

PENELUSURAN FUNGI ENDOFIT PADA DAUN KOPASANDA (*Chromolaena odorata* L.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PENYEBAB INFEKSI KULIT

Rusli, Rachmat Kosman, Pina Melinda

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

ABSTRACT

The investigation for endophytic fungi of siam weed leaves (*Chromolaena odorata* L.) was conducted to obtain endophytic fungi potentially produced bioactive compound which were useful as an antibacterial. The research aimed to obtain endophytic fungi isolate and determined the antibacterial activity against bacteria causing skin infection. The research was experimentally conducted including isolation of endophytic fungi, earthing, macroscopic examination, screening assay for antibacterial activity against bacteria, fermentation process for 21 days, and TLC separation and antibacterial testing by TLC-Bioautography against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. The isolation results obtained 7 isolate followed by fermentation process with IFDK 03 isolate. The fermentate isolate of endophytic fungi showed Rf values of 0,2 and 0,47 against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. In conclusion, Siam weed leaves had isolate endophytic fungi with the potency as an antibacterial.

Key words : Endophytic fungi, Siam weed leaves (*Chromolaena odorata* L.) Antibacterial, Skin infection bacteria.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan faktor penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian (*mortality*) di dunia. Penyakit infeksi merupakan faktor penyakit yang paling banyak di derita di Indonesia dan dunia. Selain virus, bakteri juga salah satu penyebab terjadinya infeksi.¹ Untuk menanggulangi penyakit infeksi digunakan antibiotik.

Antibiotik merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme. Antibiotik yang awalnya sensitif terhadap mikroorganisme bisa menjadi tidak sensitif disebut dengan resistensi antibiotik, dimana resistensi antibiotik ini disebabkan oleh beberapa faktor, seperti intensitas paparan pada suatu wilayah serta penggunaan antibiotik yang tidak rasional.² Dengan adanya resistensi antibiotik maka kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik

lain meningkat, termasuk antibiotik alami yang berasal dari tumbuhan.

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat dalam suatu sistem jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Berbagai senyawa fungsional dapat dihasilkan oleh fungi endofit. Senyawa yang dihasilkan oleh fungi endofit diantaranya kanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain-lain.³ Adanya senyawa aktif seperti antibakteri dan antifungi pada bidang kesehatan merupakan suatu informasi yang sangat penting untuk penanggulangan suatu penyakit yang disebabkan oleh fungi ataupun bakteri.³

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai fungi endofit adalah daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) atau disebut dengan nama sunda Krinyu, tumbuhan ini oleh

masyarakat wilayah Makassar digunakan sebagai obat luka.⁴

Menurut penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Yutika, M 2015), hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.)⁵ memiliki aktivitas daya hambat sebagai antibakteri. Selain itu menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Munte, N 2016), hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri.⁶

Berdasarkan uraian di atas, hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian tentang penelusuran fungi endofit pada daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri penyebab infeksi kulit.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, autoklaf (SMIC Model YX-280 B), cawan petri (Normax), enkas (EMR), inkubator (Memmert), lampu UV 254 nm dan 366 nm (Philips), Laminar Air Flow (Mascotte), lemari pendingin, oven (Memmert), pipa kapiler, shaker (maxQ), timbangan analitik (Chyo), dan vial. Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest steril, etanol 70%, etil asetat, lempeng KLT, kloramfenikol, NaCl 0,9%, medium Nutrien Agar (NA), medium Potato Dextrosa Agar (PDA), medium Maltosa Yeast Broth (MYB), bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dan sampel daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.)

Prosedur penelitian

Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah tumbuhan kopasanda (*Chromolaena odorata*

L.). Sampel yang digunakan adalah daun kopasanda diperoleh dari Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan.

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas disterilisasi dengan panas kering (udara kering) pada oven. Sterilisasi dilakukan pada temperatur 170° C selama ± 1 jam. Jarum ose disterilkan dalam nyala api bunsen sampai merah membara. Media yang digunakan disterilkan dengan sterilisasi basah (uap air panas bertekanan) yaitu dengan menggunakan otoklaf. Sterilisasi ini dilakukan selama 15 menit dengan suhu 121° C dan tekanan 2 atm.⁷

Pengolahan sampel

Isolasi Fungi Endofit

Sampel daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dalam kondisi segar dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Lalu diambil dan dipotong dengan ukuran 1x1 cm², kemudian dilakukan sterilisasi permukaan. Potongan sampel direndam dengan etanol 70%, dibilas menggunakan aquadest steril selama ± 1 menit dan diletakkan pada permukaan medium PDA. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruangan.⁸

Pemurnian fungi endofit

Pemurnian dilakukan dengan memindahkan koloni yang tumbuh ke cawan petri yang berisi PDA dengan menggunakan metode *quadrant steak*. Setelah diperoleh biakan murni, fungi endofit disimpan sebagai stok.⁸

Pemeriksaan makroskopik

Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya diinokulasikan pada medium PDA baru sebanyak satu ose, kemudian diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 3 hari. Setiap koloni yang tumbuh diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopik.

