

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS EKSTRAK MEDIA DAN JAMUR ENDOFIT RANTING MANGGA PODANG (*Mangifera indica* L.)

Prima Agusti Lukis^{1*}, Reny Rosalina², Rizka Surya Ningrum³

¹Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

²Universitas Palangka Raya

³Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk-Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

*prima.agusti.lukis@iik.ac.id

Received: 10 August 2023 / Accepted: 07 September 2023 / Published: 12 January 2024

ABSTRACT

One of the mango varieties which is endemic to Kediri, East Java is the podang mango. Podang mango has the potential to produce various secondary metabolite compounds with various biological activities. However, the obstacle faced in the process of isolating bioactive compounds is the large amount of material from plant parts required for the isolation process. Therefore, it is necessary to use microorganisms that live in plants as an isolation method. The qualitative phytochemical screening and thin layer chromatography (TLC) tests were carried out on media extracts and endophytic fungi from podang mango twigs. The results showed that the J2 and J3 endophytic fungi extracts contained alkaloids, while terpenoids and flavonoids were found in the media's extract. The TLC test results showed that there were many compounds contained in the media extract using various eluents, whereas there were no compounds in the endophytic fungi extracts.

Keywords: *Phytochemical, Thin Layer Chromatography, Endophytic fungi, Podang Mango*

ABSTRAK

Salah satu varietas mangga yang merupakan tumbuhan endemik di Kabupaten Kediri, Jawa Timur adalah mangga podang. Mangga podang memiliki potensi menghasilkan berbagai macam senyawa metabolit sekunder dengan berbagai macam aktivitas biologis. Namun, kendala yang dihadapi pada proses isolasi senyawa bioaktif adalah banyaknya bahan dari bagian tumbuhan yang diperlukan untuk proses isolasi. Sehingga, perlu pemanfaatan mikroorganisme yang hidup dalam tumbuhan untuk dijadikan metode isolasi. Metode yang digunakan adalah skrining fitokimia kualitatif, serta dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) pada ekstrak media dan jamur endofit dari ranting mangga podang. Hasilnya pada ekstrak jamur J2 dan J3 mengandung alkaloid, sedangkan terpenoid dan flavonoid ditemukan pada ekstrak media J2 dan J3. Hasil uji KLT menunjukkan banyak senyawa yang terkandung dalam ekstrak media menggunakan berbagai eluen sedangkan pada ekstrak jamur tidak terdapat senyawa meskipun dilihat dengan lampu UV maupun penambahan CeSO₄.

Kata Kunci : *Fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis, Jamur Endofit, Mangga Podang.*

PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan tumbuhan tropika berubah yang banyak tumbuh dan dibudidayakan di Indonesia. Daerah persebaran tumbuhan manga berada di hampir seluruh provinsi

di Indonesia dengan berbagai macam varietas. Salah satu varietas mangga adalah mangga podang yang merupakan tumbuhan endemik di Kabupaten Kediri, Jawa Timur. Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) Kabupaten Kediri pada tahun 2010 sebanyak 524.126 pohon mangga podang telah berkembang di Kabupaten Kediri baik sebagai tumbuhan konservasi pada lahan kering maupun sebagai tumbuhan pekarangan dengan jumlah produksi 32,66 ribu ton (BPS, 2011). Menurut data BPS, Kabupaten Kediri memproduksi buah mangga podang sebanyak 1.351.014 kuintal pada tahun 2022. Angka produksi ini meningkat cukup banyak dibandingkan tahun 2021 yang hanya mencapai 762.121 kuintal (Maryati & Jalil, 2023).

Pemanfaatan bagian lain dari tumbuhan mangga podang belum secara luas dilakukan. Berdasarkan kemotaksonomi tumbuhan yang berada dalam genus yang sama akan memiliki senyawa metabolit sekunder yang mirip dari segi kualitas, namun berbeda dari segi kuantitas (Venkataraman, 1972). Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan, tumbuhan mangga podang yang termasuk dalam genus *Mangifera* memiliki potensi untuk menghasilkan berbagai macam senyawa metabolit sekunder dengan berbagai macam aktivitas biologis. Sebagai contoh, daun *Mangifera indica* L. mengandung senyawa bioaktif prodelphinidin (Tawaha et al, 2010), kulit batang *M. indica* mengandung senyawa alkaloid (Aksara et al, 2013) dan kuncup bunganya mengandung senyawa mangiferin yang memiliki aktivitas antibakteri (Biswas et al, 2015).

