

## **DAYA ANTIBAKTERI METABOLIT KAPANG ENDOFIT DARI TANAMAN OBAT GINSENG JAWA (*TALINUM PANICULATUM* (JAQ.) GAERTN) TERHADAP *E.COLI* DAN *B.SUBTILIS***

**Utami Sri Hastuti, Indriana Rahmawati, Laily M.K. Mastika,**

**Putri M. Al Asna, Syifa Sundari**

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Malang

e-mail : tuti\_bio\_um@yahoo.com

ABSTRAK

Kapang endofit hidup di dalam tanaman inang, tetapi tidak bersifat patogen. Beberapa spesies diantaranya mampu menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibiotik, sehingga mempunyai potensi dimanfaatkan sebagai bahan antibiotik alami. Penelitian ini bertujuan untuk : 1) menguji daya antibakteri metabolit kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* terhadap *E. coli* ; 2) menguji daya antibakteri metabolit kapang *A. candidus*, *F. semitectum*, dan *F. lateritium* terhadap *B. subtilis* ; 3) menguji daya antibakteri metabolit campuran ketiga spesies kapang terhadap *E. coli* dan *B. subtilis*. Isolat-isolat kapang *A. candidus*, *F. semitectum*, dan *F. lateritium* diinokulasikan ke dalam medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan dikocok dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 7x24 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dari masing-masing spesies kapang dan campuran ketiga spesies kapang diuji daya antibakterinya terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian membuktikan bahwa ; 1) Metabolit masing-masing spesies kapang mempunyai daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* ; 2) Metabolit *A. candidus* mempunyai daya antibakteri yang tertinggi baik terhadap *E. coli* maupun *B. subtilis* ; 3) Metabolit campuran ketiga spesies kapang mempunyai daya antibakteri terhadap *E. coli* dan *B. subtilis*.

**Kata kunci** : daya antibakteri, kapang endofit, ginseng jawa, *E. coli*, *B. subtilis*

### **1. PENDAHULUAN**

Beberapa spesies kapang merupakan kapang endofit pada beberapa jenis tanaman. Kapang endofit hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan. Beberapa laporan hasil penelitian menyatakan bahwa kapang endofit dapat diisolasi dari jaringan sehat beberapa jenis tanaman. Dalam jaringan daun tanaman kemangi (*Ocimum sanctum*) ditemukan beberapa spesies kapang endofit, yaitu *Aspergillus candidus*, *A. terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria humicola*, *A.jabonicas*, dan *Mycelia sterile* (Sharma dan Kumar, 2013). Kapang endofit juga ditemukan dalam jaringan daun dan batang sehat dar tanaman berkhasiat obat *Lippia sidoides* Cham (Verbaseae), beberapa isolat diantaranya terbukti dapat menghasilkan metabolit yang bersifat antimikroba (Siqueira, dkk 2011).

Kapang endofit berperan positif terhadap tanaman inang dalam hal memfasilitasi penyerapan nutrisi guna menstimulasi pertumbuhan tanaman inang melalui miselium mikorizal yang memperluas area penyerapan nutrisi dari sistem perakaran tanaman inang (Selim, dkk 2012). Kapang endofit juga dapat melindungi tanaman inang dari mikroba patogen, serangga predator, dan hewan-hewan herbivora. Selain itu kapang endofit juga berpotensi sebagai penghasil metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (Gangadevi dan Muchumary, 2008).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dalam jaringan akar, ranting, dan daun tanaman berkhasiat obat ginseng jawa (*Talinum paniculatum*) terdapat 7 isolat kapang endofit yang telah berhasil diisolasi. Diantara 7 spesies kapang endofit tersebut ialah spesies-spesies kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium*. Ketiga spesies kapang tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tanin yang bersifat antimikroba. Berdasarkan hal tersebut perlu diteliti lebih lanjut tentang daya antibakteri metabolit ketiga spesies kapang endofit tersebut terhadap bakteri uji.

Penelitian ini bertujuan untuk: 1) menguji daya antibakteri metabolit kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* terhadap *E.coli*.; 2) menguji daya antibakteri metabolit kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* terhadap *B.subtilis*; 3) menguji daya antibakteri metabolit campuran ketiga spesies kapang terhadap *E.coli* dan *B.subtilis*.