Pengamatan ciri-ciri makroskopik dengan cara melihat langsung bentuk dan warna koloni.⁹

Penyiapan bakteri uji

Peremajaan bakteri uji

Bakteri uji berupa *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* masing-masing diambil 1 ose lalu di inokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring kemudian diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C.³

Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% sampai diperoleh transmittan 25% menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan sebagai blanko digunakan larutan NaCl fisiologis 0,9%.³

Uji Skrining aktivitas antibakteri

Isolat fungi endofit diinokulasikan kedalam medium NA yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* Isolat tersebut ditempelkan diatas permukaan media. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C lalu diamati zona hambat yang terbentuk. Isolat yang memberikan aktivitas yang paling baik kemudian diproduksi dalam jumlah yang besar dan dilakukan pengujian aktivitas KLT-Bioautografi.⁹

Fermentasi biakan murni

Fungi endofit yang memberikan aktivitas terbesar sebagai isolat terpilih selanjutnya ditumbuhkan pada medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB), kemudian jamur yang tumbuh diambil dengan ose bulat lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB) untuk fermentasi. Fermentasi secara dinamis menggunakan shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 21 hari.¹⁰

Pengujian aktivitas antibakteri

Identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak kental fermentat fungi endofit diidentifikasi secara KLT dengan menggunakan campuran eluen yang sesuai. Kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya di bawah UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai Rfnya.¹¹

Pengujian secara KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi KLT dengan eluen yang terbaik dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara medium NA sebanyak 10 mL dituang kedalam cawan petri dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 20 µL lalu dihomogenkan, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium agar yang telah di inokulasikan dengan bakteri uji, kemudian dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati bercak yang memberikan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji.¹¹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) adalah tumbuhan yang berasal dari Sulawesi selatan dan banyak dipakai untuk pengobatan. Daun kopasanda mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.¹²

Penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan metode KLT-Bioautografi, dimana diketahui bahwa pengujian aktivitas antibakteri merupakan suatu metode yang digunakan untuk melihat potensi suatu senyawa yang dapat memberikan efek sebagai antibakteri bagi mikroorganisme. Sampel yang

digunakan pada penelitian ini yaitu fungi endofit daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.).

Langkah pertama dalam penelitian ini yaitu isolasi, dilakukan isolasi bertujuan untuk memperoleh kultur murni fungi menggunakan medium Potato Dekstrosa Agar (PDA) + Kloramfenikol. Penambahan kloramfenikol bertujuan agar yang tumbuh adalah isolat fungi bukan bakteri. Kloramfenikol juga merupakan antibiotik ber spektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif

dan Gram negatif.¹³ Isolat daun kopasanda (*Cromolaena odorata* L.) yang diperoleh dari hasil isolasi kemudian dilanjutkan ke uji pemurnian, pemurnian dilakukan bertujuan untuk memperoleh isolat fungi endofit yang tunggal.¹⁴ Pemeriksaan makroskopik bertujuan untuk mengetahui bentuk morfologi isolat. Dengan melihat bentuk koloni, elevasi, tepi dan warna pada isolat murni yang telah diperoleh dari hasil pemurnian.

Tabel 1. Hasil pengujian KLT-Bioautografi dari kromatogram fermentat isolat fungi endofit daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan menggunakan eluen N-heksan : Etil asetat (4:1).

Kode Isolat	Fermentat	Rf	Diameter zona bening (mm)	Warna Pada Penampak Bercak		Bakteri
				UV 254nm	UV 366nm	
IFDK 03	21 hari	0,2	18,3	Hijau	ungu	<i>B.subtilis</i>
		0,47	14,6	Hijau	ungu	
IFDK 03	21 hari	0,2	16,6	Hijau	ungu	<i>S.aureus</i>
		0,47	16,0	Hijau	ungu	

Uji skrining menggunakan 2 bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Uji skrining dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Hasil yang diperoleh menunjukkan isolat IFDK01 dan IFDK03 aktif sebagai antibakteri dilihat dari zona hambatan yang terbentuk terhadap bakteri uji. Menurut Fitriana dan Eka 2017, h. 34 yang dikutip dari (Greenwood 1995) dimana klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri jika diameter zona bening > 20 mm berarti kuat, 16-20 mm berarti sedang, 10-15 mm berarti lemah, dan < 10 mm = tidak ada.¹¹

Hasil uji skrining menunjukkan isolat IFDK03 menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Dari hasil yang pengamatan zona bening yang

terbentuk >20 mm. Sehingga dipilih isolat IFDK03 untuk dilanjutkan pada proses fermentasi. Tujuan dilakukan fermentasi adalah untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada isolat. Proses fermentasi dilakukan selama 21 hari untuk memperoleh metabolit sekunder.¹⁵

Kemudian hasil dari fermentasi disaring untuk memisahkan supernatan dan miselia. Supernatan kemudian ditambahkan etil asetat sebagai pelarut kemudian diuapkan. Hingga diperoleh ekstrak etil asetat dari supernatan. Pemilihan pelarut etil asetat untuk melarutkan adalah karena etil asetat bersifat semi polar yang dapat menarik senyawa polar dan non polar.¹⁶