Kendala yang dihadapi pada proses isolasi senyawa bioaktif yang berupa senyawa metabolit sekunder salah satunya adalah banyaknya tumbuhan yang diperlukan untuk proses isolasi. Oleh karena itu, beberapa tahun terakhir ini telah banyak penelitian mengkaji tentang pemanfaatan mikroba yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan (Schulz & Boyle, 2006). Mikroba yang diteliti pada penelitian ini adalah jamur endofit pada bagian ranting tumbuhan mangga podang, dimana diduga mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder dan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder tersebut maka perlu dilakukan skrining kandungan fitokimia secara kualitatif dan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dari metode mikroba endofit berupa ekstrak media dan jamur endofit dari ranting mangga podang tersebut.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi. Jamur endofit kering hasil isolasi dari ranting tumbuhan mangga podang (*Mangifera indica* L) yang diperoleh dari desa Banyakan, Kabupaten Kediri diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam dalam suhu ruang. Hasil maserasi disaring dan dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga dihasilkan ekstrak pekat metanol jamur endofit. Media dari masing-masing jamur juga diekstraksi dengan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut metanol : etil asetat (1:1), kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator (Minarno, 2015).

Skrining Fitokimia. Semua ekstrak media dan jamur diuji kandungan fitokimianya dengan metode reaksi kimia meliputi :

Identifikasi Alkaloid. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan metode Meyer, Wagner dan Dragendorff. Sebanyak 0,5 gram ekstrak pekat media dan jamur endofit ranting mangga podang (kecuali untuk jamur J3 hanya 0,1 gram) yang diuji, karena hasil ekstrak jamur J3 massanya paling sedikit) ditambahkan dengan 1 ml HCl 2M dan akuades 9 ml dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing ditambah dengan pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendorff (Setyowati et al, 2014). Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan putih,

dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna jingga (Marlinda et al, 2012).

Identifikasi Terpenoid Steroid. Identifikasi terpenoid dan steroid dilakukan dengan melarutkan ekstrak media dan jamur endofit dalam 0,5 ml kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 ml anhidrida asetat dan ditetesi 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan untuk steroid dan coklat-ungu untuk terpenoid (Habibi et al, 2018).

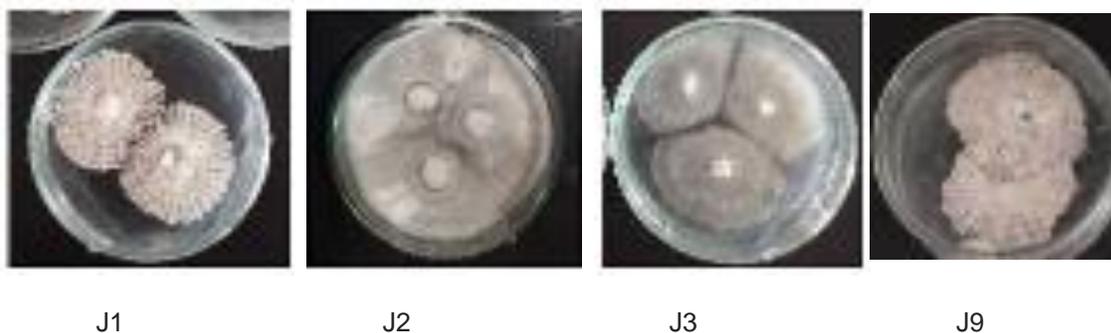
Identifikasi Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak media (kecuali untuk jamur J3 hanya 0,05 gram yang diuji) dan jamur endofit (kecuali untuk jamur J3 hanya 0,1 gram yang diuji, karena hasil ekstrak jamur J3 massanya paling sedikit) dalam 0,5 mL petroleum eter, disaring dan ditambahkan 0,5 ml etanol 70% dan disaring lagi. Selanjutnya filtrat ditambahkan 4 ml KOH 1%. Hasil akan positif flavonoid apabila larutan menjadi kuning gelap (Kumar et al, 2013).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak media dan jamur hasil isolasi ranting mangga podang masing-masing diambil ± 50 mg dan dilarutkan dalam pelarut metanol untuk diuji KLT. Sejumlah ekstrak media dan jamur endofit ditotolkan dalam plat KLT silica gel GF254, lalu dielusikan dengan campuran pelarut *n*-heksana:etil asetat (8:2) (Kumar et al, 2013).

