

Kajian Daya Antibakteri Beberapa Spesies Kapang Endofit yang Diisolasi dari Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jag.) Gaertn)

Utami Sri Hastuti*, Indriana Rahmawati, Putri Moortiyani Al Asna

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Malang

*Corresponding author: tuti_bio_um@yahoo.com

Abstract: Beberapa spesies kapang endofit dapat memproduksi senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba, sehingga mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat. Melalui penelitian ini dilakukan pengujian daya antibakteri metabolit dari 7 spesies kapang endofit yang telah terisolasi dari daun dan ranting tanaman ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jag.) Gaertn). Tujuan penelitian ini ialah untuk : 1) menguji daya antibakteri metabolit kapang *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Xylohypha* sp., *Fusarium semitectum*, *Fusarium lateritium*, *Aspergillus candidus* terhadap bakteri uji *E. coli* dan *B. subtilis*; 2) menentukan metabolit kapang endofit yang mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *E. coli*; 3) menentukan metabolit kapang endofit yang mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *B. subtilis*. Isolat masing-masing spesies kapang diinokulasikan ke dalam medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan dikocok dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam waktu 7x24 jam, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 300 rpm. Supernatan masing-masing 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 baik terhadap *E. coli* maupun *B. subtilis*; 2) metabolit kapang *Aspergillus candidus* mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *E. coli*; 3) metabolit kapang *Aspergillus candidus* mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *B. subtilis*.

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

1. PENDAHULUAN

Beberapa spesies kapang endofit dapat diisolasi dari jaringan sehat berbagai jenis tanaman. Kapang endofit hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman inangnya, bahkan seringkali bersimbiosis mutualisme (Tan dan Zou, 2001). Contoh kapang endofit ialah *Trichoderma viride* dan *Alternaria* sp yang di temukan dalam jaringan akar *Zingiber nimmoni* (Das, 2012). Kapang endofit mampu memproduksi senyawa-senyawa bioaktif, baik yang sama dengan inangnya ataupun tidak sama, tetapi mempunyai aktivitas biologis yang serupa, dengan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh inangnya (Tan dan Zou, 2001; Strobel et al, 2003; Castillo et al 2002).

Adanya kemampuan memproduksi senyawa-senyawa bioaktif merupakan peluang dalam penyediaan bahan obat, khususnya antibiotik. Kultur cair kapang endofit dapat dilakukan dalam jumlah banyak dan tidak memerlukan lahan yang luas seperti halnya tanaman inang yang ditumbuhi oleh kapang endofit. Waktu yang diperlukan untuk menumbuhkan kapang endofit dalam medium cair dan memanen senyawa-senyawa bioaktif yang dihasilkannya juga relatif lebih singkat. Oleh sebab itu apabila diperlukan senyawa-senyawa bioaktif, tidak perlu mengambil bagian-bagian tanaman inang, tetapi dapat melalui kultur cair kapang endofit. Kapang endofit berpotensi

sebagai penghasil metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (Gangadevi dan Muchumary, 2008).

Kapang endofit pada tanaman Ginseng Jawa telah berhasil diisolasi sebanyak 7 spesies melalui penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Hasil identifikasi terhadap tujuh spesies kapang endofit tersebut ialah: *Fusarium semitectum*, *Aspergillus candidus*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium lateritium*, *Xylohypha* sp, dan *Colletotrichum gloeosporioides*. Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jack) Gaertn) yang termasuk dalam familia Portulacaceae. Tanaman ini mempunyai beberapa fungsi, yaitu antiinflamasi pada kulit, mencegah penyakit gastrointestinal (Thanamool et al 2013), dan antioksidan (Lestario et al, 2009).

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman Ginseng Jawa mengandung saponin, terpenoid, polifenol, minyak atsiri, flavonoid, dan tanin (Santa dan Prajogo, 1999). Hasil analisis metabolit sekunder dalam penelitian yang dilakukan oleh penulis menunjukkan bahwa tujuh spesies kapang endofit dalam tanaman Ginseng jawa tersebut juga dapat menghasilkan alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tanin. Perlu dilakukan pengujian daya antibakteri dari metabolit sekunder masing-masing spesies kapang endofit yang telah diisolasi dari tanaman Ginseng jawa. Melalui penelitian ini dilakukan pengujian daya antibakteri dari masing-masing spesies kapang endofit tersebut terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.



2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat:

Laminar Air Flow, otoklaf, cawan petri, lampu spiritus, Erlenmeyer 100mL, jarum inokulasi berkolong, tabung reaksi, beaker glass, sentrifuge, mikropipet, scalpel, pinset, dan jangka sorong.

