

Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XVII (SimNasKBA-2009)

*"Pemberdayaan Keanekaragaman Hayati Indonesia
Untuk Bioindustri"*

Program dan Abstrak

Gedung Pascasarjana, Universitas Diponegoro

Semarang, 27-28 Oktober 2009



Diselenggarakan oleh

Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia

bekerjasama dengan

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Diponegoro**



SimNaskBA - 2009
Semarang, 27-28 Oktober 2009

Daftar Isi

Sambutan Ketua Panitia Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XVII (*SimNaskBA-2009*)
Sambutan Ketua Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia
Sambutan dan Pembukaan *SimNaskBA-2009* oleh Rektor Universitas Diponegoro
Kepanitiaan
Jadwal *SimNaskBA-2009*
Distribusi Ruangan untuk presentasi oral
Distribusi untuk presentasi poster
Denah Lokasi Simposium
Denah tempat Simposium
Aturan untuk Presentasi
Abstrak kuliah tamu
Abstrak presentasi oral
Abstrak presentasi poster
Daftar Pemakalah
Indeks Penulis

Studi Pendahuluan Isolasi Senyawa Antibiotika Dari Mikroorganisme Endofitik
Preliminary Study of Isolation Antibiotic Compound from Microorganism Endophytic

Taty Rusliati R.¹⁾, Nuki Bambang Nugroho^{2)*}

¹⁾Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara
Jalan Let. Jen. S. Parman 1, Jakarta * email :tatyusliati@yahoo.co.id

²⁾Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Kawasan PUSPIPEK Gedung 630 Serpong
15314, Tangerang, Banten

Abstrak

Penelitian eksperimental ini menguji aktivitas antibiotik dan antibakteri terhadap 15 isolat jamur yang diambil dari beberapa tanaman yang ada di Kebon Raya Cibodas, Jawa Barat. Sebagai media isolasi dipakai media CMM. Inkubasi dilakukan pada temperatur kamar selama 3 minggu sampai tidak ada lagi jamur yang tumbuh. Jamur ini kemudian dipindahkan ke *potato dextrose* agar miring, Medium bibit dan medium kultur yang dipakai adalah medium PDY. Selanjutnya isolat jamur dibiakkan ke dalam medium bibit dan kultur. Kaldu kultur disentrifugasi untuk memisahkan biomassa dan supernatan. Biomassa diekstraksi dengan metanol. Ekstrak metanol dan supernatan diuji aktivitas antibiotika menggunakan metode *paper disc agar diffusion assay*. Uji antijamur dilakukan dengan *Candida albicans*, sedang uji antibakteri dengan *Bacillus subtilis*. Dua isolat jamur endofitik memiliki aktivitas antijamur intraseluler terhadap *C. albicans* dan dua isolat memiliki aktivitas antibakteri ekstraseluler dan intraseluler terhadap *B. subtilis*.
Kata kunci: jamur endofitik, aktivitas antibiotika, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*

Abstract

From this observation, fifteen fungi have been isolated from twigs of 9 plants. Plant samples collected from Cibodas Botanical Garden-West Java. All fungal was shaking cultured in potato dextrose yeast extract (PDY). Culture broth centrifuged for biomass and supernatant separation. Biomass was extracted with methanol. Both methanol extract and supernatant were tested for antibiotic activity using paper disc agar diffusion assay method. The screening used *Candida albicans* and *Bacillus subtilis*. Two endophytic fungi have intracellular antifungal activity against *C. albicans* and two fungi have both extracellular and intracellular antibacterial activity against *B. subtilis*.
Keyword: endophytic fungi, antibiotic activity, potato dextrose yeast extract, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*

Pendahuluan

Penyakit infeksi adalah salah satu penyakit yang masih tinggi prevalensinya di dunia, termasuk Indonesia. Hal ini menyebabkan tingginya kebutuhan terapi dengan menggunakan antimikroba. Namun, di negara-negara berkembang, salah satunya Indonesia, produksi antimikroba masih sangat bergantung pada pasokan bahan aktif dari luar negeri (Strobel, 1998). Ketergantungan ini menyebabkan tingginya biaya produksi obat-obatan

antimikroba yang kerap kali tidak diikuti oleh daya beli masyarakat. Selain itu, harus dipertimbangkan juga adanya resistensi mikroba patogen terhadap antimikroba tertentu, sehingga dibutuhkan bahan alternatif untuk mengatasinya. Dengan demikian, penelitian terhadap bahan aktif antimikroba, terutama yang berasal dari alam, penting untuk terus dikembangkan.

Salah satu sumber antimikroba alami adalah mikroba itu sendiri. Beberapa jenis bakteri, jamur dan khamir dapat menghasilkan senyawa kimia yang aktif dalam menghambat

suatu senyawa baru antibiotika antijamur yang spesifik.

