

## **Eksplorasi Fungi Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri**

**Agustina Monalisa Tangapo<sup>1\*</sup>, Susan Marlein Mambu<sup>1</sup>, Beivy Kolondam<sup>1</sup>, Nelsyani Pasappa<sup>1</sup>,  
Johanis Pelealu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia*

*email: agustina.tangapo@unsrat.ac.id*

### **Abstrak**

*Eksplorasi senyawa bahan alam masih terus dilakukan dari isolat-isolat mikroba baru seiring dengan resistensi terhadap senyawa antibiotik dan antimikroba. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi fungi endofit dari tumbuhan mangrove *Avicennia marina* dan mengoptimasi waktu fermentasi yang terbaik untuk aktivitas antibakteri. Metode yang digunakan adalah fermentasi fungi endofit pada media cair dan pengujian antibakteri dengan metode sumuran. Hasil penelitian ini diperoleh lima isolat fungi endofit dari *A. marina* yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri jenis *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Satu isolat fungi endofit yaitu AVI.1 menunjukkan potensi yang sangat menjanjikan untuk dikembangkan karena memiliki waktu fermentasi tersingkat (lima hari) dan penghambatan yang kuat terhadap ketiga bakteri uji.*

**Kata kunci:** *antibiotik; endofit; mangrove; patogen*

### **PENDAHULUAN**

Penyakit infeksi saat ini yang disebabkan oleh patogen penginfeksi masih termasuk dalam sepuluh besar penyakit terbanyak di Indonesia (Kemenkes RI, 2019). Berbagai strategi penanganan penyakit infeksi tersebut sudah dilakukan, termasuk penggunaan antibiotik dan senyawa antimikroba. Namun demikian, resistensi terhadap senyawa antibiotik/antimikroba kemudian muncul akibat penggunaan dengan dosis yang kurang tepat dan adanya kemampuan mempertahankan diri dari bakteri (Nawea, dkk., 2017). Hal ini menyebabkan upaya untuk memperoleh jenis antibiotik baik secara sintesis kimia maupun eksplorasi dari isolat-isolat mikroba baru masih terus dilakukan sampai saat ini. Eksplorasi senyawa bahan alam dilakukan baik yang berasal dari hewan, tumbuhan, bakteri, dan fungi (Alvarez-Martinez *et al.*, 2020).

Fungi endofit diketahui sebagai salah satu sumber penghasil berbagai senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri, antifungi, antikanker, dan antivirus. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fungi endofit dapat berfungsi bagi inang untuk meningkatkan ketahanan terhadap serangan

mikroba patogen. Spesifikasi inang sebagai asal fungi endofit ikut menjadi faktor penentu kemampuan fungi endofit tersebut dalam memproduksi senyawa bioaktif. Berdasarkan hal tersebut, pemanfaatan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang fungsional yang dihasilkan dari fungi endofit dapat menjadi strategi untuk produksi senyawa bioaktif yang fungsional tanpa perlu melakukan penebangan atau menunggu masa panen yang lama (Kuncoro & Sugijanto, 2011). Eksplorasi fungi endofit dari tumbuhan mangrove telah dilakukan untuk jenis *Sonneratia alba* (Pasappa, dkk., 2022). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi fungi endofit dari tumbuhan mangrove *A. marina* dan mengoptimasi waktu fermentasi terbaik aktivitas antibakteri.

## **METODE PENELITIAN**

### **Pengambilan Sampel dan Isolasi Fungi Endofit**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun tumbuhan mangrove spesies *Avicennia marina*. Pengambilan sampel tumbuhan dilakukan di pesisir Desa Tiwoho Kelurahan Tongkaina, Kecamatan Bunaken, Manado, Sulawesi Utara. Sebelum dilakukan proses isolasi fungi endofit dari daun *A. marina*, dilakukan sterilisasi permukaan terlebih dahulu dari sampel daun yang digunakan. Sterilisasi permukaan dilakukan menggunakan air mengalir, alkohol 70% dan natrium hipoklorit 1.32% secara berturut-turut, dan dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga sampai empat kali. Selanjutnya, sampel dikeringkan dengan tisu steril secara aseptik. Sampel dipotong-potong dengan ukuran 1 x 1 cm dan ditanam pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Inkubasi sampel pada media PDA dilakukan selama lima sampai tujuh hari pada suhu 28°C (Hasiani, dkk., 2015; Desriani, dkk., 2019).

