

**BIOACTIVITY ASSAY OF COMPOUND (HEXA-TETRA CONTANE)
FROM *Callyspongia pseudoreticulata* AS ANTIBACTERIAL AGENT
OF “PENYAKIT LAYU” (*Ralstonia solanacearum*) IN POTATO PLANT**

**Uji Bioaktivitas Senyawa (*Heksa-Tetra Kontana*) dari *Callyspongia pseudoreticulata*
Sebagai Anti Bakteri Penyakit Layu (*Ralstonia solanacearum*) pada Tanaman Kentang**

M. Nurdin*

*Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Makassar Islamic University, South Sulawesi*

*Email: nurdin.kim@gmail.com

Received: October 2014 Published: January 2015

ABSTRACT

Sponge is one of the marine biota that known have a high bioactivity potential and contain secondary metabolites that can be used as antibiotic and medicinal materials. The aim of this research was to bioactivity assay of hexa-tetra contane compound contained in *Callyspongia pseudoreticulata*. Antibacterial tested has been carried out for *Ralstonia solanacearum* in potato plant. The results showed that 400 mg/ml of compound has the best inhibitory diameter of “Penyakit Layu” bacterial (*Ralstonia solanacearum*) was 21.33 mm and significantly different to other concentration.

Keyword: *heksa-tetra kontana; Ralstonia solanacearum*

PENDAHULUAN

Callyspongiapseudoreticulata merupakan salah satu spons yang banyak ditemukan di wilayah perairan Indonesia. Spons ini adalah salah satu biota laut yang banyak mengandung senyawa metabolit sekunder. Isolat dari spons ini dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba dan anti parasit, dan beberapa golongan senyawa metabolit sekundernya telah berhasil diidentifikasi seperti terpenoid, alkaloid, steroid, dan hidrokarbon (Achmad, 2004).

Sejauh ini, penelitian eksplorasi senyawa metabolit sekunder dari spons *Callyspongia pseudoreticulata* belum banyak dikembangkan, utamanya penentuan struktur sebagai langkah yang sangat menentukan dalam pengembangan analisis jalur biogenetik yang merupakan petunjuk sintesis senyawa baku dalam industri. Karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengungkap struktur molekul metabolit sekunder dan sifat bioaktivitasnya yang diharapkan dapat dimanfaatkan dalam berbagai tujuan khususnya penanggulangan penyakit pada

budidaya tanaman yang ada pada spons *Callyspongia pseudoreticulata* untuk menghasilkan data yang maksimal sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai manfaat dan identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang ada pada spons tersebut yang bisa dimanfaatkan pada tanaman pangan, salah satu penyakit yang sering menyerang tanaman adalah bakteri *Ralstonia solanacearum* utamanya pada tanaman kentang.

Kentang merupakan komoditas hortikultura penting di Indonesia yang saat ini menjadi bahan pangan alternatif karena memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber karbohidrat yang kaya protein menunjang program diversifikasi pangan maupun sebagai bahan baku industri olahan. Tanaman ini menjadi salah satu komoditi yang mendapat prioritas pengembangan karena kebutuhan kentang cenderung meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk, meningkatnya pendapatan dan berkembangnya industri pengolahan makanan. Keadaan tersebut mengakibatkan bertambah luasnya pertanaman

kentang dan meningkatnya permintaan benih kentang yang bermutu dan berkualitas (Nurdin, 2014). Dua jenis produk olahan yang menunjukkan kecenderungan semakin populer dalam pola konsumsi masyarakat adalah kentang goreng (*French fries*) dan keripik kentang (*potato chips*) (Adiyoga Rachman, Ali dan Irfansyah, 1999).

Kendala utama produksi kentang di negara-negara tropis termasuk Indonesia adalah adanya penyakit-penyakit berbahaya yang diketahui berakibat terhadap penurunan hasil yang nyata dan terbatasnya penggunaan benih kentang bermutu oleh petani. Penyakit layu bakteri disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum*, dapat menimbulkan kerugian yang besar, karena dapat mengurangi kualitas dan kuantitas kentang bahkan dapat mematikan tanaman (Nurdin, 2014).

Pada umumnya serangan terjadi pada tanaman yang berumur lebih dari enam minggu. Mula-mula tanaman menjadi layu, yang dimulai dari pucuk menjalar ke bawah, sampai seluruh tanaman layu dan akhirnya mati. Jika batang tanaman dipotong, maka akan terlihat pembuluh yang berlendir. Umbi kentang yang terserang akan berwarna kecoklatan dan berbau busuk. Salah satu cara pengendaliannya dengan pemilihan bibit yang baik, rotasi tanaman, pengaturan tata air dan udara yang baik di sekitar tanaman, namun sampai saat ini belum ditemukan produk yang ampuh untuk mengendalikan penyakit tersebut. Maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut khususnya pada sponge *Callyspongia pseudoreticulata* untuk mengetahui bioaktivitasnya terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*.

