

AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT BIJI LABU KUNING (*Cucurbita moschata* ex. Poir)

(*Antibacterial Activity of Isolates of Endophytic Cucurbita moschata ex. Poir*)

Siska Nuryanti^{1*}, Fitriana¹, Fitriah Anggraini Ohorella¹

¹Laboratorim Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email: siska.nuryanti@umi.ac.id

ABSTRACT

Article Info:

Received: 2023-10-24

Review: 2023-10-31

Accepted: 2023-12-07

Available Online: 2023-12-11

Keywords:

Agar diffusion; Antibacterial;
Cucurbita moschata ex. Poir;
Endophytic Fungi.

Corresponding Author:

Siska Nuryanti
Laboratorim Mikrobiologi Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Muslim Indonesia
Makassar
Indonesia
email: siska.nuryanti@umi.ac.id

Cucurbita moschata ex. Poir are one of the medicinal plants that have many benefits, including antidiabetic, antifungal, antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant effects. The content of compounds in yellow pumpkin seeds, such as phenols, alkaloids, and triterpenoids, This study aims to isolate endophytic fungi from yellow pumpkin seeds and test the antibacterial activity of isolates of yellow pumpkin bii endophytic fungi using the Agar diffusion method. The results of the isolation of yellow pumpkin seed endophytic fungi obtained 3 isolates, followed by macroscopic examination and fermentation of the 3 isolates with Maltose Yeast Broth (MYB) media and testing antibacterial activity by Agar diffusion method. Based on the results of the study, 3 isolates with the codes IJBL1, IJBL2, and IJBL3 were obtained that have antibacterial potential. The highest inhibitory zone was produced by IJBL3 endophytic fungi isolate with an inhibitory zone diameter of 12.39 mm against *Staphylococcus aureus* bacteria.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Published by:

Fakultas Farmasi
Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

jurnal.farmasi@umi.ac.id

ABSTRAK

Biji labu kuning (*Cucurbita moschata* ex. Poir) merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antidiabetes, antijamur, antibakteri, antiinflamasi dan efek antioksidan. Kandungan senyawa yang dimiliki oleh biji labu kuning seperti fenol, alkaloid dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi fungi endofit dari biji labu kuning dan menguji aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit biji labu kuning dengan menggunakan metode difusi Agar. Hasil isolasi fungi endofit biji labu diperoleh 3 isolat yang dilanjutkan dengan pemeriksaan makroskopik dan fermentasi dari ke 3 isolat dengan media *Maltosa Yeast Broth* (MYB). Dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar. Dari hasil yang diperoleh bahwa 3 isolat dengan kode IJBL1, IJBL2, dan IJBL3 yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Zona hambatan paling besar dihasilkan oleh isolate fungi endofit IJBL3 dengan diameter zona hambat 12,39 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: Antibakteri; *Cucurbita moschata* ex. Poir; Difusi Agar; Fungi endofit.

PENDAHULUAN

Mikroba endofit ini merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Mikroba endofit akan bersinergi dengan tanaman inangnya dan mampu menghasilkan senyawa khusus seperti metabolit sekunder untuk melindungi inangnya dari serangan hama atau mikroba lain yang sifatnya patogen¹. Mikroba endofit hidup di dalam interseluler tanaman, dalam jaringan seperti akar, batang, dan daun. Tetapi tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang². Senyawa yang dihasilkan oleh mikroba endofit seringkali memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas senyawa tumbuhan inangnya³. Berbagai tanaman obat telah dilaporkan sebagai inang dari beberapa jamur endofit yang memproduksi metabolit aktif⁴.

Indonesia, yang memiliki biodiversitas hayati tertinggi kedua di dunia setelah Brazil, memiliki prospek yang cerah sebagai sumber produk bahan alam yang berasal dari endofit. Hal ini disebabkan oleh variasi lahan yang luas, yang mencakup dataran rendah yang kering

hingga dataran tinggi dan pegunungan yang sejuk dan lembab, yang memberikan beragam jenis tumbuhan. Mikroba endofit sebagai sumber bahan berkhasiat dapat dikultivasi dalam waktu singkat untuk kemudian diekstraksi metabolit sekundernya, apabila hal ini diterapkan untuk tanaman kemungkinan besar memerlukan puluhan tahun untuk dapat dipanen dan kemudian baru diekstraksi⁵.

Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan sebagai sumber isolat jamur endofit adalah biji labu kuning (*Cucurbita moschata* ex. Poir) yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antidiabetes, antijamur, antibakteri, antiinflamasi dan efek antioksidan. Biji labu kuning mengandung senyawa fenol, alkaloid dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat berefek antioksidan dan antibakteri⁶.

