



Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923

Transformation α -Pinena by Bacteri Pseudomonas aeruginosa ATCC 25923

✉ Nanik Wijayati¹, Christina Astutiningsih², Suci Mulyati²

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Pharmasi" Semarang

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima November 2013

Disetujui Desember 2013

Dipublikasikan Maret 2014

Keywords:

P. Aeruginosa; *pinena*;

Pinus merkusii

Abstrak

Indonesia adalah Negara utama yang memproduksi minyak atsiri di dunia. Minyak terpentin adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari destilasi getah pinus *Pinus merkusi* J ungh. Et. De. Vr. Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan nilai minyak terpentin dengan mengubah kandungan utamanya, α -pinena menjadi senyawa baru menggunakan *P. Aeruginosa* dalam metode mikrobiologi. Minyak terpentin diambil dari Perhutani Laboratorium Jawa Tengah, dibuat dengan seri konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, dan 4%. Minyak terpentin diinokulasi dalam suspensi *P. areuginosa* selama 48 jam pada suhu kamar (25-28oC). Hasilnya diekstraksi menggunakan dietil eter. Filtrat Terpentin dianalisis menggunakan GC dan IR. Hasil analisis GC menunjukkan puncak baru di konsentrasi 0,5%, 1%, dan 2%, tetapi dalam konsentrasi 4% tidak menunjukkan puncak baru. Hasil IR menunjukkan hidroksil (OH-) dan C-O alkohol. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa minyak terpentin dapat ditransformasi untuk menjadi senyawa yang mengandung gugus-OH melalui metode mikrobiologi dengan menggunakan bakteri *P. aeruginosa*.

Abstract

Indonesia is the main producer of essential oil in the world. Turpentine oil is an essential oil which is obtained from pine resin distillation of *Pinus merkusi* Jungh. et. De.Vr. The aim of this experiment was to increase the value of turpentine oil by changing its main content, i.e. α -pinene, into a new compound using *P. aeruginosa* in microbiological method. Turpentine oil was collected from Perhutani Central Java Laboratory, and was made into 0.5%; 1%; 2%; and 4% concentrations and it was inoculated in *P. areuginosa* suspension for 48 hours in room temperature (25°C-280C). The result was extracted using diethylether. The filtrate of turpentine was analyzed using GC and IR. The GC analysis result showed a new peak in 0.5%; 1%; and 2% concentrations, but in the 4% concentration didn't show a new peak. The IR result showed alcohol with hydroxyl (-OH) and -C-O groups. This experiment concluded that turpentine oil may be transformed using *P. aeruginosa* in a microbiological method to become a substance containing -OH group.

© 2014 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Jl Raya Sekaran Gunungpati Semarang, 50229

Telp: 081575579586; E-mail: nanikanang@gmail.com

p-ISSN 2085-191X

e-ISSN 2338-7610

PENDAHULUAN

Minyak terpenin adalah minyak atsiri yang dihasilkan atau diperoleh dari penyulingan getah pohon *Pinus merkusii* Jungh. Et. De. Vr (Phillips *et al.*, 1999; Wijayati, 2014). Kandungan utama minyak terpenin adalah α -pinena (70-90%), β -pinena (5-10%), β -karena (4-10%), dan δ -longifolena (0,2-5%). Rumus struktur α -pinena terdiri atas dua cincin yang menyatu yaitu siklobutana dan sikloheksana yang membentuk suatu bisiklo, mengandung atom karbon dan hidrogen yang tidak bersifat aromatik, serta tersusun atas jumlah karbon C_{10} sehingga digolongkan ke dalam kelompok senyawa monoterpena bisiklis. Penggunaan utama α -pinena adalah *flavor* dan *fragrans* yang dapat menghangatkan dan memberi bau seperti pinus. Hal ini sebagai dasar untuk membuat tipe-tipe produk parfum, ester, dan hidrokarbon terpena yang lain (Li *et al.*, 2005; Lindmark, 2003).

