

**Development of Trichodermin Nanoemulsion Based on Medium Chain Triglycerides as Antifungal of *Ganoderma boninense* in vitro**  
(Pengembangan Nanoemulsi Trichodermin Berbasis *Medium Chain Triglycerides* sebagai Antifungi *Ganoderma boninense* in vitro)

Muhammad Alwin Azhari<sup>1\*</sup>, Ike Wahyuni Putri<sup>1</sup>, Ahmad Irvan Pratama<sup>1</sup>,  
Radika Evita Hidayah<sup>1</sup>, Laksmi Ambarsari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 11 August 2017 ; Accepted: 27 August 2017

---

\*Corresponding author: Muhammad Alwin Azhari; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: [alwinazhari@apps.ipb.ac.id](mailto:alwinazhari@apps.ipb.ac.id)

---

**ABSTRACT**

*Trichodermin has antifungal activity against Ganoderma boninense, but it is volatile and insoluble in water. Research on trichodermin as antifungal G. boninense has been done, but not yet at the stage of altering the nature of the compound. This study aims to develop trichodermin as antifungal G. boninense in the form of nanoenkapsulat with observed aspects including formulation, encapsulation, characterization, and antifungal activity. Trichodermin is extracted from Trichoderma harzianum by maceration. Nanoemulsion is made using Emulsion Inversion Point (EIP) method and encapsulation is done by spray drying. Antifungal activity was tested using a modified dual culture assay method. The results showed the rendement of trichodermin extraction of 0.70%. The best nanoemulsion formula is nanoemulsion with Tween 80 concentrations of 75% of the total organic phase. The formula nanoemulsi has a size of 231.95 nm, polydispersity index of 0.348, and zeta potential of -35.6 mV. Encapsulation has a yield of 5.79%. The encapsulated powder has a moisture content of 5.79%, contains a typical functional group of trichodermin compounds, and is round with an uneven surface. The antioxidant activity of nano-trichodermin encapsulation is higher than trichodermin extract and positive control (hexaconazole) with PIRG value of 84.40%.*

**Keywords:** *Antifungal, G. boninense, nanoemulsion, T. harzianum, trichodermin*

## ABSTRAK

*Trichodermin* memiliki aktivitas antifungi terhadap *Ganoderma boninense*, namun senyawa ini bersifat volatil dan tidak mudah larut dalam air. Penelitian mengenai trichodermin sebagai antifungi *G. boninense* sudah dilakukan, namun belum sampai pada tahap perubahan sifat senyawa tersebut. Penelitian ini bertujuan mengembangkan trichodermin sebagai antifungi *G. boninense* dalam bentuk nanoenkapsulat dengan aspek yang diamati meliputi formulasi, enkapsulasi, karakterisasi, dan aktivitas antifungi. Trichodermin diekstraksi dari *Trichoderma harzianum* secara maserasi. Nanoemulsi dibuat menggunakan metode Emulsion Inversion Point (EIP) dan enkapsulasi dilakukan secara spray drying. Aktivitas antifungi diuji dengan metode modified dual culture assay. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstraksi trichodermin sebesar 0.70%. Formula nanoemulsi terbaik adalah nanoemulsi dengan konsentrasi Tween 80 sebesar 75% dari total fase organik. Nanoemulsi formula tersebut memiliki ukuran sebesar 231.95 nm, indeks polidispersitas sebesar 0.348, dan potensial zeta sebesar -35.6 mV. Enkapsulasi memiliki rendemen sebesar 5.79%. Serbuk enkapsulat memiliki kadar air sebesar 5.79%, mengandung gugus fungsi khas senyawa trichodermin, dan berbentuk bulat dengan permukaan tidak rata. Aktivitas antifungi enkapsulat nano-trichodermin lebih tinggi daripada ekstrak trichodermin dan kontrol positif (heksakonazol) dengan nilai PIRG sebesar 84.40%.

**Kata kunci:** Antifungi, *G. boninense*, nanoemulsi, *T. harzianum*, trichodermin

## 1. PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman perkebunan yang dimanfaatkan oleh berbagai industri. Olahan minyak sawit berupa *crude palm oil* (CPO) dan kernel palm oil (KPO) menjadi sumber devisa nonmigas utama bagi Indonesia (Prihutami 2011). Produksi kelapa sawit di Indonesia dinilai cukup baik, namun masih mengalami beberapa permasalahan yang dapat menurunkan produksi. Salah satu permasalahan yang dapat menurunkan produksi hingga 80% atau lebih adalah penyakit busuk pangkal batang (*basal stem rot*) yang disebabkan oleh patogen *Ganoderma boninense*. Patogen ini tidak hanya menyerang tanaman tua, tetapi juga tanaman muda dengan laju infeksi penyakit yang berjalan semakin cepat (Susanto et al. 2013). Kerugian akibat adanya serangan *G. boninense* pada perkebunan kelapa sawit mencapai US\$ 500 juta per tahun (Ommelna et al. 2012).

