

**ISOLASI DAN SKRINING ANTIBAKTERI DARI KAPANG ENDOFIT TANAMAN  
BAJAKAH (*SPATHOLOBUS LITTORALIS* HASSK)**

***ISOLATION AND ANTIBACTERIAL SCREENING OF ENDOPHYTIC FUNGIES OF  
BAJAKAH PLANTS (*SPATHOLOBUS LITTORALIS* HASSK)***

Dina Fitriyah<sup>1\*</sup>, Hilfi Pardi<sup>2</sup>, Friska Septiani Silitonga<sup>3</sup>, Eka Putra Ramdhani<sup>4</sup>, Noviana Ika Puspitasari<sup>5</sup>

<sup>12345</sup> Universitas Maritim Raja Ali Haji

Jl. Dompok Tanjungpinang, Kepulauan Riau, 29215, Indonesia

\*e-mail korespondensi: dinafitriyah@umrah.ac.id

**Abstrak**

Penggunaan antibiotik merupakan salah satu solusi untuk melawan berbagai penyakit infeksi. Namun pemakaian antibiotik sintesis kontiniu tidak hanya membunuh patogen itu sendiri tetapi juga dapat mempercepat terjadinya resistensi. Sumber bahan baru bioaktif yang banyak dieksplorasi sekarang ini adalah kapang endofit. Penelitian ini melakukan isolasi dan skrining antimikroba kapang endofit yang hidup dalam jaringan batang bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk). Penelitian ini bertujuan : 1) Mengisolasi kapang endofit dari batang bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) dan 2) Mengetahui kemampuan antimikroba dari isolat kapang endofit batang bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk). Metode skrining antimikroba yang digunakan yaitu metode difusi cakram terhadap patogen bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi kapang endofit dari bajakah menghasilkan 4 isolat. Ekstrak kapang isolat UMRCC03 dengan media produksi PDB, pada hari ke-20 memiliki zona hambat sebesar  $15,11 \pm 0,19$  terhadap *Escherichia coli* dan  $15,56 \pm 0,50$  terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini membuktikan bahwa kapang endofit batang bajakah menunjukkan aktivitas antimikroba pada patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* seperti bioaktivitas dari tanaman inangnya.

**Kata kunci:** Antimikroba, Bajakah, Endofit, Kapang, Patogen

**Abstract**

*The use of antibiotics is a solution to treat various infectious diseases. However, the continuous use of synthetic antibiotics not only kills the pathogen itself but also accelerates the occurrence of resistance. Recently, a source of new bioactive materials that has been extensively explored is endophytic fungi. This study isolated and screen for antimicrobial endophytic fungi that live in the stem tissue of the Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk). The aims of this study: 1) Isolate the endophytic fungi from the stem of the Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) and 2) To determine the antimicrobial ability of the endophytic fungi isolate from the stem Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk). The antimicrobial screening method used is the disc diffusion method against pathogenic *Escherichia coli* bacteria and *Staphylococcus aureus*. The results showed that the isolation of endophytic fungi from Bajakah produced 4 isolates. The fungi extract isolate UMRCC03 with PDB production media, on the 20th day had an inhibition zone of  $15.11 \pm 0.19$  against *Escherichia coli* and  $15.56 \pm 0.50$  against *Staphylococcus aureus*. This proves that the endophytic fungi of Bajakah stem exhibits antimicrobial activity against pathogens *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* just like the bioactivity of its host plant*

**Keywords:** Antimicrobial, Bajakah, Endophytic, Fungi, Pathogen

**PENDAHULUAN**

Infeksi merupakan reaksi lokal atau sistemik karena invasi kuman yang masuk ke dalam tubuh. Penyakit infeksi masih merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di dunia (Chagas, *et al.*, 2017).

Sebanyak 25 juta kematian di seluruh dunia, sepertiganya disebabkan oleh penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia terutama di negara berkembang karena tingkat pengetahuan dan kesadaran akan pentingnya

kesehatan penduduknya masih rendah (Harman, Khadka, Doni, & Uphoff, 2021).

