



Induksi *Aquilaria malaccensis* Menggunakan Kombinasi *Fusarium oxysporum* dan Asam Salisilat

[*Aquilaria malaccensis* Induction Using a Combination of *Fusarium oxysporum* and Salicylic Acid]

Diah Puspa Rani¹, Afghani Jayuska^{1✉}, Siti Khotimah², Puji Ardiningsih¹, Muhammad Agus Wibowo¹

¹⁾ Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Tanjungpura, Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

²⁾ Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Tanjungpura, Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

Abstract. Agarwood is a resin from agarwood-producing plants that are given certain stimulants, thus stimulating the tree's defense system. The defense system produced is in the form of a sweet-smelling phytoalexin compound, better known as agarwood. Stimulants that can stimulate the formation of Gaharu are biological inoculants and chemical inducers. In this research, the biological inoculant used the *Fusarium oxysporum* fungus, and the chemical inducer used salicylic acid. This research aims to determine the effectiveness of using a combination of *Fusarium oxysporum* and salicylic acid in producing agarwood resin. The combination treatment of *Fusarium oxysporum* and salicylic acid was carried out using the injection method on *Aquilaria malaccensis* tree branches, and induction was carried out for 3 months. This research shows that the TLC test results in all treatments contain aloes, which is proven by the discovery of phenolic and terpenoid compounds. The combination treatment produces a color change intensity that is not darker and has a broader color change zone compared to the single treatment. Therefore, it can be concluded that the combination of *Fusarium oxysporum* and salicylic acid is less effective in producing Gaharu than the single treatment.

Keywords: agarwood, *Aquilaria malaccensis*, *Fusarium oxysporum*, salicylic acid

Abstrak. Gaharu merupakan resin dari tanaman penghasil Gaharu yang diberikan stimulan tertentu, sehingga merangsang sistem pertahanan pohon tersebut. Sistem pertahanan yang dihasilkan berupa senyawa fitoaleksin yang berbau harum atau yang lebih dikenal dengan Gaharu. Stimulan yang dapat merangsang pembentukan Gaharu adalah inokulan biologis dan induser kimia. Pada penelitian ini, inokulan biologis menggunakan jamur *Fusarium oxysporum* dan induser kimia menggunakan asam salisilat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas penggunaan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat dalam menghasilkan resin Gaharu. Perlakuan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat dilakukan dengan metode suntik pada cabang pohon *Aquilaria malaccensis* dan induksi dilakukan selama 3 bulan. Penelitian ini menunjukkan bahwa hasil uji KLT pada semua perlakuan mengandung Gaharu yang buktikan dengan ditemukannya senyawa fenolik dan terpenoid. Pada perlakuan kombinasi menghasilkan intensitas perubahan warna yang tidak lebih gelap dan memiliki zona perubahan warna yang lebih luas jika dibandingkan dengan perlakuan tunggal. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat kurang efektif dalam menghasilkan Gaharu dibandingkan dengan perlakuan tunggalnya.

Kata kunci: asam salisilat, *Aquilaria malaccensis*, *Fusarium oxysporum*, Gaharu

Diterima: 13 Maret 2024, Disetujui: 10 September 2024

Sitasi: Rani, D.P., Jayuska, A., Khotimah, S., Ardiningsih, P., Wibowo, M.A. (2024). Induksi *Aquilaria malaccensis* Menggunakan Kombinasi *Fusarium oxysporum* dan Asam Salisilat. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 10(3),193-203.

✉ Corresponding author

E-mail: afghani.jayuska@chemistry.untan.ac.id

<https://doi.org/10.22487/kovalen.2024.v10.i3.17041>



LATAR BELAKANG

Gaharu merupakan salah satu hasil hutan bukan kayu (HHBK) dengan nilai ekonomis yang tinggi (Subowo, 2010). Gaharu adalah resin yang berasal tanaman penghasil Gaharu yang terkena infeksi (Susetya, 2014). Tanaman penghasil Gaharu tidak akan menghasilkan Gaharu dalam keadaan yang sehat. Pohon ini harus diberikan stimulan tertentu sehingga terjadinya mekanisme pertahanan oleh tanaman yang kemudian akan memproduksi senyawa volatil dan aromatik (Ramli et al., 2022). Gaharu dihasilkan dari family *Thymalaeacea* khususnya spesies *Aquilaria* dan *Gyrinops* yang terkenal menghasilkan Gaharu dengan kualitas yang tinggi (Lopez-Sampson & Page, 2018). Berdasarkan pengamatan persebaran *Aquilaria* pada tahun 2000, spesies *Aquilaria* diketahui dapat tumbuh dengan baik dan tersebar secara luas di Kalimantan (Siran, 2010). Menurut Rachmawaty et al. (2021), jenis *Aquilaria malaccensis* merupakan jenis tanaman penghasil Gaharu yang memiliki kualitas terbaik dibandingkan dengan jenis yang lain.