Dewasa ini, belum ada pengendalian yang dianggap efektif untuk mengatasi serangan *G. boninense*. Pengendalian secara kimia belum menunjukkan langkah strategis dalam mencegah infeksi cendawan *G. boninense* (Soepena et al. 2000). Penggunaan bahan kimia dapat merusak komposisi mikrob tanah, akibatnya keseimbangan kondisi mikrob tanah terganggu dan polusi lingkungan (Sarim 2013). Bahan kimia yang sering digunakan untuk menanggulangi penyakit busuk pangkal batang adalah heksakonazol. Heksakonazol adalah fungisida spektrum luas dan tergolong bahan aktif yang berpotensi untuk merusak lingkungan. Selain itu, pengendalian secara biologi juga dilakukan dengan menggunakan agen hayati berupa organisme antagonis yang memiliki aktivitas antifungi sebagai biokontrol *G. boninense* (Sarim 2013). Salah satu organisme yang dapat menjadi biokontrol *G. boninense* adalah *Trichoderma*

*harzianum*. Naher *et al.* (2012) menyatakan bahwa *T. harzianum* dapat merangsang ketahanan tanaman terhadap penyakit melalui mekanisme mikoparasit dan hifa *Trichoderma* sp. akan mengeluarkan senyawa metabolit trichodermin.

Penelitian Sihombing (2015) menyatakan bahwa trichodermin memiliki aktivitas antifungi terhadap *G. boninense* sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai biofungisida. Akan tetapi, karakteristik senyawa trichodermin sebagai metabolit sekunder bergolongan seskuiterpen memiliki kelemahan, yaitu berupa minyak atsiri yang volatil dan sedikit larut dalam air (Godtfredsen dan Vangedal 1965). Sifat volatil akan menyulitkan dalam proses penyimpanan senyawa tersebut. Sifat kelarutannya yang sedikit larut air akan menyulitkan proses pengaplikasian senyawa tersebut di lahan perkebunan kelapa sawit. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan mengubah senyawa tersebut dalam bentuk nanoemulsi. Sistem emulsi akan mengatasi kelemahan dari sifat volatil dan sedikit larut air senyawa trichodermin. Selain itu, emulsi yang berukuran nanometer juga memiliki beberapa kelebihan, antara lain memungkinkan pelepasan terkendali dan penargetan senyawa aktif, meningkatkan stabilitas senyawa aktif, tidak adanya toksisitas dari pembawa, dan mudah dalam produksi skala besar (Rawat *et al.* 2006).

Sistem nanoemulsi umumnya dikombinasikan dengan enkapsulasi untuk mengubah wujud sediaan emulsi (cair) menjadi kristal/serbuk (padat). Proses tersebut memiliki beberapa manfaat, yaitu konsentrasi yang lebih besar, stabil, mudah distandardisasi, volume dan bobot yang rendah sehingga mudah disimpan, kadar air lebih rendah sehingga meminimalkan kon-

taminasi mikrob, dan sediaan kering lebih mudah diaplikasikan sesuai dengan tujuan penggunaan (Liana 2016). Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan trichodermin sebagai antifungi *G. boninense* dalam bentuk nanoenkapsulat dengan aspek yang diamati meliputi formulasi, enkapsulasi, karakterisasi, dan aktivitas antifungi.

## 2. METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah isolat *Ganoderma boninense* (IPBCC.10.658), isolat *Trichoderma harzianum* (IPBCC.07.546), media *potato dextrose broth* (PDB), *potato dextrose agar* (PDA), heksakonazol, *medium chain triglycerides* (MCT), Tween 80, metanol, n-hekšana, kertas saring, aluminium foil, dan akuades.

Peralatan yang digunakan adalah neraca analitik, oven, desikator, autoklaf, jarum inokulasi, pengaduk magnetik, laminar air flow cabinet, inkubator, *fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR), *particle size analyzer* (Malvern), Zetasizer (Malvern), *scanning electron microscope* (SEM), *spray dryer* (BUCHI-B190), penguap putar, shaker waterbath, dan alat-alat gelas.

### Peremajaan Isolat *T. harzianum* (Budi *et al.* 2010)

Tujuan peremajaan isolat yaitu untuk memacu pembentukan struktur reproduksi/morfologi fungi. Beberapa media yang digunakan untuk proses peremajaan isolat di antaranya media PDB dan PDA. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Isolat *T. harzianum* diinokulasikan dalam 50 mL PDB dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 7 hari. Setelah itu, kultur pada media PDB dipindahkan seban-

yak 1 mL ke media PDA pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 14 hari.

### **Pengukuran Kadar Air Simplisia (AOAC 2005)**

Cawan porselin kosong yang telah bersih dikeringkan di dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit. Cawan tersebut kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang sebagai bobot cawan kosong (A). Sebanyak 1 g simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan lalu ditimbang (B), kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C hingga mencapai bobot konstan di dalam oven. Setelah itu, cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali (C). Penentuan kadar air sampel dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

$$\text{Kadar air (\%)} = [(B-A)-(C-A)]/(B-A) \times 100\%$$

### **Isolasi Trichodermin (Sihombing 2015)**

Senyawa yang dihasilkan kultur *T. harzianum* dipanen dengan cara memotong medium PDA sehingga menjadi bagian-bagian kecil ukuran  $\pm 1 \times 1$  cm dan merendamnya dengan pelarut metanol dalam Erlenmeyer dengan perbandingan volume pelarut dan volume medium 4 : 1. Campuran tersebut dimaserasi selama 24 jam dan dikocok dengan shaker berkecepatan 120 rpm. Campuran pelarut disaring dengan kertas saring untuk memisahkan sisa PDA. Filtrat kemudian dipartisi dengan menggunakan n-heksana dengan perbandingan 1 : 1 hingga diperoleh fraksi metanol dan pelarut diuapkan dengan penguap putar.

