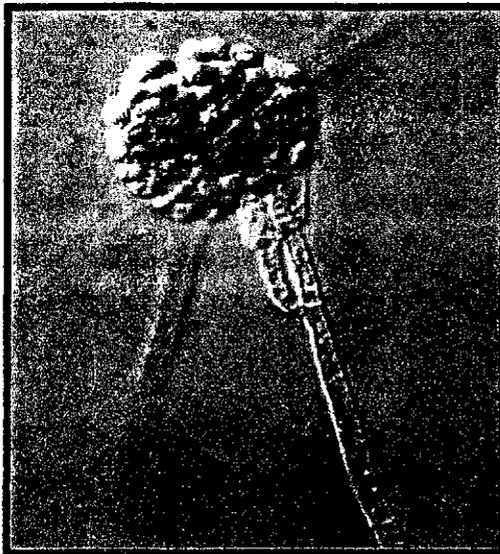


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum *Gliocladium sp*

Gliocladium sp merupakan jamur filamen yang tersebar luas di tanah dan pelapukan tumbuhan. *Gliocladium sp* hidup secara saprofit dan mycoparasit serta belum dilaporkan sebagai agen penyebab penyakit pada manusia atau hewan. Koloni tumbuh cepat, berbulu halus di tekstur, putih pada awalnya dan menjadi pucat hingga hijau tua dengan sporulasi.



Gambar 1. *Gliocladium sp.*

Klasifikasi dari *Gliocladium sp.* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi
Phylum : Ascomycota
Kelas : Ascomycota
Ordo : Hypocreales
Family : Hypocreaceae
Genus : *Gliocladium*
Spesies : *Gliocladium sp*

Salah satu kekayaan hayati yang dimiliki Indonesia yakni isolat *Gliocladium sp.* T.N.C73 yang menjadi koleksi Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Riau yang diperoleh dari hasil isolasi tanah perkebunan coklat di

Kecamatan Rumbai, Kota Pekanbaru, Riau (Nugroho *et al.*,2006). Jamur ini diisolasi karena kemampuannya menghasilkan kitinase, yakni suatu enzim yang mampu menghidrolisis kitin yang terdapat pada dinding sel jamur patogen kemampuan ini yang menjadikan *Gliocladium sp.* T.N.C73 sebagai salah satu agen pengendali hayati (biokontrol) di bidang pertanian.

Gliocladium sp. dan kerabat dekatnya *Trichoderma sp.* menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder. Suatu penelitian telah menganalisis produksi antibakteri dan antifungi terhadap *Trichoderma viride* TNJ63, *Trichoderma harzianum* TNC52 dan *Gliocladium roseum* T.N.C73 dengan metode cakram dan overlay, dan ternyata *Gliocladium* dan *Trichoderma* tersebut mampu menghasilkan antibiotik. Dari spesies *Gliocladium* yang lain, secara tidak sengaja ditemukan bahwa *Gliocladium sp.* T.N.C73 dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak mengandung kitin, hal ini membuktikan bahwa sifat biokontrol *Gliocladium sp.* T.N.C73 tidak hanya disebabkan oleh kitinase yang dihasilkan (Nugroho *et al.*,2006).

Ada beberapa kemungkinan senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh *Gliocladium sp* dan kerabat dekatnya, yang dikelompokkan ke dalam dua macam golongan senyawa yang berbeda, yaitu :

1. Peptaibol

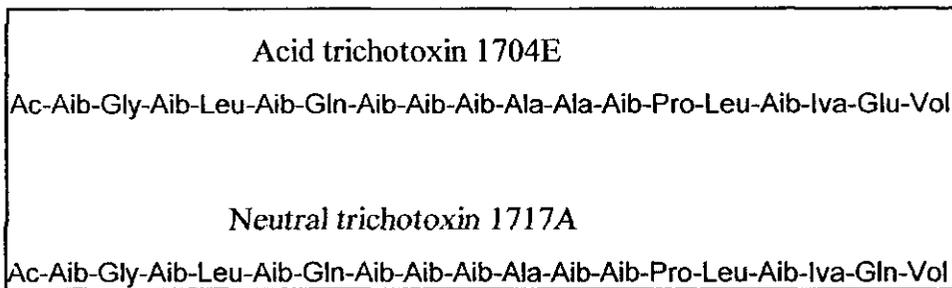
Peptaibol merupakan peptida hidrofobik linier yang memiliki berat molekul 500 – 2200 Da yang terbagi menjadi 2 ukuran, yakni ukuran pendek (7 – 11 residu) dan panjang (18 – 20 residu) (Kubicek *et al*, 2007). Peptaibol terdiri dari beberapa asam amino non-protein seperti α -aminoisobutirat (Aib) dan isovaline (Iva), ujung-N yang terasetilasi dan suatu amino alkohol pada ujung-C (Chutrakul, 2008).