## 2. METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

**Alat:** *Laminar Air Flow*, autoklaf, cawan petri, bunsen, Erlenmeyer 100mL, jarum inokulasi, tabung reaksi, sentrifuge, mikropipet, scalpel, pinset, dan jangka sorong.

**Bahan:** isolat murni kapang endofit; *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* yang di peroleh dari hasil penelitian isolasi kapang endofit dari tanaman Ginseng Jawa pada peneliti sebelumnya, *paper disc*, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), ofloxacin, dan alkohol 70%.

### Prosedur Penelitian

#### a. Persiapan Kultur Cair Kapang Endofit

Menurut Sharma dan Kumar (2013), metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara membuat kultur cair kapang endofit. Adapun cara kerjanya adalah spesies kapang endofit; *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* yang ditumbuhkan di medium lempeng PDA, diinkubasikan selama 7x24 jam pada suhu 26°-27°C dipotong menjadi 5 potongan dengan ukuran masing-masing 1x1 cm<sup>2</sup>. Potongan masing-masing isolat kapang endofit kemudian diinokulasikan ke dalam 80 mL medium PDB lalu diinkubasikan dengan pengocokan berkecepatan 120 rpm selama 7x24 jam pada suhu ruang. Cairan hasil pengocokan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang. Selanjutnya supernatant masing-masing isolat kapang endofit hasil sentrifugasi sebanyak 20µL digunakan untuk pengujian antimikroba secara *in vitro*(Siqueira, dkk 2011).

### Pengujian Daya Antimikroba

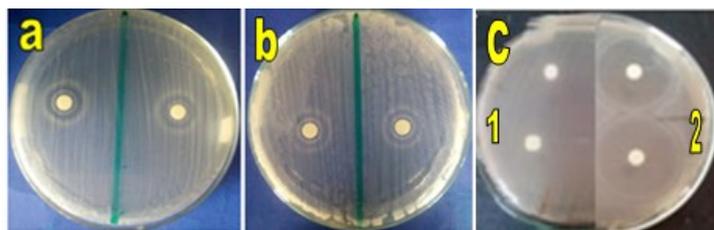
Pengujian daya antimikroba dari masing-masing supernatan hasil kultur cair kapang endofit dan kombinasi antar supernatan dilakukan terhadap kultur bakteri uji yaitu bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. *Paper disc* steril dibasahi dengan 20µL supernatan hasil sentrifugasi kultur cair masing-masing kapang endofit, kemudian diletakkan pada medium lempeng yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Pada penelitian ini digunakan dua macam kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan medium PDB sedangkan control positif menggunakan antibiotic Ofloxacin 5µg/mL. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Daya antimikroba ditentukan melalui pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan yang terbentuk.

### Teknik Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dari hasil pengukuran zona hambat dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian Ganda dengan Rancangan Acak Lengkap. Apabila hasil analisis terbukti signifikan maka dilanjutkan dengan uji BNT dengan taraf signifikansi 1% untuk mengetahui macam perlakuan yang paling berpengaruh.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kultur cair kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium*, maupun kultur cair hasil kombinasi (*Aspergillus candidus* dengan *Fusarium semitectum*, *Aspergillus candidus* dengan *Fusarium lateritium*, dan *Fusarium semitectum*, dengan *Fusarium lateritium*) memiliki efek antibakteri terhadap *B.subtilis* dan *E.coli*. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis* yang terbentuk. Hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan menunjukkan bahwa kultur cair *Aspergillus candidus* menghasilkan zona hambat pertumbuhan terhadap *E.coli* sebesar 14,24 mm, dan terhadap *B.subtilis* sebesar 14,38 mm. Perlakuan dengan kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat sebesar 34.4 mm terhadap *B.subtilis* dan terhadap *E.coli* sebesar 30,8 mm, sedangkan kontrol negatif menggunakan medium PDB tidak menghasilkan diameter zona hambat baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis* (lihat Gambar 1).