Berdasarkan penelitian skrining fitokimia yang telah dilakukan oleh Rustina dan Sri Tasminatun (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji labu kuning mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, dan fenol hidrokinon dan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji *Cucurbita moschata* memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*⁷.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan pengujian untuk mengetahui apakah isolat biji labu kuning memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan beberapa bakteri uji.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu autoklaf (Smic® model YX-280 B), cawan petri (Pyrex®), gelas erlenmeyer (Pyrex®), Inkubator (Mettler®), batang pengaduk, cawan porselin, corong, gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur, pipet tetes, seperangkat alat refluks, rotavapor, lampu spiritus, pinset, oven (Fisher®). Bahan yang digunakan yaitu biji labu kuning, air suling, aluminium foil, disc blank (Oxoid), biakan murni (*Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 35128), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhi* (NCTC 786), *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mutans* dan *Vibrio cholerae*), etanol 70%, kertas timbang, kloramfenikol, larutan NaCl fisiologis, *Medium Nutrient Agar* (NA), *Maltosa Yeast Broth* (MYB), dan *Potato dekstrosa Agar* (PDA).

Prosedur Kerja

Isolasi Jamur Endofit Biji Labu Kuning

Sampel biji labu kuning dalam kondisi segar dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Lalu diambil biji labu kuning, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan. Sampel biji labu kuning direndam dengan etanol 70% selama 5 menit, dibilas menggunakan aquades steril selama ± 1 menit dan diletakkan pada permukaan medium PDA yang telah ditambahkan dengan kloramfenikol. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruangan⁸.

Pemurnian Fungi Endofit dan Pengujian Makroskopik

Isolat fungi endofit dimurnikan dengan metode *quadrant streak*. Isolat diambil dengan menggunakan kawat ose dan dipindahkan ke medium PDA baru untuk ditumbuhkan kembali dengan cara menggosokkan kawat ose pada jamur lalu ditusukkan di tengah-tengah medium baru. Kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25°C -30°C, lalu dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDA. Setiap isolat diambil satu ose, lalu diinokulasikan di atas medium *Potato Dekstosa Agar Cloramphenicol* (PDAC) dengan metode titik, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam. Hasil dari makroskopik tersebut diamati dengan melihat tepi, elevasi dan bentuk-bentuk koloni⁹.

Uji Antagonis Fungi Endofit

Identifikasi awal dari isolat fungi endofit sampel. Semua isolat fungi endofit yang telah dihasilkan dari isolasi yang telah ditumbuhkan pada medium PDAC diambil menggunakan sendok tandak besi steril yang telah di sterilkan dengan cara dipotong kecil-kecil ± 1 cm, kemudian potongan tersebut ditempatkan pada permukaan medium NA yang telah berisi dengan mikroba uji. Selanjutnya di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Masing-masing isolat tersebut kemudian diamati kemampuannya dalam menghambat mikroba uji yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram fungi¹⁰.

Fermentasi Isolat Aktif. Isolat aktif kemudian diambil dengan menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi medium MYB sebanyak 500 mL, selanjutnya dilakukan fermentasi menggunakan alat shaker dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruangan selama 21 hari¹⁰.

Pengujian Aktivitas Antibakteri. Medium NA diambil sebanyak 10 mL dan ditambahkan dengan satu ose suspensi bakteri, kemudian dimasukkan dalam cawan petri. *Disc blank* secara aseptik dibenamkan dalam hasil fermentasi kemudian diletakkan di atas permukaan medium yang memadat diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk⁹.

Analisis Data

Data hasil penelitian ini akan dianalisis berdasarkan hasil rerata diameter zona hambat yang terbentuk dari pengujian aktivitas antibakteri isolat fungi endofit biji labu kuning.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji labu kuning merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat. Biji labu kuning memiliki manfaat seperti antidiabetes, antijamur, antibakteri, antiinflamasi dan efek antioksidan. Kandungan senyawa yang dimiliki oleh biji labu kuning seperti fenol, alkaloid dan triterpenoid.

Penelitian diawali dengan mengisolasi fungi endofit dari biji labu kuning dengan cara menanam potongan biji labu kuning yang telah disterilkan permukaan dengan menggunakan etanol 70% dan dibilas dengan aquades. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang berada pada permukaan biji labu kuning, sehingga yang tumbuh adalah fungi yang berasal dari jaringan biji. Medium yang digunakan untuk mengisolasi fungi endofit penghasil antibakteri dalam biji labu kuning

tersebut adalah medium PDAC, penggunaan kloramfenikol bertujuan untuk mencegah pertumbuhan bakteri dalam medium. Medium PDA memiliki sumber karbohidrat dan dekstrosa sebagai sumber karbon untuk menunjang pertumbuhan fungi endofit.

