

ISOLASI DAN UJI ANTAGONIS FUNGI ENDOFIT BATANG BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Syachriyani*) Norhasmiah **)

*) Universitas Pancasakti Makassar

***) Program Studi S1 Farmasi Universitas Pancasakti

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang Isolasi Dan Uji Antagonis Fungi Endofit Batang Bintahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan mengisolasi fungi endofit dari batang Bintahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) dan menentukan zona hambatan isolat fungi endofit terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Isolasi fungi endofit batang bintahong steril dilakukan pada medium PDA, diinkubasi selama 7 hari, tampak pertumbuhan fungi endofit lalu dilakukan proses pemurnian hingga di peroleh dua isolate NH1 dan NH2. Isolat lalu diidentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik. Isolat lalu di fermentasi pada medium PDB selama 7 hari sambil dishaker untuk memperoleh metabolit sekunder isolat. Selanjutnya dilakukan uji antagonis terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil uji antagonis menunjukkan isolate batang Bintahong mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan mempunyai aktivitas bakterisid.

Kata kunci : isolasi, fungi endofit, *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Pertambahan jumlah mikroorganisme yang resisten terhadap obat antibiotika, minimnya jumlah dan jenis senyawa obat antibiotika baru di pasaran telah mendorong para ahli kimia bahan alam untuk mencari sumber baru dan potensial senyawa obat antibiotika. Selain itu, penggunaan antibiotika sintetik dalam bidang kesehatan juga dilaporkan terjadi peningkatan daya resistensi strain mikroorganisme terhadap obat antibiotika (Bahi, 2013).

Organisme endofit merupakan sumber baru dan potensial untuk penemuan senyawa-senyawa metabolit sekunder baru dan berguna serta memiliki aktivitas biologis seperti immunomodulator, anti-inflamasi, dan hormon pertumbuhan (Bahi, 2013). Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit. Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar, namun bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Mikroorganisme ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel, akar, batang, daun dan buah (Desriani, 2014). Bintahong merupakan tanaman merambat, dengan panjang mencapai 5 meter, memiliki

rizoma, batang lunak berbentuk tabung, dan umumnya berwarna kemerahan. Di Indonesia tanaman bintahong telah digunakan untuk beberapa pengobatan seperti diabetes, kerusakan ginjal, stroke dan lain-lain. Sebuah studi menunjukkan, daun Bintahong memiliki khasiat sebagai hepatoprotektor dan antioksidan pada tikus putih induksi CCl₄. Selain daunnya, rizoma Bintahong juga memiliki kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol, serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Telah dilaporkan juga bahwa daun Bintahong memiliki beberapa aktivitas, yaitu antipiretik, analgesik, dan antiinflamasi (Desriani, 2014).

Rumusan Masalah

1. Apakah fungi endofit dari batang Bintahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dapat diisolasi ?
2. Bagaimanakah aktivitas isolat fungi endofit batang Bintahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?

Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi fungi endofit dari batang Bintahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).
2. Menentukan aktivitas isolat fungi endofit dari batang Bintahong (*Anredera cordifolia*

(Tenore) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah di bidang farmasi dan kesehatan mengenai isolat fungi endofit dari batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang berkhasiat untuk pengobatan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat – alat yang digunakan

Cawan petri, rak tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, mikropipet, beker glass, bunsen, glass object, jarum ose, mikroskop, autoklaf, oven, laminar air flow, microwave, timbangan, sprayer, jangka sorong, swab steril

Bahan – bahan yang digunakan

Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen), alkohol 70%, natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25%, aquadest steril. Potato Dextrose Agar, Nutrient Agar, dan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram negatif *Escherichia coli*, aquades steril, NaCl 0,9%, kloramfenikol konsentrasi 50 µg/L dan *paper disk*.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus sampai September 2018, di Science Building Universitas Hasanuddin

Populasi Bahan Uji

Sampel penelitian yang digunakan adalah tumbuhan Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang diperoleh dari Makassar Sulawesi Selatan.

Sampel

Sampel yang digunakan adalah bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.

Bahan Uji

Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).

Penyiapan alat

Alat tahan panas dan tidak berskala yang akan digunakan dicuci bersih, disterilkan dalam oven suhu 180°C selama 2 jam, untuk alat yang tidak tahan panas dan berskala disterilkan dalam *autoklaf* pada suhu 120°C selama 15

menit. Sedangkan untuk ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar dengan menggunakan api langsung sampai pijar.

