

## PENELUSURAN FUNGI ENDOFIT SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBIOTIKA DARI DAUN NANAS (*Ananas comosus* (L) Meer)

Fitriana, St. Maryam, Tadjuddin Naid, Maryana

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar  
Email : fitriana.fitriana@umi.ac.id.

### ABSTRACT

*A search endophytic fungi from the leaves of pineapple (Ananas comosus (L) Merr) as a producer of antibiotic compounds will be carried out in order to obtain the endophytic fungi that have the ability to produce bioactive compounds useful as antibiotics.. Results of endophytic fungi isolates obtained six fungal isolates (IJA 1, IJA 2, IJA 3, IJA 4, IJA 5 and 6), which have a different macroscopic characterization of forms, edge and elevation colonies. Isolates pure microbial fermentation results in the test antibiotic activity against some bacteria using agar diffusion test. All isolates pure fermentation results showed inhibitory activity against all bacteria in test as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, and *Vibrio cholerae*. The inhibition of fungi isolates shown in (IJA 4) with a 26 mm zone of inhibition against *Escherichia coli* bacteria.*

**Keywords** : Isolates of endophytic fungi, pineapple leaves, Antibiotics.

### PENDAHULUAN

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang berasosiasi dengan jaringan tanaman sehat yang bersifat netral atau menguntungkan. Hampir setiap tanaman tingkat tinggi memiliki beberapa mikroorganisme endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder. Bahan aktif yang dihasilkan mikroorganisme endofit ini diperkirakan memiliki kemampuan yang sama dengan bahan aktif yang dihasilkan oleh tanaman induknya.

Jamur endofit, adalah jamur yang terdapat didalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting, ataupun akar tumbuhan. Jamur ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim, serta antibiotika (1).

Mikroba endofit berasosiasi dengan jaringan hidup pada tanaman. Dalam hal ini terjadi interaksi antara mikroba endofit dengan tanaman. Hubungan ini diperkirakan saling menguntungkan (*symbiosis*

*Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (Ananas comosus (L) Meer).*

*mutualisme*), tanaman memberikan nutrisi untuk mikroba, lalu mikroba mentransformasi dan menghasilkan senyawa bioaktif (2).

Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) berkhasiat antipiretik, antilmintik, pencahar, anti radang dan menormalkan siklus haid. Pucuk Nanas dimanfaatkan sebagai tanaman yang dapat menyembuhkan amandel, selain itu juga daunnya dapat digunakan sebagai obat kencing batu, pucuk daun nanas digunakan tiga kali dalam sehari diminum tiga kali berturut-turut (3).

Daun nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri di amati ketika melakukan penelitian menggunakan infus daun nanas terhadap *Ascarida gelli*.

Rahman dan Sri Hartati (2014), telah melaporkan bahwa infus daun nanas memiliki aktivitas antibakteri. Dalam hal ini dibuktikan oleh kemampuan infus daun nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (4).

Fungi endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa bioaktif, baik yang sama maupun tidak sama dengan inangnya tetapi seringkali memiliki aktivitas

biologis yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh inangnya. Hal ini menunjukkan senyawa bioaktif tidak hanya didapatkan pada kandungan tanaman obat saja (5). Strober (2003), bahkan menyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan oleh fungi endofit seringkali memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas senyawa tumbuh inangnya (6).

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian untuk menelusuri mikroba endofit khususnya fungi endofit penghasil antibiotika dari daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) dengan beberapa bakteri uji.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan yang digunakan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Air suling, Etanol 70%, *Antimicrobial susceptibility test discs* (Oxoid), daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr), Medium Nutrien Agar (NA), Medium Potato Dextrosa Agar Chloramfenikol (PDAC) (Difco), Medium Maltosa Yeast Broth (MYB) (Difco), Mikroba uji (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, dan *Staphylococcus epidermidis*).

### **Alat-alat yang digunakan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Autoklaf (Smic Model YX-280 B), Cawan petri, Enkas, Gelas erlenmeyer 250 ml (Iwaki Pyrex), Inkubator (Mermert), Laminar Air Flow, Neraca O'haus, Oven (Fisher), Shaker, dan Timbangan analitik.