HASIL PENELITIAN

Bagian mangga podang yang diisolasi adalah bagian ranting. Hasil dari isolasi ranting tersebut berupa jamur endofit kering yang diberi nama J1, J2, J3 dan J9, sedangkan untuk ekstrak media jamur diberi nama MJ1, MJ2, MJ3 dan MJ9. Hasil isolasi yang berupa jamur kering tersebut diekstraksi melalui metode maserasi selama 3x24 jam untuk mengefektifkan dan memaksimalkan hasil ekstraksi. Pemilihan metode ini dikarenakan memiliki beberapa kelebihan yaitu praktis, tidak melibatkan pemanasan yang dapat menyebabkan terdekomposisinya senyawa-senyawa target dan cara penggunaannya mudah (Lukis, 2011). Pelarut yang digunakan dalam maserasi ini adalah metanol yang secara umum dipakai untuk melarutkan senyawa-senyawa polar (Setyowati et al, 2014).

Filtrat yang berupa media selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat. Hal ini dilakukan karena pada jamur tersebut terdapat senyawa metabolit sekunder yang diekskresikan keluar sel. Ekstrak yang diperoleh dari media dan jamur kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut. Proses penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* ini dipilih karena prosesnya berjalan cepat, filtrat dapat diperoleh kembali (pelarut yang digunakan) dan tidak memerlukan suhu yang cukup tinggi. Hasil isolat murni tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**. Hasil isolat ini nantinya akan diidentifikasi secara morfologi dan molekuler untuk menentukan Genus dan spesies dari jamur endofit tersebut.



Gambar 1. Isolat Murni Jamur Endofit dari Ranting Mangga Podang

Hasil ekstraksi jamur kering dan media dengan metode maserasi dan ekstraksi cair-cair didapatkan massa jamur kering ekstrak pekat dari media dan jamur dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Massa jamur kering ekstrak pekat dari media dan jamur endofit ranting mangga podang

No	Kode Jamur	Massa Jamur Kering	Massa Ekstrak Media	Massa Ekstrak Jamur
1	J1	3,3037 g	0,6341 g	1,4751 g
2	J2	1,7111 g	0,3312 g	0,7421 g
3	J3	0,9895 g	0,0711 g	0,3542 g
4	J9	4,2588 g	0,6579 g	1,6300 g

Ekstrak media dan jamur tersebut diuji fitokimia dan KLT secara kualitatif. Pengujian fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak media dan jamur endofit. Pengujian tersebut menggunakan berbagai macam reagen, yaitu reagen Dragendorff, Meyer dan Wagner yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid; reagen petroleum eter (PE), Etanol, dan NaOH untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid; sedangkan untuk mengidentifikasi senyawa golongan terperonid steroid digunakan reagen CHCl_3 , anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 2** berikut.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Media dan Ekstrak Metanol Jamur Endofit

Ekstrak	Alkaloid			Flavonoid	Terpenoid	Kesimpulan
	Dragendorff	Meyer	Wagner			
J1	+	+	+	+	++	Mengandung alkaloid, flavonoid dan terpenoid
MJ1	-	-	-	-	++	Mengandung terpenoid
J2	++	-	++	-	-	Mengandung alkaloid
MJ2	-	-	-	-	+	Mengandung terpenoid
J3	+	-	++	-	-	Mengandung alkaloid
MJ3	-	-	-	-	+	Mengandung terpenoid
J9	-	-	+	++	-	Mengandung flavonoid dan sedikit alkaloid
MJ9	-	-	-	++	-	Mengandung flavonoid



J1 positif dragendrof



J1 positif uji terpenoid



MJ1 positif uji terpenoid



MJ2 positif uji terpenoid



J1,J2,J3 positif wagner (alkaloid)



MJ3 positif terpenoid



J9 positif uji flavonoid



MJ9 positif uji flavonoid

Gambar 2. Hasil Uji Fitokimia

a. Alkaloid

Berdasarkan hasil pengujian terhadap ekstrak media dan jamur endofit mangga podang, diketahui bahwa semua ekstrak jamur yaitu J1, J2, J3 dan J9 positif mengandung alkaloid. Tujuan penambahan HCl 2M pada uji alkaloid ini karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Minarno, 2015). Pada uji positif alkaloid dengan pereaksi Meyer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksinya adalah :

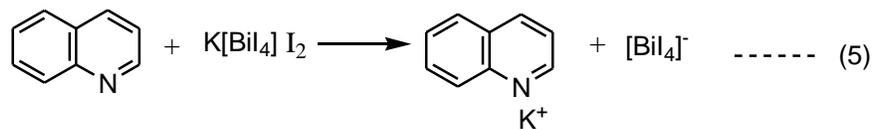


Kalium tetraiodomerkurat (II)

