

ISOLASI CENDAWAN ENDOFIT ASAL TUMBUHAN MANGROVE (*Bruguiera gymnorrhiza*) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA

Suci Aprizawati*, Israwati Harahap, Elsie

Program Studi Biologi, FMIPA dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Riau,

* email: 150202024@student.umri.ac.id

ABSTRACT

This research aims to isolate endofit fungi of *Bruguiera gymnorrhiza* (lindur plant) and to conduct the activity test of antimicroba towards *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The sample of lindur plan was taken from Mangrove forest, Sungai Apit District, Siak Regency. The isolation of endofit fungi was conducted by using surface sterilization method while the activity test of microba towards *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* was by using disc method. In total, 13 endofit fungi isolates are successfully isolated from *B. gymnorrhiza* (lindur plant) and all isolates can only inhibit *C. albicans* and *S. aureus*. 9 out of 13 isoltes can inhibit the growth of *E. coli*.

Keywords : Lindur, *Bruguiera gymnorrhiza*, Antimicroba,
Endofit fungi.

PENDAHULUAN

Hutan mangrove adalah salah satu ekosistem hutan dengan habitat yang ekstrim. Hutan mangrove terdapat di daerah yang tergenang dengan kondisi fisik yang salinitasnya sangat tinggi dan daerah berlumpur. Banyak fungsi hutan mangrove diantaranya dapat menjaga abrasi pantai, penyerap polutan, habitat burung dan tempat pemijahan udang dan kepiting (Heriyanto & Subiandono, 2012). Tumbuhan mangrove merupakan jenis tumbuhan yang hidupnya dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Tumbuhan mangrove dapat hidup di dua habitat yaitu air tawar dan air garam. Menurut Dia *et al.* (2015), ada beberapa jenis tumbuhan yang tersusun dalam berbagai kelompok di hutan mangrove, seperti *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata*, *Bruguiera cylindrica*, *Avicennia marina*, *Avicennia officinalis*, *Cardia bantamensis*, *Xylocarpus molucencis*, *Xylocarpus granatum* dan *Bruguiera gymnorrhiza*.

B. gymnorrhiza merupakan salah satu tumbuhan alternatif yang berfungsi sebagai *edible coating* yang dapat ditambahkan pada produk makanan karena memiliki efek dapat mengawetkan dan dapat memiliki sifat antibakteri serta banyak mengandung senyawa bioaktif yang sangat tinggi seperti steroid, triterpen, saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk mengawetkan produk perikanan dan bersifat sebagai sumber senyawa antimikroba (Sivaperumal *et al.*, 2010).

Senyawa antimikroba dihasilkan oleh salah satu jenis mikroorganisme.

Mikroorganisme yang berpotensi dalam menghasilkan antimikroba adalah cendawan endofit. Cendawan endofit merupakan cendawan yang dapat menghasilkan berbagai senyawa fungsional berupa senyawa antikanker, antivirus, antibakteri, antifungi, antidiabetes, antimalaria, antioksidan dan dapat memacu hormon pertumbuhan tanaman (Noverita *et al.*, 2009). Cendawan endofit dapat diisolasi dari bagian tumbuhan, seperti akar, daun dan batang. Melalui penelitian ini dapat diperoleh isolat cendawan endofit yang potensial sebagai antimikroba asal tumbuhan lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Agustus 2019. Sampel *B. gymnorhiza* (tumbuhan lindur) diperoleh dari Hutan Mangrove yang terletak di Kecamatan Sungai Apit Kabupaten Siak. Isolasi dan uji antimikroba dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi; Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam dan Kesehatan; Universitas Muhammadiyah Riau.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), *Oven* (Memmert), *Incubator* (Memmert), Autoklaf (All American), *Shaker Incubator*, bunsen, sedotan steril, kertas pembungkus, mikropipet, plastik wrap, mikropipet, dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan yaitu tanaman mangrove *B. gymnorhiza* (tumbuhan lindur), *Malt Extract Agar* (MEA), *Nutrient Agar* (NA), NaCl, *Potato Dextrose Yeast* (PDY), *Potato Dextrose Broth* (PDB), akuades, antibiotik, kloramfenikol, spiritus, dan Alkohol 70%. Mikroba uji *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* diperoleh dari Fakultas Kedokteran, Universitas Riau.