### **Analisis FTIR Senyawa Trichodermin (Nuro-laini et al. 2014)**

Tahap awal dalam analisis FTIR adalah

pembuatan pelet, yaitu 200 mg KBr 2 mg sampel trichodermin dimasukkan ke dalam mortar. Campuran dihomogenkan dengan cepat. Pelet dicetak dengan alat pembuat pelet, kemudian pelet disimpan di tempat yang kering. Pelet dimasukkan ke dalam alat FTIR untuk dianalisis.

### **Pembuatan Nanoemulsi Trichodermin (Huda 2012, Ostertag et al. 2012)**

Proses pembuatan nanoemulsi ekstrak trichodermin dalam penelitian ini mengacu pada Ostertag et al. (2012) dengan teknik energi rendah yaitu metode *Emulsion Inversion Point* (EIP). Pembuatan nanoemulsi trichodermin untuk optimasi pengemulsi dilakukan dengan basis total 20 g di dalam gelas piala 50 mL. Proses diawali dengan melarutkan 0.2 g ekstrak trichodermin ke dalam 2 g MCT. Setelah ekstrak larut, kemudian Tween 80 ditambahkan sesuai dengan persentase masing-masing formula. Tween 80 yang ditambahkan untuk formula A yaitu 50% dari fase total organik (ekstrak trichodermin + MCT), untuk formula B yaitu 75% dari fase total organik. Campuran dihomogenasi dengan pengaduk magnetik selama 30 menit. Setelah menit ke-30, 14.4 mL akuades ditambahkan pada larutan dengan kecepatan penetes 4 mL/menit. Selama penambahan akuades, homogenasi tetap dilangsungkan dan dilanjutkan hingga 60 menit. Nanoemulsi dipindahkan dalam tabung kaca dan dianalisis lebih lanjut.

### **Analisis Potensial Zeta dan Ukuran Partikel Nanoemulsi (Huda 2012)**

Nilai potensial zeta dan ukuran partikel nanoemulsi dianalisis dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) merk Malvern. Dua tetes sampel nanoemulsi dilarutkan kedalam 20 mL akuades di dalam gelas piala.

Sejumlah cairan kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diletakkan ke dalam slot PSA. Alat PSA kemudian dioperasikan. Nilai potensial zeta kemudian diukur dengan Zetasizer. Dari analisis PSA didapatkan data rata-rata ukuran partikel dan juga distribusi ukuran partikel yang dinyatakan dalam Indeks Polidispersitas (IP).

### **Enkapsulasi dengan Spray Drying (Modifikasi Huda 2012)**

Nanoemulsi ekstrak trichodermin dengan karakteristik ukuran partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta yang terbaik diperbanyak dan dienkapsulasi menggunakan metode spray dry. Basis total 600 g nanoemulsi ditambahkan dengan 30% maltodekstrin dan dihomogenasi. Campuran kemudian dikering-hamburkan dengan suhu inlet 160 °C dan laju alir 20 mL/menit. Serbuk enkapsulat kemudian ditampung dalam tabung melalui siklon satu dan siklon dua kemudian ditimbang untuk penghitungan rendemen proses enkapsulasi. Serbuk disimpan dalam botol kaca yang dilapis aluminium foil supaya kedap cahaya untuk analisis lebih lanjut.

### **Pengamatan Bentuk dan Morfologi Enkapsulat (Yuliani *et al.* 2007)**

Struktur enkapsulat nanoekstrak trichodermin diamati dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Sejumlah sampel ditempatkan di atas stubs (dudukan sampel) kemudian dilapisi dengan emas menggunakan alat gold sputter coater selama 30 menit. Selanjutnya, sampel dianalisis dengan SEM pada voltase akselerasi 20 kV. Gambar hasil pengamatan direkam dan dicetak.