Hasil isolasi fungi endofit biji labu kuning diperoleh 3 koloni fungi endofit yang memiliki bentuk dan warna yang berbeda. Koloni yang diperoleh kemudian dimurnikan dengan metode *Quadrant Streak* pada permukaan medium PDAC untuk memperoleh koloni fungi tunggal. Metode *Quadrant Streak* merupakan metode yang berpola empat goresan yang berbeda, dimana pada daerah pertama dilakukan goresan awal dan sehingga pada daerah ini masih banyak tumbuh sel mikroorganisme, goresan selanjutnya disilangkan dari goresan pertama sehingga goresan yang tumbuh semakin sedikit sehingga akan semakin terpisah-pisah menjadi koloni tunggal. Selanjutnya isolat tunggal atau isolat murni dibuat kultur dalam medium agar miring sebagai stok. Medium PDA diketahui memiliki sumber karbohidrat, dan dekstrosa sebagai sumber karbon untuk menunjang pertumbuhan fungi endofit¹¹. Sedangkan, fungsi dari penambahan kloramfenikol ialah untuk mencegah pertumbuhan bakteri di medium yang dapat mengkontaminasi sehingga nantinya yang tumbuh pada permukaan medium hanyalah fungi endofit yang berasal dari biji labu kuning.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopik isolat fungi biji labu kuning

Isolat	Bentuk koloni	Bentuk tepi	Bentuk elefasi	Warna
IJBL 1	<i>Rhizoid</i>	<i>Branching</i>	<i>Hilly</i>	Putih
IJBL 2	<i>Round with raised margin</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Umbonate</i>	Putih tulang
IJBL 3	<i>Filiform</i>	<i>Wavy</i>	<i>Crateriform</i>	Hitam

Keterangan: IJBL: Isolat Jamur Biji Labu

Hasil dari pemurnian Isolat yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan makroskopik sebagai pencirian fungi yang diperoleh dari hasil isolasi dimana pada pemeriksaan makroskopik ini meliputi bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elevasi dan warna koloni fungi endofit (Tabel 1). Setelah

memperoleh isolat yang murni. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian uji antagonis isolat fungi endofit biji labu kuning. Uji antagonis dilakukan untuk mengamati zona hambat yang terbentuk yang bertujuan untuk melihat kemampuan fungi endofit dalam menghambat bakteri uji.

Tabel 2. Hasil pengamatan diameter zona hambat uji antagonis isolat fungi endofit biji labu kuning.

No	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)							
		SA	EC	BS	PA	ST	SD	SM	VC
1	IJBL 1	19,54	20,91	18,60	16,22	17,29	20,49	18,80	17,63
2	IJBL 2	19,97	18,69	10,08	10,71	16,74	16,11	16,93	9,32
3	IJBL 3	17,35	9,1	20,96	8,63	14,16	16,83	18,94	11,01

Keterangan: (IJBL): Isolat Jamur Biji Labu; (SA): *Staphylococcus aureus*; (EC): *Escherichia coli*; (BS): *Bacillus subtilis*; (PA): *Pseudomonas aeruginosa*; (ST): *Salmonella typhi*; (SD): *Shigella dysenteriae*; (SM): *Streptococcus mutans*; (VC): *Vibrio cholera*.

Tabel 3. Hasil pengamatan diameter zona hambat pengujian aktivitas isolat fungi endofit biji labu kuning.

No	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)							
		SA	EC	BS	PA	ST	SD	SM	VC
1	IJBL 1	8,56	11,64	9,94	9,70	10,68	8,55	9,91	10,22
2	IJBL 2	12,30	7,95	8,18	9,63	8,66	10,08	8,12	8,24
3	IJBL 3	12,39	11,32	8,68	12,29	11,87	9,72	11,3	12,24

Keterangan: (IJBL): Isolat Jamur Biji Labu; (SA): *Staphylococcus aureus*; (EC): *Escherichia coli*; (BS): *Bacillus subtilis*; (PA): *Pseudomonas aeruginosa*; (ST): *Salmonella typhi*; (SD): *Shigella dysenteriae*; (SM): *Streptococcus mutans*; (VC): *Vibrio cholera*.

