

# ISOLASI DAN SELEKSI JAMUR ENDOFITIK DARI BEBERAPA TANAMAN OBAT TRADISIONAL INDONESIA, SERTA UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA

Taty Rusliati<sup>1)</sup>, Nuki Bambang Nugroho<sup>2)</sup>, Bambang Sumadi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Jalan Let. Jen. S. Parman 1, Jakarta. Email: tatyruiliati@yahoo.co.id

<sup>2,3)</sup>Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Kawasan PUSPIPTEK Gedung 630 Serpong 15314, Tangerang, Banten

## Abstract

Mikroba endofit merupakan mikroba yang sebagian atau keseluruhan siklus hidupnya berada dalam jaringan hidup tanaman inang. Mikroba endofit hidup secara internal dalam jaringan hidup inangnya secara simbiosis mutualistik. Inang mikroba endofit dapat berupa pohon, semak, rumput atau herba (Petriani *et al.*, 1992).

Penelitian tahun I dilakukan dengan melakukan eksperimen yang terdiri atas (1) Isolasi jamur endofitik, tanaman obat tradisional Indonesia sebagai sampel untuk diisolasi mikroorganisme endofitik yang hidup di dalamnya. (2) seleksi jamur endofitik sebagai penghasil antimikroba, mikroorganisme endofitik tersebut diuji potensinya sebagai penghasil antimikroba/antibiotik, melalui uji aktivitas antimikroba.

Dari penelitian ini diperoleh 38 isolat kapang endofitik dari 10 tanaman obat sebagai kandidat penghasil senyawa antimikroba baru. 11 isolat menghambat *Candida albicans*, 1 isolat menghambat *Aspergillus niger*, 6 isolat menghambat *Staphylococcus aureus*, 19 isolat menghambat *Escherichia coli*, dan 5 isolat menghambat *Pseudomonas aeruginosa*. Isolat setelah dilakukan regenerasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah temulawak (umbi), kencur (rimpang) dan tapak liman (umbi) dan yang paling baik dari ketiga isolat ini adalah temulawak (umbi) karena yang lain terkontaminasi.

Kata kunci : jamur endofitik, aktivitas antibiotika.

## ABSTRACT

Microbe endofit is microbe which is a part or the whole cycling of its life in the tissue living "inang plants" Microbe endofit lives as internal in its tissue in the process of mutualistic symbiosis. "Inang" microbe endofit could be as a tree, grass, or herbs. The first research this year is conducted by having an experiment consisted of i. Endofitik mushroom isolation As a sample Indonesian traditional herbs to be isolated microorganism endofitik that is living inside it. 2. Endofitik mushroom selected as antimicrobe producer.

The endofitik microorganism was tested its potential as the producer antimicrobe / antibiotic through the antimicrobe activity test. From this observation, it is found out there are 38 isolate endofitik of curing plants as the candidate of new antimicrobe compound. 11 isolate inhibits the *Candida albicans*, 1 isolate inhibits *Aspergillus niger*, 6 isolate inhibits *Staphylococcus aureus*, 19 isolate inhibits *Escherichia coli*, and 5 isolate inhibits *Pseudomonas aeruginosa*. From all the isolate after doing regeneration it is found 3 isolate are temulawak (umbi), kencur (rimpang) and tapak liman (umbi) and from this temulawak (umbi) is the best.

Key word : endophytic fungi, antibiotic activity.

## Pendahuluan

Penyakit infeksi adalah salah satu penyakit yang masih tinggi prevalensinya di dunia, termasuk Indonesia. Hal ini menyebabkan tingginya kebutuhan terapi dengan menggunakan antimikroba/antibiotika. Produksi senyawa antibiotika dapat dilakukan melalui sintesis kimiawi, kultur sel (tanaman atau mikroba), atau kombinasi sintesis kimiawi dan kultur sel. Pembuatan senyawa antibiotika dengan sintesis kimiawi memiliki

beberapa kekurangan, misalnya tahap reaksi terlalu panjang dan konsumsi energi cukup tinggi. Salah satu sumber antimikroba alami adalah mikroba itu sendiri. Beberapa jenis bakteri, jamur dan khamir dapat menghasilkan senyawa kimia yang aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Disamping itu alam Indonesia dengan hutan tropis hujannya memiliki keanekaragaman jenis tumbuhan tingkat tinggi. Hal ini memberikan keanekaragaman jenis mikroorganisme endofitik

dan keanekaragaman mikroorganisme tersebut memberikan peluang ditemukannya senyawa antibiotika baru. Dengan demikian, penelitian terhadap bahan aktif antimikroba, terutama yang berasal dari alam, penting untuk terus dikembangkan.