### **Purifikasi dan Karakterisasi Fungi Endofit**

Fungi endofit yang berhasil diisolasi selanjutnya dimurnikan dengan memisahkan setiap koloni fungi yang berbeda secara morfologinya. Setiap koloni endofit yang berbeda dipindahkan ke media PDA yang baru dan diinkubasi selama lima sampai tujuh hari. Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan terhadap semua isolat yang telah dimurnikan. Karakter makroskopis yang diamati meliputi warna koloni, tekstur, margin koloni dan kecepatan pertumbuhan isolat. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan larutan *Lactophenol Cotton Blue* di atas kaca preparat dan potongan isolat fungi yang ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya, diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 40 dan 100x (Ramadhanty & Lunggani, 2021).

### **Penyiapan Bakteri Uji**

Uji antibakteri yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan tiga bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ketiga bakteri uji tersebut disubkultur terlebih dahulu pada media *Nutrient Agar* (NA) selama 24 jam. Setelah itu, diinokulasikan ke media *Trypticase Soya Broth* (TSB) dan diinkubasi selama 24 jam sebagai kultur adaptasi. Setelah inkubasi 24 jam, 10% dari kultur tersebut diambil dan diinokulasikan pada media TSB yang baru dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

### **Uji Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit yang berhasil diisolasi dari daun *A. marina* dilakukan dengan menanam potongan fungi endofit yang berukuran 1x1 cm di atas media PDA yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji yang berbeda-beda untuk setiap cawan petri. Pada setiap cawan petri berisi tiga potongan fungi endofit sebagai ulangan, dan dua *paper disk* yang masing-masing mengandung kloramfenikol (kontrol positif) dan tidak mengandung kloramfenikol (kontrol

negatif). Cawan petri tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk di sekitar isolat dan diukur diameter zona bening tersebut (Anggreani, dkk., 2019). Isolat fungi endofit yang menunjukkan hasil positif dilanjutkan dengan fermentasi untuk memperoleh waktu terbaik menghasilkan senyawa antibakteri.

### **Fermentasi Fungi Endofit dan Uji Antibakteri**

Setiap isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri pada tahap sebelumnya difermentasi melalui fermentasi cair dengan media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Fermentasi fungi endofit ini bertujuan untuk mengetahui waktu optimum menghasilkan senyawa antibakteri yang tinggi. Sebanyak 1 mL dari starter diinokulasikan ke PDB 50 mL. Fermentasi ini dilakukan selama 15 hari sambil digojog dengan kecepatan agitasi 100 rpm pada suhu 37°C. Panen dilakukan pada hari ke-5, 10 dan 15. Pada setiap hari panen (5, 10 dan 15 hari), diambil 1 mL dari setiap kultur dan disentrifugasi (1,000 rpm) selama 15 menit. Supernatan hasil sentrifugasi tersebut menjadi ekstrak kasar hasil fermentasi fungi endofit yang akan diuji antibakteri. Pengujian dilakukan dengan metode sumuran. Sumur dengan diameter 5 mm dibuat pada media PDA yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dengan cara swab. Selanjutnya, ekstrak kasar hasil fermentasi sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam setiap sumur. Selanjutnya, kultur tersebut diinkubasi pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi 24-48 jam (Kaharap, dkk., 2016). Semua perlakuan secara aseptik dan diulang sebanyak tiga kali untuk setiap bakteri uji. Pengamatan dilakukan pada zona hambat yang berupa zona bening yang muncul di sekeliling sumur.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi Fungi Endofit**