Penelitian Hartono et al. (2019) menunjukkan bahwa tanaman penghasil Gaharu yang terinfeksi jamur *Fusarium* sp. dapat menghasilkan lebih banyak senyawa seskuiterpen dibandingkan jamur lainnya. Selain inokulasi biologis, Gaharu juga dapat dihasilkan dengan menggunakan induser kimia (Liu et al., 2013). Okudera dan Ito (2009) melaporkan bahwa asam salisilat dan metil jasmonat dapat menginduksi pembentukan Gaharu. Induksi dengan menggunakan asam salisilat pada konsentrasi 10 μ M dan 100 μ M dapat meningkatkan produksi seskuiterpenoid pada kalus *Aquilaria*. Selain itu, akumulasi

jumlah kromon pada kalus yang diberikan perlakuan asam salisilat juga meningkat. Asam salisilat yang merupakan salah satu hormon tumbuhan akan merespon berbagai stres dengan menginduksi sistem pertahanan pada tanaman (War et al., 2011). Sistem pertahanan yang terjadi pada pohon *Aquilaria* akan mengarah pada produksi Gaharu (Liu et al., 2013).

Penelitian Murtaip (2010) melaporkan bahwa kombinasi *Acremonium* dan asam salisilat pada konsentrasi 100 mM terhadap *Aquilaria crassna* dapat merangsang perubahan warna pada batang pohon lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan tunggal dan perlakuan kombinasi *Acremonium* dan metil jasmonat. Hal ini menunjukkan bahwa zona persebaran asam salisilat lebih luas daripada zona persebaran metil jasmonat. Zona persebaran ini akan berpengaruh terhadap luas zona akumulasi Gaharu.

Penelitian ini memanfaatkan dua jenis induser penghasil Gaharu yaitu inokulan biologis dan bahan kimia yang berupa jamur *Fusarium oxysporum* dan bahan kimia berupa asam salisilat. Kedua bahan tersebut kemudian dikombinasikan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat dalam menghasilkan resin Gaharu. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas penggunaan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat dalam menghasilkan resin Gaharu berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa akuades, asam salisilat,

aseton, etanol 70%, etanol 96%, FeCl₃, isolat *Fusarium oxysporum*, kloroform, metanol, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), pohon *Aquilaria malaccensis* dan reagen Lieberman-Burchard.

Peralatan yang digunakan yaitu autoklaf, blender, bor listrik, cawan petri, chamber KLT, corong pisah, erlenmeyer, gelas beaker 50 mL, gelas ukur 100 mL, *hot plate*, inkubator, jarum ose, labu ukur 50 mL, lempeng silika gel 60 F₂₅₄, pipa kapiler KLT, pipet tetes, pita ukur, plat tetes, sinar UV 254 dan 366 nm.

Prosedur Penelitian

Pembuatan media potato dextrose agar (PDA) dan potato dextrose broth (PDB)

Pembuatan media PDA dimulai dengan mengupas kulit kentang hingga bersih kemudian dipotong-potong hingga menjadi kecil. Sebanyak 20 g kentang direbus dengan akuades dan setelah mendidih ekstraknya disaring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Setelah diperoleh ekstraknya, ditambahkan dekstrosa sebanyak 2 g dan ditambahkan akuades kembali hingga volumenya 100 mL, selanjutnya dimasukkan agar bening 1,5 g.

Media PDB dibuat dengan merebus 20 g kentang dengan akuades sebanyak 100 mL kemudian air rebusannya disaring menggunakan saringan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ekstrak kentang yang telah diperoleh ditambahkan dekstrosa sebanyak 2 g dan ditambahkan kembali akuades hingga volumenya 100 mL (Achmad et al., 2013). Sebelum digunakan, media PDA dan PDB disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C (Iskandar & Suhendra, 2013).

Persiapan inokulan *Fusarium oxysporum*

Isolat *Fusarium oxysporum* diremajakan terlebih dahulu dengan menggunakan media

Potato Dextrose Agar (PDA). Media PDA yang telah disterilisasi dituang ke dalam cawan petri dan didiamkan sampai media tersebut mengeras. Setelah media PDA siap, dimasukkan isolat *Fusarium oxysporum* dengan menggunakan jarum ose ke dalam media. Isolat diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni dan warnanya serta dilakukan juga pengamatan dibawah mikroskop (Nurbaya et al., 2015)

Fusarium oxysporum yang telah diremajakan selanjutnya diperbanyak dengan media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB). Isolat *Fusarium oxysporum* dimasukkan ke dalam media PDB menggunakan jarum ose, kemudian isolat tersebut dishaker selama 5 hari dengan kecepatan 100 rpm (Irfandi et al., 2017). Sebelum digunakan sebagai inokulan, *Fusarium oxysporum* akan dihaluskan menggunakan blender terlebih dahulu sehingga tidak menyumbat lubang spuit (Suhendra et al., 2012).

Pembuatan asam salisilat 100 mM

Larutan asam salisilat 100 mM dibuat dengan melarutkan 0,6906 g asam salisilat dengan etanol 96% dalam labu ukur 50 mL (Aljamal, 2016).