Pembuatan Medium Potato Dextrose Agar (PDA)

PDA ditimbang sebanyak 7,8 gram dan kloramfenikol 0,01 gram. Kemudian PDA dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml. Larutan tersebut dipanaskan diatas hot plate dan diaduk hingga homogen dan larut. Setelah larut sempurna, mulut erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Medium yang telah steril kemudian dituang ke dalam cawan petri secara aseptis lalu ditambahkan kloramfenikol sambil dihomogenkan kemudian dibiarkan di suhu ruangan hingga memadat menjadi agar.

Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

NA ditimbang sebanyak 5 gram lalu ditambah aquadest sebanyak 250 ml. Larutan tersebut kemudian dipanaskan diatas hot plate dan diaduk hingga homogen dan larut. Setelah larut sempurna, mulut erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Medium yang telah steril kemudian dituang ke dalam cawan petri lalu dibiarkan di suhu ruangan hingga memadat.

Pembuatan Media Potato Dextrose Broth (PDB)

PDB ditimbang sebanyak 7,8 gram. PDB di masukkan ke dalam erlenmeyer lalu tambahkan aquadest sebanyak 200 ml. Larutan tersebut kemudian dipanaskan di atas hot plate dan diaduk hingga homogen dan larut. Setelah larut sempurna mulut erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Isolasi Fungi Endofit

Teknik isolasi fungi endofit ini dilakukan dengan metode tanam langsung. Proses pengerjaan isolasi dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LFA). Batang binahong dicuci dengan air mengalir terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan sampel dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam NaOCl 5,25% selama 3 menit dan direndam kembali dalam alkohol 70% selama beberapa detik. Jaringan batang dibuka dengan cara dilakukan pemotongan kulit batang binahong menggunakan pisau steril, kemudian dipotong dengan ukuran $\pm 1 \times 1$ cm. Masing-masing

potongan diletakkan pada permukaan medium PDA yang telah memadat dengan posisi bagian jaringan batang menempel pada medium. Diinkubasi pada inkubator hingga tampak koloni peretumbuhan fungi endofit.

Pemurnian Fungi Endofit

Pemurnian dilakukan untuk memisahkan koloni fungi endofit hingga diperoleh isolat murni fungi endofit. Koloni fungi yang tumbuh di keliling batang binahong dimurnikan berdasarkan morfologi makroskopik yang dapat diamati dari warna serta pertumbuhan koloni fungi. Fungi endofit diambil menggunakan ose, kemudian diinokulasikan dalam medium PDA. Diinkubasi selama 7 hari, jika pada saat pengamatan ditemukan pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopik maka dipisahkan kembali hingga diperoleh isolat murni.

Karakterisasi Isolat Fungi

Karakterisasi isolat fungi endofit dengan melakukan pengamatan ciri-ciri makroskopik dan mikroskopik. Karakterisasi secara makroskopik ini dilakukan dengan pengamatan isolat fungi endofit yang telah murni meliputi warna koloni, warna sebalik koloni, dan bentuk atas. Karakterisasi secara mikroskopik ini dilakukan pengamatan menggunakan preparat isolat fungi endofit melalui mikroskop. Caranya adalah *object glass* dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%, kemudian di atas *object glass* diletakkan potongan media PDA berukuran 1 × 1 cm yang berisi bagian hifa fungi endofit. Preparat tersebut kemudian ditempatkan pada cawan petri steril yang sebelumnya telah berisi alas kertas saring yang dilembabkan dengan gliserin. Selanjutnya diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25°C. Setelah inkubasi selesai, *object glass* dilepaskan, lalu ditetesi 1 tetes alkohol 70% dan 1 tetes *methylene blue*, kemudian diamati dengan mikroskop. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada atau tidaknya sekat pada hifa, pertumbuhan hifa, bentuk, dan warna konidia.

Penyiapan bakteri uji

Biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing diambil satu ose diinokulasikan pada media agar miring (Nutrien Agar) lalu diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Dari hasil peremajaan yang diperoleh, masing – masing

bakteri diambil satu ose lalu disuspensikan dalam 10 ml NaCl 0,9%.

Fermentasi

Fermentasi fungi endofit dilakukan dengan menggunakan media PDB, yang bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder dari isolat fungi endofit. Koloni murni dari fungi endofit pada cawan petri PDA yang telah diinkubasi selama 7 hari, kemudian dengan menggunakan *cork borer* diambil 3 potongan berukuran 1 × 1 cm. Potongan fungi tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam media fermentasi cair PDB sebanyak 200 ml dalam erlenmeyer berukuran 500 ml.