Hasil isolasi pada penelitian ini adalah lima isolat fungi endofit yang berhasil diisolasi dari tumbuhan mangrove *A. marina* dan telah dikarakterisasi morfologinya (Tabel 1). Secara makroskopis, kelima isolat tersebut bervariasi dari warna, bentuk dan kecepatan pertumbuhannya. Pengamatan secara mikroskopis isolat AVI.1 berwarna putih awan, permukaan kasar, terlihat serabut yang banyak, pertumbuhan cepat (inkubasi hari ke-3 sudah memenuhi media) dan pengamatan secara mikroskopis isolat AVI.1 memiliki hifa bersekat. Pengamatan secara mikroskopis isolat AVI.2 berwarna putih keruh, permukaan datar, kasar serta tepi tidak rata, pada inkubasi hari ke-3 koloni sudah memenuhi permukaan media (pertumbuhan cepat), dan secara mikroskopis isolat AVI.2 memiliki hifa yang bercabang dan bersekat. Pengamatan secara makroskopis isolat AVI.3 memiliki koloni berwarna putih dengan bercak hitam, permukaan halus dengan pertumbuhan cepat (inkubasi hari ke-3 sudah memenuhi media) dengan arah pertumbuhan rata ke samping. Secara mikroskopis isolat AVI.3 memiliki hifa bercabang, bersekat dan transparan. Secara makroskopis isolat AVI.4 dengan koloni berwarna abu-abu, seiring masa inkubasi warna koloni berubah menjadi abu-abu gelap sampai terlihat kehitaman, dan pertumbuhan koloni tebal, berserabut dengan tepi rata. Secara mikroskopis isolat AVI.4 memiliki hifa bersekat, transparan dan bercabang. Secara makroskopis isolat AVI.5 memiliki koloni berwarna keabu-abuan dengan bercak berwarna putih. Pertumbuhan cepat pada inkubasi hari-4 koloni sudah memenuhi seluruh permukaan media dan rata ke arah samping dan terlihat berserabut banyak. Secara mikroskopis isolat AVI.5 memiliki hifa bercabang dan bersekat.

Mekanisme adaptasi dari endofit terhadap mikroekologi dan kondisi fisiologis yang spesifik dari masing-masing tumbuhan inangnya (Jose & Christy, 2013; Nair & Padmavathy, 2014). Keragaman fungi endofit sangat tinggi, dari satu jaringan tumbuhan dapat diisolasi fungi endofit lebih dari satu jenis. Spesifisitas tumbuhan inang dan endofit mempengaruhi kondisi mikrohabitat yang