Bakteri jenis *Pseudomonas* mempunyai kemampuan mempertahankan hidup dengan monoterpena. *Pseudomonas* mengubah bentuk monoterpena menjadi gas asam-arang dan air. Hasil metabolisme oleh *Pseudomonas* menandakan perpecahan cincin yang terjadi antara atom karbon 2 dan 3 α -pinena. Perubahan produk dari α -pinena menjadi verbenol dan verbenone oleh suatu enzim murni monooksigenase P-450 dengan menanam sel dan menggunakan jasad renik telah diteliti. α -Pinena telah diubah oleh *Picea abies* menjadi *trans*-verbenol dan verbebone (Lindmark, 2003). *Pseudomonas aeruginosa* mampu menghasilkan beberapa enzim, salah satunya adalah enzim lipase (Carvalho, 2006). Dengan enzim ini *Pseudomonas aeruginosa* mampu mengubah lipid menjadi gliserol. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dibedakan dengan *Pseudomonas* yang lain karena dapat tumbuh pada suhu 42°C, bersifat oksidase positif, pigmen yang khas, dan aktifitas biokimianya membutuhkan substrat yang banyak untuk tes (Demyttenaere & Kimpe, 2001; Illanes *et al.*, 2012).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya hasil transformasi α -pinena dari minyak terpenin dengan *Pseudomonas aeruginosa* dan mengetahui pengaruh konsentrasi minyak terpenin dalam reaksi transformasi α -pinena dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE

Objek yang diteliti dalam penelitian ini adalah senyawa hasil biotransformasi α -pinena

dari minyak terpenin dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah minyak terpenin hasil penyulingan dari getah pohon *Pinus merkusii* dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas : konsentrasi dari minyak terpenin yaitu 0,5% ; 1% ; 2% ; dan 4% b/v, variabel terikat : senyawa hasil transformasi α -pinena dari minyak terpenin, dan variabel kontrol : media, temperatur dan waktu.

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, jarum ose, inkas, autoklaf, bunsen, inkubator, shaker, membran nilon 0,45 μ m, *sentrifuge*, Spektrofotometer Infra Red atau IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), dan Kromatografi Gas (Shimadzu, GC-2014).

Bahan-bahan yang digunakan adalah minyak terpenin, media cair *Nutrien Broth* (NB) (Oxoid), media padat MacConkey Agar (MCA) (Oxoid), Biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923, etil asetat (p.a), dan dietil eter (teknis).

Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali setelah penyiapan. Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil satu jarum ose biakan murni kemudian digoreskan dalam biakan agar dengan permukaan miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Setelah proses peremajaan bakteri selesai, bakteri siap digunakan dengan proses inokulasi. Proses inokulasi dilakukan dengan mengambil satu jarum ose suspensi bahan yang mengandung bakteri dari medium agar miring dan mencelupkannya kedalam 10 ml medium cair, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (25°C) selama 24 jam sambil diaduk.

Prosedur isolasi. Dibuat minyak terpenin dengan konsentrasi 10% b/v dengan pelarut etil asetat. Dimasukkan minyak terpenin dalam tabung reaksi berisi media cair (NB) yang telah diinokulasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* hingga konsentrasi 0,5%; 1%; 2%; dan 4% b/v. Diinkubasi pada suhu kamar (25 °C) selama 48 jam sambil dishaker beberapa kali. Hasil inkubasi diekstraksi dengan dietil eter 2x @ 10 ml. Diambil fase dietil eter dan ditambah Na_2SO_4 anhidrat kemudian disentrifuge. Diambil filtratnya dan disaring dengan membrane nilon 0,45 μ m. Filtrat diuapkan dengan gas N_2 kemudian dianalisa dengan menggunakan Spektrofotometri IR dan Kromatografi Gas (GC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya hasil transformasi α -pinena dari minyak terpentin dengan *Pseudomonas aeruginosa* dan mengetahui pengaruh konsentrasi minyak terpentin dalam reaksi transformasi α -pinena dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil analisis minyak terpentin menggunakan kromatografi gas pada gambar 1(a) menunjukkan adanya senyawa α -pinena dengan konsentrasi 64,12% pada waktu retensi 3,435 menit, sedangkan senyawa β -pinena dengan kadar 5,29% ditunjukkan pada waktu retensi 3,835 menit dan senyawa 3-karena dengan kadar 20,49% pada waktu retensi 4,162 menit. Ada beberapa senyawa lain yang ditunjukkan dengan kadar kecil pada waktu retensi 4,291 menit (1,17%), waktu retensi 4,338 menit (2,11%), dan waktu retensi 4,951 menit (1,21%).

