

Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Supernatan Dari Bakteri Endofit Kulit Pisang

Phytochemical Screening Test of Supernatant Extract From Banana Peel Endophytic Bacteria

Sanatang, Titi Purnama

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Mandala Waluya, Kendari

Corresponding author : chemist_ana82@yahoo.com

Abstrak

Produksi buah pisang di provinsi Sulawesi Tenggara cukup melimpah setiap tahunnya. Salah satu limbah dari pemanfaatan buah pisang adalah kulit pisang. Kulit pisang mengandung bakteri endofit yang dapat menghasilkan senyawa yang mirip dengan kulit pisang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa berdasarkan uji skrining fitokimia pada ekstrak supernatan bakteri endofit kulit pisang. Metode penelitian menggunakan pengukuran kurva standar pertumbuhan bakteri, ekstraksi supernatan dari bakteri endofit kulit pisang dengan kode KPM2 menggunakan etanol, serta uji skrining fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri KMP2 memiliki waktu tumbuh yang baik yaitu 30 jam. Hasil uji fitokimia diperoleh bahwa ekstrak supernatan isolat bakteri KPM2 mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid

Kata kunci : Kulit Pisang; Bakteri Endofit, Fitokimia

Abstract

Banana fruit production in southeast Sulawesi province is quite abundant every year. One of the wastes from the utilization of banana fruit is banana peel. Banana peels contain endophytic bacteria that can produce compounds similar to banana peels. The purpose of this study was to determine the content of compounds based on phytochemical screening tests on supernatant extracts of banana peel endophytic bacteria. The research method uses the measurement of bacterial growth standard curves, supernatant extraction from banana peel endophytic bacteria with the code KPM2 using ethanol, as well as phytochemical screening tests. The results showed that the KMP2 bacterial isolates had a good growing time of 30 hours. The results of the phytochemical test obtained that the supernatant extract of the KPM2 bacterial isolate contains flavonoid group compounds, alkaloids, saponins and triterpenoids

Keywords : Banana Peel; Endophytic bacteria; phytochemical

Pendahuluan

Indonesia berpotensi sebagai negara pengekspor pisang dengan jumlah yang besar, karena memiliki keragaman kultivar pisang yang tinggi. Kultivar pisang di Indonesia diketahui berjumlah lebih dari 325 macam, baik pisang budi daya maupun pisang liar (Setyadit dkk, 2004). Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Provinsi Sulawesi Tenggara, produksi buah pisang pada tahun 2020 adalah sebesar 597.981 kuintal per tahun (BPS Sultra, 2020). Melimpahnya buah pisang tersebut dapat menimbulkan masalah lingkungan akibat dari kulit buah pisang yang belum dimanfaatkan dengan maksimal.

Pada umumnya pisang hanya dapat diolah menjadi berbagai produk olahan seperti pisang goreng, keripik pisang dan sebagainya. Pengolahan terhadap kulit pisang masih sangat terbatas. Kandungan gizi yang dimiliki oleh kulit pisang tidak beda jauh dengan buah pisang itu sendiri. Jenis pisang yang umum ditemukan di kota Kendari adalah jenis pisang Raja, pisang Kepok dan pisang Mas.

Produksi buah pisang yang meningkat dapat menimbulkan efek negatif seperti pencemaran lingkungan akibat kulit buah pisang yang melimpah. Kandungan gizi pada buah pisang seperti karbohidrat dan protein dapat menjadi nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh dan berkembang. Keberadaan bakteri endofit pada kulit pisang dapat memberikan dampak yang baik bagi pertumbuhan buah pisang (Lie dkk, 2001).

Tanaman obat masih memiliki peranan penting dalam industri kesehatan. Salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan adalah buah pisang. Semua bagian dari buah pisang dapat digunakan sebagai bahan obat baik dari buah, bonggol maupun kulit. Hasil uji fitokimia pada kulit pisang kepok mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Hasma dan Winda, 2019). Senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin, merupakan senyawa-senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan dan memiliki potensi sebagai obat (Ramadenti dkk, 2017). Hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Sanatang dkk (2020) diperoleh 6 isolat bakteri endofit kulit pisang. Namun isolat yang unggul dari penelitian tersebut adalah isolat dengan kode KPM2. Isolat ini diperoleh dari kulit pisang mas. Isolat tersebut tidak bersifat patogen yang ditandai dengan tidak terjadi hemolisis pada media *blood agar*.