Penggunaan antibiotik merupakan solusi untuk menangani berbagai penyakit infeksi (Chagas, *et al.*, 2017). Namun pemakaian antibiotik sintesis secara terus menerus tidak hanya membunuh patogen itu sendiri tetapi juga mempercepat terjadinya resistensi dan bahan baku antibiotik sintesis juga masih impor. Untuk itu diperlukan alternatif senyawa antimikroba baru yang aman dan berasal dari bahan alam (Wathan, Imaningsih, & Rizki, 2021). Sumber bahan baru bioaktif yang banyak dieksplorasi sekarang ini adalah kapang endofit. Endofit adalah mikroorganisme bakteri atau kapang yang hidup pada jaringan tanaman yang sehat secara interseluler (Zheng, Li, Zhang, & Zhao, 2021). Endofit telah diisolasi dari hampir seluruh tanaman yang diperiksa sampai saat ini. Endofit menunjukkan interaksi yang saling menguntungkan dengan tanaman inangnya.

Beberapa keunggulan endofit dibandingkan tanaman inangnya yaitu senyawa yang dihasilkan kapang endofit seringkali memiliki aktifitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas dari senyawa tumbuhan inangnya (Syarifah, Elvita, Hary Widjajanti, Setiawan, & Kurniawati, 2021). Pembiakan atau kultur kapang endofit dapat dilakukan dalam jumlah yang sangat besar tanpa memerlukan lahan yang luas seperti tumbuhan. Pemanfaatan kapang endofit sebagai penghasil sumber bahan baku obat alami akan mereduksi kerusakan alam yang disebabkan oleh eksploitasi tumbuhan obat dalam jumlah yang besar serta waktu yang relatif lebih lama menunggu masa pertumbuhan tanaman (Harman, Khadka, Doni, & Uphoff, 2021). Kendala tersebut dapat diatasi dengan mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari kapang endofit. Salah satu mikroba endofit yang paling banyak diisolasi yaitu kapang endofit (Hamidah, Rianingsih, & Romadhon, 2019). Kapang endofit merupakan golongan mikroba endofit yang paling banyak ditemukan dan terdapat dalam jumlah yang besar di alam (Zheng, Li, Zhang, & Zhao, 2021). Kapang

endofit memiliki kemampuan untuk mensintesis suatu senyawa antimikroba yang sama seperti tanaman inangnya karena adanya interaksi yang terjadi antara kapang dengan tanaman inangnya dengan cara melibatkan transfer materi genetik, sehingga zat-zat bioaktif yang dihasilkan tanaman inang akan dihasilkan pula oleh kapang endofit yang hidup pada tanaman tersebut (Lin, Nishino, Roberts, Tolmasky, Aminov, & Zhang, 2015). Kemampuan kapang endofit untuk mensintesis suatu senyawa metabolit sekunder berpotensi untuk pengembangan antimikroba dalam skala besar dengan waktu yang singkat tanpa menimbulkan kerusakan ekologis (Harman, Khadka, Doni, & Uphoff, 2021)

Salah satu keanekaragaman hayati berpotensi sebagai obat tradisional adalah tanaman bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). Bajakah merupakan tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan semua bagiannya (Abdulrahman, Utami, Widia, & Roaniscaa, 2021). Alasan pemilihan batang bajakah karena hasil penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol batang bajakah memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* dengan konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 6,25% (Kurniawan, 2019) dan hasil penelitian sebelumnya menunjukkan batang bajakah terbukti memiliki senyawa kimia fenolik, flavonoid, tannin dan saponin (Abdulrahman, Utami, Widia, & Roaniscaa, 2021). Keterbaruan penelitian ini terletak pada uji antibakteri menggunakan ekstrak kapang endofit. Penelitian terdahulu hanya menguji biaktivitas dari ekstrak tanaman bajakah secara langsung, belum ada pengujian dari ekstrak kapang endofit tanaman bajakah.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi kapang endofit yang hidup dalam jaringan batang bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) dan skrining antimikroba kapang endofit tanaman Bajakah yang berpotensi sebagai salah satu sumber senyawa antimikroba baru, yang diharapkan dapat mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintesis.

## METODE PENELITIAN

### Material

Bahan-bahan yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB) No. Cat. 1.05397.0500, media *Nutrient Agar* (NA) No. Cat. 1.05450.0500, media *Nutrient Broth* (NB) No. Cat. 1.05443.0500. (Semua media diproduksi oleh Merck KGaA Germany), alkohol 70%, *millipore syringe filter* 0,2  $\mu\text{m}$  (Puradisc<sup>TM</sup> 13mm Cat. No. 6786-1302), kontrol positif antibakteri yakni amoxan, kertas cakram 6 mm (Macherey – Nagel MN827ATD), isolat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### Instrumentasi

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, box steril, botol kaca, jarum ose, Spektrofotometer (thermo GENESIS 10S UV-VIS), Autoklaf 1925x (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc., Monitowoc), *High-Speed Micro Centrifuge* Model CT15RE, *vortex mixer* H-VM-300, *Water bath* Grant SUB28, *Incubator* Memmert, *rotary shaker* (Daihan LabTech Co., LTD) dan peralatan gelas lainnya sesuai dengan prosedur kerja.