### **Prosedur penelitian**

#### **Pengambilan dan Penyiapan Sampel**

Sampel daun Nanas (*Ananas comosus* (L) merr) berasal kota Tolitoli. Sampel dibersihkan terlebih dahulu permukaan daun dari tanah yang menempel dengan menggunakan air mengalir, kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendam daun kedalam larutan alkohol 70% selama 5 menit. Setelah itu, sampel dibilas dengan aquades steril beberapa kali.

#### **Isolasi dan pemurnian Fungi Endofit**

Potongan-potongan daun Nanas (*Ananas comosus* (L) merr), diletakkan secara aseptis diatas medium *Potato Dextrosa Agar Chloramfenicol* (PDAC) padat, lalu diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25<sup>0</sup>C atau suhu kamar. Terhadap koloni fungi yang tumbuh selanjutnya diisolasi dan dimurnikan dengan metode kuadran pada cawan petri

yang berisi medium *Potato Dextrosa Agar Chloramphenicol* (PDA), dan diinkubasi lagi selama 3-5 hari. Pemurnian dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh biakan yang murni atau koloni tunggal.

#### **Pemeriksaan Makroskopik**

Setiap isolat diambil satu ose, lalu diinokulasikan di atas medium PDAC dengan metode titik, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam. Hasil dari makroskopik tersebut diamati dengan melihat tepi, elevasi, dan bentuk-bentuk koloni.

#### **Fermentasi Isolat Fungi Endofit**

Isolat fungi endofit yang telah dimurnikan diinokulasi dalam 10 mL medium MYB. Diinkubasi, kemudian di shaker pada kecepatan 200 rpm selama 7 hari, sehingga diperoleh fermentat.

#### **Pengujian Aktivitas Antibiotika Secara Difusi Agar**

Metode pengujian aktivitas antibiotika metode difusi agar dengan menggunakan medium NA (Nutrien Agar). Medium NA diambil sebanyak 10 ml dan ditambahkan dengan 20 µL suspensi mikroba, lalu dimasukkan kedalam cawan petri. *Antimicrobial susceptibility test discs* dibenamkan kedalam hasil fermentat secara aseptik kemudian diambil dan diletakkan diatas medium yang telah

memadat. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam untuk

bakteri, lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk.

## HASIL PENELITIAN

### Pemurnian Isolat Fungi Endofit

**Tabel 1.** Hasil Pemurnian Isolat Jamur

No	Kode Jamur	Biakan Jamur
1	IJA 1	Isolat Jamur ke 1
2	IJA 2	Isolat Jamur ke 2
3	IJA 3	Isolat Jamur ke 3
4	IJA 4	Isolat Jamur ke 4
5	IJA 5	Isolat Jamur ke 5
6	IJA 6	Isolat Jamur ke 6

### Makroskopik

**Tabel 2.** Hasil Makroskopik Isolat Jamur

Kode Jamur	Tepi	Elevasi	Bentuk-bentuk koloni
IJA 1	Entire	Convex	Cirkular
IJA 2	Lobate	Umbonate	Filamentous
IJA 3	Undulate	Umbonate	L-Form
IJA 4	Undulate	Convex	Rhizoid
IJA 5	Undulate	Convex	Rhizoid
IJA 6	Entire	Umbonate	L-Form

#### Keterangan :

- Circular : Tepian teratur
- Convex : Berbentuk kubah
- Entire : Tepian rata
- Lobate : Tepian berlekuk
- L-Form : Bentuk yang samar
- Filamentous : Seperti benang tepian menyebar
- Undulate : Tepian bergelombang
- L-From : Bentuk yang samar
- Umbonate : bentuk yang cembung tengah lebih menonjol

**Uji Aktivitas Antibiotik dari Isolat Fungi Endofit Ambatan dari Isolat Jamur pada Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) merr).**