Setelah diperoleh ekstrak etil asetat dari supernatan kemudian dilanjutkan pengujian KLT. Ekstrak etil asetat di total pada

lempeng KLT dan dielusi menggunakan eluen n-Heksan:etil asetat (4:1), kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati di sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil identifikasi KLT dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi untuk mengamati aktivitas antibakteri pada bakteri uji. Proses pengujian dilakukan dengan menggunakan metode bioautografi kontak, dimana senyawa yang telah ditotolkan pada lempeng KLT dipindahkan ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung.¹⁷

Hingga diperoleh data pada isolat IFDK 03 yang memiliki nilai Rf 0,2 dan 0,47 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Aktivitas yang diberikan berupa zona bening, dimana zona bening atau zona hambat merupakan parameter adanya aktivitas antibakteri. Hasil pengujian KLT-Bioautografi fermentat 21 hari bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan yang signifikan dari diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.¹⁸ Selain itu, juga didukung oleh pernyataan (Herlina et al. 2018 h. 4) yang dikutip dari (Jawetz & Adelberg, 2007) bahwa perbedaan kemampuan suatu ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif dan Gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim dan antibiotik.¹⁷

Stabilitas senyawa aktif yang terkandung dalam fermentat juga dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri. Menurut (Dhuha et al. 2015) faktor-faktor yang

mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yaitu suhu, cahaya, udara (terutama oksigen, karbondioksida dan uap air) serta kelembaban. Faktor-faktor lain juga yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa aktif, yaitu sifat air dan kondisi biotik serta keberadaan bahan kimia lain yang merupakan kontaminan atau dari pencampuran produk yang berbeda secara aktif dapat mempengaruhi stabilitas senyawa aktif.¹⁹ Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa isolat fungi endofit daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri uji.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan isolat fungi endofit daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri uji. Adapun profil bioautogram dari ekstrak fermentat isolat fungi daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) selama 21 hari menunjukkan nilai Rf yang sama. Fermentat isolat fungi endofit menunjukkan nilai Rf 0,2 dan 0,47 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Bacillus subtilis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Romas A, Rosyidah DU, Aziz MA. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara In Vitro. Prosiding University Research Colloquium. The 1st University Research Colloquium (URECOL) 2015:127-132.
2. Refdanita, Maksum R, Nurgani, Endang. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. Makara, Kesehatan.2004;8(2): 41-48.
3. Noverita, Fitria D, Sinaga E. Isolasi Dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun

Penelusuran Fungi Endofit Pada Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Kulit

- dan rimpang *Zingiber ottensii* Val. Jurnal Farmasi Indonesia.2009;4(4):171-176.
4. Fitrah M. Identifikasi ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* Linn) terhadap sel antiproliferasi tikus leukemia L1210. JF FIK UINAM. 2016;4(3):99-105.
 5. Yutika M, Rusli R, Ramadhan AM. Aktivitas antibakteri daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob.) terhadap bakteri gangren. Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 2015;2(1):75-81.
 6. Munte N, Sartini, Lubis R. 2016. Skrining fitokimia dan antimikroba ekstrak daun kirinyah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. BioLink. 2016;2(2): 132-140.
 7. Kasi YA. Posangi J, Wowor PM, Bara R. Uji efek antibakteri jamur endofit daun mangrove *Avicennia marina* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. Jurnal e-Biomedik (eBm). 2015;3(1):112-117.
 8. Adriani. Aktivitas antibakterial fungi endofit *Caulerpa racemosa* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan. 2015;1(1):11-15.
 9. Pratiwi ST. *Mikrobiologi farmasi*. Jakarta: Erlangga Medical Series, 2008.
 10. Kumala S. *Mikroba endofit pemanfaatan mikroba endofit dalam bidang Farmasi*. Jakarta : ISFI, 2014.
 11. Fitriana, Nursithya E. Aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit dari akar mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume) secara klt bioautografi. As-Syifaa. 2017;9(1):27-36.
 12. Mulyani D. Perbandingan daya hambat ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan daun tekelan (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. SCIENTA. 2017;7(2):77-82.
 13. Kemenkes. *Pedoman umum penggunaan antibiotik*. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI, 2011.
 14. Darwis W, Franciska A. Pembuatan isolat jamur obat *Picnoporus sanguineus*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. 2013:457-466.
 15. Kursia S, Aksa R, Nolo MM. Potensi antibakteri isolat jamur endofit dari daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Pharmauho.2018;4(1):30-33.
 16. Tensiska, Marsetio, Yudiastuti SON. Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kasar isoflavon dari ampas tahu. TEKNOTAN. 2007;1(3):1-8.
 17. Herlina R, Yasir Y, Semsuli. Deteksi Antimikroba Secara KLT-Bioautografi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* Linn.). Makassar : Universitas Hasanuddin, 2018.
 18. Marselia S, Wibowo MA, Arreneuz S. Aktivitas antibakteri ekstrak daun soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) terhadap *Propionibacterium acnes*. JKK. 2015;4(4):72-82.
 19. Dhuha S, Bodhi W, Kojong N. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol lamun (*Syiringodium isoetifolium*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. PHARMACON.2016;5(1):231-237.