Salah satu senyawa yang ditemukan dari *Callyspongia pseudoreticulata* adalah senyawa

heksa-tetra kontana (Gambar 1). Senyawa ini adalah kristal yang berwarna putih padat dengan titik leleh 79–80 °C dan memiliki bioaktivitas yang tinggi terhadap uji bakteri *Artemia salina* dengan LC_{50} 61,5 µg/ml.

Tujuan dari penelitian ini adalah Mengetahui pengaruh konsentrasi senyawa heksa-tetra kontana terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. Bagian A berisi pendahuluan, bagian B metodologi penelitian, bagian C hasil dan diskusi dan bagian D berisi Kesimpulan.

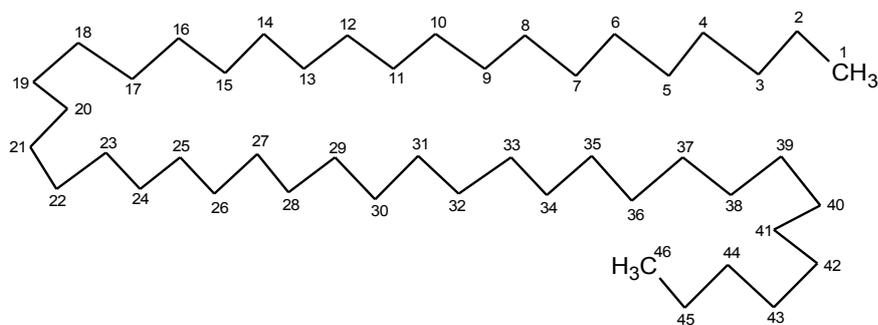
METODOLOGI

Pembuatan Media

Nutrien Agar (NA) yang digunakan sebagai media, dilarutkan masing-masing dengan menggunakan akuades steril dengan konsentrasi 20 g/l selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Masing-masing sebanyak 5 ml media yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang akan digunakan sebagai media agar miring untuk peremajaan kultur mikroorganisme dan sebanyak 10 ml ke dalam cawan petri untuk pengujian aktivitas terhadap mikroba. Media *Nutrien Agar* (NA) untuk pertumbuhan bakteri.

Kultur Mikroorganisme Uji

Kultur mikroba yang digunakan diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Jurusan Fakultas Pertanian UNHAS Makassar. *R. solanacearum* merupakan mikroba yang digunakan untuk pengujian aktivitas. Kultur bakteri diremajakan dalam media agar miring pada suhu kamar, bakteri diremajakan selama dua hari.



Gambar 1. Senyawa 3-asetil-12-oleanen-28-oat (3-acetyl-12-oleanen-28-oic acid)

Persiapan ekstrak dan Senyawa

Sebanyak 5 mg senyawa murni yang telah diisolasi dilarutkan dalam 0,5 mL metanol dengan konsentrasi 10.000 µg/ml dan disterilkan dengan penyinaran UV selama 30 menit. Sejumlah kertas saring steril (diameter 6 mm) dimasukkan ke dalam larutan senyawa tersebut.

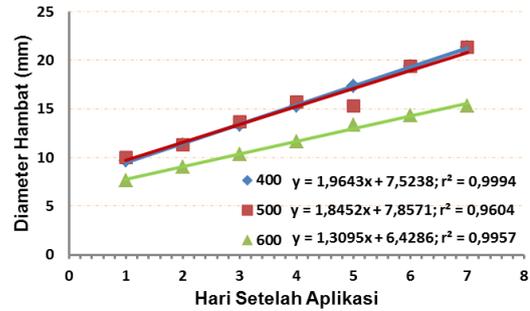
Uji Aktivitas Terhadap Bakteri

Kultur bakteri disuspensikan dalam larutan fisiologis NaCl 0,85% steril. Kemudian masing-masing kultur bakteri diteteskan di atas permukaan media NA padat dalam cawan petri steril, selanjutnya disebar pada seluruh permukaan media. Kemudian tiga buah kertas saring yang telah mengandung senyawa murni dan sebuah kertas saring sterill yang hanya dibasahi dengan metanol yang digunakan sebagai kontrol, dimasukkan kedalam 2 cawan petri yang berisi biakan *R.solanacearum*. Pengerjaan dilakukan dalam enkas, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Daerah bening di sekitar kertas cakram menunjukkan uji positif, diameter daerah bening yang diperoleh diukur dengan menggunakan mistar dan dibandingkan dengan standard tetrasiklin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa *Heksa-tetra kontana* terhadap bakteri uji *Ralstonia solanacearum*, dengan variasi konsentrasi pada ketiga senyawa tersebut masing-masing adalah 400 mg/ml, 500 mg/mL dan 600 mg/ml, serta waktu inkubasi 1 – 7 hari. Hasil pengukuran bioaktivitas senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