A. Prosedur Kerja

1 Isolasi Cendawan Endofit

Isolasi cendawan endofit dari tumbuhan lindur dimulai dengan mengoleksi tumbuhan dari lapangan selanjutnya dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya di bawah air mengalir. Bagian akar, batang dan daun tanaman akar dipotong secara aseptik dengan pisau menjadi potongan-potongan berukuran 1 cm. Potongan akar batang dan daun tersebut disterilisasi dengan cara direndam di dalam alkohol 70% selama 1 menit, selanjutnya direndam menggunakan natrium hipoklorit 5,3% selama 2 menit, dan terakhir dengan alkohol direndam selama 30 detik. Setelah itu potongan akar batang dan daun tersebut dibilas dengan akuades selama 3 kali. Sampel akar batang dan daun diinokulasi di dalam cawan petri yang sudah berisi medium MEA, setiap cawan berisi 3 potongan akar, daun dan batang. Sebagai kontrol, bilasan akuades terakhir diambil 1 ml lalu dituang ke dalam media MEA secara *spread plate*. Sampel akar, batang dan daun yang sudah diinokulasikan pada media MEA selanjutnya diinkubasi pada suhu 25-30° C selama 5-7 hari atau sampai cendawan tumbuh dari organ tanaman.

2 Pemurnian Isolat Cendawan Endofit

Pemurnian cendawan endofit dilakukan pada setiap koloni cendawan yang dianggap berbeda berdasarkan morfologi makroskopis yang dapat dilihat dari warna, bentuk dan tepi koloni. Cendawan yang dianggap berbeda secara makroskopis diambil hifa-hifanya dengan

menggunakan jarum tanam ose, lalu dipindahkan ke media MEA yang baru. Cendawan yang telah diinokulasi selanjutnya diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 25-30 °C.

3. Fermentasi Isolat Cendawan Endofit

Fermentasi isolat cendawan endofit dilakukan dengan menggunakan media *Potato Dextrose Broth* (PDB), yang bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder dari isolat tersebut, isolat cendawan endofit dipotong dengan sedotan steril sebanyak 6 potong. Kemudian diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml media PDB. Selanjutnya diinkubasi di dalam *Shaker Incubator* selama 21 hari.

4. Membuat suspensi Mikroba Uji

Satu ose mikroba uji *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli* yang berumur 24 jam, dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi 10 ml NaCl 0,9 %. Kemudian tingkat kekeruhan suspensi tersebut disetarakan dengan larutan Mc. Farland 0,5 untuk bakteri (populasi 1×10^7 CFU/ML- 1×10^8 CFU/ ml) (Sutton, 2011). Sementara itu, Mc. Farland II untuk cendawan (populasi $1 - 5 \times 10^6$ CFU/ ml) (WHO, 2009).

5. Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode kertas cakram. Mikroba uji *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli* yang telah berumur 24 jam di ambil menggunakan *cotton swab*, selanjutnya *cotton swab* dicelupkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diusap secara horizontal pada media *Nutrient Agar* (NA) dan media *Potato Dextrose Yeast* (PDY). Kertas cakram direndam ke dalam suspensi cendawan endofit, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 24-72 jam dan di amati zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yaitu zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram selanjutnya diukur diameternya. Diameter zona hambat diperoleh dengan cara mengukur selisih diameter zona hambat (mm) dengan diameter cakram. Davis & Stout (1971), menyatakan bahwa diameter zona hambat 0- 5 dikategorikan lemah, 5 – 10 dikategorikan medium, 10 – 20 mm dikategori kuat dan diatas > 20 mm dikategori sangat kuat.

6. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari hasil isolasi cendawan endofit tumbuhan lindur disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, serta dijelaskan secara deskriptif berdasarkan ukuran dan zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Isolasi Cendawan Endofit

Hasil isolasi cendawan endofit dari akar, batang dan daun tumbuhan mangrove lindur (*B. gymnorrhiza*) diperoleh sebanyak 13 isolat cendawan endofit (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Isolasi Cendawan Endofit Asal Tumbuhan Mangrove (*B. gymnorrhiza*)

No	Isolat	Organ Tumbuhan
----	--------	----------------

		Akar	Batang	Daun
1	SA 1	-	-	√
2	SA 2	√	-	-
3	SA 3	-	√	-
4	SA 4	-	-	√
5	SA 5	-	-	√
6	SA 6	-	-	√
7	SA 7	√	-	-
8	SA 8	√	-	-
9	SA 9	-	√	-
10	SA 10	-	√	-
11	SA 11	√	-	-
12	SA 12	-	√	-
13	SA 13	-	-	√
Total		4	4	5

Keterangan : √ : ditemukan - : Tidak ditemukan

Berdasarkan Tabel 1, hasil isolasi cendawan endofit dari tumbuhan Lindur (*B. gymnorhiza*) diperoleh 13 isolat cendawan endofit. Empat isolat ditemukan pada bagian batang yaitu SA 3, SA 9, SA 10 dan SA 12; 5 isolat ditemukan pada bagian daun yaitu isolat SA 1, SA 4, SA 5, SA 6 dan SA 13, dan 4 isolat yang ditemukan pada bagian akar yaitu SA2, SA 7, SA 8, dan SA 11.

Tabel 2 Uji Aktivitas Antimikroba Isolat Cendawan Endofit Dari Tumbuhan Lindur (*B. gymnorhiza*)

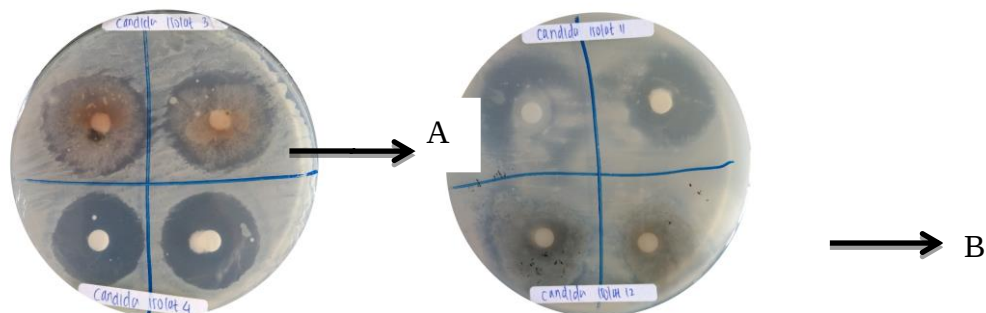
Uji Aktivitas Antifungi				Uji Aktivitas Antibakteri			
<i>C. albicans</i>				<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
No.	Isolat	Zona Hambat (mm)	Kategori	Zona Hambat (mm)	Kategori	Zona Hambat (mm)	Kategori
1	SA 1	25	Sangat Kuat	11	Kuat	8	Medium
2	SA 2	22	Sangat Kuat	14	Kuat	7	Medium
3	SA 3	40	Sangat Kuat	6	Meidum	4	Lemah
4	SA 4	24	Sangat Kuat	6	Medium	7	Medium
5	SA 5	26	Sangat Kuat	9	Medium	3	Lemah
6	SA 6	22	Sangat Kuat	18	Kuat	4	Lemah
7	SA 7	27	Sangat Kuat	18	Kuat	8	Medium
8	SA 8	22	Sangat Kuat	22	Sangat kuat	7	Medium
9	SA 9	28	Sangat Kuat	17	Kuat	-	-
10	SA 10	21	Sangat Kuat	10	Medium	-	-
11	SA 11	24	Sangat Kuat	26	Sangat kuat	2	Lemah
12	SA 12	18	Sedang	25	Sangat	-	-

Uji Aktivitas Antifungi				Uji Aktivitas Antibakteri			
<i>C. albicans</i>				<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
No.	Isolat	Zona Hambat (mm)	Kategori	Zona Hambat (mm)	Kategori	Zona Hambat (mm)	Kategori
13	SA 13	28	Sangat Kuat	28	kuat Sangat kuat	-	-

