), tidak berwarna (Rf 0,324) dan tidak berwarna (Rf 0,6413), dua noda dengan pereaksi ceri – asam sulfat yaitu abu-abu pudar (Rf 0,116 dan 0,244). Deteksi dengan pereaksi ninhidrin dan dragendorf tidak tampak noda.

4. Profil kromatogram ekstrak diklorometana jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (8 : 2) (v/v) menunjukkan tiga noda dengan sinar UV λ 254 nm dengan Rf 0,06; 0,51; 0,58, dua puncak dengan sinar UV λ 365 nm dengan Rf 0,06 dan 0,28, tiga noda dengan pereaksi anisaldehid – asam sulfat yaitu Rf 0,6426; 0,753 dan 0,8826 (warna ungu). Deteksi menggunakan pereaksi vanilin – asam sulfat terdapat lima noda yaitu hijau gelap (0,0293), hijau (0,2493), ungu (0,4626), hijau pudar (0,6426), hijau (0,8426), tujuh noda dengan pereaksi ceri – asam sulfat yaitu merah ungu (Rf 0,1066), merah ungu (Rf 0,28), merah ungu (Rf 0,32), ungu pudar (Rf 0,5386), merah muda (Rf 0,82), coklat (Rf 0,888) dan ungu (Rf 0,948). Deteksi dengan pereaksi ninhidrin dan dragendorf tidak ditemukan noda.

7.2 Saran

1. Melakukan optimasi media dan kondisi pertumbuhan jamur endofit *Eurotium rubrum*.
2. Melakukan analisa media untuk mengetahui metabolit yang terdapat dalam media sebagai blanko.
2. Melakukan fraksinasi ekstrak dan optimasi fase gerak, serta kondisi KLT agar diperoleh pemisahan yang optimal pada saat optimasi ekstrak metabolit jamur endofit *Eurotium rubrum* dari *Aglaia odorata* Lour lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

Alexopoulos, Constantine John., 1962. ***Introductory Mycology***. Ed 2st, New York: John Wiley & Sons, Inc., p. 3 – 11.

Anonim, 1979. ***Materia Medika***. Jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 7 – 11.

Anonim, 2000. ***Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)***. Jilid I, Jakarta: Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia, hal. 11 – 12.

Anonim, 2000. ***Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat***. Cetakan pertama, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 9-12.

Anonim, 2003. ***Menuai Berkah dari Hutan***. http://www.kompas.com/kompas_cetak/0310/25/inspirasi/646114.htm.

Anonim, 2004. ***Khasiat Pacar Cina (Aglaia odorata Lour)***. http://www.iptek.net.id/ind/cakra_obat/tanamanobat_php?id=122.

Anonim, 2005. ***Natural Occurrence of Mycotoxins in Foods***. http://www/mold-help.org/definition_of_fungalbionics.htm

Anonim, 2005. ***Mold Definitions – Glossary***. http://www.black-mold.com/mold-definitions.htm

Azevedo, João Lúcio., Maccheroni, Walter Jr., Pereira, José Odair. and Araújo, Welington Luiz de., 2000. Endophytic microorganism: A Review on Insect Control and Recent Advences on Tropical Plants. ***Environmental Biotechnology***. Vol: 3, No. 1.

Carrol, G. C., 1998. Fungal Endophytes in Stems and Leaves. Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. ***Ecology***, Vol. 69, p. 2 – 9.

Clay, K., 1998. Fungal Endophytes of Grasses: A Defensive Mutualism between Plants and Jamur. ***Ecology***, Vol. 69, p. 10 – 16.

Cannell, Richard J.P., 1998. How to Approach the Isolation of Natural Product. *In*: Richard J.P. Cannell. ***Natural Product Isolation***, Totowa: Humana Press, Vol: 4, p. 1 – 50.

Entjang, Indan., 2003. ***Mikrobiogi dan parasitologi untuk akademi keperawatan dan sekolah tenaga kesehatan yang sederajat***. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti, hal. 182 – 184.

Fried, Bernard. And Sherma, Joseph., 1994. ***Thin Layer Chromatography. Techniques and Applications***. Ed 3th, New York: Marcel Dekker, Inc, page. 177-178.