tertinggi pada konsentrasi 400 mg/ml dan waktu inkubasi 7 hari dengan diameter hambat 21,33 mm, dan daya hambat terendah pada konsentrasi 600 mg/ml dan waktu inkubasi 1 hari dengan diameter hambat 7,66 mm.



Gambar 2. Grafik regresi hubungan antara hari setelah aplikasi senyawa *Heksa-tetra kontana* dengan diameter hambat terhadap *R. Solanacearum*

Analisis regresi pada gambar 2 memperlihatkan bahwa hari 1 sampai 7 setelah aplikasi berkorelasi positif secara linier terhadap diameter hambat. Makin bertambah hari setelah aplikasi makin tinggi diameter hambat dan mengikuti persamaan masing-masing $y = 1,9643x + 7,5238; r^2 = 0,9994$ pada konsentrasi 400 mg/ml, $y = 1,8452x + 7,8571; r^2 = 0,9604$ pada konsentrasi 500 mg/ml, $y = 1,3095x + 6,4286; r^2 = 0,9957$ pada konsentrasi 600 mg/ml.

Menurut Wattimena (1981), senyawa bersifat antibakteri atau antijamur, apabila senyawa antimikroba tersebut memiliki rata-rata diameter hambat > 14 mm. Berdasarkan hasil uji antibakteri maka dapat disimpulkan bahwa senyawa *hekse-tetra kontana* berpotensi sebagai

Tabel 1. Rata-rata hasil uji bioaktivitas senyawa *Heksa-tetra kontana* terhadap uji antibakteri dengan bakteri uji *Ralstonia solanacearum*

Konsentrasi (mg/mL)	Rata-rata Diameter Hambat (mm) Pada Hari Ke-						
	1	2	3	4	5	6	7
400	9,66	11,33	13,33	15,33	17,33	19,33	21,33
500	13,33	11,33	13,66	15,66	18,88	20,33	21,00
600	7,66	9,00	10,33	11,66	13,33	14,33	15,33

Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa *hekse-tetra kontana* terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* menunjukkan daya hambat

antibakteri karena memiliki aktivitas dengan diameter hambat yang lebih besar dari rata-rata diameter hambat antimikroba.

Keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti fenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan asam organik dalam ekstrak dapat bertindak sebagai antimikroba (Bonjar, et al. 2004). Sifat antimikroba dari steroid karena steroid menyebabkan terjadinya kebocoran pada liposom. Sedangkan aktivitas antimikroba dari senyawa fenolik mungkin menyebabkan; degradasi dinding sel, berinteraksi dan mengganggu membran sitoplasma, merusak protein membran, merusak mekanisme enzimatik untuk produksi energi dan metabolisme, serta mengubah serapan hara dan transpor elektron. Senyawa golongan tanin akan mengikat protein yang kaya prolin dan mengganggu proses sintesis protein (Nurdin, 2014).

Setiap jenis bakteri memiliki sensitifitas yang berbeda terhadap zat antimikroba, karena masing-masing bakteri memiliki struktur dinding sel yang berbeda sehingga efek antibakteri terhadap bakteri juga berbeda. Bakteri Gram positif hanya memiliki satu lapisan yang mengandung peptidoglikan, lapisan tipis asam teikoat dan teikuronat sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5 -10% peptidoglikan, selain itu juga terdiri dari protein, lipopolisakarida dan lipoprotein. Bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan lipid (*bilayer lipid*) yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). sehingga zat antimikroba lebih mudah menembus ke dalam sel bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif.