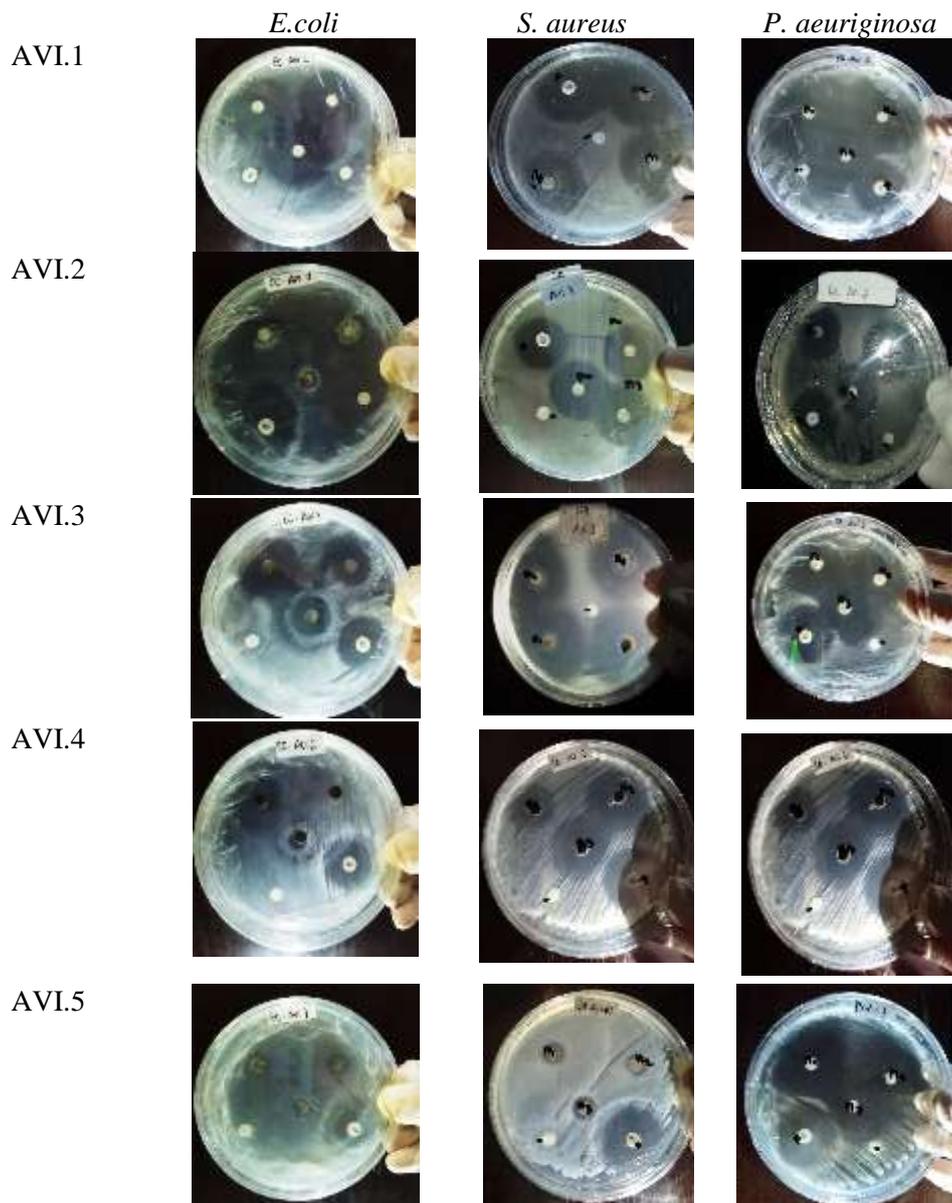
tersedia untuk endofit dan hal ini menentukan kehadiran fungi endofit, komposisi endofit dan tingkat infeksi inang yang ditempati oleh fungi endofit pada lokasi inang yang sama (Rosalina, dkk., 2018).

**Tabel 1.** Hasil Pemurnian Fungi Endofit dan Pengamatan Makroskopis

Kode Isolat	Pengamatan makroskopis	Gambar Isolat		Pengamatan Mikroskopis (Perbesaran 400x)
		Depan	Belakang	
AVI.1	Berwarna putih awan, permukaan kasar, terlihat serabut yang banyak, pertumbuhan cepat (inkubasi H-3 sudah memenuhi media)			
AVI.2	Berwarna putih keruh, permukaan datar, kasar serta tepi tidak rata, pertumbuhan cepat (inkubasi H-3 sudah memenuhi media)			
AVI.3	Berwarna putih dengan bercak hitam, permukaan halus dengan pertumbuhan cepat (inkubasi H-3 sudah memenuhi media)			
AVI.4	Koloni berwarna abu-abu, pertumbuhan koloni tebal, cepat dan terlihat berserabut, tepi rata			
AVI.5	Koloni berwarna keabu-abuan dengan bercak berwarna putih, pertumbuhan cepat dan rata kearah samping, terlihat berserabut banyak.			

#### Uji Antibakteri dari Isolat Fungi Endofit

Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan bakteri uji *E. coli*, *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Kelima isolat fungi endofit *A. marina* diujikan terhadap ketiga bakteri uji tersebut. Hasil uji menunjukkan kelima isolat fungi endofit *A. marina* yang diperoleh memiliki kemampuan antibakteri dengan adanya zona bening di sekeliling fungi endofit yang ditanam pada media dengan bakteri uji (Gambar 1). Diameter zona bening yang dihasilkan oleh setiap isolat fungi endofit bervariasi terhadap masing-masing bakteri uji (Tabel 2).



Gambar 1. Zona Bening di sekitar Fungi Endofit pada Media dengan Bakteri Uji.