Gambar 1. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan. Ket: a. perlakuan kultur cair *A.candidus* menghasilkan zona hambat pertumbuhan terhadap *E.coli*, b. perlakuan kultur cair *A.candidus* menghasilkan zona hambat pertumbuhan terhadap *B.subtilis*, c1. kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat, c2. kontrol positif menghasilkan zona hambat. (Sumber: Dokumen Pribadi)

Hasil analisis data menggunakan ANAVA ganda dan uji lanjut BNT 1% ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan kultur cair berpengaruh secara signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan *E.coli* dan *B.subtilis*. Hasil uji BNT 1% menunjukkan adanya pengaruh tersebut.

**Tabel 1. Hasil Uji BNT 1% tentang perbedaan pengaruh perlakuan kultur cair kapang terhadap *E.coli* dan *B.subtilis***

Pengaruh Ekstrak Cair	Rerata diameter zona hambat (mm)	Notasi
Kontrol negatif	2.83	a
<i>F.semitectum</i> dan <i>F.lateritium</i>	10.67	b
<i>Fusarium lateritium</i>	10.70	bc
<i>Fusarium semitectum</i>	11.52	c
<i>A.candidus</i> dan <i>F.lateritium</i>	13.74	d
<i>A.candidus</i> dan <i>F.semitectum</i>	14.25	e
<i>Aspergillus candidus</i>	15.39	f
Kontrol positif	22.99	g

Kontrol positif menggunakan ofloxacin menunjukkan hasil diameter zona hambat pertumbuhan tertinggi, sedangkan untuk kelompok perlakuan terbukti bahwa *A.candidus* menghasilkan zona hambat pertumbuhan yang tertinggi baik terhadap *E. coli* maupun *B. subtilis*. Daerah jernih di sekeliling paper disk menunjukkan bahwa sel-sel telah mati karena metabolit kapang yang bersifat antibakteri (lihat Gambar 1a dan 1b).

Hasil penelitian sebelumnya telah berhasil membuktikan berdasarkan hasil analisis dengan metode spektrofotometri bahwa dalam supernatan kultur masing-masing spesies kapang terkandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tannin. Senyawa-senyawa tersebut bersifat antibakteri dan bersama-sama menghambat pertumbuhan bakteri uji *in vitro*.

*Aspergillus candidus* mempunyai kemampuan menghasilkan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tannin dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan *F. semitectum* dan *F. Lateritium* (lihat Tabel 2).

**Tabel 1. Hasil Analisis Metabolit Sekunder pada Supernatan Hasil Kultur Cair Fungi Endofit Akar, Ranting, dan Daun Tanaman Ginseng Jawa**

Nama Spesies Fungi	Metabolit Sekunder (g/L)			
	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Tannin
<i>Fusarium semitectum</i>	0,45	0,94	0,04	0,37
<i>Aspergillus candidus</i>	0,69	2,22	0,06	0,80
<i>Fusarium lateritium</i>	0,52	1,16	0,05	0,44

Flavonoid merupakan senyawa fenol. Senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, mengendapkan protein dan menonaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seluler (Konate, *et al*, 2012). Gugus -OH dalam senyawa fenol dapat berikatan dengan -H pada ikatan hidrogen yang terdapat pada protein dinding sel bakteri, maka protein struktural pada dinding sel bakteri dapat mengalami denaturasi. Hal ini mengakibatkan kerusakan struktur dinding sel bakteri. Apabila terjadi kerusakan dinding sel bakteri, maka membran sel tidak mempunyai pelindung, sehingga membrane sel dapat pula mengalami penurunan semipermeabilitas. Selanjutnya nutrisi dan enzim-enzim akan keluar dari sel sehingga mengakibatkan hambatan dalam metabolisme dan produksi ATP menurun. Hal tersebut mengakibatkan hambatan dalam pertumbuhan sel, sehingga terjadi kematian sel.