Induksi *Aquilaria malaccensis*

Induksi dilakukan pada 4 cabang pohon (Tabel 1). Cabang pohon *Aquilaria malaccensis* dilubangi menggunakan bor listrik pada kedalam 1/3 diameter cabang pohon dan jarak antar lubang 15 cm. Sebelum dilakukan penyuntikan dengan inokulan dan induser, lubang disemprotkan dengan alkohol terlebih dahulu agar steril. Lubang yang telah steril, disuntik dengan *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat sebanyak 2 mL, kemudian setelah disuntik, lubang ditutup dengan

menggunakan lem lilin (Wangiayana & Iskandar, 2021). Cabang pohon pertama dengan kode A diberikan perlakuan berupa penyuntikan *Fusarium oxysporum* sebanyak 2 mL. Cabang pohon kedua dengan kode B diberikan perlakuan berupa penyuntikan asam salisilat sebanyak 2 mL. Cabang pohon ketiga dengan kode C diberikan perlakuan berupa penyuntikan *Fusarium oxysporum* sebanyak 2 mL, kemudian setelah satu minggu dilakukan penyuntikan asam salisilat sebanyak 2 mL. Cabang pohon keempat tidak disuntikkan apapun dan hanya dilubangi saja untuk kemudian digunakan sebagai kontrol (Murtaip, 2010).

Tabel 1. Perlakuan Induksi *Aquilaria malaccensis*

Kode	Perlakuan
A	<i>Fusarium oxysporum</i>
B	Asam Salisilat 100 mM
C	Kombinasi <i>Fusarium oxysporum</i> dan asam salisilat
K	Pohon <i>Aquilaria malaccensis</i> yang di bor saja (sebagai kontrol)

Pengamatan

Setelah dilakukan induksi selama 3 bulan, selanjutnya dilakukan pengamatan hasil induksi. Pengamatan pertama yang dilakukan adalah melihat perubahan warna Gaharu dengan mengupas kulit batang pohon yang telah diinduksi. Selanjutnya dilakukan juga pengamatan terhadap panjang dan lebar zona Gaharu yang terbentuk.

Ekstraksi Gaharu

Setelah pohon *Aquilaria malaccensis* diinduksi selama 3 bulan, maka Gaharu yang dihasilkan akan di ekstraksi dengan memanfaatkan metode maserasi. Gaharu yang dihasilkan akan dihaluskan terlebih dahulu hingga berbentuk serbuk kemudian dimaserasi dengan pelarut aseton pada suhu ruang

selama 96 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan ekstrak dipekatkan (Yuniar et al., 2023).

Uji kromatografi lapis tipis (KLT)

Uji kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan lempeng silika gel GF₂₅₄. Ekstrak kental yang telah diperoleh ditotolkan pada lempeng silika gel dengan jarak 1 cm dari garis batas bawah. Kemudian dikering anginkan beberapa saat dan dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol dengan perbandingan 9:1. Elusi ini dilakukan hingga eluen merambat pada garis batas atas dan lempeng dikeluarkan dan diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Setelah itu dilakukan penyemprotan reagen FeCl₃ dan Lieberman-Burchard untuk melihat senyawa fenol dan terpenoid (Kristanti et al., 2008; Alen et al., 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Inokulan *Fusarium oxysporum*

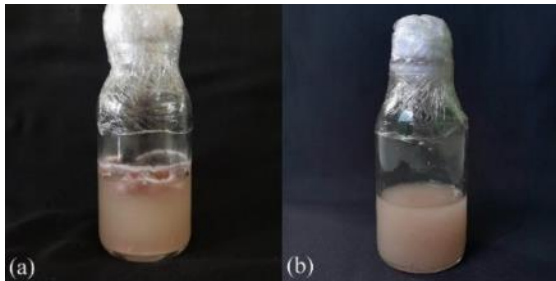
Karakteristik makroskopis jamur *Fusarium* yang diremajakan sesuai dengan penelitian Wakhidah et al., (2021) yakni koloni dengan tekstur seperti kapas dan berwarna putih (Gambar 1).



Gambar 1. Koloni *Fusarium oxysporum* (a) dan Spora *Fusarium oxysporum* secara mikroskopis (b)

Karakteristik mikroskopis jamur *Fusarium oxysporum* mempunyai mikrokonidia dan makrokonidia. Mikrokonidia memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan

makrokonidia. Mikrokonidia berbentuk elips bulat telur dan tidak memiliki septa, sedangkan makrokonidia berbentuk fusiform agak bengkok meruncing di kedua ujungnya dan biasanya memiliki 3 septa (Leslie & Summerell, 2006).