Findlay, John A., Li, Guoqiang. and Penner, Peter E., 1995. Novel Diterpenoid Insect Toxins from a Conifer Endophytes. ***Journal of Natural Products***, Vol: 58, No. 2, p. 197 – 200.

Gibbons, Simon. and Gray, Alexander I., 1998. Isolation by Planar Chromatography. *In*: Richard J.P. Cannell. ***Natural Products Isolation***, Totowa: Humana Press, Inc., Vol: 4, p. 209 – 229.

Gurney, Karen A. and Mantle, Peter G., 1993. Biosynthesis of 1-n-methylalboursin by an Endophytic *Streptomyces sp*. Isolated from Perennial Ryegrass. ***Journal of Natural Products***, Vol: 56, No. 7, p. 1194 – 1198.

Heftmann, E., 1983. Cromatography. ***Fundamentals and Aplications of Chromatograpic and Electrophoretic Methods***, Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, p. A166 – A180.

Manitto, P., 1981, Metabolisme Primer dan Sekunder, *Dalam*: ***Biosintesis Produk Alami***, Penerjemah Koensoemardiyah, Semarang: IKIP Semarang Press

Morrison, George H. and Frieser, Henry., 1966. ***Solvent Extraction in Analytical Chemistry***, New Jersey: Hoffmann – La Roche, Inc., p. 79 – 101.

Ohse, Takuhito., Ohba, Shigeru., Yamamoto, Takashi., Koyano, Takashi. and Umezawa, Kazuo., 1996. Cyclopentabenzofuran Lignan Protein Synthesis Inhibitors from *Aglaia odorata* Lour. ***Journal of Natural Products***, Vol: 59, p. 650 – 652.

Pitt, J.I., Samson, R.A., Frisvad, J.C., 2000. ***Integration of Modern Taxonimic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification***. New Zeyland: Harwood Academic Publishers, p. 9 – 49.

Poole, Colin F. and Poole, Salwa K., 1994. ***Chromatography Today***, Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, p. 720.

Präve, Paul., Faust, Ume., Sittig, Wolfgang. and Sukatsch, Dieter A., 1987. ***Basic Biotechnology. A Student's Guide***. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, p. 108 – 120.

Pulici, Maurizio., Sugawara, Fumio., Koshino, Hiroyuki., Uzawa, Jun. and Yoshida, Shigeo., 1996. A New Isodrimeninol from *Pestalotiopsis sp*. ***Journal of Natural Products***, Vol: 59, p. 47 – 48.

Pulici, Maurizio., Sugawara, Fumio., Koshino, Hiroyuki., Okada, Gen., Esumi, Yasuaki., Uzawa, Jun. and Yoshida, Shigeo., 1997. Metabolites of *Pestalotiopsis spp.*, Endophytic Jamur of *Taxus brevifolia*. ***Phytochemistry***, Vol: 46, No. 29, p. 319 – 343.

Roth, Hermann J. and Blaschke, Gottfried., 1994. ***Analisis Farmasi***. Penerjemah Sarjono Kisman dan Slamet Ibrahim, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 419 – 425.

Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M. and Sullivan, T.J., 1998. Fungal Endophytes: A Continuum of Interactions with Host Plants. ***Annual Review of Ecology and Systematic***, Vol: 29, p. 319 – 343.

Schlegel, Hans G., 1994. ***Mikrobiologi Umum***. Edisi 6, Penerjemah Tedjo Baskoro, Yogtakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 176 – 181.

Silva, Gloria L., Lee, Ik-Soo. and Kinghorn, A. Douglas., 1998. Special Problems with the Extraction of Plants. *In*: Richard J.P. Cannell. ***Natural Products Isolation***, Totowa: Humana Press, Inc., Vol: 4, p. 343 – 358.

Stierle, Andrea., Strobel, Gary. and Stierle, Donald., 1993. Taxol and Taxanes production by *Taxomyces andreanae*, an Endophytic Fungus of Pacific Yew. *Science*, Vol: 260, p. 214 – 216.