Adapun aktivitas antimikroba dari senyawa Tanin berkaitan dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adesi mikroba dan enzim-enzim. Hal ini mengakibatkan sel mikroba mengalami kerusakan dan terlepas dari tempat perlekatan (Bobbarala, 2012). Mekanisme aktivitas antimikroba alkaloid berhubungan dengan kemampuannya berikatan dengan DNA, menghambat aktivitas enzim-enzim (esterase, DNA-polymerase, dan RNA-polymerase), dan respirasi sel (Kovacevic, 2004). Terpenoid juga menyebabkan kerusakan struktur sel, sehingga mengakibatkan kematian sel.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa *Aspergillus candidus* mempunyai daya antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Fusarium semitectum* dan *Fusarium lateritium*. Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat dikemukakan bahwa ketiga spesies kapang yang digunakan dalam penelitian ini mampu menghasilkan empat macam metabolit sekunder seperti yang dapat dihasilkan oleh tanaman Ginseng Jawa dan terbukti mempunyai daya antibakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wicklow, *et al* (2005) bahwa kapang endofit pada tumbuhan mempunyai kemampuan khusus untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang sama atau serupa dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan inangnya, senyawa-senyawa itu berperan dalam perlindungan terhadap patogen atau hewan patogen. Keempat macam metabolit sekunder tersebut bersifat antibakteri dan dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bahan antibiotika. *Aspergillus candidus* selain ditemukan sebagai kapang endofit pada ginseng Jawa juga ditemukan pada daun kemangi (Sharma dan Kumar, 2013). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Aspergillus candidus* merupakan spesies kapang yang paling potensial untuk produksi bahan antibiotik. Apabila bidang farmasi memerlukan bahan antibiotika yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tannin maka tidak perlu mengambilnya dari Ginseng Jawa tetapi cukup dari kultur cair kapang *A. candidus*, *F. semitectum*, dan *F. lateritium*.

#### 4. SIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini sebagai berikut.

- a. Metabolit spesies-spesies kapang *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, dan *Fusarium lateritium* mempunyai daya antibakteri baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis*.
- b. Metabolit kapang *A.candidus* mempunyai daya antibakteri tertinggi, baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis*.
- c. Metabolit campuran spesies-spesies kapang yang diuji juga mempunyai daya antibakteri terhadap *E.coli* dan *B.subtilis*.

#### 5. DAFTAR RUJUKAN

- Bobbarala, V. 2012. Antimicrobial Agents. (Online). ISBN 978-953-51-0723-1. Croatia: InTech.
- Gangadevi, V., & Muthumary, J. 2008. Isolation of *Colletotrichum gloeosporioides*, a novel endophytic taxol-producing fungus from the leaves of a medicinal plant, *Justicia gendarussa*. *Mycologia Balcanica* 5: 1-4.
- Konate, K., Hilow, A., Mavoungou, J.F., Lepengue, A.N., Souza, A., Barro, N., Datte, J.Y., Batchi, B.M., Nacoulma, O.G. 2012. Antimicrobial Activity of Polyphenol Rich Fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) Against Cotrixazol-Resistant Bacteria strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, Vol. 11 (2) : 1-6
- Kovacevic, N. 2004. *Osnovi Farmakognozije*, Srpska Skolska Knjiga, ISBN 86-83565-19-x, Beograd
- Selim, KA., El-Beih, AA., Abdel-Rahman, & El-Diwany. 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 2(1) :31-82.
- Sharma, R & Kumar, V. 2013. Isolation Characterization and Antioxidant Potential of Endophytic Fungi of *Ocimum sanctum* Linn. *Lamiaceae*. *Indian Journal of Applied Research* 3(7):5-10.

Utami Sri Hastuti dkk. *Daya Antibakteri Metabolit Kapang Endofit Dari Tanaman Obat Ginseng Jawa (Talinum Paniculatum (JAQ.) Gaertn) terhadap E.Coli dan B.Subtilis*

Siqueira, V.M., Conti, R., Araujo, J.M., dan Motta, C.M.S. 2011. Endophytic Fungi from the Medicinal Plant *Lippia sidoides* Cham. and Their Antimicrobial Activity. *Symbiosis* 53:89-95.

Wicklow, D.T., Ruth, S., Deyrup, S.T., Gloer, J.B. 2005. A Protective Endophyte of Marzu : *Acremonium zeae* Antibiotics Inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticilloides*, *Mycological Research* 109, 610-618.