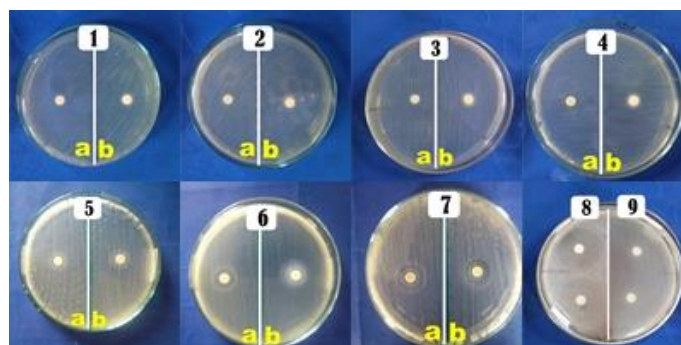
Bahan:

isolat murni kapang endofit; *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium lateritium*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum coccodes*, dan *Xylohypha* sp. 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), aquades, ofloxacin, dan alkohol 70%.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Kultur Cair Kapang Endofit

Pembuatan kultur cair kapang endofit bertujuan untuk memperoleh metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit (Sharma dan Kumar, 2013). Cara pembuatan kultur cair adalah spesies kapang endofit; *Aspergillus candidus*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium lateritium*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum coccodes*, dan *Xylohypha* sp. ditumbuhkan di medium lempeng PDA yang diinkubasikan selama 7x24 jam pada suhu 26°-27°C. Selanjutnya koloni dari setiap spesies kapang endofit dipotong menjadi 5 potongan dengan ukuran 1x1cm². Potongan setiap isolat kapang endofit kemudian diinokulasikan ke dalam 100 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. Supernatant masing-masing isolat kapang endofit hasil sentrifugasi sebanyak 20µL digunakan untuk pengujian antimikroba secara *in vitro* (Siqueira, dkk 2011).



Gambar 1. Diameter Zona hambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *B.subtilis* terhadap perlakuan metabolit kapang endofit.

Keterangan: 1. perlakuan kultur cair *Colleotrichum acutatum*, 2. perlakuan kultur cair *Colleotrichum coccodes*, 3. perlakuan kultur cair *Colleotrichum gloeosporioides*, 4. perlakuan kultur cair *Xylohypha* sp., 5. perlakuan kultur cair *Fusarium semitectum*, 6. perlakuan kultur cair *Fusarium lateritium*, 7. Perlakuan kultur cair *Aspergillus candidus*.

8. Perlakuan kontrol positif. 9. Perlakuan kontrol negatif.

a. perlakuan terhadap bakteri *E.coli*, b. Perlakuan terhadap bakteri *B.subtilis*

Pengujian Daya Antimikroba

Pengujian daya antimikroba dari masing-masing supernatan hasil kultur cair kapang endofit 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 yang telah disetarakan dengan standard Mc Farlan 0,5 (<300x10⁶ CFU/mL). Pada penelitian ini digunakan dua macam kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan medium PDB sedangkan kontrol positif menggunakan antibiotik 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 metabolit masing-masing spesies kapang endofit, yaitu *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Xylohypha* sp., *Fusarium semitectum*, *Fusarium lateritium*, dan *Aspergillus candidus* mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri uji *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan yang terbentuk, baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis* (lihat Gambar 1).

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan menunjukkan bahwa metabolit kapang *A.candidus* menghasilkan zona hambat pertumbuhan terhadap *E.coli* tertinggi dibandingkan spesies-spesies kapang yang lain, yaitu sebesar 14,24 mm. *A.candidus* juga menghasilkan zona hambat pertumbuhan terhadap *B.subtilis* tertinggi dibandingkan dengan spesies-spesies kapang yang lain, yaitu sebesar 14,38 mm. Perlakuan dengan kontrol positif, yaitu antibiotik Ofloxacin 5µg/mL menghasilkan zona hambat

pertumbuhan terhadap *E.coli* sebesar 30,8 mm, sedangkan terhadap *B.subtilis* sebesar 34,4 mm. Perlakuan dengan kontrol negative menggunakan medium cair PDB steril tidak menghasilkan zona hambat pertumbuhan baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis*. Hal tersebut membuktikan bahwa media cair yang tidak mengandung metabolit kapang endofit yang diteliti tidak mempunyai daya antibakteri. Hasil analisis data menggunakan ANAVA ganda dan uji lanjut BNT1% ditunjukkan pada Tabel 1.