Pemanfaatan limbah kulit pisang dapat digunakan di semua industri baik industri robotika maupun kesehatan. Kulit pisang dapat dimanfaatkan pada bidang industri robotika sebagai pengganti pasta elektrolit isi baterai pada robot line follower (Suwito dan Nur, 2019). Di bidang industri makanan, kulit pisang digunakan sebagai bahan baku pembuatan mie basah (Suci dkk, 2020) dan minuman probiotik (Eny dkk, 2010). Di bidang energi, kulit pisang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol (Herliati dkk, 2019) sedangkan di bidang kesehatan, kulit pisang dapat digunakan untuk mengobati jerawat, melancarkan pencernaan serta dapat menurunkan resiko kanker (Fauchil, 2017). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak supernatan bakteri endofit kulit pisang dengan uji fitokimia.

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmakologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Kendari. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan pada Tahun 2022 dengan kegiatan yaitu pembuatan kurva

pertumbuhan isolate bakteri KPM2, melakukan ekstraksi pada supernatant isolate bakteri KPM2 serta melakukan uji fitokimia.

Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri KPM2

Isolat bakteri KPM2 diinokulasikan pada media Nutrient broth (NB) dan diinkubasi selama 48 jam. Setiap 2 jam dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang 600 nm.

Ekstraksi Supernatan Isolat Bakteri KPM2

Suspensi bakteri sebanyak 0,1 % ditumbuhkan dalam media NB sebanyak 10 mL lalu digojok dengan kecepatan 170 rpm, selama 72 jam pada suhu 37 °C. Hasil fermentasi disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dan biomassa. Supernatan yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan etil asetat dengan perbandingan (1/2: v/v) dengan menggunakan corong pisah dan didiamkan selama 20 menit. Lapisan atas (Fase etil asetat) dituang ke dalam erlenmeyer selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 35°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Susi dkk, 2018).

Uji Fitokimia

1. Uji Flavanoid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 10ml etanol 70% kemudian dibagi kedalam tiga tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai tabung kontrol, tabung kedua, dan ketiga berturut-turut ditambahkan NaOH, dan H₂SO₄ pekat. Warna pada masing-masing tabung dibandingkan dengan tabung kontrol, jika terjadi perubahan warna maka positif mengandung flavonoid (Fitriahani, F. 2018).

2. Uji Saponin

Sejumlah sampel ditambahkan aquades, kemudian dihomogenkan. Jika terbentuk buih, didiamkan selama 15 menit. Jika terdapat senyawa golongan saponin maka hasil positif bila buih stabil setelah pengocokan (Elviasari dkk., 2016.)

3. Uji Fenol dan Tanin

Sejumlah sampel ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna biru atau hitam (Elviasari dkk., 2016)

4. Uji Alkaloid

Sejumlah sampel ditambahkan 2,5mL HCl2%. Pengujian menggunakan 2 pereaksi yaitu pereaksi Dragen droff dan pereaksi Mayer. Adanya golongan senyawa alkaloid terbentuknya endapan jingga pada pereaksi Dragen droff atau endapan putih kekuningan pada pereaksi Mayer (Elviasari dkk., 2016)