Keterangan : - : tidak ada zona hambat

Berdasarkan tabel 2. kategori zona hambat yang dihasilkan oleh cendawan endofit *B. gymnorhiza* (tumbuhan Lindur) terhadap *C. albicans* terdapat 12 isolat yang memiliki aktivitas antifungi dengan kategori sangat kuat yaitu isolat SA 1, SA 2, SA 3, SA 4, SA 5, SA 6, SA 7, SA 8, SA 9, SA 10, SA 11, dan SA 13; 1 isolat yang dikategorikan sedang yaitu isolat SA 12. Kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter zona hambat yang diperoleh menggunakan pengkategorian Davis & Stout (1971), menyatakan bahwa diameter zona hambat 0- 5 dikategorikan lemah, 5 – 10 dikategorikan medium, 10 – 20 mm dikategori kuat dan diatas > 20 mm dikategori sangat kuat.

Zona hambat terbesar yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit tumbuhan lindur terhadap *C. albicans* adalah isolat SA 3 dengan diameter sebesar 40 mm, sedangkan diameter zona hambat terkecil pada isolat SA 12 dengan diameter 18 mm (Gambar 1).

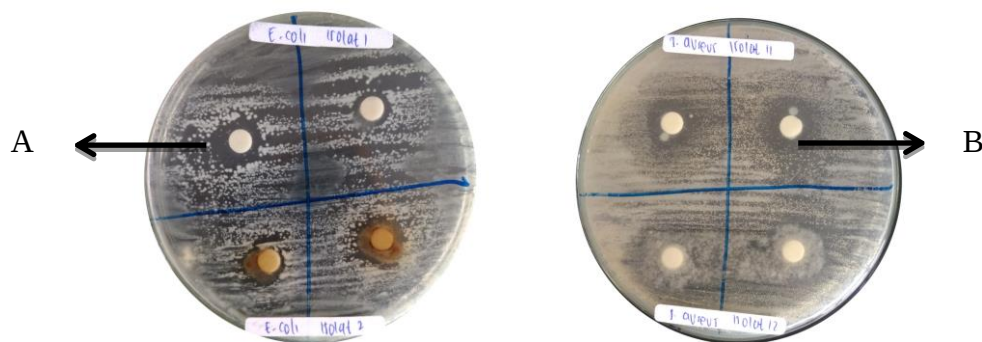


Gambar 1. Uji aktivitas antifungi pada media PDY (A) isolat cendawan endofit SA 3 memperlihatkan kemampuan menghambat *Candida albicans* ditandai dengan terbentuknya zona hambat 40 mm; (B) isolat cendawan endofit SA 12 memperlihatkan kemampuan menghambat *Candida albicans* ditandai dengan terbentuknya zona hambat 18 mm.

Uji aktivitas antimikroba tumbuhan lindur terhadap pertumbuhan cendawan *C. albicans* dengan menggunakan kertas cakram menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Terbentuknya zona hambat disebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme yang ada di sekitar kertas cakram yang mengandung ekstrak isolat cendawan endofit. Radji (2005), menyatakan bahwa cendawan endofit memiliki senyawa metabolit sekunder yang sesuai dengan tanaman inangnya, sehingga cendawan endofit memiliki kemampuan yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut.

4. 2. 2 Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri dari cendawan endofit asal tumbuhan lindur *B. gymnorhiza* diperoleh 4 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan kategori lemah yaitu isolat SA 3, SA 5, SA 6, dan SA11, 5 isolat dengan kategori medium yaitu isolat SA 1, SA 2, SA 4, SA 7 dan SA 8, 4 isolat tidak mampu menghambat pertumbuhan isolat cendawan endofit yaitu isolat SA 9, SA 10, SA 12 dan SA 13 (Tabel 4.3). Sedangkan uji aktivitas antibakteri pada pertumbuhan dari isolat cendawan endofit asal tumbuhan lindur *S. aureus* diperoleh 5 isolat termasuk ke dalam kategori kuat yaitu isolat SA 1, SA 2, SA 6, SA 7 dan SA 9, 4 isolat termasuk ke dalam kategori sangat kuat yaitu isolat SA 8, SA 11, SA 12 dan SA 13, 4 isolat termasuk ke dalam kategori medium yaitu isolat SA 3, SA 4, SA 5, SA 10. Zona hambat terbesar yang dihasilkan oleh ekstrak cendawan endofit tumbuhan lindur terhadap *S. aureus* adalah isolat SA 11 dengan diameter sebesar 26 mm, sedangkan diameter zona hambat dari ekstrak cendawan endofit terhadap *E.coli* dihasilkan oleh isolat SA 1 dengan diameter 8 mm (Gambar 2).