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning yaitu kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+). Agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan ditambahkan asam sehingga kesetimbangan bergeser ke kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan KI membentuk endapan hitam Bismut (II) iodide yang kemudian dapat larut dalam KI berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Setyowati et al, 2014). Reaksinya adalah :

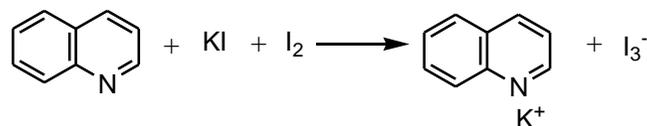


Kalium tetraiodobismutat



Kalium-Alkaloid endapan

Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning yang diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodide menjadi ion I_3^- yang berwarna coklat. Sedangkan ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan nitrogen pada alkaloid yang mengendap. Reaksinya adalah :



Kalium-Alkaloid endapan

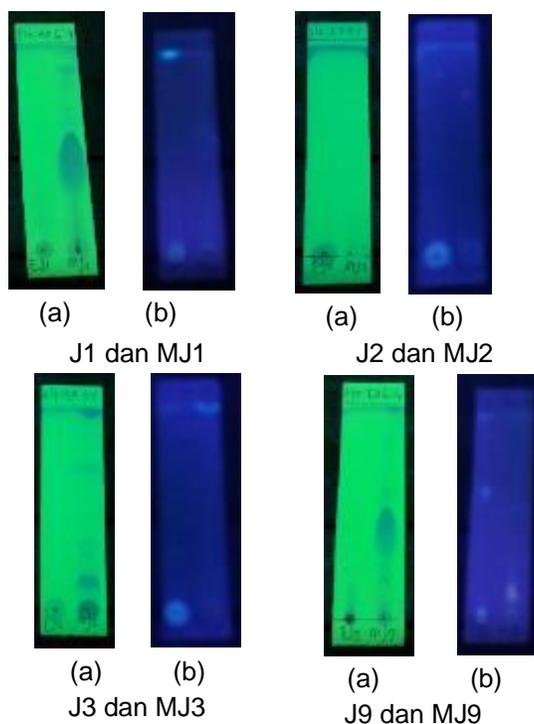
b. Terpenoid dan Steroid

Identifikasi terpenoid dan steroid dalam penelitian ini menggunakan uji Libermann-Burchard yaitu larutan anhidrida asam asetat dan H_2SO_4 pekat. Pada ekstrak J1, MJ1, MJ2, dan MJ3 memberikan hasil positif terpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat ditambahkan dengan H_2SO_4 pekat, tetapi untuk uji steroid menunjukkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna biru. Perubahan warna tersebut dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid atau steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi ((Setyowati et al, 2014).

c. Flavonoid

Berdasarkan hasil pengujian ekstrak media dan jamur endofit ranting mangga podang diketahui bahwa ekstrak jamur J1 dan J9 serta ekstrak media MJ9 positif mengandung flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi kuning gelap.

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk semua sampel dengan menggunakan berbagai macam campuran eluen/pelarut. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana : etil asetat (8:2). Hasil uji KLT secara lengkap dapat dilihat pada **Gambar 3** berikut.



Gambar 3. Hasil Uji KLT Ekstrak Media dan Jamur Endofit Ranting Mangga Podang dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) dimana titik noda kiri ekstrak jamur dan titik noda kanan ekstrak media jamur (a) KLT dilihat dengan lampu UV panjang gelombang 254 nm, (b) KLT dilihat dengan lampu UV panjang gelombang 366 nm

Dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366, setiap kelompok senyawa bahan alam akan memancarkan warna yang berbeda. Golongan flavonoid dan alkaloid akan berpendar pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, sedangkan terpenoid hanya berpendar pada panjang gelombang 254 nm (Riansyah et al, 2023). Berdasarkan hasil KLT pada Gambar 3, pada ekstrak J1 terdeteksi kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, sedangkan pada MJ1 mengandung senyawa terpenoid. Pada ekstrak J2 dan J3 mengandung senyawa alkaloid dan pada MJ2 dan MJ3 mengandung senyawa terpenoid. Pada ekstrak J9 mengandung senyawa flavonoid dan sedikit alkaloid, serta pada ekstrak MJ9 mengandung flavonoid. Hal ini konsisten dengan uji fitokimia kualitatif dengan reagen. Jenis senyawa dalam ekstrak media jamur lebih banyak dan beberapa dapat terpisahkan dengan baik menggunakan eluen n-heksan : etil asetat 8:2 seperti pada ekstrak MJ3. Pada ekstrak jamur endofit, senyawa yang terkandung kemungkinan tidak terelusi dengan baik yang dapat dihipotesiskan dan kemungkinan mengandung senyawa yang lebih polar atau memang tidak terdapat senyawa di dalam miselia jamur endofit. Hal ini menunjukkan bahwa jamur endofit cenderung melepaskan senyawa metabolit sekunder pada media tumbuh sebagai adaptasi atau pertahanan diri, dimana senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofit akan sama dengan yang dihasilkan tumbuhan inangnya (Ramadhani et al, 2017). Hal ini disebabkan karena transfer genetik yang terjadi antara tumbuhan inang dari jamur endofit dengan jamur endofit itu sendiri (Kuncoro & Sugijanto, 2011).