### **Uji Aktivitas Antifungi Nano-trichodermin terhadap *G. boninense* (Angel *et al.* 2016)**

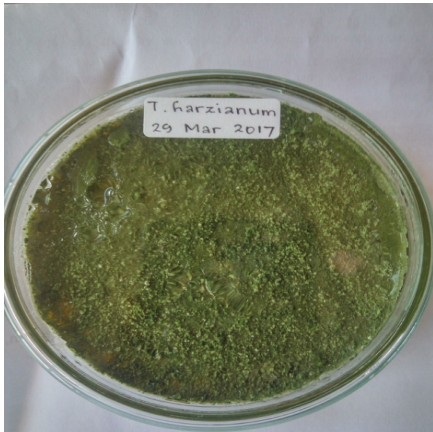
Metode yang digunakan pada penentuan aktivitas antifungi adalah modified dual culture assay. Trichodermin, nano-trichodermin, dan heksakonazol (kontrol positif) dilarutkan dengan akuades steril hingga diperoleh konsentrasi bahan aktif sebesar 500 µg/mL. Kontrol negatif yang digunakan berupa akuades steril dan kontrol nanoemulsi. Media PDA pada cawan petri dilubangi dengan diameter 0.6 cm yang berjarak 2 cm dari pinggir cawan petri. Sampel uji dimasukkan ke dalam sumur sebanyak 30 µL dan isolat *G. boninense* yang telah diremajakan diinokulasikan di sisi yang berlawanan dengan sumur uji. Uji aktivitas antifungi ini dilakukan sebanyak 3 ulangan untuk tiap sampel uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C dan pertumbuhan *G. boninense* diamati pada inkubasi hari ke-1, 3, 5, dan 7. Nilai PIRG (*percentage of inhibition of radial growth*) dihitung setelah inkubasi 7 hari dengan persamaan:

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{[(R1-R2)/ R1] \times 100\%}{}$$

R1 adalah dengan perlakuan antifungi, sedangkan R2 adalah tanpa perlakuan antifungi (kontrol negatif).

### **3. HASIL**

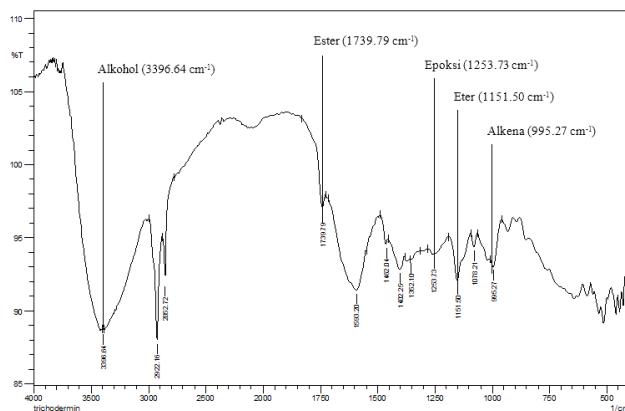
Simplisia yang digunakan berupa kultur *T. harzianum* dan media tumbuhnya yang telah diinkubasi selama 14 hari (Gambar 1). Sebelum diekstraksi, dilakukan penentuan kadar air simplisia dengan teknik gravimetri. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi, lalu dilanjutkan dengan partisi untuk memperoleh ekstrak trichodermin. Rendemen ekstraksi dihitung untuk mengetahui efisiensi ekstraksi (Tabel 1).



Gambar 1 *T. harzianum* setelah inkubasi 14 hari

Tabel 1. Kadar air simplisia dan rendemen ekstrak trichodermin

Parameter	Jumlah (%)
Kadar air simplisia	97.28 ± 0.04
Rendemen ekstrak kasar	1.42
Rendemen fraksi metanol	0.70



Gambar 2. Spektrum FTIR ekstrak trichodermin



Gambar 3. Nanoemulsi trichodermin; (b) Serbuk encapsulat nano-trichodermin

Spektrum FTIR senyawa trichodermin (Gambar 2) menunjukkan beberapa puncak yang mengindikasikan keberadaan beberapa gugus fungsi pada sampel uji. Gugus fungsi khas pada trichodermin berupa gugus ester, epoksida, alkena, dan eter. Keempat gugus fungsi tersebut teridentifikasi melalui puncak spektrum FTIR dengan bilangan gelombang  $1739.79\text{ cm}^{-1}$  untuk ester,  $1253.73\text{ cm}^{-1}$  untuk epoksida,  $1151.50\text{ cm}^{-1}$  untuk eter, dan  $995.27\text{ cm}^{-1}$  untuk alkena. Hasil tersebut dapat memprediksikan bahwa senyawa yang diisolasi merupakan trichodermin.

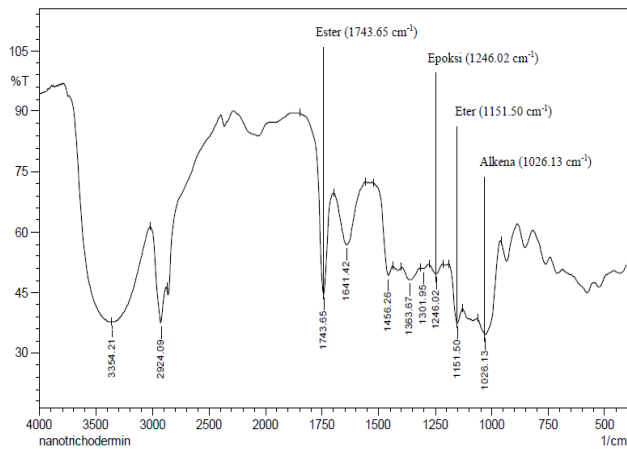
Nanoemulsi formula A dan B dianalisis ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), dan potensial zeta (Gambar 3a). Ukuran partikel dan nilai IP dianalisis dengan PSA, sedangkan potensial zeta dianalisis dengan Zetasizer. Penambahan konsentrasi Tween 80 berdampak pada penurunan ukuran partikel, IP, dan potensial zeta (Tabel 2). Formula A dengan kadar Tween 80 sebesar 50% dari fase organik memberikan ukuran partikel, IP, dan potensial zeta yang lebih besar daripada Formula B dengan kadar Tween 80 sebesar 75% dari fase organik. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa metode *emulsion inversion point* (EIP) dapat digunakan untuk membuat nanoemulsi trichodermin.