2. Senyawa organik polisiklik

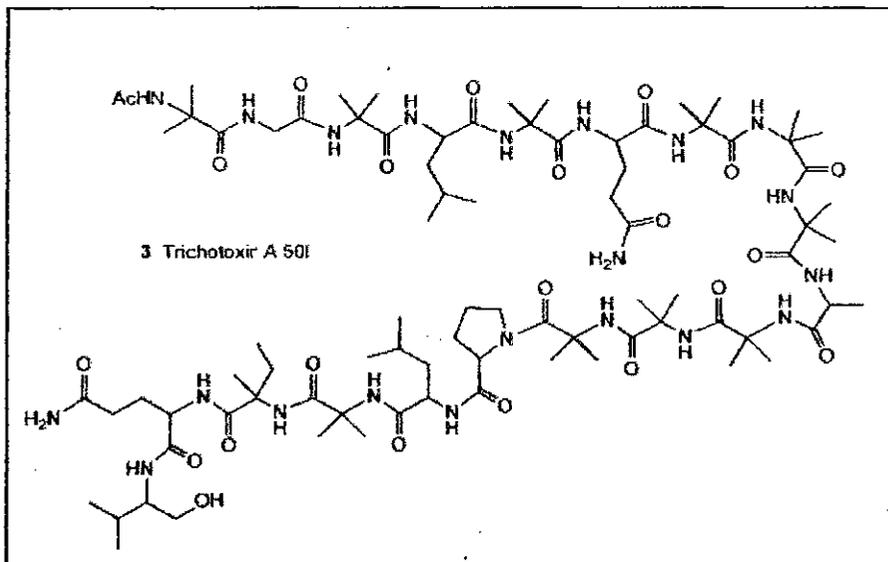
Senyawa ini seperti gliotoksin dan metiltioglotoksin yang ditemukan oleh Lee dkk (2001). Senyawa organik lainnya seperti trihodermamida dan gliotida (Nugroho *et al.*,2006).

2.2 Peptaibol

Nama "peptaibol" terbentuk dari nama – nama komponennya: **peptida**, **Aib** dan alkohol amino. Peptaibol merupakan peptida hidrofobik linier yang memiliki berat molekul 500 – 2200 Da yang terbagi menjadi 2 ukuran, yakni ukuran pendek (7 – 11 residu) dan panjang (18 – 20 residu) (Kubicek *et al*, 2007). Peptaibol terdiri dari beberapa asam amino non – protein seperti α -aminoisobutirat (Aib) dan isovaline (Iva), ujung-N yang terasetilasi dan suatu amino alkohol pada ujung-C (Chutrakul *et al*, 2008). Sekuens asam amino dari peptaibol ditunjukkan berdasarkan **Gambar 2**.