KESIMPULAN

Telah dilakukan uji fitokimia dan uji KLT secara kualitatif terhadap ekstrak media dan ekstrak jamur endofit dari ranting mangga podang (*Mangifera indica* L.). Dimana hasil uji fitokimia kualitatif dengan berbagai reagen konsisten dengan hasil uji KLT. Golongan senyawa alkaloid terkandung dalam semua jenis ekstrak jamur, senyawa flavonoid terkandung dalam ekstrak jamur J1 dan J9 dan ekstrak media jamur MJ9, sedangkan senyawa terpenoid terkandung dalam ekstrak jamur J1 dan ekstrak media jamur MJ1, MJ2, dan MJ3. Pada ekstrak jamur endofit, senyawa kemungkinan tidak terelusi dengan baik sehingga dimungkinkan mengandung senyawa yang lebih polar atau memang tidak terdapat senyawa di dalam miselia jamur endofit. Hal ini menunjukkan bahwa jamur endofit cenderung melepaskan senyawa metabolit sekunder pada media tumbuh sebagai adaptasi atau pertahanan diri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Kemenristek DIKTI selaku pemberi dana penelitian, Kepala Lab Mikroorganisme Kimia ITS dan Deputi Sarana Prasarana Laboratorium di Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri selaku penyedia tempat penelitian, serta berbagai pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksara, R., Musa, WJA., Alio, L. (2013). Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*, 8(1), 514-519.
- Biswas, T., Sen, A., Roy, R., Maji, S., Maji, H.S., (2015). Isolation Of Mangiferin From Flowering Buds Of *Mangifera indica* Land Its Evaluation Of In Vitro Antibacterial Activity. *Journal Of Pharmaceutical Analysis* 4, 49-56.

- BPS Kabupaten Kediri. (2011). Pertanian. <http://kedirikab.bps.go.id/Pertanian.html>. Tanggal akses 14 November 2023
- Habibi, A.I., Firmansyah, R.A., Setyawati, S.M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1-4
- Kumar, R.S., Venkateshwar, C., Samuel, G., (2013). Phytochemical Screening Of Some Compounds From Plant Leaf Extracts Of *Holoptelea integrifolia* (Planch) And *Celestrus emarginata* (Grah) Used By Gondu Tribes At Adilabad District, Andhrapradesh, India. *International Journal Of Engineering Science Invention*, 2(8), 65-70.
- Lukis, P.A. (2011). Dua Senyawa Mangostin Dari Ekstrak N-Heksana Pada Kayu Akar Manggis (*Garcinia mangostana*, Linn) Asal Kab. Nganjuk, Jawa Timur. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya
- Marlinda, M., Meiske, S.S., Audy, D.W. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Jurnal Mipa Unsrat Online* 1(1), 24-28.
- Maryati & Jalil, (2023). <https://jatim.solopos.com/ini-lima-daerah-penghasil-mangga-terbanyak-di-jawa-timur-1683310> diakses 14 November 2023
- Minarno, E.B. (2015). Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah* 5(2), 73-82
- Schulz, B & Boyle, C. (2006). What are endophytes. *Soil Biologi* 9, 1
- Setyawati, W.A.E., Sri, R.D.A., Ashadi, Bakti, M., Cici, P.R. (2014). Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk. Prosiding Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI. Surakarta, 271-280
- Tawaha, K., Sadi, R., Qa'dan, F., Matalka, K.Z., Nahrstedt, A. (2010). A Bioactive Prodelphinidin From *Mangifera indica* Leaf Extract. Verlag Der Zeitschrift Für Naturforschung, Tübingen: 322-326
- Venkataraman, K. (1972). Wood Phenolic In The Chemotaxonomy Of The Moraceae. *Phytochemistry*. 11. 1571-1586