

UJI EFEK ANTIBAKTERI JAMUR ENDOFIT AKAR TUMBUHAN

BAKAU (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP BAKTERI

Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus*

Tilesky C. Phoanda, Robert Bara, P. M. Wowor, Jimmy Posangi

Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado

Abstract: Endophytic fungi is a species of fungi which grows on plant tissue that are harmless for the host plant it self. Endophytic fungi can produce a substance potencial to be antibacteria. This research aimed to test the presence of antibacterial effect on an isolated root of mangrove plant *Bruguiera gymnorrhiza* to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The methods that are being used as test to antibacterial was sandwich method, done by putting mycelia of endophytic fungi in agar combination media that has been smear with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Obtained from research that has been made, it conducted two species of endophytic fungi that isolated from mangrove plant root *Bruguiera gymnorrhiza*. Both endophytic fungi has effect as antibacteria against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, but the second type of endophytic fungi has more effective and stronger antibacterial effect compare to endophytic fungi type I and positive control.

Keyword : antibacterial, endophytic fungi, mangrove *Bruguiera gymnorrhiza*.

Abstrak: Jamur endofit adalah jamur yang hidup di dalam jaringan tumbuhan dan tidak membahayakan tumbuhan tersebut. Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji ada tidaknya efek antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu metode *sandwich*, dilakukan dengan cara menempelkan miselia jamur endofit pada media agar kombinasi yang telah dioleskan bakteri uji. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh dua jenis jamur endofit yang diisolasi dari akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza*. Kedua jamur endofit memiliki efek sebagai antibakteri terhadap kedua bakteri uji akan tetapi jamur endofit tipe II memiliki efek antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan jamur endofit tipe I dan kontrol positif.

Kata kunci : antibakteri, jamur endofit, bakau *Bruguiera gymnorrhiza*

Resistensi antibiotika merupakan permasalahan penting di bidang kesehatan. Berbagai jenis kuman patogen berkembang menjadi resisten terhadap satu atau beberapa jenis antibiotika. Kuman yang resisten terhadap antibiotika, sangat menyulitkan para tenaga medis dalam proses pengobatan penyakit.¹ Misalnya

berkembang bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin atau yang disebut MRSA (*Methicillin resistant Staphylococcus aureus*).²

Beberapa tahun terakhir telah banyak penelitian mengenai manfaat mikroba yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan. Mikroba yang diteliti yaitu jamur endofit.

Jamur endofit merupakan salah satu mikroba endofit yang tinggal dan hidup di dalam jaringan tumbuhan.³ Berbagai senyawa aktif dapat dihasilkan jamur endofit seperti antibakteri, antikanker, antifungi, dan hormon pertumbuhan tanaman.^{4,5} Sebagai contoh yaitu senyawa taxol yang merupakan obat kanker, dihasilkan oleh tumbuhan *Taxus brevifolia*. Pada tahun 1993, senyawa taxol diisolasi dari jamur endofit *Taxomyces andreanae* yang tumbuh pada tumbuhan *Taxus pasifica*.⁶

Indonesia memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies merupakan tumbuhan berkhasiat obat yang dapat dijadikan sumber isolat jamur endofit.⁷ Salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang memiliki banyak manfaat misalnya tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza*. Di Indonesia, tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* digunakan sebagai obat diare dan malaria.⁸

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan di atas, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh isolat jamur endofit dari akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* Dan menguji aktivitas antibakteri dari isolat jamur endofit hasil isolasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, pada bulan September 2013 sampai dengan Januari 2014.

Prosedur Penelitian

Isolasi Jamur Endofit

Akar bakau yang telah diambil kemudian dipotong kira-kira 5 cm dan direndam dalam larutan etanol 70% selama 30 detik untuk menghindari kontaminasi silang bakteri epifit. Selanjutnya akar yang telah direndam menggunakan etanol 70% kemudian dipotong di tengah sekitar 1 cm menggunakan *scalpel*. Potongan tersebut selanjutnya ditanam pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) di dalam cawan petri. Kloramfenikol 0,2 g/L ditambahkan sebelumnya ke dalam media PDA tersebut untuk mencegah pertumbuhan bakteri endofit dan disterilisasi dengan otoklaf. Inokulasi sampel dilakukan di atas cawan petri dan tiap cawan berisi empat potongan sampel. Selama pekerjaan dilakukan di dalam *laminar air flow*, dan kemudian inkubasi selama 2-3 hari pada suhu 27-29°C (suhu ruang).