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah untuk mempelajari teknik ekstraksi bahan aktif antimikroba yang diproduksi oleh jamur endofitik. Sedangkan target khusus yang ingin dicapai meliputi teknik isolasi jamur endofitik, potensi jamur endofitik sebagai penghasil antimikroba, dan teknik optimasi kultur mikroorganisme endofitik.

Penelitian pada tahap ini dilakukan dengan melakukan eksperimen yang terdiri atas; (1) Isolasi jamur endofitik, (2) seleksi jamur endofitik sebagai penghasil antimikroba. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh isolat jamur endofitik sebagai kandidat penghasil senyawa antimikroba baru, serta teknik ekstraksi senyawa antimikroba tersebut.

#### **Bahan and Metode**

##### **Ruang Lingkup Penelitian Tahun I :**

##### **- Isolasi dan seleksi jamur endofitik**

Meliputi eksperimen (1) isolasi jamur endofitik, (2) kultur jamur endofitik, (3) Uji aktivitas terhadap mikroba patogen.

##### **- Isolasi seleksi Jamur Endofitik**

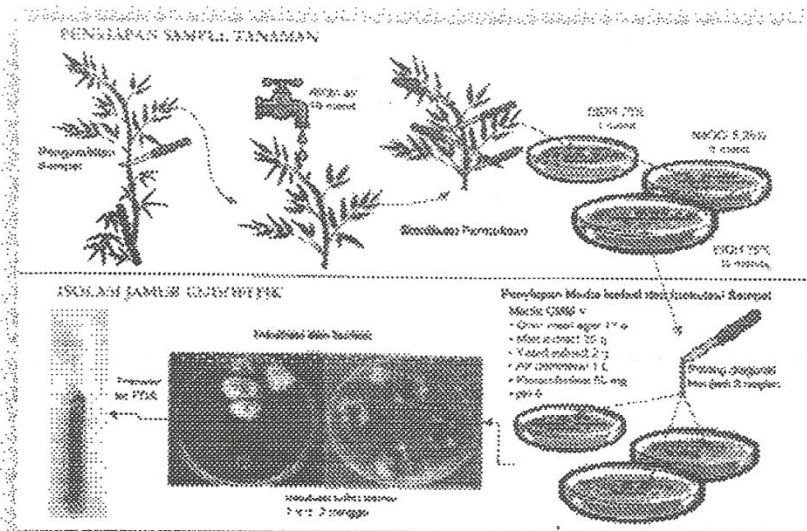
Isolasi jamur endofit dari beberapa tanaman obat dilakukan dalam beberapa langkah sebagai berikut;

**A. Koleksi dan penyiapan sampel tanaman :** Sampel tanaman dilakukan di Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. Pengambilan sampel tumbuhan obat keseluruhan bagiannya langsung dari tanah. Kemudian tumbuhan yang masih segar tersebut diidentifikasi dan diberi nomor  
**Tanaman obat :** jahe, daun sirih, daun dewa, temulawak, sambiloto, tapak liman, mahkota dewa, temu kunci, sadagori, kunyit, kencur.

**B. Sterilisasi permukaan :** Tanaman yang masih segar dicuci di bawah air mengalir masing-masing selama 10 menit dan setelah pencucian, bagian-bagian tanaman (daun, batang, akar, buah, rimpang) dipotong-potong masing-masing sepanjang  $\pm 1$  cm. Celupkan masing-masing bagian tersebut kedalam etanol 75% dengan waktu divariasikan selama 1, 3 dan 5 menit; NaOCl 5,25% selama 5 menit; etanol 75% selama 0,5 menit. Keringkan potongan tanaman di atas tissue steril, kemudian dipotong menjadi 2 bagian yang sama secara longitudinal. Setiap bagian dalam potongan ditempatkan masing-masing pada cawan petri yang berisi media CMM yang diberi suplemen kloramfenikol. Inkubasi pada suhu kamar selama 5 - 21 hari tergantung tingkat pertumbuhan mikroba.