Gambar 2. *Fusarium oxysporum* yang telah diperbanyak (a) dan *Fusarium oxysporum* yang telah dihaluskan (b)

Hasil Pengamatan

Setelah diinduksi selama 3 bulan, dilakukan pengamatan dan diperoleh bahwa setiap perlakuan memberikan hasil yang berbeda-beda (Gambar 3). Saat kulitnya dikupas, dapat dilihat bahwa disekitar lubang yang telah diberikan perlakuan mengalami perubahan warna dari yang awalnya berwarna putih menjadi warna coklat dengan intensitas warna yang berbeda-beda. Perubahan warna ini dapat terjadi akibat adanya akumulasi senyawa fitoaleksin yang merupakan pertahanan tanaman yang dirangsang oleh perlakuan yang diberikan kepada tanaman, baik berupa pelukaan maupun induksi buatan. Perbedaan intensitas warna yang dihasilkan dipengaruhi oleh perbedaan tingkat luka yang disebabkan oleh perbedaan perlakuan.

Gaharu yang dihasilkan oleh proses induksi selama 3 bulan terakumulasi ke dalam jaringan xilem dan floem. Xilem dan floem merupakan sistem pembuluh tanaman yang bertugas untuk mengangkut air dan unsur hara sehingga memungkinkan tanaman untuk tumbuh. Xilem akan mengalirkan air dan unsur

hara yang diperoleh dari akar hingga ke seluruh bagian tanaman. Sedangkan floem akan mengangkut produk hasil fotosintesis dari jaringan sumber, seperti daun ke seluruh bagian tanaman (Dinneny & Yanosky, 2004). Patogen yang masuk ke dalam jaringan xilem akan berkembang dengan memanfaatkan air dan makanan yang dibawa oleh jaringan xilem dan floem sehingga mengakibatkan akumulasi patogen semakin besar. Patogen yang berkembang ini akan mengganggu kerja xilem dalam mengalirkan air dan unsur hara dari akar hingga ke bagian yang lain. Hal ini dapat menyebabkan tanaman menjadi layu hingga mati (Mutmainnah, 2015).

Kekurangan air dan makanan yang terjadi akibat terganggunya kerja jaringan xilem dan floem dapat memicu stres pada tanaman. Stres yang terjadi pada tanaman penghasil Gaharu akan memicu respons sistem pertahanan yang kemudian akan memulai biosintesis metabolit sekunder dan pada akhirnya menghasilkan resin Gaharu (Anggraini et al., 2016; Tan et al., 2019).

Asam salisilat yang merupakan hormon tanaman akan bertindak sebagai sinyal endogen yang akan mengaktifkan kekebalan tanaman dan meningkatkan sistem pertahanan tanaman terhadap suatu penyakit (Osei et al., 2021). Asam salisilat mengaktifkan ekspresi gen pertahanan antimikroba menyebabkan penguatan dinding sel dan akumulasi senyawa antimikroba (Malamy et al., 1990).

Selain perubahan warna, panjang dan lebar area yang mengalami perubahan warna juga diukur. Panjang perubahan warna diukur secara memanjang karena perubahan warna secara vertikal tampak lebih besar jika dibandingkan dengan horizontal.

Tabel 2. Panjang dan Lebar Gaharu Yang Terbentuk

Perlakuan	Panjang (cm)	Lebar (cm)
A	2,9	1,4
B	2,7	1,3
C	3,4	1,6
K	2,6	1,4

Umumnya aspek yang dilihat untuk menilai kualitas Gaharu adalah warna dan aroma, dimana warna yang lebih gelap dengan aroma yang kuat menunjukkan Gaharu tersebut memiliki kualitas yang tinggi (Tajuddin *et al.*, 2016). Akumulasi resin setelah tanaman penghasil Gaharu terinfeksi dapat mempengaruhi warna Gaharu yang dihasilkan. Semakin gelap warna Gaharu maka semakin tinggi kualitas Gaharunya (Barden *et al.*, 2000). Penetapan mutu Gaharu pada SNI 7631:2018 juga menunjukkan bahwa semakin tinggi mutu Gaharu maka semakin gelap dan merata warna yang dihasilkan.

Perlakuan A menghasilkan Gaharu dengan intensitas warna yang lebih gelap dan merata dibandingkan perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa induksi dengan *Fusarium oxysporum* menghasilkan Gaharu dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Jamur patogen yang disuntikkan ke dalam batang tanaman penghasil Gaharu akan menghasilkan cairan enzim atau toksin. Hal ini menyebabkan pohon menghasilkan senyawa fitoaleksin untuk melawan serangan jamur patogen tersebut (Santoso, 2014).

Menurut Liu *et al.* (2022) induksi dengan jamur menghasilkan area Gaharu yang terbentuk lebih luas dibandingkan dengan menggunakan bahan kimia sehingga hasil yang diperoleh akan lebih tinggi dan lebih padat. Tingkat keberhasilan induksi dengan jamur juga lebih tinggi dibandingkan dengan

menggunakan bahan kimia. Pada perlakuan B yang menggunakan bahan kimia berupa asam salisilat juga menunjukkan intensitas perubahan warna yang tidak lebih gelap dan tidak merata dibandingkan perlakuan A. Selain itu, area perubahan warna pada perlakuan A dan B juga melebar ke dalam ke arah atas dan bawah dari lubang yang diberikan perlakuan, namun tidak melebar ke arah samping. Hal ini mungkin disebabkan oleh arah pergerakan xilem dan floem. Xilem yang bertugas mengangkut air dan unsur hara dari akar ke seluruh bagian tanaman, sedangkan floem mengangkut hasil fotosintesis ke seluruh bagian tanaman (Dinnyeny and Yanosky, 2004).