Pemurnian Jamur Endofit

Jamur yang sudah tumbuh diambil sebagian dari miselia jamur tersebut dari permukaan agar dengan cara ditusuk menggunakan kawat ose steril dan dipindahkan ke media PDA (*Potato Dextrose Agar*) untuk ditumbuhkan kembali. Hal ini dilakukan juga pada jamur berbeda yang tumbuh pada akar bakau tersebut. Pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan morfologi berbeda untuk dijadikan isolat tersendiri. Isolat selanjutnya disimpan pada suhu ruangan selama 1-2 X 24 jam. Apabila masih ditemukan pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopik maka harus dipisahkan kembali sampai diperoleh isolat murni.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

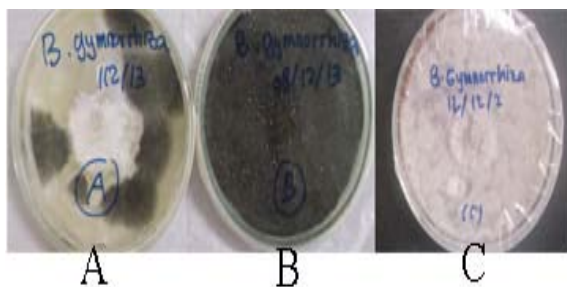
Jamur yang telah tumbuh pada media PDA kemudian dipotong berbentuk tabung dengan ukuran 0,5 cm dan diletakkan pada media kombinasi PDA dan NA (*Nutrient Agar*) yang telah ditanami oleh bakteri uji.

Penanaman jamur dilakukan masing-masing lima sampel jamur yang sama di lima tempat pada satu cawan petri dengan jarak yang sama. Sebagai kontrol positif diberikan larutan siprofloksasin 2000µg/ml pada kertas cakram dan diletakkan ditengah-tengah dari media, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar. Setelah 18-24 jam dilakukan pengukuran diameter zona hambat, yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, dengan menggunakan penggaris milimeter.

HASIL PENELITIAN

Isolat Jamur Endofit Akar Tumbuhan Bakau *Bruguiera gymnorrhiza*

Pembiakan jamur endofit yang berasal dari akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* menghasilkan dua jenis jamur secara makroskopik. Hasil pembiakan pertama tersebut kemudian dimurnikan sehingga mendapatkan dua jenis jamur yang murni secara makroskopik. Secara makroskopik jamur tipe I memiliki karakteristik yaitu miselia berwarna hitam sedangkan miselia jamur tipe II berwarna putih. Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pembiakan Jamur Endofit. (A). Jamur endofit pembiakan pertama. (B). Jamur endofit I murni (C). Jamur endofit II murni.

Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit

Pada penelitian ini dilakukan sebanyak lima sampel untuk kedua jenis bakteri uji.

Hasil pengujian efek antibakteri jamur endofit akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap penghambatan aktivitas tumbuh kedua jenis bakteri uji setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil pengujian efek antibakteri jamur endofit I dan II terhadap penghambatan aktivitas tumbuh *E.coli*

Sampel	Jamur Endofit		Kontrol (+) Siprofloksasin*
	Jamur I*	Jamur II*	
I	19	18	18
II	20	22	19
III	19	20	20
IV	21	20	19
V	19	21	19
Rata-rata	19.6	20.2	19

Tabel 2. Hasil pengujian efek antibakteri jamur endofit I dan II terhadap penghambatan aktivitas tumbuh *S. aureus*.

Sampel	Jamur Endofit		Kontrol (+) Siprofloksasin*
	Jamur I*	Jamur II*	
I	21	22	20
II	20	24	19
III	19	24	22
IV	21	23	20
V	19	21	19
Rata-rata	20	22.8	20

Keterangan:

*Angka dalam satuan millimeter

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengukuran pada 24 jam setelah di inkubasi menunjukkan bahwa jamur endofit dari akar tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri uji dengan terbentuknya zona terang disekitar jamur uji. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat tumbuh bakteri menunjukkan bahwa jamur endofit terutama jamur endofit tipe II memiliki aktivitas daya hambat yang lebih kuat dibandingkan kontrol positif. Hal ini

mungkin dapat terjadi karena disebabkan oleh beberapa hal, misalnya seperti konsentrasi jamur endofit yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi kontrol positif yang diberikan, pengolesan bakteri yang tidak merata dan mungkin karena senyawa aktif yang dihasilkan jamur endofit lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif.