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

Perlakuan Kombinasi		Rerata	Notasi
<i>C. gleosporioides</i>	<i>E. coli</i>	0.707107	ab
Kontrol negatif	<i>E. coli</i>	0.707107	ab
kontrol negatif	<i>B. subtilis</i>	0.707107	ab
<i>Xylohyphae</i> sp	<i>E. coli</i>	1.089679	bc
<i>C. coccodes</i>	<i>B. subtilis</i>	1.175784	bc
<i>C. acutatum</i>	<i>B. subtilis</i>	1.208362	bc
<i>C. acutatum</i>	<i>E. coli</i>	1.224745	bc
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>B. subtilis</i>	1.261259	bc
<i>Xylohyphae</i>	<i>B. subtilis</i>	1.293597	c
<i>C. coccodes</i>	<i>E. coli</i>	1.331585	c
<i>F. lateritium</i>	<i>E. coli</i>	2.672639	d
<i>F. lateritium</i>	<i>B. subtilis</i>	2.676016	d
<i>F. semitectum</i>	<i>E. coli</i>	2.790033	de
<i>F. semitectum</i>	<i>B. subtilis</i>	2.971371	e
<i>A. candidus</i>	<i>E. coli</i>	3.838339	f
<i>A. candidus</i>	<i>B. subtilis</i>	3.856776	f
Kontrol Positif	<i>E. coli</i>	5.587213	g
Kontrol positif	<i>B. subtilis</i>	5.907096	h

Tabel 1 menunjukkan bahwa metabolit masing-masing spesies kapang endofit memberikan pengaruh yang berbeda secara signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan *E.coli* dan *B.subtilis*. Metabolit kapang *A.candidus* terbukti mempunyai daya antibakteri tertinggi baik terhadap *E.coli* maupun *B.subtilis* yang ditunjukkan dengan ukuran diameter zona hambat pertumbuhan yang terbesar terhadap kedua bakteri uji. Daerah jernih disekitar *paper disc* menunjukkan bahwa sel-sel bakteri uji, baik *E.coli* maupun *B.subtilis* telah mati karena metabolit kapang yang bersifat antibakteri yang telah berdifusi disekitar *paper disc*. Apabila ditinjau berdasarkan perbedaan daya antibakteri, metabolit masing-masing spesies kapang endofit memiliki daya antibakteri lebih tinggi terhadap *B.subtilis* jika dibandingkan dengan *E.coli*.

Hasil penelitian sebelumnya telah berhasil menganalisis dengan metode spektrofotometri bahwa dalam supernatant ketujuh spesies kapang endofit

mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tanin dengan kandungan yang berbeda antara spesies kapang yang satu dengan yang lain (lihat Tabel 2).

Supernatan dari masing-masing kultur cair kapang endofit tersebut terkandung beberapa macam senyawa yang bersifat antimikroba, yaitu: flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tannin. Senyawa-senyawa antimikroba tersebut mempunyai potensi menyebabkan kerusakan pada sel bakteri uji, sehingga menghambat pertumbuhannya. Flavonoid, salah satu senyawa aktif yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri. Senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan pada membrane sel dan menonaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme seluler (Konate, et al, 2012). Gugus -OH dalam senyawa fenol dapat mengikat -H pada ikatan Hidrogen yang terdapat pada protein struktural dinding sel bakteri, sehingga



Tabel 2. Hasil Analisis Metabolit Sekunder pada Supernatan Hasil Kultur Cair Fungi Endofit Tanaman Ginseng Jawa

Nama Spesies Fungi	Metabolit Sekunder (g/L)			
	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Tannin
<i>C.acutatum</i>	0,59	1,93	0,05	0,70
<i>C.coccodes</i>	0,57	1,87	0,05	0,68
<i>C.gloeosporioides</i>	0,56	1,82	0,05	0,66
<i>Xylohypha</i> sp.	0,48	1,01	0,04	0,39
<i>F.semitectum</i>	0,45	0,94	0,04	0,37
<i>F.lateritium</i>	0,52	1,16	0,05	0,44
<i>A.candidus</i>	0,69	2,22	0,06	0,80

menyebabkan denaturasi protein. Hal ini mengakibatkan membran sel bakteri tidak mempunyai pelindung, sehingga dapat mengalami kerusakan pula. Apabila terjadi kerusakan pada membran sel, maka semipermeabilitas membran sel menurun, sehingga menyebabkan nutrisi dan enzim-enzim keluar dari sel. Hal ini akan menyebabkan metabolisme terhambat, sehingga terjadi penurunan produksi ATP. Apabila ATP menurun, dapat mengakibatkan hambatan dalam pertumbuhan sel bakteri, sehingga terjadi kematian sel bakteri.