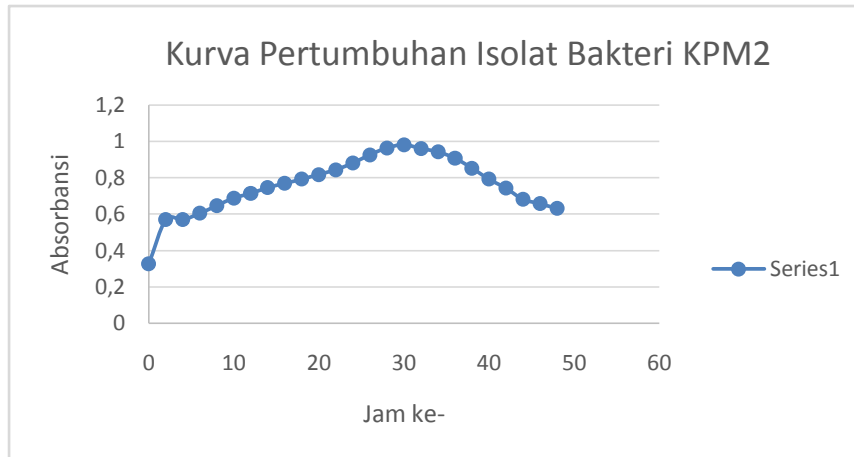
5. Uji Triterpenoid

Sejumlah 2mL sampel ditambah dengan pereaksi Liberman-Burchard 1 mL. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Elviasari dkk., 2016)

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil pengukuran absorbansi dari supernatan isolat bakteri KPM2 dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini

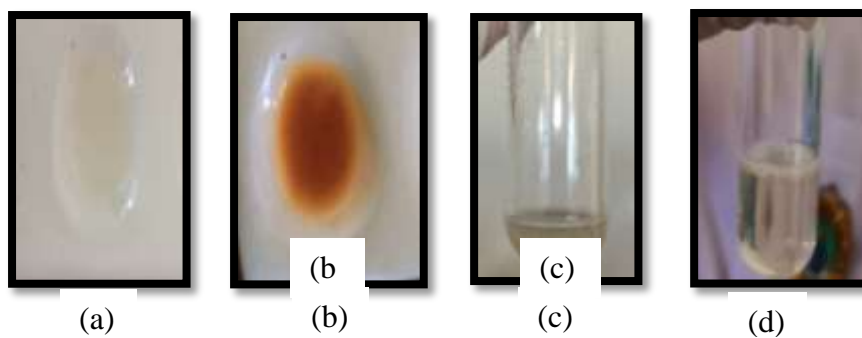


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri KPM2

Pengujian kandungan bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri KPM2 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Pada Ekstraks Supernatan Isolat KPM2

NO	Penguji senyawa	Hasil
1.	Flavanoid	+
2.	Alkaloid	+
3.	Saponin	+
4.	Fenol	-
5.	Tanin	-
6.	Triterpenoid	+



Gambar 2. Hasil Uji Fitokimia (a) Uji Flavanoid (b) Uji Alkaloid (c) Uji Triterpenoid (d) Uji Saponin

Pembahasan

Isolat bakteri endofit yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri yang telah diisolasi pada penelitian sebelumnya dengan kode isolat KPM2. Isolat bakteri KPM2 memiliki sifat non patogen yang dilihat dari hasil uji hemolisis. Jika bakteri mampu melisis sel eritrosit pada darah maka bakteri tersebut tergolong bakteri patogen. Menurut Hajar dkk (2015) bakteri patogen mampu menghemolisis eritrosit sehingga pada media *blood agar plate* akan terlihat zona hemolisis di sekitar koloni.

Pertumbuhan dari isolat bakteri dapat dilihat dengan menggunakan kurva pertumbuhan. Tujuan dari kurva pertumbuhan bakteri adalah untuk menentukan waktu maksimal bakteri dalam melakukan pembelahan sel. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri berdasarkan nilai absorbansi yang terlihat pada alat spektrofotometer. Panjang gelombang yang digunakan adalah 600 nm. Besarnya nilai absorbansi sebanding dengan jumlah sel bakteri. Pertumbuhan isolat bakteri KPM2 dapat dilihat pada gambar 1. Fase logaritmik pertumbuhan tertinggi ditemukan pada jam ke-30. Menurut Rofle et al (2012), kurva pertumbuhan menggambarkan adanya proses pembelahan sel maupun pertumbuhan bertahap suatu mikroorganisme dimulai dari awal pertumbuhan sampai dengan berakhirnya aktivitas, terdiri atas empat fase utama yaitu: lag, eksponensial, stasioner, dan kematian.

Fase lag atau fase adaptasi merupakan fase paling awal atau merupakan fase penyesuaian/ pengaturan suatu aktivitas mikrob dalam lingkungan barunya. Pada fase ini penambahan massa atau penambahan jumlah sel belum begitu terjadi, sehingga kurva pertumbuhan pada fase ini pada umumnya mendatar. Selang waktu fase lag tergantung kepada kesesuaian pengaturan aktivitas dan lingkungannya. Pada isolat KPM2, fase lag ini terjadi pada empat jam pertama masa awal pertumbuhannya, setelah itu pada dua jam berikutnya telah terjadi fase eksponensial.