Gambar 2. Sekuens peptaibol yang ditemukan oleh Chutrakul *et al*, 2008

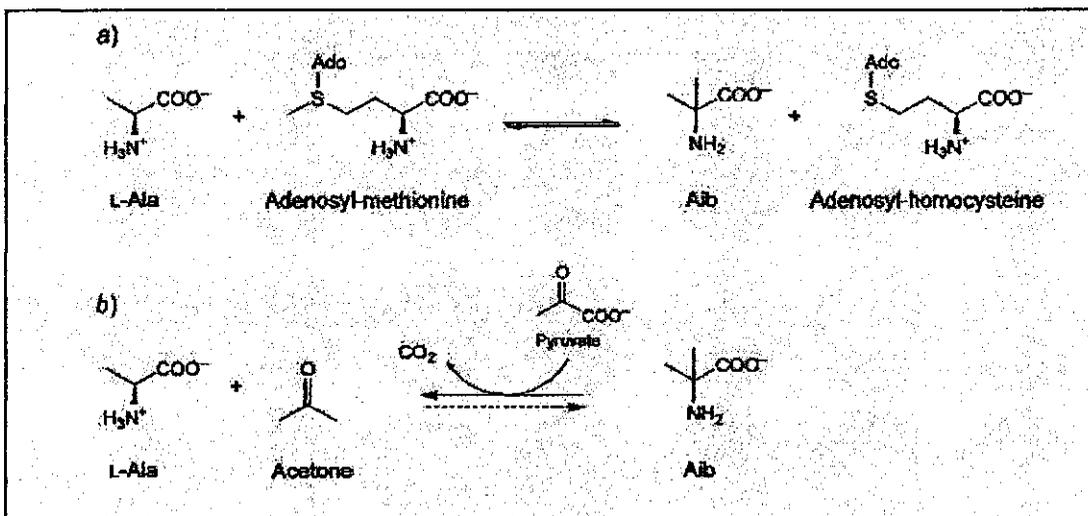


Gambar 3. Trichotoxin A50 (Chugh *et al*, 2002; Daniel and Filho, 2007)

Pada saat ini lebih dari 307 peptaibol yang telah disusun dalam suatu *database* yang berisi informasi meliputi urutan dan struktur peptaibol (Daniel and

Filho, 2007). Salah satunya trichotoxin A50 (**Gambar 3**) yang telah disimpan dalam *database* (<http://peptaibol.cryst.bbk.ac.uk/structure.htm>). Peptaibol yang dihasilkan sangat heterogen, baik dalam ukuran dan komposisi asam amino pada beberapa tempat dalam urutannya. Peptaibol hasil isolasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus stearothermophilus* (Chutrakul *et al*, 2008).

Peptaibol sangat kaya akan dengan α -aminoisobutirat (Aib) dan isovaline (Iva). Penambahan α -aminoisobutirat (Aib) secara ekstraseluler dan bukan asam amino lain, juga akan meningkatkan laju pembentukan peptaibol. Hal ini disebabkan mikroba penghasil peptaibol harus mensintesis Aib dari asam amino Alanin (Ala) terlebih dahulu. Terdapat beberapa hipotesis biosintesis dari Aib yang akan menjadi peptaibol (**Gambar 4**).



Gambar 4. Hipotesa biosintesis Aib (Kubicek *et al*, 2007)

2.3 Mikroorganisme

Mikoorganisme adalah makhluk hidup yang memiliki ukuran yang sangat kecil dan hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Berdasarkan banyak selnya mikroorganisme terbagi menjadi 2 jenis, yakni beberapa sel (multiseluler) dan satu sel (uniseluler). Organisme yang termasuk dalam golongan mikroorganime adalah bakteri, archaea, fungi (kapang dan khamir), alga mikroskopis dan protozoa

Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme golongan prokariot yang memiliki bentuk yang bermacam – macam, seperti bulat (coccus), batang

(bacil) dan spiral. Bakteri digolongkan menjadi 2 berdasarkan pewarnaan dinding selnya, yakni bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif mengandung lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta asam teikoat yang mengandung alkohol dan fosfat. Pada bakteri Gram negatif hanya mengandung satu atau beberapa lapisan peptidoglikan dan membran luar. Pada bakteri Gram negatif tidak mengandung asam teikoat karena hanya mengandung sejumlah kecil peptidoglikan, makanya sel bakteri Gram negatif lebih mudah mengalami kerusakan mekanis. Terdapat daerah periplasma, yakni daerah antara peptidoglikan dan membran luar yang mengandung enzim degradasi konsentrasi serta protein –protein transpor (Pratiwi, 2008).

Sesuai dengan penelitian, dibawah ini jenis mikroorganisme yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri, yakni:

1. *Pseudomonas syringae*
2. *Escherichia coli*
3. *Bacillus subtilis*

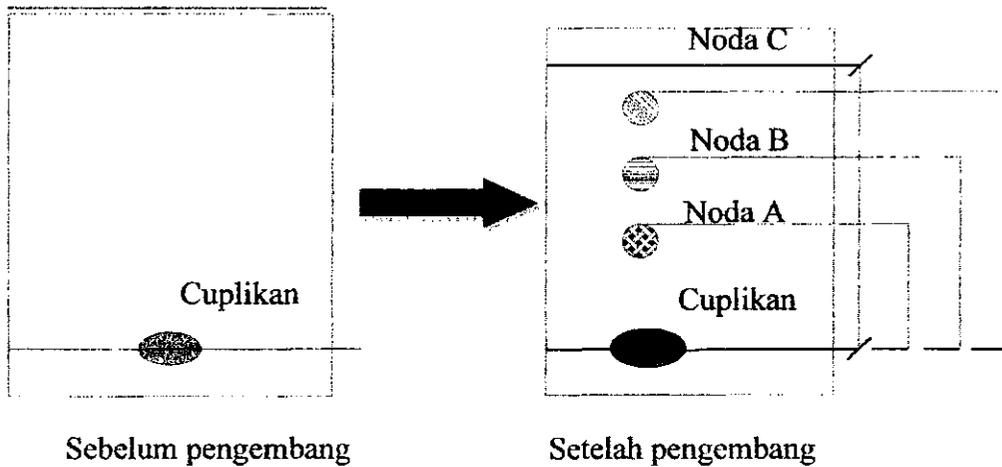
2.4 Kromatografi

2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen), komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan.

