

ISOLASI FUNGI ENDOFIT DARI DAUN ASAM JAWA (Tamarindus indica L.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI

Herlina Rante¹, Abd. Halim Umar², Dominggus Paniel Mau²

¹ Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makassar

² Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Kebangsaan Makassar

ABSTRAK

Fungi endofit merupakan sekelompok jamur yang sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan hidup dan biasanya tidak merugikan pada inangnya. Fungi endofit umumnya memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat seperti misalnya senyawa-senyawa anti kanker, antivirus, atau antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi fungi endofit dari daun *T. indica* L. serta menguji aktivitas antibakteri metabolit sekunder fungi endofit yang diperoleh terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Proses isolasi fungi endofit menghasilkan 1 isolat yang diberi kode TID-1. Produksi senyawa antibakteri dilakukan melalui proses fermentasi isolat fungi endofit TD-1 selama 18 hari pada kondisi teragitasi menggunakan medium PDY dari isolat TID-1. Pada akhir proses fermentasi, media fermentasi diekstraksi dengan etil asetat dan biomassa diekstraksi dengan metanol. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat dengan konsentrasi ekstrak 200 ppm/disk, 300 ppm/disk, dan 400 ppm/disk mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* sebesar 8.43 mm, 9.6 mm, dan 10.86 mm. Pada konsentrasi 300 ppm/disk dan 400 ppm/disk menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 10,11 mm dan 12,8 mm, sedangkan ekstrak metanol tidak memberikan aktivitas antibakteri., sehingga dapat disimpulkan bahwa metabolit sekunder fungi endofit yang diisolasi dari daun asam jawa (*T. indica* L.) berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Kata Kunci :

antibakteri, fungi endofit, *Tamarindus indica* L.

PENDAHULUAN

Fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Beberapa senyawa bioaktif dapat dihasilkan oleh jamur endofit. Senyawa tersebut dapat berupa senyawa anti kanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain-lain (1).

Umumnya masyarakat dalam mengobati penyakit infeksi sering menggunakan obat-obat antibiotik seperti tetrasiklin atau ampicilin atau antibiotika jenis lainnya yang mudah diperoleh. Pemakaian antibiotik secara berlebihan dan kurang terarah dapat mengakibatkan terjadinya resistensi, dengan timbulnya resistensi pada beberapa antibiotik tertentu, dapat menyebabkan kegagalan dalam pengobatan berbagai jenis penyakit infeksi, sehingga untuk mengatasinya diperlukan pencarian bahan alami sebagai alternatif pengobatan (2).

Bahan alam merupakan salah satu sumber bahan baku obat yang berkhasiat digunakan untuk menanggulangi masalah kesehatan. Salah satu bahan alam yang berkhasiat adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Berdasarkan literatur dan pengalaman masyarakat (empiris) daun asam jawa dapat digunakan sebagai obat tradisional, yaitu obat luar seperti bisul dan obat dalam seperti demam dan batuk. Sebagian besar komponen kimia dari tanaman yang digunakan sebagai obat dan bahan obat merupakan metabolit sekunder. Salah satu cara terbaru untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder sejenis yang terdapat dalam tanaman adalah dengan memanfaatkan fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman. Fungi endofit yang tumbuh pada jaringan tumbuhan obat

juga dapat menghasilkan senyawa yang memiliki khasiat sama dengan tumbuhan inangnya. Dari penelitian sebelumnya yang telah diteliti daun asam berkhasiat sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (3). Peneliti lain juga telah melakukan skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri dari ekstrak *Tamarindus indica* Linn terhadap beberapa bakteri patogen (4). Fungi endofit yang terdapat pada daun asam di duga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan mampu menghasilkan senyawa-senyawa aktif salah satunya sebagai antibakteri. Sebagai salah satu contoh adalah senyawa taxol, sebagai senyawa antikanker yang dihasilkan oleh tumbuhan *Taxus brevifolia*. Pada tahun 1993, senyawa ini ternyata dapat diisolasi dari *Taxomyces andreanae*, fungi endofit yang tumbuh pada tumbuhan *T. brevifolia* (1).