### Prosedur

#### Isolasi Kapang endofit dari batang bajakah

Batang bajakah yang akan digunakan untuk mengisolasi kapang endofit, dicuci dengan air hingga bersih. Batang bajakah dipotong 1 cm x 1 cm. Potongan dari batang bajakah disterilisasi dengan alkohol 70 % selama 2 menit. Potongan bagian tanaman kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali dan dimasukkan ke dalam tissue selama 3–4 jam (sampai kering). Isolasi kapang dilakukan dengan teknik *direct planting* (Madon dkk, 2018) , yaitu dengan meletakkan potongan bagian tanaman yang sudah kering (6 potongan) di atas permukaan PDA yang telah ditambahkan kloramfenikol (200 mg /1 liter medium). Seluruh medium yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu ruang

(27-28C).Morfologi koloni yang penampakan, warna, dan ukurannya sama dianggap isolat yang sama. Setiap koloni representatif dipisahkan menjadi isolat-isolat tersendiri.

#### Fermentasi Kapang Endofit

Sebanyak 1ml inokulum kapang endofit (5%) diinokulasikan kedalam 200 mL media produksi (media PDB), kemudian diinkubasi selama 20 hari pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Pada hari ke-15 dan hari ke-20 dilakukan uji antimikrob. Kultur kapang hasil fermentasi diambil dan disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Untuk memisahkan supernatan dan massa selnya, kultur hasil fermentasi ini disaring dengan menggunakan *millipore syringe filter* 0,2  $\mu\text{m}$ , sehingga didapatkan ekstrak kasar kapang endofit batang bajakah. Ekstrak kasar kapang endofit inilah yang akan digunakan untuk uji antimikrob

#### Skринing Antimikroba dari Isolat Kapang Endofit Batang Bajakah

Inokulum patogen diinokulasikan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi yang mengandung media NA cair sebanyak 15 mL (suhu 50 °C) dan divortex, kemudian agar cair ini dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Masing-masing ekstrak kasar steril kasar endofitk sebanyak 50  $\mu\text{L}$  diteteskan pada kertas cakram steril (diameter 6 mm) dan dibiarkan mengering. Kontrol positif yang digunakan adalah Amoxsan sebanyak 30 $\mu\text{g}$  dan kontrol negatif yang digunakan adalah media fermentasi steril. Kemudian kertas cakram diletakkan di atas media NA yang mengandung bakteri patogen. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C. Diameter zona bening disekitar kertas cakram diukur setelah inkubasi selama 24 jam (Chagas & Irailton Santos, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Kapang Endofit

Hasil isolasi kapang endofit dari bagian batang bajakah (1 cm x 1 cm) diperoleh 4 isolat. Isolat-isolat tersebut disimpan dalam media PDA miring untuk

digunakan dalam pengujian selanjutnya. Berdasarkan deskripsi ciri-ciri dan karakter makroskopis kapang endofit terdapat perbedaan morfologi yang sangat bervariasi, hal ini dapat dilihat pada Tabel 1. Adanya variasi bentuk kapang endofit yang diperoleh, diantaranya dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Habitat tanaman merupakan faktor lingkungan yang banyak mempengaruhi struktur dan komposisi spesies mikroba yang mengkolonisasi akar, batang, cabang dan daun (M. G. Saad, M. Al, & A. E. Korna, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa mikroba endofit bervariasi di dalam tanaman atau tergantung pada interaksi dengan endofit atau patogen lainnya. Isolat jamur endofit yang dimurnikan, diamati secara makroskopis. Pengamatan morfologi koloni dapat dilihat dari warna permukaan koloni, selain itu dilihat ada tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni dan juga ada tidaknya lingkaran-lingkaran konsentris (Paul, Deng, Shin, & Hun Yu, 2012).