Perlakuan C yang merupakan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat tidak menghasilkan intensitas warna Gaharu yang lebih gelap dibandingkan perlakuan yang lain serta perubahan warna yang terjadi juga tidak merata. Namun menghasilkan area perubahan warna yang lebih panjang dibandingkan perlakuan yang lain. Menurut Murtaip (2008), hal ini mungkin terjadi karena aktivitas jamur dalam menginduksi panjang warna yang dihasilkan dipengaruhi oleh asam salisilat.

Induksi dengan bahan kimia dan patogen akan merangsang respon pertahanan tanaman melalui jalur H₂O₂, sinyal asam salisilat dan sinyal asam jasmonat. Molekul pensinyalan ini kemudian akan mengaktifkan faktor transkripsi untuk selanjutnya mengaktifkan gen biosintesis terpenoid (Gambar 4) (Tan *et al.*, 2019).

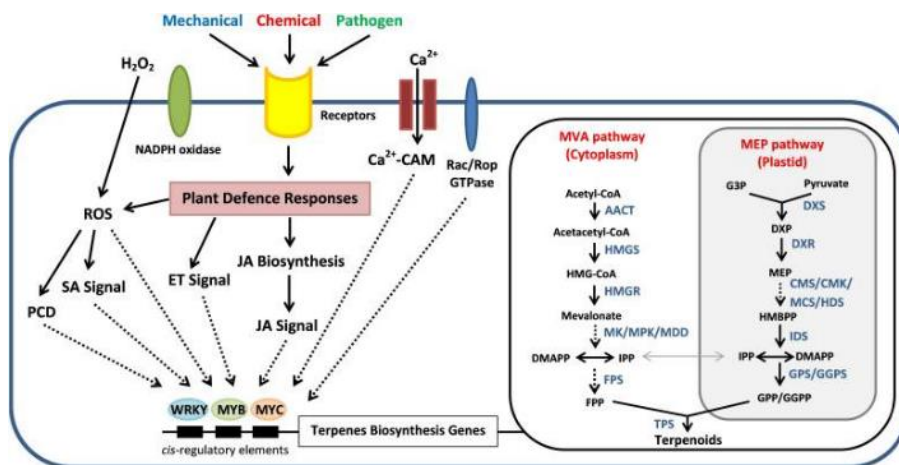
Perlakuan K yang hanya dilubangi saja dan tidak diberikan apapun dan akan digunakan sebagai kontrol negatif namun setelah 3 bulan menghasilkan perubahan warna. Hal ini mungkin saja terjadi akibat adanya serangan oleh jamur karena disekitar lubang yang di bor terlihat seperti ada miselia

jamur. Rasool dan Mohammed (2016) menyatakan bahwa kerusakan secara fisik pada tanaman penghasil Gaharu dapat menyebabkan pohon menjadi lemah sehingga mudah terserang infeksi jamur. Setelah beberapa hari, akan terjadi perubahan warna disekitar luka yang seiring berjalannya waktu, warna tersebut akan menjadi gelap. Kemudian setelah 3 bulan zona gelap tersebut sudah membesar dan menunjukkan keberadaan

Gaharu. Penelitian Faizal et al. (2016) menunjukkan bahwa tanaman penghasil Gaharu yang diberi perlakuan hanya dilubangi saja juga menunjukkan perubahan warna menjadi kecoklatan. Namun hasil analisis GC-MS sampel Gaharu yang hanya dilubangi memiliki kandungan seskuiterpen yang lebih rendah dibandingkan dengan Gaharu yang diinduksi dengan jamur.



Gambar 3. Perubahan warna yang terbentuk setelah induksi selama 3 bulan (a) Perlakuan A, (b) Perlakuan B, (c) Perlakuan C, dan (d) Perlakuan K.



Gambar 4. Hubungan skematis antara mekanisme transduksi sinyal untuk biosintesis seskuiterpen dan regulasi pada spesies *Aquilaria* untuk pembentukan Gaharu (Tan et al., 2019)

Ekstrak Gaharu

Gaharu yang telah diperoleh dihaluskan kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut aseton. Proses penghalusan bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan sehingga sampel mudah bercampur dengan pelarut dan proses ekstraksi menjadi lebih efisien (Farooq et al., 2022). Aseton yang bersifat semi-polar akan

melarutkan senyawa-senyawa-senyawa polar maupun nonpolar (Promila & Madan, 2017). Pasaribu et al (2015) menyatakan bahwa Gaharu lebih cocok diekstraksi menggunakan pelarut semi-polar. Seperti yang diketahui bahwa Gaharu memiliki komponen utama berupa seskuiterpen dan kromon. Terpen dan seskuiterpen merupakan senyawa yang bersifat non-polar, sedangkan kromon bersifat