Hasil analisis pada gambar 1(b) menunjukkan adanya puncak pada waktu retensi 1,681 menit (7,95%) yang dimungkinkan adalah pelarut yang masih tersisa. Puncak selanjutnya menunjukkan adanya perubahan pada kadar α -pinena menjadi 67,15% pada waktu retensi 3,397 menit, sedangkan kadar β -pinena turun menjadi 2,26% pada waktu retensi 3,835 menit dan kadar 3-karena turun menjadi 9,16% pada waktu retensi

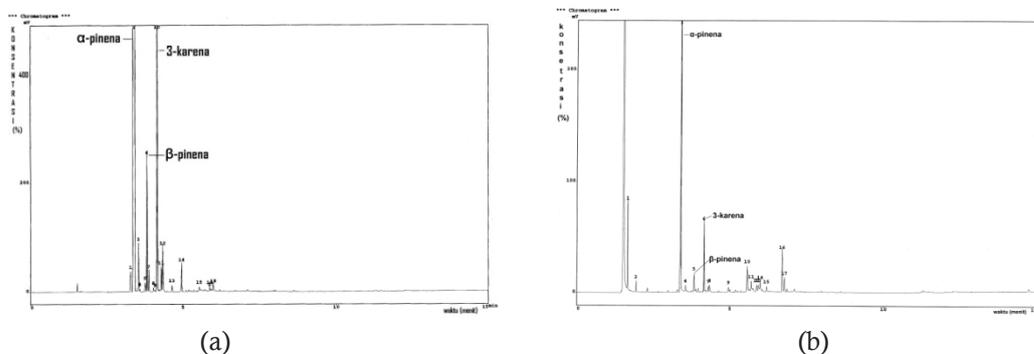
4,154 menit. Pada konsentrasi minyak terpentin 2% (b/v) terdapat puncak baru yaitu pada waktu retensi 5,555 menit dengan kadar 3,74%, waktu retensi 5,982 menit dengan kadar 1,60%, waktu retensi 6,697 menit dengan kadar 5,66%, dan waktu retensi 6,774 dengan kadar 2,09%. Hal ini menunjukkan adanya perubahan senyawa pada minyak terpentin hasil transformasi dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan hasil kromatogram dapat dihitung persentase perubahan α -pinena dan produk baru yang dihasilkan dari transformasi α -pinena berdasarkan luas area dari masing-masing konsentrasi. Selain perubahan persentase α -pinena, β -pinena dan 3-karena juga mengalami perubahan persentase pada tiap konsentrasinya.