**C. Pemurnian Jamur Endofit :** Jamur endofit yang tumbuh pada medium isolasi CMM dimurnikan pada cawan petri dan agar miring (*slant*) PDA dengan cara:

- 1) Jamur yang tumbuh pada medium isolasi CMM diambil dengan stik steril dan pindahkan ke cawan medium PDA dan diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu kamar. Tiap koloni jamur ditransfer duplo ke dalam masing-masing satu cawan PDA, satu untuk *working culture* dan satu lagi untuk *stock culture*.
- 2) Tiap-tiap koloni jamur yang tumbuh pada medium PDA *plate* dipindahkan ke agar miring PDA dan diinkubasi selama 3-5 hari sesuai pertumbuhan jamur. Setiap isolat jamur endofit dibuat duplo pada agar miring, masing-masing sebagai *stock culture* dan *working culture*.



Gambar 1. Tahap pekerjaan isolasi jamur endofitik dari tanaman obat.

**D. Prosedur Kultur Jamur Endofit (Nugroho, 1998)**

a. Medium kultur untuk jamur endofit adalah PDY (*Potato Dextrose Yeast Extract Broth*), cara pembuatan:

- a) Timbang 24 gram *Potato Dextrose Broth*, 2 gram *Yeast extract*, 5 gram  $\text{CaCO}_3$ , dan 1 liter aquades.
- b) Campurkan semua bahan kecuali  $\text{CaCO}_3$ , kocok dengan stirrer, ukur pH 6.
- c) Tambahkan  $\text{CaCO}_3$ .
- d) Pipet masing-masing 10 ml ke dalam tabung reaksi 50 ml.
- e) Sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121 C.

b. Koloni mumi jamur endofit pada medium miring PDA diambil kira-kira 1 x 1 cm dan dipindahkan ke dalam 10 ml medium PDY.

c. Inkubasi pada suhu kamar dengan *shaker incubator* 130 rpm selama 120 jam.

d. Setelah fermentasi selesai, masing-masing medium disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit.

e. Supernatan diambil dan disaring dengan filter 0,22 µm. Supernatan ini digunakan untuk *bioassay*. Larutan ini kemudian disebut larutan uji 1.

f. Biomassa yang tersisa diambil kemudian ditambahkan 1 ml metanol, gerus dengan Vortex.

g. Sentrifugasi selama 10 menit, 3000 rpm.

h. Supernatan (ekstrak metanol) diambil untuk *bioassay*. Larutan ini disebut larutan uji 2.

**E. Uji Aktivitas Terhadap Mikroba Patogen (Nugroho, 1998)**

Larutan uji 1 dan larutan uji 2 dipakai untuk menguji adanya aktivitas antimikroba, dengan cara:

- a) Celupkan dua *paper dish* dengan diameter 6 mm ke dalam masing-masing larutan uji, lalu keringkan di atas kertas saring steril.
- b) Letakkan secara aseptik masing-masing pada permukaan medium PGA dan PDA yang berisi jamur patogen dan medium NA yang berisi bakteri patogen.
- c) Inkubasi untuk bakteri selama 16-24 jam pada suhu 37,5°C, dan jamur selama 2-5 hari pada suhu 27°C.



d) Setelah diinkubasi, amati zona jemih yang terbentuk pada plate persegi dan ukur diameternya.

### Hasil dan Pembahasan

Isolasi jamur endofitik dari sepuluh jenis tanaman obat telah menghasilkan 38 isolat jamur endofitik. Terdapat beberapa isolat kapang endofit yang baik dalam penghambatan pertumbuhan mikroorganisme patogen uji (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Isolasi dan Aktivitas antijamur dan antibakteri yang dihasilkan oleh isolat-isolat jamur endofitik

No	Jenis Tanaman	Nama	Aktivitas Antijamur dan Antibakteri									
			C. albicans	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa	K. curvulus	A. niger	T. moniliiformis	T. versicolor	T. reesei	T. atrovirens
1	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
2	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
3	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
4	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
5	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
6	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
7	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
8	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
9	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
10	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
11	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
12	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
13	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
14	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
15	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
16	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
17	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
18	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
19	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	