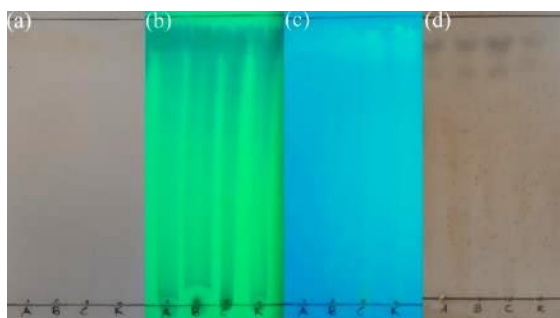
polar (Ahmaed & Kulkaerni, 2017). Hasil maserasi yang diperoleh berupa larutan berwarna coklat dan setelah dipisahkan diperoleh ekstrak Gaharu yang berwarna kuning.



Gambar 5. Maserasi Gaharu

Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

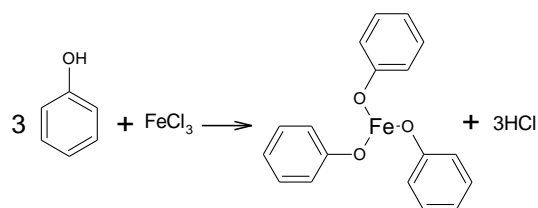
Pemisahan senyawa kimia pada metode KLT terjadi berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen senyawa kimia akan bergerak naik mengikuti fase gerak dengan jarak yang berbeda-beda berdasarkan tingkat kepolarannya karena daya serap adsorben terhadap komponen senyawa kimia tidak sama (Stahl, 2013).



Gambar 6. Profil kromatogram pemeriksaan senyawa fenol dengan fase gerak kloroform metanol 9:1 a) Plat yang telah dielusi b) Plat yang disinari UV 254 nm c) Plat yang disinari UV 366 nm d) Plat yang telah disemprot FeCl_3

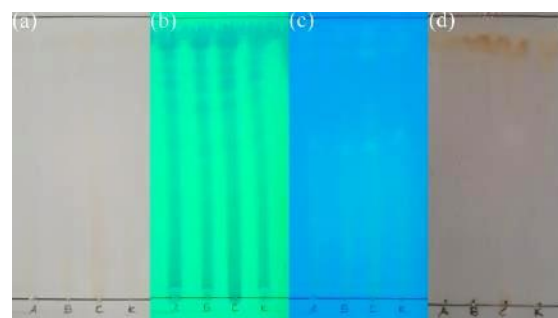
Hasil uji KLT menunjukkan bahwa terdapat noda berwarna hitam pada semua perlakuan setelah disemprot dengan reagen

FeCl_3 (Gambar 6). Hasil positif fenol ditunjukkan dengan noda berwarna hitam yang kuat pada profil kromatogram. Gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol bereaksi dengan ion Fe^{3+} yang ada pada FeCl_3 sehingga menghasilkan senyawa kompleks (Gambar 7) (Harborne, 1987). Oleh karena itu, noda berwarna hitam yang dihasilkan ini menunjukkan bahwa semua Gaharu yang dihasilkan positif mengandung senyawa fenolik.



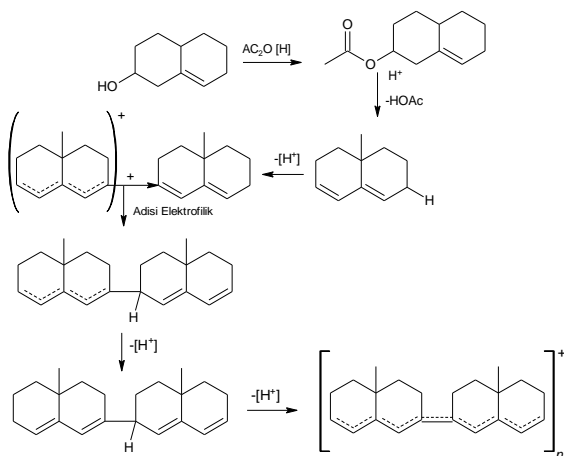
Gambar 7. Reaksi fenol dan FeCl_3 (Mukhriani et al., 2019)

Hasil uji KLT dengan menggunakan reagen Liebermann-Burchard menunjukkan noda berwarna merah coklat (Gambar 8). Hasil positif terpenoid menggunakan reagen Liebermann-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna merah coklat (Widyaningsih et al., 2016). Pada penelitian ini, diperoleh bahwa Gaharu dari semua perlakuan positif mengandung senyawa terpenoid.