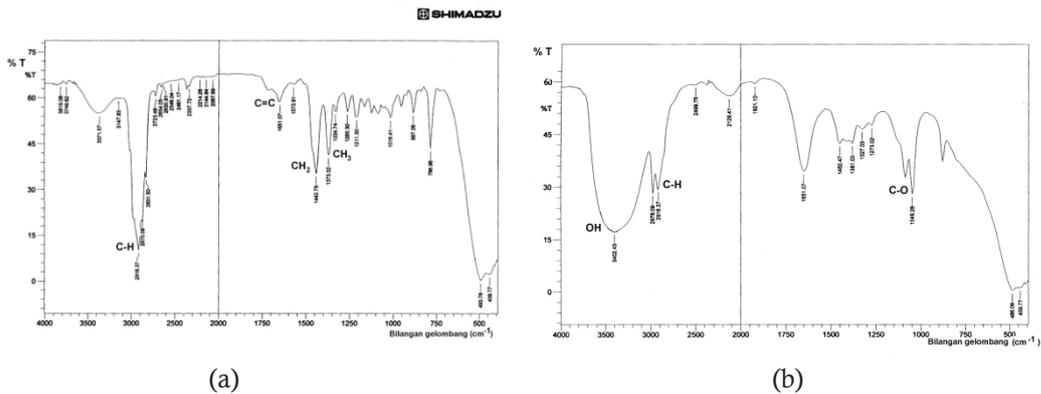
Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi α -pinena mengalami kenaikan, sedangkan konsentrasi β -pinena dan 3-karena mengalami penurunan dari konsentrasi minyak terpentin awal sebelum diinokulasikan dalam bakteri. Hasil ini menunjukkan perubahan senyawa tidak hanya terjadi pada α -pinena tetapi juga terjadi pada senyawa β -pinena dan 3-karena. Perubahan senyawa yang paling maksimum terjadi pada konsentrasi minyak terpentin 2% (b/v) dengan sisa senyawa β -pinena dan 3-karena paling kecil dan produk baru paling besar. Pada konsentrasi minyak terpentin 4% (b/v) tidak terdapat puncak

Tabel 1. Persentase perubahan α -pinena, β -pinena, 3-karena, dan produk baru

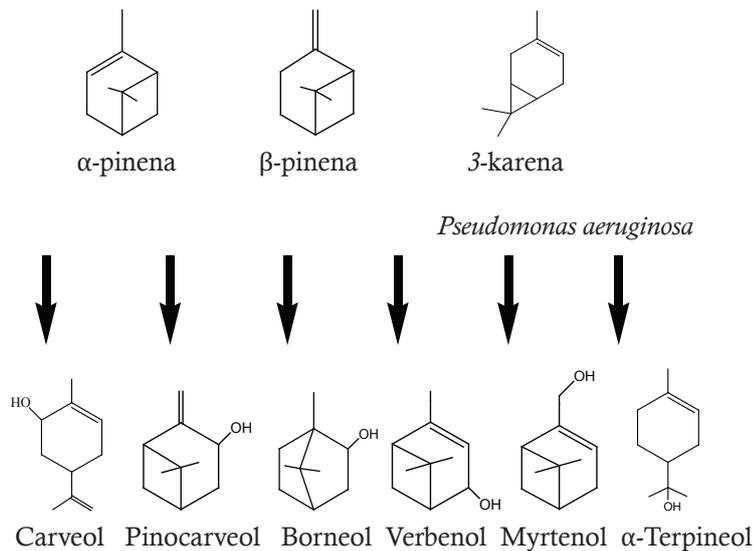
Minyak terpentin	α -pinena (%)	β -pinena (%)	3-karena (%)	Produk Baru (%)			
				A ($\pm 5,55$)	B ($\pm 5,97$)	C ($\pm 6,70$)	D ($\pm 6,77$)
Minyak murni	64,12	5,29	20,49	-	-	-	-
0,5%	66,21	3,07	11,41	2,43	-	2,34	-
1%	74,33	2,59	10,47	2,09	2,73	2,43	-
2%	67,15	2,26	9,16	3,74	1,60	5,66	2,09
4%	77,74	2,92	11,01	-	-	-	-



Gambar 1. (a) Kromatogram Minyak Terpentin Murni
(b) Kromatogram Hasil Transformasi Konsentrasi 2%



Gambar 2. (a) Spektrum IR minyak terpenidin murni
(b) Spektrum IR hasil transformasi konsentrasi 2%



Gambar 3. Beberapa kemungkinan senyawa hasil transformasi.

baru walaupun konsentrasi β -pinena dan 3-karena mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena jumlah mikroba yang lebih sedikit dibandingkan pada konsentrasi lain. Semakin tinggi konsentrasi minyak terpenidin jumlah mikroba semakin sedikit karena penambahan jumlah minyak terpenidin yang semakin banyak dengan pengurangan jumlah suspensi bakteri yang banyak pula.