Hutan hujan tropis yang daerahnya relatif tertutup (intensitas sinar matahari rendah) didapatkan koloni jamur dominan (Suwahyono et al., 1999). Habitat seperti ini tidak jauh berbeda dengan daerah pengambilan sampel di Kebun Raya Cibodas. Beberapa penelitian mikroorganisme endofitik yang telah dilakukan, dengan sampel tanaman dari Bukit Suharto-Kalimantan Timur dan Lembah Anai-Sumatra Barat, menunjukkan bahwa selain jamur dapat pula diisolasi bakteri tetapi isolat jamur tetap lebih dominan (Nugroho & Sukmadi, 1998; Nugroho & Sukmadi, 1999). Berdasarkan pengalaman tersebut maka pada penelitian ini menaruh titik berat pada isolasi jamur endofitik.

Kesimpulan

Penelitian tentang mikroorganisme endofitik telah dilakukan dengan mengambil sampel tanaman dari Kebun Raya Cibodas. Dari sebagian kecil jumlah tanaman yang diteliti diperoleh 15 isolat jamur, 3 isolat di antaranya menghasilkan aktivitas antibiotika. Satu dari ketiga isolat jamur tersebut (isolat FC 3-1) menunjukkan harapan sebagai penghasil senyawa antijamur baru. Untuk mengetahui lebih lanjut mengenai potensi isolat ini, masih memerlukan penelitian lebih lanjut pada aspek fermentasi dan kimiawi senyawa antijamur yang dihasilkan serta fisiologi mikroorganisme tersebut.

Pustaka

- Cheeptham, N. 1996. Studies on antifungal antibiotics from *Ellisiodothis inquilans* L1588-A8. MSc. Thesis. Faculty of Agriculture, Hokkaido University. Sapporo-Japan.
- Demain, A.L. 1981. Applied Microbiology A Personal View. Dalam Norris, J.R. & M.H. Richmond (ed.). Essay in Applied Microbiology. John Wiley & Sons. New York.
- Fisher, P.J., Anson, A.E., Petrini, O. 1984a. *Bot. Helv.* 94:249-253.
- Fisher, P.J., Anson, A.E., Petrini, O. 1984b. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83:145-148.
- Griffin, H.D. 1981. Fungal Physiology. John Wiley & Sons. New York.
- Nugroho, N.B. 2001. Pengkajian Antibiotika Antijamur dari Mikroorganisme Endofitik - Isolasi dan Seleksi Jamur Endofitik Penghasil Antibiotika Serta Kromatografi Kolom Antibiotika Antijamur yang Diproduksinya. Dalam: Prosiding Seminar Teknologi Untuk Negeri 2001, Jakarta 19-20 Maret 2001.
- Nugroho, N.B., Djamaan, N. & Fitria, H. 2002. Aktivitas Jamur Endofitik Sebagai Antijamur Patogen yang Dipengaruhi oleh Tepung Kedele dan Berbagai Jenis Pepton Sebagai Sumber Nitrogen. Disampaikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan 2002 Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Medan 1-2 Oktober 2002.
- Nugroho, N.B. & Sukmadi, B. 1998. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotika Jamur Endofit Tanaman Hutan Kalimantan Timur. Dalam: Prosiding Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Bandar Lampung 14-15 Desember 1998.
- Nugroho, N.B. & Sukmadi, B. 1999. Isolasi dan Seleksi Mikroba Endofit Tanaman Hutan Sumatera Barat sebagai Mikroorganisme Penghasil Senyawa Antijamur. 224-231. Dalam: *Peranan Mikrobiologi dalam Pengelolaan Sumberdaya Alam Berwawasan Lingkungan*. Jilid 1. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan 1999,

Tabel 2. *Aktivitas antijamur dan antibakteri yang dihasilkan oleh isolat-isolat jamur endofitik.

No.	Isolat Jamur Endofitik	<i>Candida albicans</i>		<i>Bacillus subtilis</i>	
		Supernatan (ekstraseluler)	Endapan (intraseluler)	Supernatan (ekstraseluler)	Endapan (intraseluler)
1	FC 1-1	-	-	-	-
2	FC 1-2	-	-	-	-
3	FC 1-3	-	-	12,0	12,0
4	FC 1-3	-	-	-	-
5	FC 1-4	-	-	-	-
6	FC 1-7	-	11,0	15,0	15,0
7	FC 3-1	-	16,0	-	-
8	FC 4-1	-	-	-	-
9	FC 4-2	-	-	-	-
10	FC 4-3	-	-	-	-
11	FC 5-1	-	-	-	-
12	FC 5-2	-	-	-	-
13	FC 8-2	-	-	-	-
14	FC 9-1	-	-	-	-
15	FC 9-2	-	-	-	-

* Aktivitas diukur sebagai diameter zona jernih (dalam mm).