Fase eksponensial atau logaritmik merupakan fase peningkatan aktivitas perubahan bentuk maupun penambahan jumlah mencapai kecepatan maksimum sehingga kurvanya dalam bentuk eksponensial. Peningkatan aktivitas tersebut harus diimbangi oleh banyak faktor, antara lain faktor biologi dan non biologi. Termasuk faktor biologi seperti bentuk dan sifat mikroorganisme terhadap lingkungan yang ada, asosiasi kehidupan di antara organisme yang bersangkutan, sedangkan yang termasuk faktor non-biologi seperti kandungan nutrisi di dalam medium pertumbuhan, suhu, dan pH. Fase eksponensial isolat bakteri KPM2 terjadi pada jam ke-30 dengan absorbansi sebesar 0,925. Menurut Nurhajati dkk (2016), fase eksponensial tertinggi pada isolat *E.cloacae* SAR-1 terjadi pada jam ke-12 dengan absorbansi 0,925.

Fase stasioner merupakan fase terjadinya keseimbangan penambahan aktivitas dan penurunan aktivitas atau dalam pertumbuhan koloni terjadi keseimbangan antara yang mati dengan penambahan individu. Oleh karena itu fase ini membentuk kurva datar. Fase ini juga diakibatkan karena sumber nutrisi yang semakin berkurang, terbentuknya senyawa penghambat, dan faktor lingkungan yang mulai tidak menguntungkan. Fase stasioner isolat KPM2 terjadi setelah jam ke-30 masa inkubasi. Fase kematian merupakan fase mulai terhentinya aktivitas atau dalam pertumbuhan koloni terjadi kematian yang mulai melebihi bertambahnya individu. Fase kematian isolat KPM2 terjadi setelah jam ke-48 masa inkubasi.

Pembuatan suspensi isolat bakteri KPM2 dilakukan dengan menggunakan media Nutrien Broth (NB). Pemilihan media NB karena mengandung nutrisi yang lengkap bagi pertumbuhan bakteri. Waktu inkubasi media NB yang mengandung isolate KPM2 adalah selama 30 jam. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk memperoleh supernatan. Ekstraksi supernatan isolat bakteri KPM2 dilakukan dengan menambahkan pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair. Metode ekstraksi jenis ini dapat digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutan relatifnya dalam dua cairan yang tidak

dapat bercampur. Selanjutnya ekstrak dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada bakteri endofit kulit pisang dengan kode KPM2.

Pada Tabel 1 dan Gambar 2 di atas dapat dilihat bahwa isolat bakteri KPM2 dapat menghasilkan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian Gusti dkk, (2018) diketahui bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit pisang mas (*Musa acuminata colla*) yaitu saponin, tanin dan flavonoid. Metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin dan senyawa metabolit lainnya terbukti mempunyai prospek cukup baik dalam meningkatkan aktivitas sistem imun (Wagner, 2012). Bakteri endofit memiliki kelebihan dapat menghasilkan senyawa yang hampir sama dengan inangnya. Disamping itu, mudah ditumbuhkan, siklus hidup yang pendek serta dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah yang besar (Zhang dkk, 2017).

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolate bakteri endofit kulit pisang dengan kode KPM2 memiliki waktu tumbuh optimal selama 30 jam. Isolat bakteri KPM2 mampu menghasilkan senyawa sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpenoid.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana hibah pada Penelitian Dosen Pemula ini serta kepada LPPM Universitas Mandala Waluya yang telah memfasilitasi dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Badan Pusat Statistik Sulawesi Tenggara. (2021) (Diakses Tanggal 20 Desember 2021)
- Elviasari, R. dan Adam. (2016). Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less). *Jurnal Sains dan Kesehatan* 1 (5) : 2407-6082.
- Eny Idayati, Rikka W. Sir Dan Senni J. Bunga, (2010), Minuman Probiotik Dari Beberapa Jenis Kulit Buah Pisang Dengan Variasi Inokulum *Lactobacillus Casei*. Partner, Volume 16 Nomor 2, Halaman 63-72
- Fauchil Wardati, (2017), Potensi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana*) Sebagai Kandidat Terapeutik Kanker Payudara Secara In Vitro Dengan Menggunakan Sel T-47D. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fidrianny, I., Anggraeni, N. A. S., dan Insanu, M. (2018). Antioxidant properties of peels extracts from three varieties of banana (*Musa sp.*) grown in West Java-Indonesia. *Journa International Food* 25 (1) : 57-64.
- Gusti, I., B. Rita, W, dan Parwata. (2018). Potensi Ekstrak Limbah Kulit Pisang Lokal (*Musa sp.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Indonesian E-Journal of Applied Chemistry