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengisolasi fungi endofit dari daun asam (*T. indica* L.) serta menguji aktivitas antibakteri metabolit sekunder fungi endofit dari daun asam jawa (*T. indica* L.) tersebut terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, alat sentrifuge (model DKC-1006T), autoklaf (All American Model 25x-2), cawan petri, enkas, inkubator (WTB Binder), jangka sorong, Laminar Air Flow (Enviroco), lemari pendingin (Panasonic), mikropipet (Nesco), oven (Fisher),

Masuk 25-03-2021

Revisi 26-06-2021

Diterima 06-08-2021

DOI: 10.20956/mff.v25i2.13380

Korespondensi

Herlina Rante

herlinarante@unhas.ac.id

Copyright

© 2021 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi

Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Agustus 2021

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



shaker (Gemmy orbit model VRN-480), dan sentrifuge.

Bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu air suling, aluminium foil, etanol 70%, etil asetat, larutan NaOCl 5,25 %, medium PDA (Potato Dextrosa Agar), medium PDY (Potato Dextrosa Yeast), medium NA (Nutrient Agar), biakan *E. coli*, *S. aureus*, daun asam (*T. indica* L.)

Pengambilan sampel

Sampel penelitian yang digunakan berupa daun asam (*T. indica* L.) diperoleh dari Lanraki, Kecamatan Biringkanaya, Makassar.

Isolasi fungi endofit

Daun asam (*T. indica* L.) dicuci dengan air mengalir guna menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel. kemudian dimasukkan dalam labu Erlenmeyer 250 mL, lalu etanol 70% ditambahkan sampai terendam, dikocok pelan dan dilakukan sterilisasi selama 3 menit. Etanol 70% dibuang dan dilanjutkan sterilisasi dengan Bayclin® (NaOCl 5,25%) selama 23 menit. Sampel dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3 kali, masing-masing selama 1 menit. Sterilisasi dilakukan secara aseptis di dalam LAF kabinet. Lalu, bahan-bahan tersebut ditiriskan dalam cawan petri steril. Daun asam yang telah disterilkan kemudian dipotong-potong dengan scalpel menjadi ukuran ± 1 cm kemudian ditanam dalam media PDA dan diinkubasi pada suhu kamar (25°C) selama 5 hari sampai 1 minggu atau sampai ada pertumbuhan fungi endofit. Fungi yang tumbuh di sekitar eksplan kemudian dimurnikan pada media PDA (5).

Pemurnian fungi endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian fungi endofit yaitu medium PDA. Fungi endofit yang tumbuh pada medium PDA dipindahkan ke medium baru lalu diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25°C, setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDA. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya dikulturkan kembali pada medium PDA sampai diperoleh koloni murni (6).

Fermentasi isolat fungi endofit

Isolat aktif dibuat prekulturan pada labu erlenmeyer 500 mL yang mengandung 150 mL medium cair PDY dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Prekultur (starter) dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 500 mL yang mengandung 150 mL medium yang sama. Fermentasi dilakukan pada suhu 25°C pada kondisi tergojok selama 18 hari (7).

Ekstraksi hasil fermentasi

Setelah proses fermentasi dilakukan, media fermentasi disaring untuk memisahkan media fermentasi dan miselia fungi. Media fermentasi diekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah selama 20 menit dan miselia fungi diekstraksi dengan maserasi menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh diuapkan lalu disimpan pada desikator untuk dilanjutkan pada uji selanjutnya (8).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar

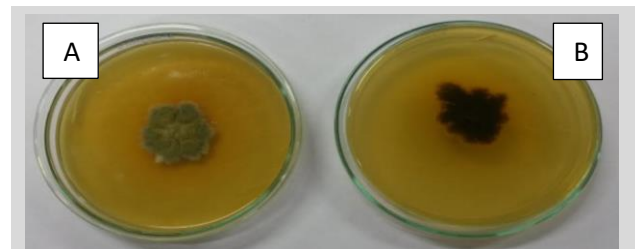
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat menggunakan metode difusi agar. Pengujian dilakukan dengan menimbang ekstrak 5 mg dilarutkan dengan etil asetat 5 mL (1000 ppm). Kemudian, beberapa konsentrasi dibuat, 200 ppm/disk, 300 ppm/disk dan 400 ppm/disk diletakkan pada permukaan media yang telah diinokulasikan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu kamar selama