No	Jenis Tanaman	Nama	Aktivitas Antijamur dan Antibakteri									
			C. albicans	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa	K. curvulus	A. niger	T. moniliiformis	T. versicolor	T. reesei	T. atrovirens
18	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
19	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
20	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
21	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
22	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
23	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
24	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
25	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
26	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
27	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
28	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
29	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
30	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	

No	Jenis Tanaman	Nama	Aktivitas Antijamur dan Antibakteri									
			C. albicans	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa	K. curvulus	A. niger	T. moniliiformis	T. versicolor	T. reesei	T. atrovirens
31	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
32	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
33	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
34	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
35	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
36	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
37	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
38	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	

Beberapa isolat menunjukkan aktivitas antimikroba yaitu; 11 isolat menghambat *Candida albicans*, 1 isolat menghambat *Aspergillus niger*, 6 isolat menghambat *Staphylococcus aureus*, 19 isolat menghambat *Escherichia coli*, dan 5 isolat menghambat *Pseudomonas aeruginosa*.

Isolat penghambat pertumbuhan *Candida albicans* :

- 1) Tl-U1 (diisolasi dari umbi temulawak)
- 2) Tln-U3 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 3) Tln-B1 (diisolasi dari batang tapak liman)

Isolat penghambat pertumbuhan *Aspergillus niger* :

- 1) Kc-R2 (diisolasi dari rimpang kencur).

Isolat penghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* :

- 1) Tln-U1 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 2) Tln-U2 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 3) Tln-B1 (diisolasi dari batang tapak liman)
- 4) Tln-B2 (diisolasi dari batang tapak liman)

Isolat penghambat pertumbuhan *Escherichia coli*

- 1) Kc-R2 (diisolasi dari rimpang kencur)
- 2) Sl-B1 (diisolasi dari batang sambiloto)
- 3) Sl-B2 (diisolasi dari batang sambiloto)
- 4) Sl-D1 (diisolasi dari daun sambiloto)
- 5) Tl-U1 (diisolasi dari umbi temulawak)
- 6) Tl-R1 (diisolasi dari rimpang temulawak)
- 7) Tl-R2 (diisolasi dari rimpang temulawak)
- 8) Tl-R3 (diisolasi dari rimpang temulawak)
- 9) Tk-B1 (diisolasi dari batang temukunci)
- 10) Tln-U1 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 11) Tln-U2 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 12) Tln-U3 (diisolasi dari umbi tapak liman)
- 13) Tln-B1 (diisolasi dari batang tapak liman)
- 14) Tln-B2 (diisolasi dari batang tapak liman)
- 15) Tp-B3 (diisolasi dari bonggol temuputih)

Isolat penghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* :

- 1) Tln-U1 (diisolasi dari umbi tapak liman)

Di antara isolat-isolat kapang endofit tersebut, terdapat 3 isolat yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen uji yaitu :

- 1) Tl-U1 (diisolasi dari umbi temulawak) : isolat penghambat khamir (*Candida albicans*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*).
- 2) Kc-R2 (diisolasi dari rimpang kencur) : Isolat penghambat kapang (*Aspergillus niger*).
- 3) Tln-U1 (diisolasi dari umbi tapak liman) : isolat penghambat bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*)

Ketiga isolat kapang endofit ini berpotensi sebagai penghasil kandidat senyawa antimikroba, baik anti jamur maupun anti bakteri. Semua hasil tersebut dapat dilihat pada tabel berikut :

## Kesimpulan

Hasil penelitian ini memberikan kesimpulan berikut ini :

1. Telah berhasil diisolasi 38 isolat kapang endofitik dari sepuluh jenis tanaman obat.
2. Beberapa isolat menunjukkan aktivitas antimikroba yaitu; 11 isolat menghambat *Candida albicans*, 1 isolat menghambat *Aspergillus niger*, 6 isolat menghambat *Staphylococcus aureus*, 19 isolat menghambat *Escherichia coli*, dan 5 isolat menghambat *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Isolat-isolat yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen uji yaitu :
  - 1) Tl-U1 (diisolasi dari umbi temulawak)
  - 2) Kc-R2 (diisolasi dari rimpang kencur)
  - 3) Tln-U1 (diisolasi dari umbi tapak liman)

Terhadap ketiga isolat kapang endofit berpotensi sebagai penghasil kandidat senyawa antimikroba ini, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian lanjutan sebaiknya ditujukan untuk optimalisasi kultur pertumbuhan kapang-kapang endofit tersebut dalam menghasilkan kandidat senyawa antimikroba.