**Tabel 1.** Karakter Morfologi Kapang endofit Batang Bajakah

| Kode Isolat | Bentuk Koloni  | Garis Lingkaran |            |
|-------------|--|-----------------|------------|
|             |  | Radial          | Konsentris |
| UMRCC 01    | Miselium seperti beludru dengan hifa aerial pendek, warna putih, warna sebalik putih hitam | Ada             | Ada        |
| UMRCC 02    | Permukaan koloni lebih kasar, berwarna putih, warna sebalik putih orange                   | Tidak Ada       | Tidak Ada  |
| UMRCC 03    | Permukaan koloni halus dan berwarna hitam pekat  | Ada             | Tidak Ada  |
| UMRCC 04    | Permukaan koloni lebih kasar dan berwarna putih. Warna sebalik putih hijau                 | Tidak Ada       | Tidak Ada  |

Keterangan : UMR = nama instansi peneliti, CC = collection culture, 01-04 = nomor koleksi

### Skrining Antimikroba dari Ekstrak Kapang Endofit

**Tabel 1.** Hasil skrining terhadap *Escherichia coli*

| Ekstrak       | Rata-rata diameter hambat (mm) |                |
|---------------|--------------------------------|----------------|
|               | Hari ke-15                     | Hari ke-20     |
| <i>Amoxan</i> | (11,67 ± 0,33)                 | (11,77 ± 0,50) |
| Kontrol (-)   | -                              | -              |
| UMRCC 01      | -                              | -              |
| UMRCC 02      | -                              | -              |
| UMRCC 03      | -                              | (15,11±0,19)   |
| UMRCC 04      | -                              | -              |

Catatan : harga rata-rata diameter hambat ekstrak kasar kapang endofit sebanyak tiga kali pengulangan.

Keterangan : (-) = tidak adanya aktivitas antimikrob

Pengujian Antibakteri menunjukkan bahwa hanya ada 1 isolat kapang endofit yakni UMRCC03 yang menunjukkan daya hambat pada hari ke-20 fermentasi. Daya hambat ekstrak kapang endofit terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 15,11 mm, daya hambat ini lebih besar dibandingkan daya hambat kontrol positif sebesar 11,67 mm.

**Tabel 3.** Hasil skrining terhadap *Staphylococcus aureus*

| Ekstrak        | Rata-rata diameter hambat (mm) |                |
|----------------|--------------------------------|----------------|
|                | Hari ke-15                     | Hari ke-20     |
| <i>Amoxsan</i> | (12,00 ± 0,33)                 | (11,66 ± 1,45) |
| Kontrol (-)    | -                              | -              |
| UMRCC 01       | -                              | -              |
| UMRCC 02       | -                              | -              |
| UMRCC 03       | -                              | (15,56±0,50)   |
| UMRCC 04       | -                              | -              |

Catatan : harga rata-rata diameter hambat ekstrak kasar kapang endofit sebanyak tiga kali pengulangan.

Keterangan : (-) = tidak adanya aktivitas antimikrob

Isolat UMRCC 03 juga menunjukkan daya hambat pada bakteri *salmonella tyhpii* sebesar 15,56 mm pada hari ke-20 fermentasi, sedangkan pada uji hari ke-15 belum menunjukkan adanya daya hambat. Daya hambat yang ditunjukkan juga lebih besar dari kontrol positif amoxan.

Produksi senyawa metabolit sekunder suatu mikroba dipengaruhi oleh kemampuan

fisiologi masing-masing jenis mikroba itu sendiri (Patil, Maheshwari, & Patil, 2021). Adapun faktor-faktor yang memengaruhi perbedaan zona hambat yaitu asal isolat, umur isolat, jenis senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan, lama inkubasi saat pengujian, serta kondisi lingkungan saat pengujian. Faktor yang memengaruhi perbedaan zona hambat, yaitu kepadatan media yang digunakan pada saat uji, konsentrasi senyawa antibakteri yang dihasilkan, kecepatan senyawa antibakteri berdifusi, sensitivitas bakteri uji, dan interaksi senyawa antibakteri dengan media uji (Gajic, Kabic, Kekic, Jovicevic, Milenkovic, & Culafic, 2022).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, daya hambat pada *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan pada *Eschericia coli*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan penyusun struktur dinding sel antar kedua bakteri. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif (Zheng, Li, Zhang, & Zhao, 2021). Dinding bakteri Gram negatif terdiri dari 3 lapisan, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel), sementara bakteri Gram positif hanya memiliki lapisan tunggal pada dinding selnya (Breijyeh, Jubeh, & Karaman, 2020). Dinding sel Gram positif lebih banyak mengandung peptidoglikan dan polisakarida serta sedikit lipid, selain itu dinding sel bakteri gram positif tersusun atas polisakarida lebih mudah mengalami denaturasi, dibandingkan dinding sel yang tersusun oleh fosfolipid sehingga senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel bakteri Gram negatif dibandingkan bakteri Gram positif (Breijyeh, Jubeh, & Karaman, 2020).