**Tabel 2. Diameter Zona Bening**

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (Rerata ± Standar Deviasi) (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Kontrol (+)	26.13±2.26	27.73±1.53	24.87±2.03
Kontrol (-)	-	-	-
AVI.1	25.00±0.00	32.00±2.65	26.00±1.00
AVI.2	10,00±0.00	22.33±1.53	24.67±0.58
AVI.3	15.00±0.00	22.33±2.08	26.00±1.00
AVI.4	11.00±3.61	21.00±2.65	24.67±5.03
AVI.5	10.33±0.58	27.33±0.58	29.33±4.04

Keterangan : K+ = Kontrol positif (kloramfenikol)  
K- = Kontrol negatif (akuades steril)

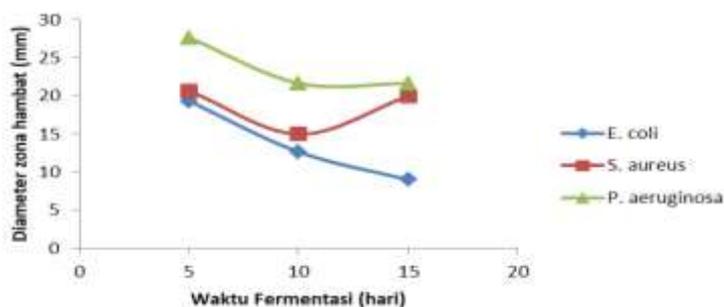
Diameter zona bening yang dihasilkan fungi endofit *A. marina* terhadap bakteri uji *E. coli* berkisar dari 10.00-25.00 mm, terhadap bakteri uji *S. aureus* berkisar dari 21.00-32.00, sedangkan terhadap bakteri uji *P. aeruginosa* berkisar antara 24.67-29.33 mm (Tabel 2). Berdasarkan diameter zona bening yang menunjukkan zona penghambatan tersebut, terdapat kriteria penghambatan yaitu kriteria kuat apabila diameter lebih dari 20 mm, kriteria sedang apabila diameter berada dikisaran 11-20 mm, dan termasuk kriteria lemah apabila diameter berada di kisaran 5-10 mm.

Beberapa isolat fungi endofit *A. marina* menunjukkan penghambatan yang kuat terhadap ketiga bakteri uji. Untuk kelima isolat termasuk kriteria penghambatan kuat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, sedangkan untuk bakteri uji *E.coli* hanya isolat AVI.1 yang termasuk penghambatan kuat. Isolat AVI.1 dengan diameter zona hambat 25 mm dan 32 mm terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* secara berturut-turut (Tabel 2).

Perbedaan kriteria penghambatan dari isolat-isolat yang diperoleh dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kemampuan setiap isolat fungi endofit dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder maupun antibiotik. Selain itu, komposisi dinding sel setiap bakteri uji juga ikut mempengaruhi penghambatan dari senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh fungi endofit.

### **Waktu Fermentasi Isolat Fungi Endofit Menghasilkan Penghambatan Terbaik**

Isolat AVI.1 menunjukkan zona hambat yang termasuk kategori kuat terhadap ketiga bakteri uji, sehingga isolat ini dilanjutkan pada proses fermentasi selama lima belas hari dan setiap lima hari (hari ke-5, ke-10, dan ke-15) dipanen dan diuji kemampuan antibakterinya. Isolat AVI.1 memiliki potensi menghasilkan senyawa antibakteri dan dilanjutkan untuk proses fermentasi untuk melihat waktu optimum menghasilkan senyawa antibakteri yang tinggi.



**Gambar 2.** Optimasi Waktu Fermentasi Isolat AVI.1.

Hasil optimasi waktu fermentasi terbaik untuk antibakteri dari isolat fungi endofit AVI.1 terhadap ketiga bakteri uji menunjukkan waktu fermentasi lima hari adalah yang terbaik dari sepuluh dan lima belas hari (Gambar 2). Fase eksponensial (pertumbuhan) mulai terjadi pada 5 hari fermentasi sampai 10 hari fermentasi. Diameter zona bening mengalami peningkatan dan masuk dalam kategori sedang bahkan isolat AVI.1 memperlihatkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *S. aureus* dengan rerata zona bening 20.67. Pada fase ini isolat dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pada kondisi kultur yang optimum, sel mengalami reaksi metabolisme (Hasanah, 2018). Isolat fungi endofit AVI.1 sangat menjanjikan untuk dikembangkan dalam pengembangan senyawa antibakteri atau antibiotik. Kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri tertinggi pada ketiga bakteri uji diperoleh pada fermentasi lima hari, artinya hasil terbaik dari isolat ini tidak dibutuhkan waktu yang lama (10 atau 15 hari).