Gambar 8. Profil kromatogram pemeriksaan senyawa terpenoid dengan fase gerak kloroform metanol 9:1 (a) Plat yang telah dielusi, (b) Plat yang disinari UV 254 nm, (c) Plat yang disinari UV 366 nm, (d) Plat yang telah disemprot Liebermann-Burchard

Prinsip dari uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H₂O serta penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini dimulai dengan asetilisasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas dan membentuk ikatan rangkap. Proses berlanjut dengan terjadinya pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya dan akibatnya ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation mengakibatkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Selanjutnya gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, sehingga senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya perubahan warna merah-ungu (Gambar 9) (Siadi, 2012).



Gambar 9. Reaksi terpenoid dan Liebermann-Burchard (Kurang et al., 2020)

KESIMPULAN

Semua perlakuan, baik *Fusarium oxysporum*, asam salisilat, kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat serta perlakuan batang pohon menggunakan bor dapat menghasilkan Gaharu dalam waktu 3 bulan. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa Gaharu dari semua perlakuan mengandung senyawa fenolik dan terpenoid. Perlakuan kombinasi

menghasilkan intensitas perubahan warna yang tidak lebih gelap dan memiliki zona perubahan warna yang lebih luas jika dibandingkan dengan perlakuan tunggal. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi *Fusarium oxysporum* dan asam salisilat kurang efektif dalam menghasilkan Gaharu dibandingkan dengan perlakuan tunggalnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Herliyana, E. N., and Octaviani, E. A. (2013). Pengaruh pH, Penggoyangan Media, dan Penambahan Serbuk Gergaji terhadap Pertumbuhan Jamur *Xylaria* sp. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 4(02), 57-61.
- Ahmaed, D. T., and Kulkarni, A. D. (2017). Sesquiterpenes and Chromones of Agarwood: a review. *Malaysian Journal of Chemistry*, 19(1), 33-58.
- Alen, Y., Agresa, F. L., and Yuliandra, Y. (2017). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 146-152.
- Aljamal, M. A. K. M. (2016). Topical Salicylic acid and Lactic acid Micremulsion and Co-crystal, (Tesis). Al-Quds University, Applied and Industrial Technology, Jerusalem.
- Anggraini, N., Faridah, E. and Indrioko, S., 2016. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Perilaku Fisiologis dan Pertumbuhan Bibit Black Locust (*Robinia pseudoacacia*). *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 9, 40–56.
- Barden, A., Anak, N.A., Mulliken, T., Song, M., (2000). *Heart of the matter: agarwood use and trade and CITES implementation for Aquilaria malaccensis*. Traffic International. Cambridge.
- Dinneny, J. R., and Yanofsky, M. F. (2004). Vascular Patterning: Xylem or Phloem?. *Current Biology*. 14(3), R112-R114.

- Faizal, A., Esyanti, R. R., Aulianisa, E. N., Santoso, E., and Turjaman, M. (2016). Formation of Agarwood from *Aquilaria malaccensis* in Response to Inoculation of Local Strains of *Fusarium Solani*. *Trees*. 31(1), 189-197.
- Farooq, S., Mir, S. A., Shah, M. A. and Manickavasagan, A. (2022). *Extraction Techniques*, Di dalam: Mir, S.; Manickavasagan, A.; Shah, M. A. (ed), *Plant Extracts: applications in the food industry*. Academic Press. London.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB Press. Bandung.
- Hartono, H., Wibowo, A., and Priyatmojo, A. (2019). Isolation, Identification and the Abilities of Fungi Associated with Agarwood from Bangka Belitung Island to Induce Agarwood Compounds. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 23(1), 94-108.
- Iskandar, D., and Suhendra, A. (2013). Uji inokulasi *Fusarium* sp. untuk Produksi Gaharu pada Budidaya *A.beccariana*. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 14(3), 182-188.
- Irfandi, F., Hermiyanto, B. and Seodradjad, R. (2017). Inokulasi Cendawan *Fusarium* sp. dari Berbagai Tanaman Inang dan Diameter Batang terhadap Pembentukan Kemedangan Gaharu Jenis *Gyrinophs versteegii*. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 10(1), 13-20.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.A., Tanjung, M., Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kurang, R. Y., Koly, F. V. L., Kafolapada, D. I. (2020), Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 3(1), 13-21.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell. Iowa.
- Liu, Y., Chen, H., Yang, Y., Zhang, Z., Wei, J., Meng, H., Chen, W., Feng, J., Gan, B., Chen, X., Gao, Z., Huang, J., Chen, B. and Chen, H. (2013). Whole-Tree Agarwood-Inducing Technique: an efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees. *Molecules*. 18(3), 3086–3106.
- López-Sampson, A. and Page, T. (2018). History of Use and Trade of Agarwood. *Economic Botany*. 20, 1–23.
- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M. and Arsul, M. I. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *ad-Dawaa'Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(2), 95-102.
- Murtaip. (2010). *Induksi Senyawa Gaharu Melalui Kombinasi Senyawa Kimia dan Acremorium*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor. (Tesis).
- Mutmainnah, M., 2015. Efektivitas Bakteri Antagonis Dalam Menekan Penyakit Layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*) pada Dua Jenis Markisa di Pembibitan. *Perbal: Jurnal Pertanian Berkelanjutan*. 4(1),1-12.
- Nurbaya, Kuswinanti, T., Baharuddin, Rosmana, A. and Syamsuddin, M. (2015). Eksplorasi *Fusarium* Spp yang Berasosiasi dengan *Aquillaria* Spp di Kabupaten Nunukan Kalimantan Utara. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*. 29 Jan 2015, Universitas Alauddin Makassar. Makassar.
- Okudera, Y., and Ito, M. (2009). Production of Agarwood Fragrant Constituents in *Aquilaria* Calli and Cell Suspension Cultures. *Plant Biotechnology*. 26(3), 307–315.
- Osei, R., Yang, C., Boamah, S., and Boakye, T. A., 2021. Role Of Salicylic Acid in Plants Defense Mechanisms Against Pathogens. *International Journal Of Creative and Innovative Research in All Studies*. 4(6), 31-45.
- Pasaribu, G., Waluyo, T. K. and Pari, G. (2015). Analysis Of Chemical Compounds Distinguisher For Agarwood Qualities.

