

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil

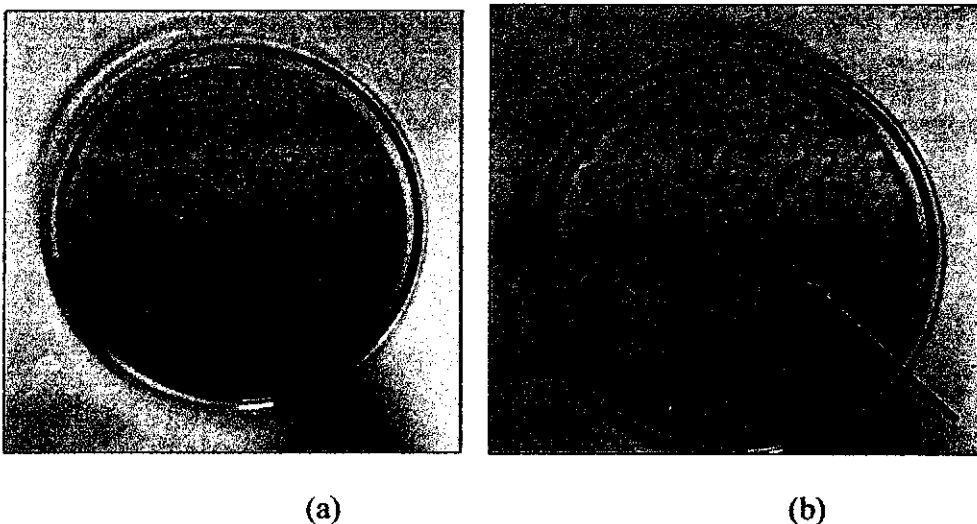
Pada laporan kemajuan ini hasil yang didapat hanya menginokulasi jamur *Gliocladium* sp T.N.C73 pada media MEA dengan tambahan AIB hingga mengumpulkan ekstrak kasar pada hari ke - 3, 15 dan 21.

##### 4.1.1 Pengamatan pertumbuhan jamur

Hasil pengamatan pertumbuhan *Gliocladium* sp. T.N.C73 dari proses inokulasi ke media agar miring ditumbuhi spora pada hari kedua. Spora ini kemudian membentuk konidiofora dewasa pada hari – hari berikutnya. Jamur *Gliocladium* sp. T.N.C73 koloninya berwarna putih dan terdapat embun. Setelah membentuk konidiofora, jamur ini diinokulasikan pada medium MEA dengan dan tanpa AIB.

##### 4.1.2 Produksi peptaibol pada media produksi dengan atau tanpa asam amino isobutirat (aib)

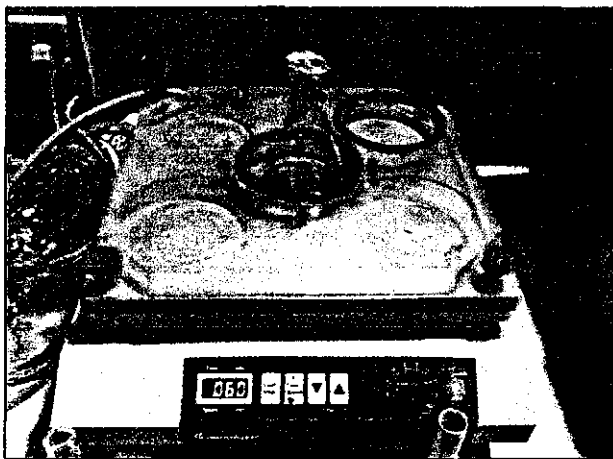
Sebanyak  $1 \times 10^8$  spora disebar ke dalam 3% *Malt Extract Agar* (MEA) dengan atau tanpa penambahan  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$   $\alpha$ -aminoisobutirat (Aib), kemudian diinkubasi pada suhu kamar (Gambar 6a).



Gambar 6. a) Media MEA yang baru di inokulasi jamur *Gliocladium* sp. T.N.C73  
b) Miselia yang telah siap untuk dipanen

Selama 21 hari miselia yang tumbuh dari satu cawan petri dipanen dengan interval 3 hari (Gambar 6b). Seiring bertambahnya waktu media semakin penuh dengan miselia. Daerah yang ditunjukkan panah pada gambar 1b merupakan miselia dari *Gliocladium sp.* T.N.C73, miselia dari jamur ini berwarna putih kehijauan dan memiliki sedikit embun di atasnya.

Miselial dari jamur *Gliocladium sp.* T.N.C73 diekstraksi untuk memperoleh peptaibol dengan penambahan etil asetat dingin (5 mL/g basah miselia) dan di *shaker* selama 1 jam (Gambar 7a) agar melarutkan senyawa – senyawa semipolar yang terdapat pada miselia jamur. Proses pengocokkan diharapkan mempercepat proses ekstraksi, selanjutnya miselia disentrifugasi selama 15 menit untuk memisahkan filtrat dari ekstraknya (Gambar 7b).