- Hajar , Siti., T. Zahrial Helmi , Darmawi , Al Azhar , Fakhurrazi , Azhar. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Vagina Sapi Aceh. *Jimvet*. 2(3):341-350.
- Hasma dan Winda, (2019), Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa Paradisiaca L) Dengan Metode KLT, *Jurnal Kesehatan Manarang*, Volume 5, Nomor 2:125 – 131
- Herliati, A , Sefaniyahb Dan Ade Indri, (2018). Pemanfaatan Limbah Kulit Pisang Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol. *Jurnal Teknologi*, Volume 6, Edisi 1
- Li, R. M., Chen, R., & Xiao, Z. C. (2001). The Analysis Of The Nutritional Components Of Banana Peel. *Journal Zhanjiang Norm Coll*, 22, 42-45
- Nurhajati., Ati , Koesnoto Soepranianondo , Widya Paramita Lokapirnasari. 2016. Uji Aktivitas Pertumbuhan Enterobacter cloacae Selulolitik Aerob Rumen-1 Isolat Asal Limbah Cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner*. Vol. 17 No. 3 : 383-388
- Ramadenti. F, Agus Sundaryono., Dewi Handayani,. Uji Fraksi Etil Asetat Daun Sungkai Terhadap Plasmodium Berghei Pada Mus Musculus. *Alotrop*, 2017:L(2): 94-97.
- Rolfe MD, Rice CJ, Lucchini S, Pin C, Thompson A, Cameron AD, Alston M, Stringer MF, Betts RP, Baranyi J, Peck MW. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *Journal of Bacteriology* 194(3): 686-701.
- Sanatang dan Tiara Mayang Pratiwi Lio. (2021). Skrining Bakteri Pada Kulit Pisang Dengan Menggunakan Media Nutrien Agar dan Blood Agar. *Jurnal Biologi Makassar*. Vol 6. No 1.
- Suwito Singgih Dan Nur Ikhwan. 2018. Potensi Kulit Pisang Sebagai Pengganti Pasta Elektrolit Isi Baterai Pada Robot Line Follower. *Jurnal Poltrisdha* Vol. I No. 1
- Suci Wulandari, Novy Eurika, Ika Priantari. 2020. Pemanfaatan Tepung Kulit Pisang Kepok (Musa Paradisiaca L) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Mie Basah. *Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP-UM Jember*
- Susi Juni Yati , Sumpono , I Nyoman Candra. 2018. Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Dari Bakteri Endofit Pada Daun Moringa Oleifera L. *Alotrop, Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*:2(1):82-87
- Setyadjit, A., Dimyati, E. M. Lokollo, S. Kuntarsih, R. S. Basuki, A. Hidayat, P. J. Hofman, S. N. Ledger, Dan E. J. Woods. 2004. Analysis Of The Constraints To Banana Industry Development In Indonesia Using The Supply Chain Concept. *ACIAR Proceedings No. 119e*, Bali, Indonesia, Johnson, G.I., P. J. Dan Hofman, (Ed). Australian Centre For International Agricultural Research.
- Wagner, H. 2012 *Imunomodulatory Agents from Plants*. Birkhauser, Germany
- Zhang Y, Wu S, Xia Y, Wang N, Zhou L, Wang J, Et Al. Adverse Events Associated With Treatment Of Multidrug-Resistant Tuberculosis In China: An Ambispective Cohort Study. *Med Sci Monit*. 2017; 23: 2348-56