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Han dkk,⁹ terdapat tiga senyawa bruguierol yaitu bruguierol A,B dan C yang diisolasi dari batang tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza*. Ketiga senyawa bruguierol tersebut dilakukan uji coba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil dari penelitian yang dilakukan Han dkk,⁹ menunjukkan bahwa hanya bruguierol C yang memiliki aktivitas terhadap bakteri. Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan merupakan senyawa yang dihasilkan oleh mikroba endofit tumbuhan tersebut sehingga kemungkinan kemampuan antibakteri jamur endofit tipe I dan II yang diisolasi dari akar tumbuhan bakau *Bruguiera gymnorrhiza* disebabkan karena adanya senyawa aktif Bruguierol C.

Hasil dari penelitian ini juga menunjukkan bahwa jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* memiliki efek antibakteri terhadap kedua jenis bakteri uji yang mewakili bakteri Gram positif (*S.aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E.coli*), maka dapat disimpulkan bahwa jamur endofit hasil isolasi memiliki daya antibakteri yang signifikan dan tampaknya bersifat *broad spectrum*.

Data ini dapat dijadikan sebagai acuan dalam mendapatkan senyawa antibiotik baru, akan tetapi tidak dapat langsung digunakan dalam pengobatan karena masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dan efek toksik yang dapat diujicobakan pada hewan coba serta pengujian kemampuan antibakteri

dari jamur endofit tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap bakteri jenis lainnya dan melakukan identifikasi jenis terhadap jamur endofit yang ditemukan. Pengujian terhadap bakteri lainnya diperlukan karena terdapat beberapa jenis bakteri yang resisten antibiotika misalnya *Mycobacterium tuberculosis* atau *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae* (CRE).¹⁰

Kemampuan dan senyawa aktif jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* dalam menghambat pertumbuhan bakteri belum diketahui sepenuhnya dengan jelas. Untuk itu, masih diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja efek antibakteri dan senyawa aktif dari jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* yang nantinya diharapkan dapat berguna bagi manusia.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* memiliki daya antibakteri terhadap kedua jenis bakteri uji, yaitu: *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

SARAN

Dari hasil penelitian perlu diajukan saran sebagai berikut: perlu dilakukan pengujian efek antibakteri menggunakan ekstrak dan terhadap bakteri jenis lainnya, serta melakukan pengujian efek samping, efek toksik, senyawa aktif dan identifikasi dari jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza*.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Utami, Eka Rahayu.** Antibiotika, resistensi dan rasionalitas terapi. *Saintis*.2012;1:124-5.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. 2013. Diakses dari: <http://www.cdc.gov/mrsa/>.
3. **Schulz B, Boyle C.** What are Endophytes. *Soil Biology*.2006;9:1.
4. **Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J.** Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod*. 2004;67:257-68.
5. **Waqasv M, Khan AL, Kamran M, Hamayun M, Kang SM, Kim YH, et al.** Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress. *Molecules*.2012;17:10754.
6. **Selim K, El-beih A, Abdel R, El-Diwany A.** Biology of endophytic fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*. 2012;2:35
7. **Dewoto, RH.** Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Maj Kedokt Indon*.2007;57:205-6.
8. **PROSEA Foundation.** Detil data *Bruguiera gymnorhiza* (Linn.) Lam. 2014. Diakses dari: <http://www.proseanet.org/florakita/browser.php?docsid=707>.
9. **Han L, Huang X, Sattler I, Moellmann U, Fu H, Lin W, et al.** New aromatic compounds from marine mangrove *Bruguiera gymnorhiza*. *Planta Med*. 2005;7:160-4.
10. **Centers for Disease Control and Prevention.** Healthcare-associated Infections (HAIs). 2013. Diakses dari: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/>.