## KESIMPULAN

Isolasi fungi endofit dari tumbuhan mangrove *A. marina* berhasil diperoleh lima isolat fungi yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Isolat AVI.1 merupakan isolat yang menjanjikan untuk dikembangkan dalam pengembangan senyawa antibakteri dengan waktu fermentasi tersingkat dan penghambatan yang kuat terhadap ketiga bakteri uji.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez-Martinez, F.J., Barrajon-Catalan, E., and Micol, V., 2020. *Tackling Antibiotic Resistance with Compounds of Natural Origin: A Comprehensive Review*. Biomedicines. 8(405).
- Anggreani, V., J., Titis, S., W., Herni, K. dan Dewi, K., 2019. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Mikroalga Thalassiosira sp. Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis dan Propionibacterium acne*. Jurnal Kimia Riset. 4(1): 62-73.
- Desriani, D., Masrizah I. P. E., dan Fajrina, A., 2019. *Senyawa Antimikroba dari Jamur Endofit Trichoderma Koningiopsis Sakbl yang Diisolasi dari Tanaman Mangrove Sonneratia alba*. Jurnal Sains Farmasi & Klinis. 6(2): 78-84.
- Hasanah, U., 2018. *Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit Antijamur Candida dari Tumbuhan Raru (Cotylelobium melanoxylon) Genus Aspergillus*. Jurnal Biosains. 4(2): 102-107.
- Hasiani, V.V., Ahmad, I., dan Rijai, L., 2015. *Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (Lawsonia inermis L.)*. Jurnal Sains dan Kesehatan. 1(4): 146-153.
- Jose, A.C., and Christy, P.H., 2013. *Assessment of Antimicrobial Potential of Endophytic Bacteria Isolated from Rhizophora mucronata*. Int J Curr Microbiol App Sci. 2(10):188-194.
- Kaharap, A. D., Mambo. C., dan Nangoy, E., 2016. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Batang Akar Kuning (Arcangelisia flava Merr.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jurnal e-Biomedik. 4(1): 56-50.
- Kementerian Kesehatan (Kemenkes) RI. 2019. *Hasil Utama Riskesdas 2018 by Kemenkes RI*. <https://kesmas.kemkes.go.id/> diakses tanggal 1 Agustus 2022.
- Kuncoro, H., dan Sugijanto, N. E., 2011. *Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya Sebagai Sumber Bahan Obat Baru*. J. Trop. Pharm. Chem. 1(3): 251-265.
- Nair, D. N., and Padmavathy, S., 2014. *Impact of Endophytic Microorganisms on Plants, Environment and Humans*. The Scientific World Journal. 1-12.
- Nawea, Y., Mangindaan, R. E. P., dan Bara, R. A., 2017. *Uji Antibakteri Jamur Endofit dari Tumbuhan Mangrove Sonneratia alba yang Tumbuh di Perairan Pantai Tanawangko*. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis. 1(1): 24-35.
- Pasappa, N., Pelealu, J. P., dan Tangapo, A. M., 2022. *Isolasi dan Uji Antibakteri Jamur Endofit Tumbuhan Mangrove Sonneratia alba di Pesisir Kota Manado*. Pharmacon. 11(2): 1430-1437.
- Ramadhanty, M. A., dan Lunggani, A. T., 2021. *Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove Avicennia marina dan Kemampuannya Sebagai Antimikroba Patogen Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi Secara In Vitro*. Journal of Tropical Biology. 4(1): 16-22.
- Rosalina, R., Ningrum, S. R., dan Prima, A. L., 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Endofit Mangga Podang (Mangifera indica L.) Asal Kabupaten Kediri Jawa Timur*. Jurnal Biologi Biosfera. 35(3): 139-144.