## KESIMPULAN

Isolasi kapang endofit dari batang tanaman bajakah *Spatholobus littoralis* Hassk menghasilkan empat isolat dengan morfologi yang berbeda yang diberi kode penamaan UMRCC 01, UMRCC 02, UMRCC 03 dan UMRCC 04. Pengujian antimikroba dilakukan

pada hari ke-15 dan 20 fermentasi. Pengujian pada hari ke-15 menunjukkan tidak ada daya hambat dari keempat isolat kapang endofit terhadap *E.coli* dan *S. aureus*. Sedangkan pengujian pada hari ke 20 menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *E.coli* sebesar  $15,11 \pm 0,19$  dan daya hamba pada *S.aureus* sebesar  $15,56 \pm 0,50$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada DRTPM selaku pemberi dana hibah PDP tahun 2022 dengan nomor kontrak 14/DRTPM/PDP/I/2022 Terimakasih kepada pihak UMRAH yang telah memfasilitasi terkait penerimaan hibah DRTPM dan fasilitasi penelitian. Terimakasih juga kepada Labor Dinas Kelautan Provinsi Riau di Tanjung Unggat Tanjungpinang.

## DAFTAR RUJUKAN

- Abdulrahman, Utami, S. R., Widia, & Roaniscaa, O. (2021). Kajian Metabolit Sekunder Batang Bajakah. *Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Masyarakat* (hal. 12-19). Pangkalpinang: Fakultas Teknik Universitas Bangka Belitung.
- Bormans, P. (2004). *Ceramics are more than Clay Alone*. Cambridge: Cambridge International Science Publishing.
- Chagas, M. B., & Iraiton Santos, I. P. (2017). Antimicrobial Activity of Cultivable Endophytic Fungi Associated. *The Open Microbiology Journal*, 179-188.
- Chagas, O., dos Santos, I. P., Nascimento da, L. C., Santos Correia, M. T., Araújo, J. M., Cavalcanti, M. d., et al. (2017). Antimicrobial Activity of Cultivable Endophytic Fungi Associated. *The Open Microbiology Journal*, 179-188.
- Fewell, M. P. (1995). The atomic nuclide with the highest mean binding energy. *American Journal of Physics*, 63(7), 653-658.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, Volume 1 No 2.
- Harman, G., Khadka, R., Doni, F., & Uphoff, N. (2021). Benefits to Plant Health and Productivity From Enhancing Plant

- Microbial Symbionts. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Kurniawan, B. B. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus*: *Jurnal Farmasi Indonesia*, 178-187 .
- Lin, J., Nishino, K., Roberts, M. C., Tolmasky, M., Aminov, R., & Zhang, L. (2015). Mechanisms of antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 128-135.
- M. G. Saad, M., M. Al, K., & A. E. Korna. (2018). Isolation, Identification and Biological Activities of Endophytic Fungi from. *J. Plant Prot. and Path*, 543-546.
- Maadon, S. N., Wakid, S. A., Zainudin, I. I., Rusli, L. S., & Mohd, M. S. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Fungi from UiTM. *Sains Malaysiana* , 3025-3030.
- Syarifah, Elvita, Hary Widjajanti , Setiawan, A., & Kurniawati, A. (2021). Diversity of endophytic fungi from the root bark of *Syzygium zeylanicum*, and the antibacterial activity of fungal extracts, and secondary metabolite. *Biodiversitas*, 4572-4582.
- Wathan, N., Imaningsih, W., & Rizki, M. (2021). Identifikasi Jamur Endofit Akar Seluang Belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) Serta Uji Aktivitas Antimikrobanya. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah* (hal. Volume 6 Nomor 3). Universitas Lambung Mangkurat.
- Zheng, R., Li, S., Zhang, X., & Zhao, C. (2021). Biological Activities of Some New Secondary Metabolites. *Int. J. Mol. Sci*, 22-27.