Encapsulasi dilakukan dengan metode *spray drying*. Nanoemulsi yang digunakan untuk proses encapsulasi adalah nanoemulsi dengan kadar Tween 80 sebesar 75%. Hasil encapsulasi berupa serbuk encapsulat yang halus dan berwarna putih kekuningan dengan rendemen encapsulasi sebesar 5.79% (Gambar 3b). Serbuk encapsulat dari hasil encapsulasi dikarakterisasi dengan karakter yang diamati berupa kadar air, gugus fungsi, dan morfologi.

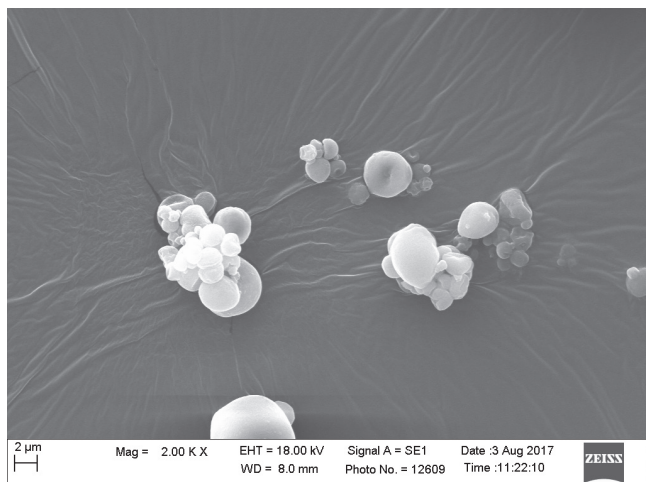
Kadar air encapsulat ditentukan dengan teknik gravimetri atau metode yang sama dengan penentuan kadar air simplisia. Kadar air en-

Tabel 2. Ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), dan potensial zeta nanoemulsi

Formula	Kadar Tween 80 (%)	Rata-rata ukuran partikel (nm)	Rata-rata IP	Rata-rata potensial zeta (mV)
A	50	553.45 ± 335.09	0.902 ± 0.139	-29.1 ± 13.6
B	75	231.95 ± 67.10	0.348 ± 0.045	-35.6 ± 3.5



Gambar 4. Spektrum FTIR enkapsulat nano-trichodermin



Gambar 5. Morfologi permukaan enkapsulat perbesaran 2000×

kapsul diukur sebanyak 3 ulangan (triplo) dan diperoleh nilai kadar air enkapsulat sebesar  $5.79 \pm 0.19\%$ . Analisis gugus fungsi nanoenkapsulat menunjukkan bahwa enkapsulat masih memiliki gugus fungsi khas senyawa trichodermin (Gambar 4). Keempat gugus fungsi khas tersebut teridentifikasi melalui puncak spektrum FTIR dengan bilangan gelombang  $1743.65 \text{ cm}^{-1}$  untuk ester,  $1246.02 \text{ cm}^{-1}$  untuk epoksi,  $1151.50 \text{ cm}^{-1}$

untuk eter, serta bilangan gelombang  $1026.13 \text{ cm}^{-1}$  untuk alkena.

Pengamatan morfologi permukaan enkapsulat dilakukan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM). Hasil SEM pada perbesaran  $2000\times$  menunjukkan enkapsulat memiliki bentuk bulat, permukaan yang halus, partikel teragregasi, dan ukuran partikel yang bervariasi (Gambar 5). Beberapa partikel tampak menggembung dan ada pula yang mengempis. Rata-rata ukuran partikel sulit ditentukan, namun ukuran terkecil enkapsulat yang terdeteksi dengan SEM adalah  $717.7 \text{ nm}$ . Ukuran partikel enkapsulat yang diamati dengan SEM lebih besar daripada ukuran partikel nanoemulsi yang diamati dengan PSA. Hal tersebut menunjukkan bahwa maltodekstrin yang berperan sebagai enkapsulan pada proses *spray drying* dapat digunakan untuk mengenkapsulasi nanoemulsi trichodermin.

Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan metode modified dual culture assay. Parameter yang diamati pada metode ini berupa *percentage of inhibition of radial growth* (PIRG). *G. boninense* yang telah diremajakan selama 7 hari diukur pertumbuhannya ketika diberi perlakuan antifungi dan tanpa perlakuan antifungi. Uji ini membandingkan aktivitas antifungi antara trichodermin, nano-trichodermin, dan heksakonazol. Selain itu, digunakan pula kontrol negatif berupa akuades steril dan kontrol nanoenkapsulat. Hasil uji antifungi yang diperoleh adalah nano-trichodermin memiliki aktivitas antifungi yang lebih tinggi dibandingkan dengan

Tabel 3. Aktivitas antifungi nano-trichodermin terhadap *G. boninense*

Sampel uji	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Luas pertumbuhan ( $\text{cm}^2$ )	PIRG (%)
Ekstrak trichodermin	500	8.47	$74.96 \pm 5.07$
Nano-trichodermin (enkapsulat)	500	8.55	$84.49 \pm 3.31$
Kontrol positif (heksakonazol)	500	6.56	$80.60 \pm 1.99$
Kontrol negatif (akuades)	0	33.81	0
Kontrol negatif (enkapsulat)	0	55.11	0

trichodermin dan heksakonazol (Tabel 3).

#### 4. PEMBAHASAN

Kadar air simplisia yang digunakan mencapai 97.28%. Nilai tersebut sangat jauh untuk digolongkan sebagai simplisia yang baik secara umum. Kadar air yang baik untuk simplisia adalah kurang dari 10% (Febriani 2005). Kadar air simplisia yang sangat tinggi disebabkan bahan penyusun simplisia berupa media agar yang mengandung banyak air. Rendemen ekstraksi senyawa trichodermin pada penelitian ini adalah 0.69%. Nilai tersebut cukup rendah dibandingkan dengan ekstraksi senyawa metabolit sekunder pada umumnya. Adapun nilai rendemen ekstraksi terkoreksi mencapai 25.71%. Hal tersebut disebabkan faktor koreksi dipengaruhi oleh kadar air simplisia. Semakin tinggi kadar air simplisia, akan semakin tinggi pula nilai rendemen terkoreksinya (Senja et al. 2014).

Spektrum FTIR senyawa trichodermin menunjukkan beberapa puncak yang mengindikasikan keberadaan beberapa gugus fungsi pada sampel uji. Gugus fungsi khas pada trichodermin berupa gugus ester, epoksida, alkena, dan eter (Godtfredsen dan Vangedal 1965). Keempat gugus fungsi tersebut teridentifikasi melalui puncak spektrum FTIR dengan bilangan gelombang  $1739.79 \text{ cm}^{-1}$  untuk ester,  $1253.73 \text{ cm}^{-1}$  untuk epoksi,  $1151.50 \text{ cm}^{-1}$  untuk eter, dan  $995.27 \text{ cm}^{-1}$  untuk alkena (Coates 2015). Hasil tersebut

dapat memprediksikan bahwa senyawa yang diisolasi merupakan trichodermin. Selain itu, terdapat pula puncak bilangan gelombang gugus fungsi lain, seperti alkohol pada bilangan gelombang  $3396.64 \text{ cm}^{-1}$ . Gugus alkohol (-OH) yang teridentifikasi pada ekstrak trichodermin dapat disebabkan oleh residu metanol, yaitu pelarut ekstraksi yang digunakan (Coates 2015).

Formula nanoemulsi terbaik ditentukan berdasarkan analisis ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), dan potensial zeta. Formula B memiliki ukuran partikel yang lebih kecil. Formula A memberikan ukuran partikel  $553.45 \text{ nm}$ , sedangkan formula B berukuran  $231.95 \text{ nm}$ . Indeks polidispersitas digunakan untuk menyatakan keseragaman ukuran partikel. Nilai IP pada kisaran 0.3 menunjukkan bahwa partikel dalam nanoemulsi tersebut berupa monodispersi, artinya ukuran partikel relatif seragam (Nanocomposix 2015). Formula B memiliki IP 0.348, sedangkan formula A 0.902 sehingga ukuran partikel formula B lebih seragam dibandingkan formula A. Potensial zeta menyatakan kestabilan nanoemulsi. Nilai potensial zeta yang baik adalah -100 sampai -30 mV atau +30 sampai +100 mV (Liana 2016). Formula A memiliki potensial zeta sebesar -29.5 mV, sedangkan formula B -35.6 mV sehingga nanoemulsi formula B relatif lebih stabil dibandingkan formula A. Dengan demikian, formula terbaik yang akan digunakan untuk proses enkapsulasi adalah for-



mula B.

Enkapsulasi merupakan proses penyulutan bahan berwujud cair atau padat menggunakan suatu zat khusus (enkapsulan) sehingga partikel-partikel tersebut memiliki sifat fisikokimia yang diinginkan. Nanoenkapsulasi akan menjadikan penyimpanan akan lebih baik dan memberikan perlindungan terhadap komponen bioaktif sehingga dapat meningkatkan sifat-sifat fungsional dan stabilitasnya (Ali *et al.* 2014). Enkapsulasi dapat dilakukan dengan metode, *spray drying*. Metode *spray drying* membutuhkan energi yang lebih sedikit sehingga metode ini lebih sering digunakan dengan alasan efisiensi dan penghematan biaya operasional. Hasil *spray drying* nanoemulsi trichodermin berupa serbuk halus berwarna kekuningan. Rendemen enkapsulasi pada penelitian ini adalah 2.39%. Nilai tersebut sangat jauh dibandingkan dengan penelitian Liana (2016) yang memiliki rendemen enkapsulasi sebesar 47.19%. Perbedaan tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan basis total nanoemulsi yang dienkapsulasi. Pada penelitian ini, basis total nanoemulsi yang dienkapsulasi adalah 200 gram, sedangkan penelitian Liana (2016) sebesar 600 gram.