Hasil analisis minyak terpenidin murni dan hasil transformasi α -pinen dengan Spektrofotometer IR disajikan pada Gambar 2.

Spektrum IR minyak terpenidin pada gambar 2 (a) menunjukkan puncak kuat pada bilangan gelombang 2916 cm^{-1} dan 2870 cm^{-1} yang berupa ikatan C-H alkana, ini diperkuat oleh puncak pada bilangan gelombang 1442 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metilena ($-\text{CH}_2$) dan pun-

cak pada bilangan gelombang 1373 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metil ($-\text{CH}_3$). Sedangkan puncak lemah pada bilangan gelombang 1651 cm^{-1} menunjukkan senyawa alkena ($-\text{C}=\text{C}-$).

Hasil spektrum IR minyak terpenidin 2% pada gambar 2 (b) menunjukkan adanya pita melebar yang khas untuk gugus hidroksil ($-\text{OH}$) terlihat pada bilangan gelombang 3402 cm^{-1} diperjelas dengan adanya pita kuat pada bilangan gelombang 1049 cm^{-1} yang menunjukkan gugus $-\text{C}-\text{O}$ untuk senyawa alkohol. Sedangkan pita kuat pada bilangan gelombang 2978 cm^{-1} dan 2916 cm^{-1} menunjukkan gugus C-H alkana, diperkuat dengan adanya pita lemah pada bilangan gelombang 1450 cm^{-1} dan 1381 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metilena ($-\text{CH}_2$) dan gugus metil ($-\text{CH}_3$).

Dari hasil spektrum IR ada beberapa seny-

awa yang mengandung gugus hidroksil, dari hasil penelitian Lindmark (2003), senyawa yang dapat di mungkinkan sebagai produk baru hasil transformasi komponen minyak terpenin dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antara lain: borneol, carveol, pinocarveol, verbenol, mirteol, dan α -terpineol (Gambar 3).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil transformasi α -pinena dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berupa perubahan senyawa yang mempunyai gugus -OH, sedangkan konsentrasi minyak terpenin yang menghasilkan perubahan senyawa optimum adalah konsentrasi 2% (b/v).

DAFTAR PUSTAKA

- Carvalho, C. C. C. R. & Fonseca, M. M. R. (2006). Biotransformation of terpenes. *Biotechnology Advances*, 24(2), 134-142.
- Demyttenaere, J. & Kimpe, N. (2001). Biotransformation of terpenes by fungi: Study of the pathways involved. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11(4-6), 265-270.
- Illanes, A., Cauerthff, A., Wilson, L. & Castro, G. R. (2012). Recent trends in biocatalysis engineering, *Bioresource Technology*, 115, 48-57
- Li, L., Yu, S., Liu, F., Yang, J. & Zhaug, S. (2005). Reaction of turpentine using Zr-MCM-41 family mesoporous molecular sieves, *Catal. Let.*, 100(3-4), 227-233.
- Lindmark, M. H. (2003). *Biotransformation of Turpentine Constituents: Oxygenation and Esterification*. Doctoral Thesis, Sweden: Sweden University.
- Phillips, M. A., Savage, T. J. & Croteau, R. (1999). *Monoterpenes Synthases of Lobolly Pine (Pinus Taeda) Produce Pinene Isomers and Enantiomers*. *Arch Biochem. Biophys*, 372, 11272-11273.
- Wijayati, N. (2014). *Sintesis α -terpineol melalui hidrasi α -pinena dengan katalis homogen (SA, MCA, TCA) dan heterogen (ZHY, TCA/ZHY) serta uji aktivitas α -terpineol sebagai zat antibakteri*. Disertasi. Yogyakarta: FMIPA UGM.