1 x 24 jam. Setelah itu, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

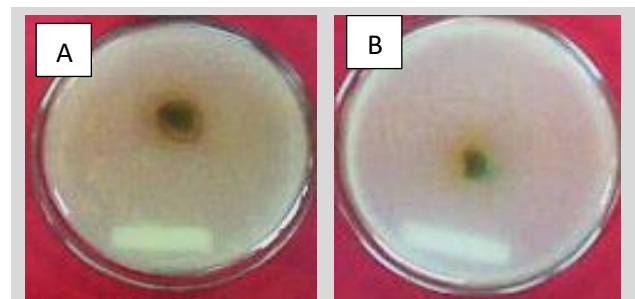
Pada penelitian ini dilakukan isolasi fungi endofit dari daun Asam jawa sebagai penghasil senyawa antibakteri. Fungi endofit yang tumbuh pada sekitar eksplan merupakan fungi endofit karena telah dilakukan sterilisasi permukaan pada sampel. Permukaan tanaman membawa banyak kontaminasi mikroba untuk menghindari kontaminasi ini tanaman harus disterilkan permukaan secara keseluruhan sebelum diinokulasi pada media (9). Proses sterilisasi digunakan etanol 70% karena proses denaturasi protein mikroba memerlukan keberadaan air, dan etanol dengan kadar 70% adalah kadar yang optimal untuk tujuan ini (10). Sterilisasi permukaan menggunakan NaOCl, natrium hipoklorit (NaOCl) akan melepaskan radikal klor yang mampu merusak membran dan protein mikroba.

Proses isolasi fungi endofit yang diperoleh dari daun asam jawa tumbuh pada hari ke-3. Selanjutnya dilakukan proses purifikasi dengan memindahkan fungi yang tumbuh di sekitar potongan sampel ke media agar yang baru berdasarkan persamaan warna, bentuk koloni.



Gambar 1. Isolat Fungi Endofit Dari Daun Asam Jawa (*T. indica* L.) yang Diinkubasi Selama 14 Hari Pada Medium PDA: (A) tampak depan, (B) tampak belakang

Isolasi fungi endofit dari daun asam jawa menghasilkan satu isolat fungi endofit yang diberi kode TID-1 berwarna hitam kehijauan dengan pigmen berwarna kuning (gambar 1). Selanjutnya dilakukan uji antagonis fungi endofit terhadap bakteri uji. Uji antagonis bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri fungi endofit secara langsung terhadap bakteri uji. Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa isolate fungi endofit TID-1 mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (gambar 2).



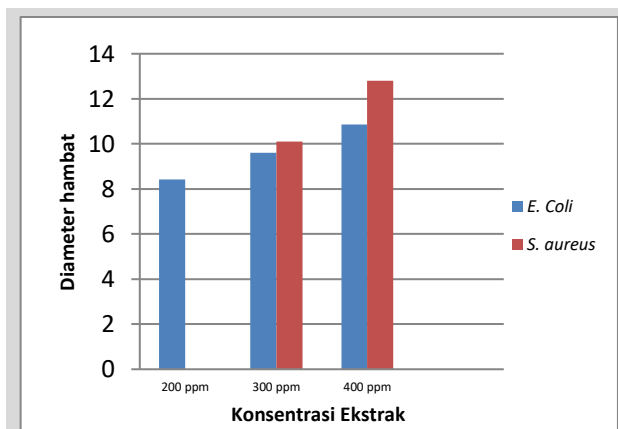
Gambar 2. Uji Antagonis Fungi Endofit Isolat TD-1 dari Daun Asam Jawa Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*: (A) *S. aureus*, (B) *E. coli*

Isolat fungi endofit yang aktif terhadap bakteri uji kemudian diproduksi metabolit sekunder dengan fermentasi yang dimulai dengan medium pembenihan PDY (potato dekstroza broth dan ekstrak yeast) dan diinkubasi selama selama 3X24 jam dalam kondisi teragitasi. Tujuan pembuatan starter yaitu mempercepat fase lag yang selanjutnya starter dimasukkan ke dalam medium produksi sebanyak 10 % lalu diinkubasi selama 18 hari pada suhu 25°C dalam kondisi teragitasi. Hasil fermentasi fungi endofit isolat TID-1 berwarna kuning setelah inkubasi 18 hari. Warna kuning yang terbentuk karena fungi endofit yang diisolasi dari daun asam jawa

menghasilkan pigmen terlarut yang berwarna kuning. Sistem fermentasi yang digunakan adalah sistem batch tertutup artinya semua nutrisi yang dibutuhkan mikroba selama pertumbuhan dan pembentukan produk berada di dalam satu fermentor. Jadi tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil selama fermentasi berlangsung. Keuntungan sistem ini adalah mudah, sederhana, dan kecil kemungkinan adanya kontaminasi (11).