Kadar air enkapsulat diukur sebanyak 3 kali ulangan (triplo) dan diperoleh nilai kadar air enkapsulat sebesar 5.79%. Kadar air enkapsulat tersebut lebih rendah daripada enkapsulat nanokurkuminoid yang diteliti oleh Liana (2016). Kadar air serbuk enkapsulat yang dibuat dengan metode *spray drying* umumnya berada pada rentang 2-6% (Reineccius 2004), sehingga kadar air enkapsulat nano-trichodermin masih masuk ke dalam kriteria tersebut. Selain itu, kadar air enkapsulat nano-trichodermin juga masih sesuai dengan kriteria Depkes (2008) yang

menyatakan bahwa kadar air yang baik untuk sediaan kering adalah di bawah 10%.

Gugus fungsi khas trichodermin juga teridentifikasi pada serbuk enkapsulat nano-trichodermin melalui puncak spektrum FTIR dengan bilangan gelombang 1743.65  $\text{cm}^{-1}$  untuk ester, 1246.02  $\text{cm}^{-1}$  untuk epoksi, 1151.50  $\text{cm}^{-1}$  untuk eter, serta bilangan gelombang 1026.13  $\text{cm}^{-1}$  untuk alkena (Coates 2015). Spektrum FTIR nano-trichodermin memiliki intensitas transmitan yang lebih kecil dibandingkan dengan spektrum trichodermin. Spektrum nano-trichodermin memiliki intensitas transmitan sebesar 30-60%, sedangkan spektrum trichodermin memiliki intensitas sebesar 85-98%. Penurunan intensitas transmitan setelah perlakuan nanoenkapsulasi disebabkan oleh kondisi trichodermin yang telah tersalut oleh bahan-bahan pembuat nanoemulsi dan enkapsulan (Nurolaini *et al.* 2014). Selain intensitas, perubahan spektrum yang teramati adalah pergeseran nilai bilangan gelombang gugus fungsi khas trichodermin. Pergeseran bilangan gelombang tersebut dapat disebabkan oleh adanya interaksi antara gugus fungsi khas tersebut dengan gugus fungsi senyawa yang ditambahkan saat pembuatan nanoenkapsulat, seperti MCT, Tween 80, akuades, dan maltodekstrin. Bilangan gelombang akan mengalami pergeseran menjadi lebih besar jika berinteraksi dengan gugus penarik elektron. Sebaliknya, bilangan gelombang dapat bergeser menjadi lebih kecil jika terjadi interaksi dengan gugus pendorong elektron (Panji 2012).

Pengamatan morfologi permukaan enkapsulat dilakukan menggunakan scanning electron microscope (SEM). Hasil SEM pada perbesaran 2000 $\times$  menunjukkan enkapsulat memiliki bentuk bulat, permukaan yang halus, partikel teragregasi, dan ukuran partikel yang

bervariasi. Beberapa partikel tampak mengembang dan ada pula yang mengempis. Rata-rata ukuran partikel sulit ditentukan, namun ukuran terkecil enkapsulat yang terdeteksi dengan SEM adalah 717.7 nm. Partikel enkapsulat yang teragregasi disebabkan oleh jarak antara spray drying dengan analisis SEM yang cukup lama sehingga terjadi penggumpalan serbuk enkapsulat (Liana 2016). Serbuk enkapsulat yang tampak mengembang dan mengempis disebabkan oleh fenomena ballooning, yaitu pecahnya dinding enkapsulat akibat suhu spray drying yang tinggi (Yuliani et al. 2007).

Hasil uji antifungi yang diperoleh adalah nano-trichodermin memiliki aktivitas antifungi yang lebih tinggi dibandingkan dengan trichodermin dan heksakonazol. Nilai PIRG untuk nano-trichodermin adalah sebesar 84.49%, sedangkan PIRG trichodermin dan heksakonazol masing-masing adalah 74.96% dan 80.60%. Nilai PIRG nano-trichodermin pada penelitian ini juga lebih besar dibandingkan dengan nilai PIRG senyawa aktif pada ekstrak n-heksana dan ekstrak butanol *T. virens* 7b, yaitu 62.60% dan 8.64% (Angel et al. 2016). Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa nanoenkapsulat trichodermin dapat dibuat dengan metode EIP dan dienkapsulasi dengan *spray drying*. Pada dosis yang lebih rendah, aktivitas antifungi nano-trichodermin lebih tinggi daripada ekstrak trichodermin dan heksakonazol. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses nanoenkapsulasi dapat memberikan efek antifungi yang lebih baik. Selain itu, komponen penyusun nanoenkapsulat trichodermin berasal dari senyawa organik yang tidak berbahaya dan mudah terurai (biodegradable) sehingga lebih ramah lingkungan. Dengan demikian, nanoenkapsulat trichodermin sangat berpotensi untuk dijadikan

sebagai biofungisida untuk mengendalikan *G. boninense* pada perkebunan kelapa sawit.