Fermentasi menggunakan medium MYB, kemudian di *sheaker* dengan kecepatan 200 rpm selama 14 x 24 jam agar selama fermentasi isolat fungi endofit biji labu akan mencapai fase stasioner dan menghasilkan metabolit sekunder. Media fermentasi yang digunakan adalah MYB, karena media ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak *yeast* sebagai protein, maltosa dan dekstrosa sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber asam amino, yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme. Dan untuk melihat potensi dari hasil metabolisme sekunder maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *disc blank*. Pada pengujian ini pengamatan dilakukan berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk disekitar *disc blank*. Timbulnya zona bening disekitar *disc blank* karena bakteri uji tersebut dihambat pertumbuhannya karena adanya aktivitas antibakteri dari isolat yang terdapat didalam *disc blank*. Zona hambat yang terbentuk diukur diameter vertikal dan diameter horizontal-nya menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan millimeter (mm) kemudian dihitung menggunakan rumus pengukuran zona daya hambat.

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri dari 3 isolat fungi endofit biji labu kuning menunjukkan bahwa ke-3 isolat fungi endofit biji labu kuning mampu memberikan aktivitas terhadap semua bakteri uji, yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk yaitu IJBL1, IJBL2, dan IJBL3. Pada isolat dengan kode IJBL1 zona hambat yang terbesar yaitu pada bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 11,64 mm, sedangkan pada isolat dengan kode IJBL2 zona hambat yang terbesar yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 12,30 mm, adapun isolat dengan kode IJBL3 zona hambat yang terbesar yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 12,39 mm (Tabel 3).

Berdasarkan hasil tersebut, spektrum daya hambat dapat diklasifikasikan. Daya hambat bakteri adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri berdasarkan kategori respon zona hambat menurut klasifikasi Davis and Stout (1971)¹², sehingga dapat diklasifikasikan isolat fungi endofit biji labu kuning yang memiliki zona hambatan paling besar yaitu IJBL3 dengan diameter zona hambat 12,39 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Dimana zona hambat dari isolat IJBL3 masuk dalam range kategori kuat yaitu 11-20 mm.

KESIMPULAN

Hasil dari isolasi fungi endofit biji labu kuning diperoleh 3 isolat dengan kode IJBL1, IJBL2 dan IJBL3 dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Adapun jenis-jenis bakteri yang dapat dihambat yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus mutans*

dan *Vibrio cholerae*. Dengan zona hambatan paling besar yaitu pada isolat dengan kode IJBL3 (12,39 mm) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Taechowisan T, Lu C, Shen Y, Lumayong S. 4-Arylcoumarin From Endophytic *Streptomyces Aureofaciens* CMUAc130 and Their Antifungal Activity. *Journal Annals of Microbiology*. 2005; 44:63–66
2. Ramos SAF et al. Endophytic Microorganisms from *Bauhinia monandra* Leaves: Isolation, Antimicrobial Activities and Interaction with Galactose-Specific Lectin BmoLL. *Afr J Microbiol Res*. 2016; 10(17):600–607
3. Strobel GA. Endophytes as Sources of Bioactive Products. *Microbes Infect*. 2003; 5(6):535–544
4. Alvin A, Miller KI, Neilan BA. Exploring the Potential of Endophytes from Medicinal Plants as Sources of Antimycobacterial Compounds. *Microbiol Res*. 2014; 169(7–8):483–495
5. Kuncoro H, Mulawarman U. Mini Review Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi, Dan Prospek Penggunaannya Sebagai Sumber Bahan Obat Baru. 2016; (January 2011):247–262
6. Latief A. *Obat Tradisional*. Jakarta: EGC. 2013
7. Tasmiatun S, Rustina. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch. Poir). 2016
8. Nuryanti S et al. Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Isolated from *Portulaca oleracea* L. *AIP Conf Proc*.; 2595(1). DOI: 10.1063/5.0124016/2890693
9. Mitra A, Herwin H, Nuryanti S. Isolation of Endophytic Fungi From Patchouli Leaves (*Pogostemon cablin* Benth) as Antibacterial Against Pathogenic Bacteria by Bioautography and Agar Diffusion. *Journal Microbiology Science*. 2023; 3(1):45–56
10. Nuryanti S, Rusli, Astuti R. Potensi Fungi Endofit Biji Pinang Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella*

- thypi. Green Medical Journal*. 2019; 1(1):87–96
11. Radji M. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2005; 2(3):113–126
12. Davis WW, Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. II. Novel Procedure Offering Improved Accuracy. *Appl Microbiol*. 1971; 22(4):666–670