Gambar 2. Uji aktivitas antibakteri pada media NA (A) isolat cendawan endofit terhadap *E. coli* SA 1 (8 mm) dan *S.aureus* SA 11 (26 mm) memperlihatkan zona hambat

Ekstrak dari cendawan endofit yang menghasilkan zona hambat menunjukkan bahwa cendawan endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri, perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan tiap isolat bakteri endofit. Hasil tersebut menandakan bahwa kemungkinan besar senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh cendawan endofit tersebut memiliki rentang nilai daya hambat yang luas. Hal ini dipertegas oleh pernyataan Xiang *et al.*, (2007), bahwa dalam satu tumbuhan dapat diisolasi lebih dari satu bahkan puluhan jenis mikroba endofit yang masing-masing mempunyai potensi untuk memproduksi satu atau lebih senyawa bioaktif. Menurut Tan and Zou (2001), kemampuan cendawan endofit yang diisolasi menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan terbentuknya zona hambat.

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat cendawan endofit terbesar ditemukan dalam menghambat bakteri Gram positif pada *S. aureus* dibandingkan dengan *E. coli*, hal ini disebabkan karena perbedaan dinding sel bakteri. Menurut Peclzar (2008), struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram

positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam, sedangkan bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Siswandono & Soekardjo (2000), menyatakan bahwa struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Putra (2007) dan Wiyanto (2010), menyatakan mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Hal tersebut disebabkan karena molekul steroid memiliki gugus nonpolar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membran plasma.

KESIMPULAN

1. Hasil isolasi cendawan dari tumbuhan lindur (*B. gymnorhiza*), diperoleh 13 isolat cendawan endofit yang terdiri dari 4 isolat ditemukan di akar, 5 isolat ditemukan di daun dan 4 isolat ditemukan di batang.
2. Uji aktivitas antimikroba dari tumbuhan lindur (*B. gymnorhiza*) diperoleh bahwa seluruh isolat mampu menghambat *C. abicans* dan *S. aureus* dan hanya 9 isolat mampu menghambat *E. coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana penelitian melalui hibah Program Kreativitas Mahasiswa skim penelitian (PKM-P) Tahun 2019, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Dia, S. P., Nurjanah, N., dan Jacob, A. M. (2015). Komposisi Kimia dan Aktivitas Anti Oksidan Akar, Kulit Batang, dan Daun Lindur JPHPI, 18(2), 205 - 219. doi:10.17844.
- Heriyanto, N., dan Subiandono, E. (2012). Komposisi dan Struktur Tegakan, Nasional Alas Purwo. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 9(1), 023-032.
- Noverita, D. Fitria dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamurendofit dari daun rimpang *Zingiber ottensiin* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4): 171-176.
- Pelczar C. P. and E. C. S. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI. Press. Jakarta
- Putra, I.N.K., 2007. Study Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. [Disertasi]. Universitas Brawijaya: Malang.

- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Kefarmasian*, 2, 3, 113-126.
- Siswandono, dan Soekardjo, B., 2000. (EDS), *Kimia Medisinal*, Edisi Kedua, Airlangga University Press, Surabaya, 109.
- Sivaperumal, P., Ramasamy, P., Inbaneson, S.J., and Ravikumar, S. (2010). Screening of antibacterial activity of mangrove leaf bioactive compounds against antibiotic resistant clinical isolates. *World J of Fish and Marine Sci.* 2(5): 348–353.
- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.
- Tan, R.X. dan W.X.Zou. 2001. Endophyte: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep* 18: 448-459.
- WHO. 2009. *Laboratory Manual for Diagnosis of Fungal Opportunistic Infections in HIV/AIDS Patients*. World Health Organization
- Wiyanto, Budi, D., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*, *Jurnal Kelautan*, 3(1):12.
- Xiang, L., C. Lu., Y. Huang., Z. Zeng , W. Su and Y. Shen. 2007. “Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity”. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23(7):1037-040.’