- Indonesian Journal of Forestry Research*. 2(1), 1-7.
- Promila and Madan, V. K. (2017). Effect of Extraction Solvents on Total Phenolics and Flavonoids Contents of *Capparis deciduas* (Forsk.) Edgew flowers and Its Nutritional Potential. *Open Access Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 8(2), 1-8.
- Rachmawaty, R., Ashar, A., Ali, A., Pagarra, H., and Hiola, S. F. (2021). Pembentukan Gaharu pada Pohon *Aquilaria malaccensis* Lamk., Menggunakan Inokulum *Fusarium* sp. *Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*. 10(2), 178-188.
- Ramli, A. N. M., Yusof, S., Bhuyar, P., Aminan, A.W., Tajuddin, S. N. (2022). Fungi Mediated Agarwood (*A. malaccensis*) Production and Their Pharmaceutical Applications: a systematic review. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals*. 2(2), 261-270.
- Rasool, S., and Mohamed, R. (2016) Understanding Agarwood Formation and its Challenges, Di dalam: Mohammed, R. (ed). *Agarwood: science behind the fragrance*. Springer. Singapore.
- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif Dengan Penambahan larutan NaCl. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 35(1), 77-83.
- Siran, S. A. (2010). Perkembangan Pemanfaatan Gaharu, Di dalam: Siran, S. A.; Turjaman, M. (ed), Pengembangan teknologi produksi Gaharu berbasis pemberdayaan masyarakat. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor.
- Subowo, Y. B. (2010) Jamur Pembentuk Gaharu Sebagai Penjaga Kelangsungan Hidup Tanaman Gaharu (*Aquilaria* sp). *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 11(2), 167-168.
- Suhendra, A., Roswanjaya, Y. P. and Handayani, D. P. (2012). Aplikasi Inokulasi *Fusarium* untuk Mempercepat Proses Pembentukan dan Produksi Gubal Gaharu di Kabupaten Penajam Paser Utara Kalimantan Timur. Di dalam: *Prosiding InSINas, Seminar Nasional Insentif Riset SINAS: Membangun Sinergi Riset Nasional untuk Kemandirian Teknologi*. 29-30 Nov 2012. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Jakarta.
- Susetya, D. (2014). Budidaya Gaharu. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Tajuddin, S. N., Aizal, C. M., & Yusoff, M. M. (2016). Resolution of Complex Sesquiterpene Hydrocarbons in *Aquilaria malaccensis* Volatile Oils Using Gas Chromatography Technique, Di dalam: Mohammed, R. (ed), *Agarwood: science behind the fragrance*. Springer, Singapore.
- Tan, C. S., Isa, N. M., Ismail, I. and Zainal, Z., (2019). Agarwood Induction: current developments and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*. 10(122), 1-13.
- Wakhidah, N., Kasrina and Bustaman, H. (2021). Keanekaragaman Jamur Patogen dan Gejala yang Ditimbulkan pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) di Dataran Rendah. *Konservasi Hayati*. 17(2), 63-68.
- Wangiayana, I. G. A. S., and Iskandar, E. (2021). Bio-Induksi Ranting Cabang Gaharu (*Gyrinops versteegii*) di Perkebunan Gaharu Desa Pejaring Lombok Timur. *ULIN: Jurnal Hutan Tropis*. 5(2), 106-115.
- Widyaningsih, W., Pramono, S., Widyarini, S. and Sugiyanto, S. (2016). Skrining Fitokimia Ekstraks Etanol *Ulva lactuca* L. dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*. 13(2), 199-211.
- Yuniar, R., Jayuska, A., Alimuddin, A. H., Wibowo, M. A., and Ardiningsih, P. (2023). Anti-Termite Activities of The Bioactive Compounds of Gaharu Culture (*Aetoxylon sympetalum*) From Maceration Results Using Acetone Solvent. *BERKALA SAINSTEK*. 11(2), 106-113.