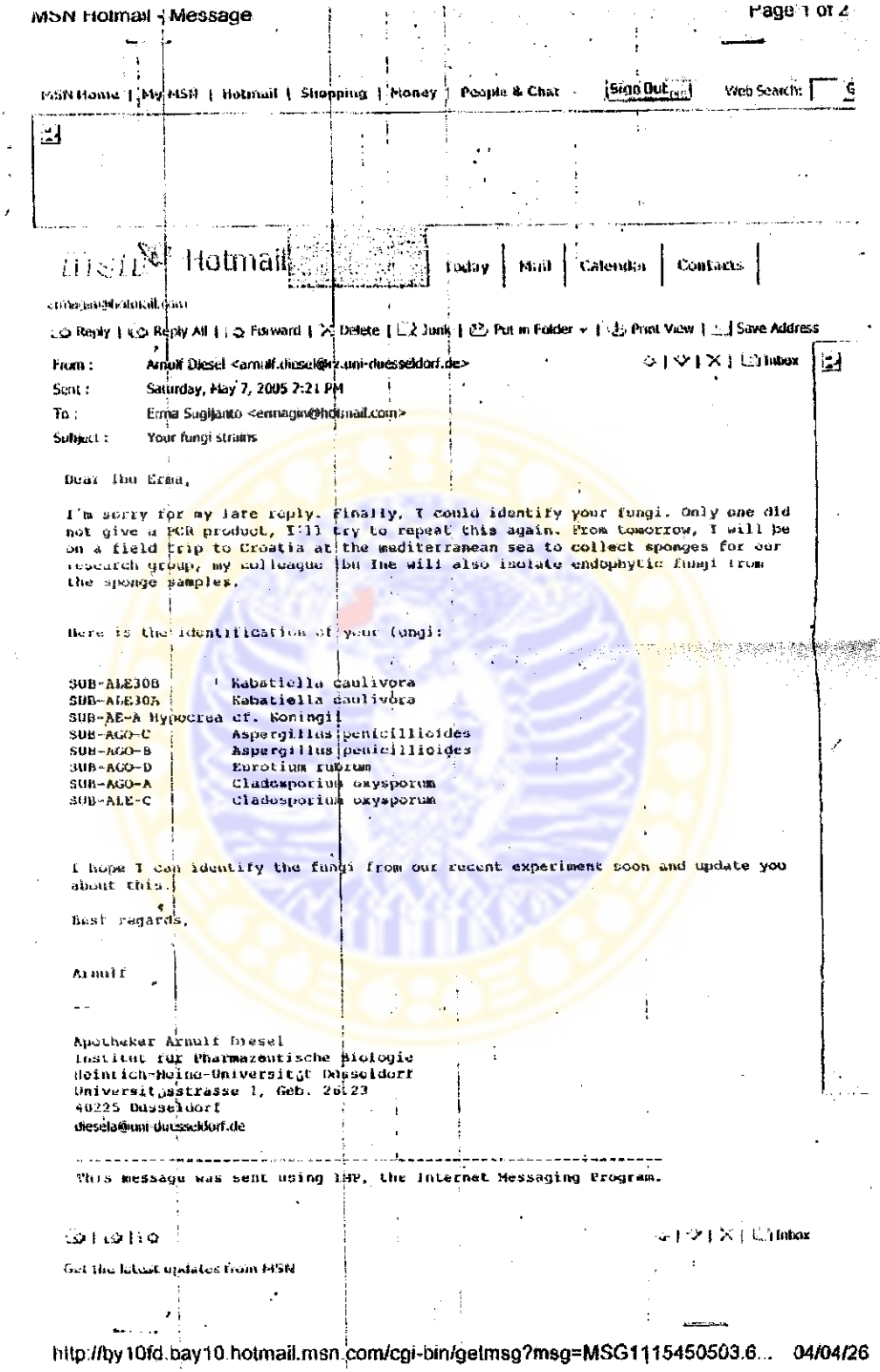
Touchstone, Joseph C. and Dobbins, Murrel B., 1983. ***Practice of Thin Layer Chromatography***, New York: John Wiley & Sons, Inc., p. 163 – 215.

Traczyk, Ewa Krysińska. and Dutkiewicz, Jacek., 2000. *Aspergillus candidus*: A Respiratory Hazard Associated with Grain Dust. ***Ann Agric Environ Med***, Vol: 7, p. 101 – 109.

Wagner, H., Bladt, S. and Zgainski, E.M., 1984. ***Plant Drug Analisis. A Thin Layer Chromatography Atlas***. Berlin: Springer – Verlag, p. 292 – 303.