(a)

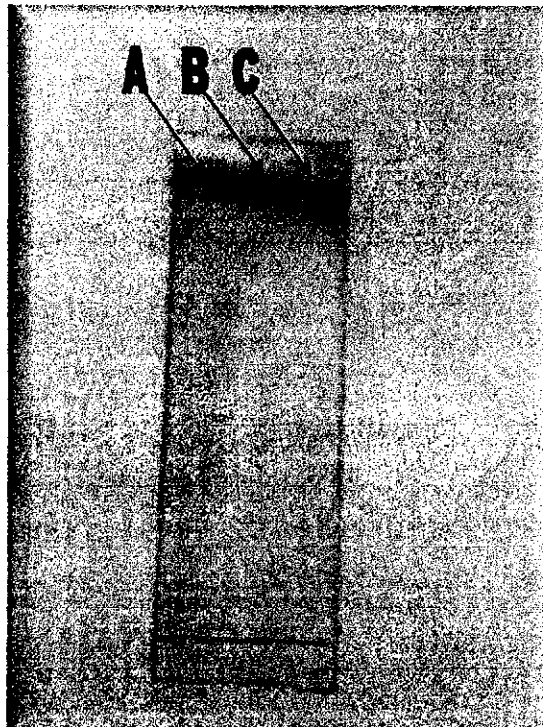


(b)

Gambar 7: a) Miselia yang di *shaker* selama 1 jam dan b) Miselia yang di sentrifuse

Filtrat dikeringkan dengan evaporator pada suhu kamar. Residu yang diperoleh dari proses evaporasi dilarutkan kembali dengan 1x berat basah miselia (mL/g) dalam metanol. Ekstrak kasar ini dapat langsung digunakan melalui pengujian keberadaan peptaibol dengan metode KLT dan reagen penampak nodanya yaitu larutan 0,5% 4-metoksibenzaldehid atau disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sebelum dipergunakan.

### 4.1.3 Identifikasi dengan metode KLT



Gambar 8. Hasil KLT (A = 3 hari; B = 15 hari; C = 21 Hari)

Pada identifikasi dengan KLT dan menggunakan reagen penampak noda nodanya yaitu larutan 0,5% 4-metoksibenzaldehid pada ekstrak kasar pada hari ke - 3, 15 dan 21. KLT ini menggunakan eluen BAA (60:20:20) yang sebelumnya harus didiamkan 24 jam sebelum dapat digunakan. Setelah 24 jam bagian air pada BAA harus dipisahkandar larutan BAA dengan menggunakan corong pisah.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Ekstrak kasar yang diperoleh dalam media MEA (+) AIB

Pada penelitian ini yang telah dilakukan baru samapi tahap pengumpulan ekstrak kasar pada media MEA (+) AIB pada hari yang berkemungkinan waktu penghasilan peptaibol terbanyak, yakni hari ke 3, 15, dan 21 dari 2 petri dish/harinya yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 3. Ekstrak kasar yang diperoleh pada media MEA (+) AIB

Hari ke -	Berat miselia (gram)	Etil asetat (mL)	Ekstrak kasar (mL)
3	1,5378	7,5	1,5
15	1,5056	7,5	1,5
21	0,5134	2,5	2,5

Produksi peptaibol pada hari ke – 3, 15 dan 21 ialah hari – hari yang menurut penelitian Chutrakul *et al*, (2008) menjadi hari dimana produksi peptaibol terbanyak. Produksi peptaibol terbanyak dapat dilihat saat identifikasi dengan KLT, dimana terbentuk noda yang luas setelah pemberian 4-metoksibenzaldehid yang merupakan reagen penampak noda. Jumlah miselia yang dihasilkan juga belum menjadi jaminan bahwa pada saat yang bersamaan akan dihasilkan peptaibol yang banyak pula.

Pada penelitian ini ekstrak yang dihasilkan merupakan larutan bening kekuningan, ekstrak ini di kumpulkan terlebih dahulu sebelum diidentifikasi secara bersama – sama agar dapat membandingkan.

#### 4.2.2 Identifikasi dengan KLT

KLT ( Kromatografi Lapis Tipis) merupakan teknik pemisahan yang menggunakan fase diamnya berupa lapisan tipis dan fase gerakanya berupa cairan. Eluen yang digunakan yakni Butanol:Asam Asetat:Air (BAA) yang merupakan eluen yang bersifat semipolar yang diharapkan memberikan perbedaan kecepatan migrasi komponen yang semi polar. Menurut Chutrakul *et al*. (2008) komponen yang tergolong peptaibol pada saat di berikan reagen penampak noda 4-metoksibenzaldehid akan memberikan daerah atau spot berwarna merah. Namun pada penelitian ini belum ditemukan spot yang berwarna merah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chutrakul *et al*. (2008). Hal ini berkemungkinan karenan ekstrak kasar yang dihasilkan terlalu encer sehingga komponen atau peptaibol yang dihasilkan terlalu sedikit dan tidak teridentifikasi oleh reagen.