Proses penyarian dilakukan terhadap media fermentasi dan miselia fungi guna mengetahui metabolit aktif fungi diekstraksikan secara ekstraseluler atau intraseluler. Sebelum diekstraksi, pisahkan miselia fungi dan media fermentasi dengan cara filtrasi menggunakan kertas saring lalu diambil media fermentasi diekstraksi dalam corong pisah menggunakan etil asetat sebanyak 2 kali dan miselia fungi diekstraksi menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh yaitu 9,89 mg ekstrak etil asetat dan 31 mg ekstrak metanol. Etil asetat digunakan dalam proses ekstraksi cair cair karena etil asetat tidak bercampur dengan air dan memiliki sifat yang lebih semipolar. Pelarut methanol digunakan dalam proses ekstraksi miselia fungi karena sifatnya yang semipolar sehingga diharapkan dapat menarik semua komponen kimia yang bersifat polar dan nonpolar. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakteri dengan metode difusi menggunakan paper disc. Metode difusi memiliki kelebihan yaitu sederhana untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis bakteri terhadap antibakteri pada konsentrasi tertentu (12).

Hasil pengujian ekstrak etil asetat fungi endofit memberikan hambatan pada *E. coli* dengan konsentrasi 200 ppm (8,43 mm), 300 ppm/disk (9,6 mm), 400 ppm/disk (10,86 mm). *S. aureus* dengan konsentrasi 200 ppm/disk (0,00 mm), 300 ppm/disk (10,11 mm) 400 ppm/disk (12,8 mm) (Gambar 3).



Gambar 3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat dari Fungi Endofit TD-1

Ekstrak etil asetat yang dihasilkan dari fungi endofit yang diisolasi dari daun asam jawa pada konsentrasi 200 ppm tidak dapat menghambat *S. aureus*. Hal ini diduga dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti tingkat sensitivitas dari organisme uji, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri (12). Sedangkan ekstrak methanol tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit TD-1 di produksi secara ekstraseluler dan disekresikan ke medium fermentasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka disimpulkan bahwa isolat fungi endofit dari daun asam jawa dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* hingga konsentrasi 400 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2003; 67(4): 491-502.
2. Poeloengan M, Adriani, Susan MN, Komala I, Hasnita M. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstomia speciosa* Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Pancasila. Jakarta. 2007.
3. Widya S. Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn.) Terhadap Kultur Aktif *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Islam Negeri (Uin) Syarif Hidayatullah. Jakarta. 2010.
4. Adeniya OV, Olaifa FE, Emikope BO, and Ogunbanwo ST. Phytochemical components and antibacterial activity of *Tamarindus indica* Linn, extracts against some pathogens. *Biotechnology Journal International*. 2017; 1-9.
5. Rante H, Yulianty R, Evary YM, Hardiana E. Isolation and antibacterial activity of endophytic fungi from *Melochia umbellata* (Houtt). *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2017; 11(3), pp. 1313-1318
6. Inamandar AC, Paliit A. The Genus *Malassezia* and human disease. *Indian J. Dermatol Venereol Leprol*. 2003; 69:265-70
7. Burhamzah R, Alam G, Rante H. Characterization of antibacterial-producing endophytic fungi of *Syzygium polyanthum* leaves. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2020; 20(4): 448-454
8. Liu CH, Zou WX, Lu H, Tan RX. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *The Journal of Biotechnology*. 2001; 88: 277-282.
9. Daud NH, Jayaraman S, Mohamed R. An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 2012; 20(2):55-5
10. Pratiwi ST. *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta; 2008.
11. Rante H, Taebe B, Intan S. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum Annuum* L. Var. *Chinensis*) Dan Profil Klt Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2013; 17(2): 39-45
12. Mawaddah R. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan. Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. 2008.