**Tabel 3.** Hasil uji aktifitas antibiotika pada Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) merr).

No	Bakteri	Diameter Zona Hambatan (mm)					
		IJA 1	IJA 2	IJA 3	IJA 4	IJA 5	IJA 6
1	BS	-	6	7	14	16	18
		-	7	7	13	16	18
		-	7	8	12	17	18
	R	-	6,7	7,3	13	16,3	18
2	PA	9	11	13	12	11	17
		9	11	13	11	12	15
		9	11	13	11	12	16
	R	9	11	13	11,3	11,3	16
3	SM	12	12	16	13	13	11
		12	13	16	14	13	13
		13	13	16	14	13	13
	R	13,3	12,6	16	13,7	13	12,3
4	SD	1	14	11	12	13	16
		9	14	11	13	13	18
		9	14	11	12	13	18
	R	6,3	14	11	12,3	13	17,3
5	VC	11	11	11	14	15	16
		12	1	15	14	15	16
		12	1	16	14	15	16
	R	8,3	4,3	14	14	15	16
6	EC	15	17	29	26	21	19
		15	18	19	26	21	18
		15	18	19	26	2	18
	R	15	17,7	22,3	26	14,7	18,3
7	ST	1	1	11	14	15	16
		12	1	12	15	16	17
		12	11	12	15	17	16
	R	8,3	4,3	11,7	14,7	16	16,3
8	SA	1	12	14	13	14	15
		11	13	14	14	13	17
		1	13	14	14	13	16
	R	4,3	12,7	14	13,7	13,3	16

**Keterangan :**

- |       |                                 |       |                               |
|-------|---------------------------------|-------|-------------------------------|
| R     | : Rata-Rata                     | IJA 1 | : Isolat Jamur 1              |
| IJA 2 | : Isolat Jamur 2                | IJA 3 | : Isolat Jamur 3              |
| IJA 4 | : Isolat Jamur 4                | IJA 5 | : Isolat Jamur 5              |
| IJA 6 | : Isolat Jamur 6                | BS    | : <i>Bacillus subtilis</i>    |
| PA    | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | SM    | : <i>Streptococcus mutans</i> |
| SD    | : <i>Shigella dysenteriae</i>   | VC    | : <i>Vibrio cholera</i>       |
| EC    | : <i>Escherichia coli</i>       | ST    | : <i>Salmonella thypi</i>     |
| SA    | : <i>Staphylococcus aureus</i>  |       |                               |

**PEMBAHASAN**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Nanas

(*Ananas comosus* (L) merr) sebagai salah satu sumber penghasil fungi endofit. Penelitian diawali dengan

*Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (Ananas comosus (L) Meer).*

mengisolasi fungi endofit pada daun Nanas dengan menggunakan difusi agar.

Daun nanas (*Ananas comosus* (L) merr) yang di ambil berasal dari tanaman yang sehat untuk menghindari adanya fitopatogen didalam jaringan tanaman. Permukaan duan dibersihkan terlebih dahulu dari tanah yang menempel dengan menggunakan air mengalir, kemudian dilakukan sterilisasi dengan merendam air kedalam alkohol dan dibilas menggunakan aquadest steri beberapa kali.

Setelah sampel disterilisasikan, dilakukan isolasi fungi endofit pada sampel dengan cara di tempelkan potongan Daun nanas (*Ananas comosus* (L) merr) ke dalam medium *Potato Dextrosa Agar Cloramphenicol* (PDAC) yang telah memadat, kemudian di inkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam. Koloni jamur yang menunjukkan zona hambatan, lalu digoreskan pada medium miring PDAC dan diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu kamar. Tujuan penggunaan kloramfenikol adalah untuk mencegah pertumbuhan bakteri pada medium. Selain itu, dalam penggunaanya harus masih segar karena kloramfenikol tidak tahan terhadap suhu tinggi dari

pemanasan maupun pensterilan dari medium.

Berdasarkan hasil isolasi, diperoleh enam isolat yang memiliki pencirian (bentuk, koloni dan warna) yang berbeda-beda. Selanjutnya, isolat Daun nanas (*Ananas comosus* (L) merr) dimurnikan dengan metode *Quadran streak*. Metode ini bertujuan untuk memperoleh isolat tunggal. Metode *quadran* berpola goresan yang berbeda, yaitu dibagi empat daerah. Daerah pertama, merupakan goresan awal sehingga masih banyak mengandung sel mikroorganisme. Goresan selanjutnya, dipotong atau disilangkan dari goresan sebelumnya sehingga jumlah koloninya semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal. Isolat murni yang diperoleh, dibuat kultur dalam medium agar dan digunakan sebagai stok.