Fungi endofit kemudian difermentasikan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 130 rpm, dilakukan pada suhu 37°C selama 7 hari. Setelah itu, fermentasi fungi endofit kemudian disaring dan digunakan untuk uji aktivitas fungi endofit.

Uji Aktivitas Fungi Endofit

Medium NA steril disiapkan, kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan dingin dan memadat. Kultur murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah disuspensikan yang berumur 1 - 24 jam diinokulasikan pada permukaan medium NA dengan menggunakan swab steril hingga homogen. Kemudian paper disk yang telah direndam pada suspensi fungi endofit diletakkan pada permukaan medium NA. Setelah itu, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 - 2 x 24 jam. Lalu diamati dan diukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL PENGAMATAN

Telah dilakukan penelitian uji antagonis fungi endofit batang binahong yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Dari hasil penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan maka diperoleh hasil pengukuran zona hambat yang dapat dilihat pada table berikut ini :

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat batang binahong terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

ISOLAT	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)		
	WAKTU 1×24 JAM	WAKTU 2×24 JAM	RATA-RATA
NH1	8,4	8,5	8,45
NH2	10,2	11,35	10,78

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat isolat batang binahong terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*

ISOLAT	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)		
	WAKTU 1×24 JAM	WAKTU 2×24 JAM	RATA-RATA
NH1	13,45	16,05	14,75
NH2	14,15	17,2	15,68

Tabel 3 : Karakteristik makroskopik isolate fungi endofit batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)

Hasil Pengamatan Secara Makroskopik			
Gambar	Warna Koloni	Permukaan	Bentuk Koloni
 NH1	Orange	Seperti Kapas	Satu Kesatuan
 NH2	Putih	Seperti Kapas	Satu Kesatuan

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas isolat fungi endofit batang binahong terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Batang binahong yang telah dipotong secara vertikal dan horizontal dan di sterilkan dengan alkohol 70% dan larutan natrium hipoklorit selama 1 menit kemudian di tanam pada medium PDA yang telah ditambahkan kloramfenikol kemudian di inkubasi selama 7 hari. Tujuan di tambahkan kloramfenikol yaitu untuk mencegah kontaminasi bakteri pada medium. Setelah 7 hari diinkubasi tampak pertumbuhan fungi endofit dengan karakteristik jamur berwarna putih dan orange, permukaan seperti kapas dengan bentuk koloni satu kesatuan, fungi endofit yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan menginokulasi ulang ke PDA baru pada cawan petri lainnya. Dari tahapan pemurnian fungi endofit batang binahong di peroleh dua jenis isolat dengan karakteristik warna orange (isolate NH1) dengan permukaan seperti kapas dengan bentuk koloni satu kesatuan dan warna putih (isolate NH2) dengan permukaan seperti kapas dengan bentuk koloni satu kesatuan.

Setelah dilakukan pemurniaan di peroleh isolat yang murni, selanjutnya dilakukan yaitu uji mikroskopik yang dimana uji mikroskopik dilakukan untuk melihat bagian-bagian fungi endofit. Hasil uji mikroskopik dari isolate NH1 tampak hifa bersepta, konidiofore, konidia dan spora. Hasil uji mikroskopik dari isolate NH2 tampak hifa tak bersepta, konidiofore, konidia dan spora. Diduga jenis isolate fungi endofit dari isolate NH1 adalah *Fusarium* dan isolate NH2 adalah *Aspergillus*.

Isolat murni lalu difermentasi dengan cara di shaker selama 7 hari untuk mendapatkan metabolit sekunder dari isolat fungi endofit dengan menggunakan medium PDB, karena kandungan nutrisi yang terdapat didalam media PDB ini sesuai untuk pertumbuhan kapang.

Setelah diperoleh metabolit sekunder, lalu dilakukan uji antagonis dengan cara medium NA di tuangkan pada cawan petri kemudian di inokulasi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing hingga homogen lalu dimasukkan paper disk yang telah direndam dalam hasil fermentasi lalu amati selama 1-2x24 jam. Uji antagonis bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri isolat fungi endofit terhadap *Staphylococcus aureus* dan

Escherichia coli. Hasil uji Antagonis dari fungi endofit yang telah diperoleh di tandai dengan adanya zona hambat disekitar isolat.