Rusaknya dinding sel pada bakteri diduga karena adanya reaksi antara senyawa antimikroba dari ekstrak dengan dinding sel bakteri. Mekanisme kerja zat antimikroba diantaranya adalah :

1. Merubah permeabilitas dari dinding sel, sehingga mengakibatkan keluarnya nutrien atau terjadinya difusi metabolit esensial.
2. Spektrum luas, sempit dan ada yang hanya efektif terhadap mikroorganisme tertentu.
3. akumulasi asam lemak maupun asam organik dari bahan (antimikroba).
4. Senyawa aktif dapat bereaksi dengan dinding sel bakteri dan membran sel.
5. Tekanan osmotik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari spons *Callyspongia pseudoreticulata* yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Perlakuan senyawa *Heksa-tetra kontana* menghasilkan diameter hambat terhadap bakteri penyakit layu (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman kentang. Pada senyawa ini dengan konsentrasi 400 mg/ml memperlihatkan diameter hambat terbaik pada bakteri penyakit layu (*Ralstonia solanacearum*) yaitu 21,33 mm dan berbeda sangat nyata dengan konsentrasi lainnya

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. (2004). *Empat Puluh Tahun dalam Kimia Organik Bahan Alam Tumbuhan Tropika Indonesia, Rekoleksi dan Prospek. Bulletin of the Indonesian Society of Natural Product Chemistry*. 4(2): 50-54.
- Amir, I. dan Budianto, A. 1996. *Mengenal Spons Laut (Demospongia) Secara Umum*. Oseana. LIPI Jakarta. 21(2):15-30.
- Nurdin, M. (2014). *Disertasi : Isolasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder dari Spons (Callyspongia pseudoreticulata) Sebagai Antibakteri Penyakit (Ralstonia solanacearum) pada Tanaman Kentang*. UNHAS Makassar.
- Nurdin, M. dkk. (2014). *Structural Elucidation of Secondary Metabolites in Sponge (Callyspongia pseudoreticulata) with N-Hexane Extract*. International Journal of Agriculture Systems Vol. 2 Issue 1 : 69-75.
- Rahmaniar. 1992. Suatu Pengantar Oseana. *Toxin Marine*. 62(1): 1-11.
- Razak, A.R. dan Ridhay, A. 2004. *Penepisan Senyawa AntiMikroba dari Beberapa Jenis Bunga Karang (Porifera) Secara Kromatografi Lapis Tipis Bioatografi*. Laporan Hasil Penelitian Dasar Nomor 89/P2IPT/DPPM/P10/III/2004. Kerjasama Departemen Pendidikan Nasional dan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tadulako.
- Rusli. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa aktif Antimikroba Beberapa Spons dari Perairan Pulau Samalona*. Tesis tidak diterbitkan. Makassar: Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

- Sakai, R., Higa, T., and Jechoord, C. 1992. Manzamin A, *A Novel Antitumor Alkaloid from a Sponge*. *J. Am. Chem. Soc.*, 11(1): 8925-8927.
- San, T.W. 1993. Toxicity Testing Using The Brine Shrimp, *Artemia salina*, *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation and Structural Determination*, Chi Press, Inc., London.
- Satari, R. 2003. *Produk Bahan Alam Laut sebagai Lead Compound untuk Farmasi dan Pertanian*. Makalah disajikan dalam Seminar Sehari Prospektif Baru dalam Drug Discovery, Makassar, 26 Oktober 2003.
- Scheuer, P.J. 1978. *Marine Natural Product: Chemical and Biological Perspectives*. Vol. II. Academic Press, Inc. New York, USA.
- Schemitz, F.J., Bowden, B.F., and Toth, S.I. 1993. *Antitumor and Cytotoxic Compounds from Marine Organism, Pharmaceutical and Bioactive Natural Products*. New York: Plenum Press.
- Soest, R.W.M.van. 1989. *The Indonesian Sponges Fauna, A Status Report Netherlands, Journal of Sea Research*, 23 : 223-230.
- Soest, R.W.M.van, Kempen, T.M.G.van, and Breakman, J.C. 1994. *Sponges in Time and Space: Biology, Chemistry, Paleontology*. A.A Balkema/Rotterdam.
- Suriani. 2006. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Spon Callyspongia sp.* Tesis Tidak diterbitkan. Makassar: Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Usman, H. 2005. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Cryptocarya costata*. Disertasi tidak diterbitkan. Makassar: Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Usman, H. 2012. *Dasar-dasar Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar : Dua Satu Press.
- Voodg, N.J. de and Soest, R.W.M.van. 2002. *Indonesian Sponges of Genus Petrosia Vormae*, Amsterdam, University of Amsterdam.
- Wattimena, J.R. 1991. *Farmakodinami dan Terapi Antibiotik*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Hal: 36.
- Wiryowidagdo, S. dan Moka, W. 1995. *Identifikasi dan Eksplorasi organisme laut Sebagai Sumber Bahan Obat Baru di Kepulauan Supermonde*.