Uji aktivitas antibiotika ditujukan untuk pemilahan potensi isolat jamur endofitik dalam menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat terutama antibiotika. Pemilahan isolat jamur endofitik yang menghasilkan antibiotika dilakukan dengan mengujikan isolat endofitik pada mikroba patogen yaitu *Candida albicans* dan *Bacillus subtilis*. Pengujian terhadap *Candida albicans* untuk melihat aktivitas antijamur, sedangkan *Bacillus subtilis* untuk melihat aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri perlu dilakukan, karena yang dicari adalah isolat yang menghasilkan aktivitas antijamur tetapi tidak menghasilkan aktivitas antibakteri. Hasil pengujian aktivitas antibiotika dapat dilihat pada Tabel 2.

antibakteri bukan sasaran pemilahan isolat ini. Sasaran pemilahan isolat adalah aktivitas antijamur seperti yang ditunjukkan oleh isolat FC 1-7 dan FC 3-1. Isolat FC 1-7 memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri. Aktivitas antijamur isolat FC 1-7 ini hanya intraseluler, sedangkan aktivitas antibakterinya intraseluler dan ekstraseluler. Adanya aktivitas antijamur dan antibakteri yang sama-sama intraseluler dapat menimbulkan kesulitan pada proses hilir terutama pemisahan dan pemurnian senyawa antijamur (Nugroho, 2001). Selain itu, adanya kedua aktivitas ini dapat ditimbulkan oleh satu senyawa yang sama dan biasanya senyawa ini merupakan antibiotika spektrum luas yang telah dikenal. Satu isolat lainnya, isolat FC 3-1, hanya

10 ml medium PDY. Kultur dilakukan dalam tabung-tabung 50 ml. Seluruh tabung dikocok 130 gojogan/menit pada 27°C selama 5 hari. Setelah inkubasi, kultur disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dari biomassa sebagai *sampel uji 1*. Endapan (biomassa) disuspensikan dalam 1 ml metanol lalu dikocok dengan vortex mixer selama 3 menit. Setelah itu suspensi disentrifugasi dengan laju putaran 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil sebagai *sampel uji 2*.

Uji aktivitas antiJamur. Mikroorganisme uji: *Candida albicans*. **Penyiapan medium uji:** PGA (*polypeptone* 0,2%, glukosa 0,5% dan agar 1%) sebanyak 25 ml digunakan sebagai medium uji dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi direndam dalam *waterbath* 48°C sampai suhu medium konstan (48°C). **Pengujian:** Suspensi spora *C. albicans* dicampur dengan 25 ml medium uji sehingga kerapatannya dalam medium uji 1×10^5 CFU/ml. Campuran dituang ke dalam cawan petri persegi panjang. Setelah medium menjadi padat, cakram-cakram kertas yang telah menyerap *sampel uji 1* dan *sampel uji 2* diletakkan di atasnya. Medium diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

Uji aktivitas antibakteri. Mikroorganisme uji: *Bacillus subtilis* ATCC 6633. **Penyiapan medium uji:** Nutrient Agar (*Nutrient broth* 1% dan agar 1%) sebanyak 25 ml digunakan sebagai medium uji dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi direndam dalam *waterbath* 48°C sampai suhu medium konstan (48°C). **Pengujian:** Suspensi spora *B. subtilis* ATCC 6633 dicampur dengan 25 ml medium uji sehingga kerapatannya dalam medium uji 1×10^6 CFU/ml. Campuran dituang ke dalam cawan petri persegi panjang. Setelah medium menjadi padat, cakram-cakram kertas yang telah menyerap *sampel uji 1* dan *sampel uji 2* diletakkan di atasnya. Medium diinkubasi pada suhu 38°C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

Hasil dan Pembahasan

Sembilan jenis tanaman dapat dikoleksi dari lokasi pengambilan sampel di Kebun Raya Cibodas. Dari sampel-sampel tanaman itu dapat diisolasi 15 isolat jamur endofitik (Tabel 1).

Tabel 1. Tanaman sumber mikroorganisme endofitik dan isolat jamur endofitik yang dapat diisolasi.

No.	Spesies	Famili	Isolat Jamur Endofitik
1	<i>Ostodes paniculata</i>	Euphorbiaceae	FC 1-1, FC 1-2, FC 1-3, FC 1-4, FC 1-5, FC 1-7
2	<i>Paraplongis oblongifolia</i>	Nemaceae	
3	<i>Cestrum aurantiacum</i> Lindl	Solanaceae	FC 3-1
4	<i>Antidesma tetrandum</i>	Euphorbiaceae	FC 4-1, FC 4-2, FC 4-3
5	<i>Macaranga rhizinoides</i>	Euphorbiaceae	FC 5-1, FC 5-2

- Phay, N., Yada, H., Higashiyama, T., Yokota, A., Ichihara, A., Tomita, F. 1996. *J. of Antibiotics*. **49**,7:703-705.
- Strobel, G.A., Long, D.M. 1998. *ASM News*. **64**,5:263-268.
- Suwahyono, U., Nugroho, N.B. & Sukmadi, B. 1999. Mikroorganisme Simbiosis Sebagai Penghasil Antibiotik - Keragaman Hayati di Lembah Anai Sumatra Barat. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, **1**,2:1-5.
- Turner, W.S. 1971. *Fungal Metabolites*. Academic Press. London.