## Daftar Pustaka

- Nugroho NB, Sukmadi. B. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotik. Diajukan pada Pertemuan Ilmuan Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 14-15 Desember 1998, Bandar Lampung: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 1998.
- Anonim, *Pemanfaatan Tanaman Obat*, ed III. Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1989.
- Aspergillus, [www.botany.utoronto.ca/08/01/2005/19.00 WIB](http://www.botany.utoronto.ca/08/01/2005/19.00 WIB).
- Bacillus subtilis, [www.micron.ac.uk/08/01/2005/19.00 WIB](http://www.micron.ac.uk/08/01/2005/19.00 WIB).
- Candida, [www.doctorfungus.org/20/12/2004/16.30 WIB](http://www.doctorfungus.org/20/12/2004/16.30 WIB).
- Carroll, George. Fungal Endophytes in Stems and Leaves: from Latent Pathogen to Mutualistic Symbion. *Ecology*, Vol. 69, No.1. 1988, 2-9.
- Domsch KH, Gams W. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London, 1980.
- Fischer PJ, Anson AE, Petrini O. Antibiotic Activity of Some Endophytic Fungi from Ericaceous Plants. *Bot. Helv*, 1984, vol 94, 249-253.
- Folk, A, Wesley, Margaret F. Wheeler. *Mikrobiologi Dasar*, ed V, jilid 1. Editor Soenarto Adisomarto Phd, Penerbit Erlangga, Jakarta, 1988, hal 357.
- Nugroho NB, Sukmadi. B. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotik. Diajukan pada Pertemuan Ilmuan Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 14-15 Desember 1998, Bandar Lampung: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 1998.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. Ecology, Metabolite Production, And Substrate Utilization In Endophytic Fungi. *Natural Toxin Vol 1*, 1992, 185-196.
- Rosana, Yeva. Isolasi dan Seleksi Mikroba Endofit Penghasil Anti Mikroba dari Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn). Tesis Program Pasca Sarjana Biomedik FKUI, 2001.
- Singelton, Paul, Diana. S. *Introduction to Bacteria, For Students in the Biological Sciences*. John Wiley & Sons, New York, 1981.
- Nugroho NB, Sukmadi. B. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotik. Diajukan pada Pertemuan Ilmuan Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 14-15 Desember 1998, Bandar Lampung: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 1998.
- Strobel GA, Long DM. Endophytic Microbes Embody Pharmaceutical Potential. *ASM News* 1998; 64; 263-268.
- Susilo J. *Parasitologi Kedokteran*. FKUI, Jakarta, 1990, 239-242.
- Suryanarayanan, T.S, G. Venkatesan, T.S Murali. Endophytic Fungal Communities in Leaves of Tropical Forest Trees: Diversity and Distribution Patterns. *Current Science*, 2003, Vol 85, No. 4, 289-291.
- Tjay, Tan Hoan, Kirana Rahardja. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. Elex Media Komputindo, Jakarta, 2002, 63-97.
- Tjätrosopomo, Gembong. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. UGM Press, Yogyakarta, 2000.
- Wahyudi, Priyo. *Mikroba Endofit Sebagai Penghasil Materi yang Bermanfaat*. Sub Direktorat Bioteknologi, Direktorat Pengkajian Ilmu Kehidupan, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu dasar dan Terapan, BPPT, Jakarta, 1997.
- Wahyudi, Priyo. *Skrining Mikroba Endofit Penghasil Enzim Pemecah Mannan, Xylan dan Inulin*. Sub Direktorat Bioteknologi, Direktorat Pengkajian Ilmu Kehidupan, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu dasar dan Terapan, BPPT, Jakarta, 1997.
- What are Salmonella, [www.ist.org/20/12/2004/16.40 WIB](http://www.ist.org/20/12/2004/16.40 WIB).