Hasil uji antagonis terhadap *Staphylococcus aureus* dari isolate NH1 selama 1x24 jam dengan diameter zona hambatan yaitu 8,4 mm dan 2x24 jam yaitu 8,5 mm, dan isolate NH2 selama 1x24 jam dengan diameter zona hambatan yaitu 10,2 mm dan selama 2x24 jam yaitu 11,35 mm. Hasil uji antagonis terhadap *Escherichia coli* dari isolate NH1 selama 1x24 jam dengan diameter zona hambatan yaitu 13,45 mm dan selama 2x24 jam yaitu 16,05 mm, dan isolate B dengan diameter zona hambatan selama 1x24 jam yaitu 14,15 mm dan selama 2x24 jam yaitu 17,2 mm. Pengujian zona hambatan selama 2x24 jam dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder isolat.

Hasil pengujian menunjukkan zona hambatan tetap tampak bening pada 2x24 jam sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri isolat batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* bersifat bakterisid.

Isolat batang binahong dari NH1 dan NH2 yang memberikan zona hambatan yang lebih baik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah NH2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan yang telah di lakukan maka dapat di simpulkan bahwa :

1. Batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dapat diisolasi 2 isolat fungi endofit yaitu isolate NH1 warna orange dan isolate NH2 wana putih.
2. Isolat NH1 dan NH2 fungi endofit batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) memiliki aktivitas bakterisid yang memberikan zona hambat yang lebih besar terhadap *Escherichia coli* daripada *Staphylococcus aureus*.
3. Isolat NH2 yang memberikan zona hambatan yang lebih besar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* daripada isolat NH2.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi sampai tahap spesies fungi endofit dari isolate NH1 dan isolate NH2 pada batang binahong.

DAFTAR PUSTAKA

- Aspan, R. 2008. *Taksonomi Koleksi Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Bahi, Muhammad dan Anizar. 2013. *Senyawa Antibiotika dari Bakteri dan Jamur Endofit: Mini Review*. Lampung: Jurnal Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.
- Barnett, H. L. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Second Edition*. Virginia: Burgess Publishing Company
- Bergey's. 1994. *Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University.
- Desriani, dkk. 2014. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng Cina*. Bogor. Jurnal Kesehatan Andalas. Vol.3, No.2
- Djide, N. 2001. *Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Jurusan Farmasi. Universitas Hasanuddin Makassar Hal. 32-33
- Dwidjoseputro. D. 1994. *Dasar – dasar Mikrobiologi*, Cetakan Ke - II. Malang: Penerbit Djambatan
- Elshabrina. 2013. *Dahsyatnya Daun Obat Sepanjang Masa*. Yogyakarta: Cemerlang Publishing.
- Fajri, Nurlaila F. 2014. *Pengaruh Media Pertumbuhan Terhadap Potensi Antibakteri dan Antihiperlikemik Kapang Endofit Tumbuhan Pesisir Sarang Semut *Hydnophytum form icarum**. (Skripsi)
- Hanif, M. Shidiq. 2009. *Pola Resistensi Bakteri Dan Kultur Darah Terhadap Golongan Penisilin Dilaboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. (Skripsi).
- Hidayati, Nurul. 2010. *Isolasi Dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* Dan *Escherichia Coli**. Jurusan Biologi Fakultas SAINTEK (UIN) MALIKI Malang.
- Hariana, arief. 2013. *262 Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Suadaya.
- Irianto, K. 2008. *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme*, Jilid 1. Bandung: Y rama Widya.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg E.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika
- Manoi. 2009. *“Binahong Sebagai Obat”*. WARTA penelitian dan pengembangan tanaman industri. Volume 15. No. 1. Yogyakarta: pusat penelitian dan pengembangan perkebunan.
- Pakadang, SR. dan Tahir, Ahmad, 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Farmasi*, Polteknik Kesehatan Kemenkes Makassar.
- Pelczar, M dan Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Jakarta : Universitas Indonesia (UI-Press)
- Pelczar, M j., Chan, E.C.S., 2007. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-PRES).
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. EGC. Jakarta
- Rahayu Eka. 2012. *Antibiotika, Resistensi, Dan Rasionalitas Terapi*. Malang. *Journal Saintis*. Volume 1, Nomor 1
- Sarah Kidd, et al. 2016. *Description Of Medical Fungi Third Edition*. Australia: published by the authors
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta
- Suratman, dkk. *Dalam: Isnaini Wahyu Hidayati (2009) Uji Aktivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) Sebagai Penyembuh Luka Bakar Pada Kulit Punggung Kelinci*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Surakarta.
- Vilca V. 2015. *Isolasi Jamur Endofit Dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksi dan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis L.*)*. Jurnal Sains Dan Kesehatan. Vol.1 No.4.