Yuliani, Sri., Udarno, Laba. dan Hayani, Eni., 2003. Kadar Tanin dan Quersetin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). *Buletin TRO*, Vol: 14, No. 1, p. 17-24.

Lampiran 1



MSN Hotmail - Message

Page 1 of 2

MSN Home | My MSN | Hotmail | Shopping | Money | People & Chat | Sign Out | Web Search:

Hotmail | Today | Mail | Calendar | Contacts

Reply | Reply All | Forward | Delete | Junk | Put in Folder | Print View | Save Address

From : Arnulf Diesel <arnulf.diesel@uni-duesseldorf.de>

Sent : Saturday, May 7, 2005 7:21 PM

To : Erma Sugiarto <ermagm@hotmail.com>

Subject : Your fungi strains

Dear Ibu Erma,

I'm sorry for my late reply. Finally, I could identify your fungi. Only one did not give a PCR product, I'll try to repeat this again. From tomorrow, I will be on a field trip to Croatia at the mediterranean sea to collect sponges for our research group, my colleague Ibu Ine will also isolate endophytic fungi from the sponge samples.

Here is the identification of your fungi:

SUB-ALE30B	Kabatiella caulivora
SUB-ALE30A	Kabatiella caulivora
SUB-AE-A	Hypocrea cf. koningii
SUB-AGO-C	Aspergillus penicillioides
SUB-AGO-B	Aspergillus penicillioides
SUB-AGO-D	Eurotium rubrum
SUB-AGO-A	Cladosporium oxysporum
SUB-ALE-C	Cladosporium oxysporum

I hope I can identify the fungi from our recent experiment soon and update you about this.

Best regards,

Arnulf

--

Apotheker Arnulf Diesel
Institut für Pharmazeutische Biologie
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstrasse 1, Geb. 26.23
40225 Düsseldorf
diesela@uni-duesseldorf.de

This message was sent using IHP, the Internet Messaging Program.

Inbox

Get the latest updates from MSN

http://by10fd.bay10.hotmail.msn.com/cgi-bin/getmsg?msg=MSG1115450503.6... 04/04/26

Lampiran 2

KOMPOSISI MEDIA

1. **Komposisi Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)**

Potato infusion	4,0 (g/L)
Glucose	20,0 (g/L)
Agar	15,0 (g/L)

Campur 39 gram *Potato Dextrose Agar* (Merck, Darmstadt, Germany) dalam 1 L air suling dengan pemanasan. Campuran bahan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. **Komposisi Media *Malt Extract Agar* (MEA)**

Agar	15,00 (g/L)
Dextrin	12,75 (g/L)
Gliserol	2,35 (g/L)
Maltosa	2,75 (g/L)
Peptone	0,78 (g/L)

Campur 6 g *Malt Extract Agar* dan 6 g agar-agar dalam 400 mL air suling, panaskan hingga diperoleh larutan jernih dan strerilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit.

3. **Komposisi Media Cair *Malt Extract Agar* (MEA)**

Larutkan 15 g *Malt Extract Agar* dalam 250 mL air suling, panaskan hingga terbentuk larutan jernih, sterilkan dengan autoklat pada 121oC selama 15 menit.

4. **Komposisi Media *Saboroud Dextrose Agar***

Mycological peptone	10,0 (g/L)
Glucose	40,0 (g/L)
Agar	15,0 (g/L)

Campur 65 gram *Saboroud Dextrose Agar* dalam 1 L air suling, panaskan hingga larut dan sterilisasi dengan autoklf pada 121°C salama 15 menit.

Lampiran 3

KOMPOSISI REAGEN PENAMPAK NODA

1. Anisaldehid–asam sulfat

Asam sulfat pekat	1 ml
Anisaldehid	0,5 ml
Asam asetat glacial	50 ml

2. Vanilin

Vanilin	3 g
Asam sulfat pekat	3 ml
Alkohol 96%	94 ml

3. Dragendorf

Larutan A:

Bismuth sub-nitrat	0,85 g
Asam asetat	10 ml
Air suling	40 ml

Larutan B:

Kalium iodida	8 g
Air suling	20 ml

4. Ninhidrin

Ninhidrin	30 g
Asam asetat 98%	0,3 ml
Metanol	10 ml