Hasil yang diperoleh selanjutnya, di uji secara makroskopik meliputi bentuk, tepi dan elevasi koloni. Selanjutnya dilakukan proses fermentasi. Pada proses fermentasi, medium yang digunakan adalah Maltosa Yeast Broth (MYB), lalu di kocok dengan menggunakan Shaker kecepatan 200 rpm selama 7x24 jam. Tujuan dilakukan fermentasi selama 7x24 jam agar selama difermentasi,

Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr).

isolat fungi endofit pada Daun nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) akan mencapai fase stasioner dan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotika. Adapun alasan penggunaan MYB, karena medium ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, maltosa dan dekstrosa sebagai sumber karbon, dan pepton sebagai sumber asam amino yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, dan keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme.

Fermentat yang diperoleh, lalu di uji aktivitas antibiotikanya dengan metode difusi agar, menggunakan *antimicrobial susceptibility tes discs* terhadap beberapa bakteri uji, yaitu *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Metode ini dengan berdasarkan sifat-sifat patogeniknya yang diharapkan isolat fungi endofit Daun nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen tersebut.

Hasil dari uji aktivitas antibiotika ini merupakan aktivitas yang berbeda-beda dari setiap isolat. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat yang

terbentuk pada saat pengujian aktivitas antibiotika yang telah dilakukan.

Adapun hasil pengukuran zona hambat dari isolat jamur yang menunjukkan bahwa, Isolat jamur ke 1,2,3,4,6 (IJA1, IJA 2, IJA 3, IJA 4, dan IJA 6) berdasarkan diameter zona hambatnya sangat aktif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter masing-masing sebesar 15 mm, 17,7 mm, 22, 23 mm, 26 mm, 18 mm. Selanjutnya pada isolat jamur ke 5 mampu menghambat *Salmonella thypi*, dimana diameter zona hambat yang terbentuk adalah 16 mm. Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa, penghambatan terbesar ditunjukkan pada isolat jamur (IJA 4) dengan zona hambat sebesar 26 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*, dimana bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negative.

## **KESIMPULAN**

1. Daun nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) mengandung fungi endofit penghasil antibiotika dengan penghambatan terbesar pada bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat 26 mm.
2. Fungi endofit dari sampel Daun nanas (*Ananas comosus* (L) Merr), mampu menghambat bakteri *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*

*aeruginosa*, *Streptococcus mutans*,  
*Shigella dysenteriae*, *Vibrio*  
*cholera*, *Escherichia coli*,  
*Salmonella thypi* dan  
*Staphylococcus aureus*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Lingga R. Uji Nematisidal Jamur Endofit Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Terhadap Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne Sp.*). (Skripsi). Medan: Universitas Sumatera Utara, 2009.
2. Aisyah AMG. Skrinning Mikroba Endofit Penghasil Antimikroba dari Tanaman Temu Putih (*Curcuma zedoria* (Berg) Roscoe) Terhadap *E. Colli*, *Candida albicans*, dan *A. Niger* (Skripsi). Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Sains dan Teknologi Nasional *Tumbuhan Berguna Indonesia* (Edisi 1). Jakarta: Yayasan Sarana Wara Jaya, 2004.
3. Sugeng HS, B. Sinaga, B. Winarso, E. Handayani, I. Karim, Purwanto, Suparno, dan Triyanto. Pembibitan dan penanaman. Dalam S.A. Yomo, S. Benny, Zulfahmi, W. Putut, Suharyono, dan W. Bambang (Penyunting). Pedoman praktis budidaya nanas di PT Geat Giant Pineapple Terbangi Besar Lampung Tengah, 2008.
4. Rahman dan Srihartati. Uji aktivitas infus daun nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (tesis). Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo, 2014.
5. Prihatiningtias WM dan Sri W. Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit dari *Thievalia polygonoperda*, Isolat dari Tumbuhan Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). *Majalah Obat Tradisional* 2011;16.
6. Strobel GA. Endophytes as Sources of Bioactive Products. *Review of Microbiology* 2003;1.