Aktivitas antimikroba senyawa alkaloid berhubungan dengan kemampuannya berikatan dengan DNA, menghambat aktivitas beberapa enzim, yaitu: esterase, DNA-polymerase dan RNA-polymerase; selain itu juga dapat menghambat respirasi seluler (Kovacevic, 2004). Senyawa tannin dapat melarutkan lapisan lipid pada dinding sel bakteri dan mendenaturasi protein struktural pada membran sel bakteri (Al-Ani, et al 2008; Hopkins dan Hüner, 2009). Hal tersebut menyebabkan penurunan semipermeabilitas membran sel, sehingga terjadi kerusakan membran sel dan selanjutnya terjadi hambatan pertumbuhan sel bakteri. Terpenoid dapat menyebabkan kerusakan struktur protein baik pada dinding sel maupun membran sel, sehingga semipermeabilitas sel menurun. Hal ini mengakibatkan nutrisi yang ada di dalam sitoplasma keluar dengan tidak terkendali, sehingga metabolisme seluler terhambat dan terjadi penurunan ATP yang dihasilkan. Selanjutnya terjadi penghambatan pertumbuhan sel bakteri (Bama, et al 2012).

Hasil penelitian ini telah membuktikan bahwa tujuh spesies kapang endofit yang dapat diisolasi dari daun dan ranting tanaman Ginseng Jawa dapat menghasilkan metabolit sekunder yang terbukti mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli* dan *B. subtilis*. *Aspergillus candidus* terbukti mempunyai daya antibakteri tertinggi dibandingkan dengan keenam spesies kapang endofit lainnya. Berdasarkan hasil penelitian ini, terbukti bahwa kapang *A. candidus* merupakan spesies kapang yang paling potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan antibiotik, disamping keenam spesies kapang endofit lainnya. Bidang farmasi dapat memanfaatkan metabolit sekunder dari kultur cair kapang *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. gleosporioides*, *Xylohypha* sp, *F. lateritium*, *F. semitectum*, dan *A.candidus* untuk memperoleh bahan antibiotik, yaitu alkaloid, flavonoid, tepenoid, dan tannin. Hal ini dapat

dilakukan sebagai alternatif lain dari pengambilan daun atau ranting tanaman Ginseng Jawa untuk bahan obat alami.

4. SIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini sebagai berikut.

- Metabolit masing-masing spesies kapang endofit mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri uji *E.coli* dan *B.subtilis*.
- Metabolit kapang *A.candidus* mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *E.coli*.
- Metabolit kapang *A.candidus* mempunyai daya antibakteri tertinggi terhadap *B.subtilis*.

5. SARAN

Saran yang dapat dikemukakan ialah:

- Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan kapang endofit dari tanaman obat lainnya selain Ginseng Jawa.
- Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan spesies bakteri uji lain selain *E.coli* dan *B.subtilis*.

6. REKOMENDASI

Rekomendasi yang dapat diberikan ialah: metabolit yang dihasilkan oleh ketujuh spesies kapang endofit yang digunakan dalam penelitian ini, terutama metabolit yang dihasilkan oleh *A.candidus* dapat digunakan sebagai bahan obat khususnya antibiotik di bidang Farmasi.

7. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada staf LAB Biologi FMIPA UM atas bantuan penyediaan fasilitas penelitian sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

8. DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ani, R.T., Mohammed, N., Atheer, V.M, dan Mohammed, S. (2008). Antibacterial Activity of Tannins Extracted from Some Medicinal Plants *in vitro*. *Iraqi Academy Scientific Journal* 6(1):1-7.



- Bama, S., Kingsley, J., Sankaranarayanan, dan Bama, P. (2012). Antibacterial Activity of Different Phytochemical Extracts from the Leaves of *Tridax procumbens* Linn: Identification and Mode of Action of the Terpenoid Compound as Antibacterial. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(10):557-564.
- Castillo, U.F., Strobel, G.A., Ford, E.J., Hess, W.M., Porter, H., Jensen, J.B., Albert, H., Robinson, R., Condrón, M.A., Teplow, D.B., Steven, D., dan Yaver, D. (2002). Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, Endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology*. 148. pp2676.
- Das, M. (2012). Endophytic Fungi from *Zingiber nimmonii* (J.Graham) Dalzell. (Zingiberaceae): an Endemic Medicinal Plant of Western Ghats, Southern India. *International Conference on Biodiversity and Sustainable Energy Development*.
- 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.
- Hopkins, W.G dan Huner, N.P.A. (2009). *Introduction to Plant Physiology fourth edition*. USA: Jhon Wiley.
- 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.
- Lestario, L.N., Christian, A.E, and Martono, Y. (2009). Aktivitas Antioksidan Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). *AGRITECH* 29(2):71-78.
- Santa, IGP and Prajogo, B. (1999). Studi Taksonomi *Talinum paniculatum* (Jacq.)Gaertn. dan *Talinum triangulare* (Jacq.)Willd. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 5(4):9-10.
- 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.
- 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.
- Strobel, G & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophyte and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4): 491-502.
- Tan, R.X dan Zou, W.X. (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports* 18:448-459.
- Thanamool, C., Thaeomor, A., Chanlun, S., Papirom, P., & Kupittayanant, S. (2013). Evaluating the Anti-Fertility Activity of *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn in Female Wistar Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 7(26):1802-1807