Pelaksanaan kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah lapis tipis silika atau alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Gel silika (atau alumina) merupakan fase diam. Fase diam untuk kromatografi lapis tipis sering kali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendarflour dalam sinar ultra violet. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai. Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis yang mana pelarutnya akan bergerak naik ke atas dipengaruhi oleh gaya kapiler (Gritter *et al*, 1991)





Gambar 5. Proses pemisahan campuran menggunakan KLT.

Faktor penting dalam perhitungan migrasi / pergerakan senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis adalah nilai R_f (*Retardation factor*) yang dinyatakan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh noda dari awal}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut dari awal}}$$

Nilai R_f selalu merupakan perbandingan dan tidak pernah lebih dari pada 1 dan sangat bergantung dengan pelarut yang digunakan.

Faktor – faktor yang mempengaruhi pergerakan noda pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT), yakni :

1. Senyawa kimia yang akan dipisahkan.
2. Ketebalan dan kerapatan dari fase diam.
3. Pelarut yang harus murni serta perbandingan campuran yang akan digunakan harus diperhatikan.
4. Banyaknya sampel yang ditotol.
5. Derajat kejenuhan uap dalam bejana.
6. Suhu yang digunakan harus tepat untuk mencegah perubahan – perubahan dari pelarut karena penguapan.
7. Kesetimbangan harus terjadi dalam KLT agar pergerakan pelarut tidak cekung.

2.4.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) preparatif

Menurut Yuharmen dan Syafril (2003), KLT preparatif terdiri dari suatu plat kaca berukuran yang biasa digunakan 20x20 cm; 20x10 cm; 20x5 cm. Plat tersebut harus dibersihkan dengan air dan aseton untuk menghilangkan pengotor yang terdapat dipermukaan plat kaca. Campuran pelapis (**Tabel 1**) sebanyak 30 g dibuat bubuk dengan air atau pelarut lain kemudian dibuat dengan ketebalan lapisan yakni 0,5 – 2,0 mm dan disimpan dalam desikator.

Tabel 1. Perbandingan bahan pelapis dengan pelarut

Bahan	Bahan : Air
Silika Gel	1:1.5
Silika Gel G/GF	1:2
Alumina	1:1
Alumina Oksida G	1:2
Selulosa MN 300	1:5
Selulosa MN 300G	1:6
Poliamida	1:9
	(Kloroform-metanol 2:3)

2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba merupakan suatu teknik penentuan farmakokinetik obat pada hewan dan manusia, serta memonitor dan mengontrol kemoterapi suatu obat. Senyawa antimikrobal adalah suatu substansi kimia yang diperoleh atau dihasilkan oleh mikroorganisme dan dalam jumlah yang sedikit mempunyai daya penghambat kegiatan mikroorganisme yang lain. Dikenal beberapa macam senyawa antimikrobal kimiawi diantaranya senyawa antimikrobal yang penggunaannya berkaitan erat dengan produk makanan dan senyawa antimikrobal yang digunakan sebagai obat-obatan, termasuk dalam kelompok ini adalah antibiotik (Pratiwi, 2008).

Berbagai jenis antibiotik memiliki perbedaan pada susunan kimia dan cara kerjanya. Antibiotik yang pertama dikenal adalah penisilin, suatu zat yang dihasilkan oleh *Penicillium*, yang banyak digunakan sebagai pembunuh bakteri.

Metode difusi agar (uji Kirby dan Bauer)

Suatu tes antimikroba yang dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Cara kerjanya yakni menempatkan agen anti mikroba pada suatu piringan yang kemudian diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme uji yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar.

Uji aktivitas antibakteri dari isolat peptaibol yang terlarut dalam metanol dilakukan dengan volume 20 hingga 100 μL pada kertas cakram 3 mm. Cawan kemudian diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C dalam inkubator dengan membalikkan cawan petri. Diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri (zona bening) diukur setelah diinkubasi selama 24 jam (Chutrakul *et al*, 2008).