## 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana atas dana hibah Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi) melalui Program Kreativitas Mahasiswa tahun 2017 dan Direktorat Kemahasiswaan IPB.

## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Ali DY, Darmadji P, Pranoto Y. 2014. Optimasi nanoenkapsulasi asap cair tempurung kelapa dengan response surface methodology dan karakterisasi nanokapsul. *Jurnal teknologi dan Industri Pangan*. 25(1): 23-30.
- Angel LPL, Yusof MT, Ismail IS, Ping BTY, Azni INAM, Kamarudin NH, Sundram S. 2016. An in vitro study of the antifungal activity of *Trichoderma virens* 7b and a profile of its nonpolar antifungal components released against *Ganoderma boninense*. *Journal of Microbiology*. 54(11): 732-744.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of The Association Analytical of Chemist. Arlington (US): The Association of Official Analysis Chemist, Inc
- Budi SW, Santoso E, Wahyudi A. 2010. Identifikasi jenis-jenis fungi yang potensial terhadap pembentukan gaharu dari batang *Aquilaria* spp. *Jurnal Silvikultur Tropika*. 1(1): 1 – 5.
- Coates J. 2015. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. 12(1): 1-23.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta (ID): DepKes RI.
- Febriani D, Mulyanti D, Rusmawati E. 2015. Karakteristik simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona mucirata*). [prosiding]. Universitas Islam Bandung.

- Godtfredsen WO, Vangedal S. 1965. Trichodermin, a new sesquiterpene antibiotic. *Acta Chemica Scandinavica*. 19(1): 1088-1102.
- Huda M. 2012. Pembuatan nanopartikel lipid padat untuk meningkatkan laju disolusi kurkumin. [Skripsi]. Prodi Ekstensi Farmasi- Universitas Indonesia
- Liana AW. 2016. Formulasi, enkapsulasi, dan karakterisasi nanoemulsi ekstrak kurkuminoid berbasis medium chain triglycerides (MCT) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Naher L, Soon GT, Yusuf UK, Ho CL, Abdullah F. 2012. Biocontrol agent *Trichoderma harzianum* Strain FA 1132 as an enhancer of oil palm growth. *Pertanika J Trop Agric Sci* 35(1):173-182.
- Nanocomposix. 2015. Nanocomposix's Guide to Dynamic Light Scattering Measurement and Analysis. San Diego(US): Ronson CT STEK.
- Nurolanini N, Shahadat M, Won CA, Omar FM. 2014. FTIR study and bioadsorption kinetics of bioadsorbent for the analysis of metal pollutant. *The Royal Society of Chemistry Advance*. 4(1): 58156-58163.
- Ommelna BG, Jennifer AND, Chong KP. 2012. The potential of chitosan in suppressing *Ganoderma boninense* infection in oil-palm seedlings. *J Sustain Sci Manage* 7(2):186-192.
- Ostertag F, Weiss J, McClements DJ. 2012. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science*. 388:95-102.
- Panji T. 2012. Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Molekul. Yogyakarta (ID): Graha Ilmu.
- Prihutami ND. 2011. Analisis faktor penentu produksi tandan buah segar (TBS) tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Sungai Bahaur Estate (SBHE), PT Bumitama Gunajaya Agro (PT BGA), Wilayah VI, Metro Cempaga, Kotawaringin Timur, Kalimantan Tengah. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Rawat M, Singh dan Saraf. 2006. Nanocarriers: Promising Vehicle for bioactive drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29.
- Reineccius GA. 2004. The spray drying of food flavours. *Drying Technology*. 22(6): 1289-1324.
- Sarim D. 2013. Can beneficial microbes protect oil palm from *Ganoderma boninense*?. *The Planter* 89(1053): 895-907.
- Senja RY, Issusilaningtyas E, Nugroho AK, Setyowati EP. 2014. Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu. *Tradisional Medicine Journal*. 19(1): 43-48.
- Sihombing DM. 2015. Uji efektivitas trichodermin dan fungisida heksakonazol dalam menghambat pertumbuhan *Ganoderma boninense* Pat. pada tanaman kelapa sawit di laboratorium [skripsi]. Medan (ID): Universitas Sumatera Utara.
- Soepena H, Purba RY, Pawirosukarto. 2000. A control strategy for basal stem rot (*Ganoderma*) on oil palm (chapter). In flood j, bridge pd, holdernes p (eds) *Ganoderma Diseases of Perennial Crops*. CABI Wallingford. 83-88.
- Susanto A, Prasetyo AE, Wening E. 2013. Laju infeksi *Ganoderma* pada empat kelas tekstur tanah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 9(2): 39-46.
- Yuliani S, Desmawarni, Harimurti N. 2007. Pengaruh laju alir umpan dan suhu inlet spray drying pada karakteristik mikrokapsul oleoresin jahe. *Jurnal Pascapanen*. 4(1): 18-26.