

IDENTIFICATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHYTE FUNGI MAHONI BARK (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04

Siska Nuryanti¹, Rosdah¹, Tadjuddin Naid¹, Vivi Hardiyanti¹

¹ Departement of Microbiology. Faculty of Pharmacy Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. Makassar, South Sulawesi 90231, Indonesia

*Corresponding author email: siska.nuryanti@umi.ac.id

ABSTRACT

Endophytes represent a complex community of microorganisms colonizing asymptotically internal tissues of higher plants. Several reports have shown that endophytes enhance the fitness of their host plants by direct production of bioactive secondary metabolites. This study investigated the antibacterial activity of endophytes fungi IFKBM04 isolated from Swietenia mahagoni L. and identified macroscopic and microscopic characteristics of endophytic fungi. Based on the results of macroscopic and microscopic identification compared with the literature to determine the general characteristics of the sample. The results of this morphological identification showed that the sample of mahogany bark isolate (Swietenia mahagoni L.) code IFKMB-04 had similarities with the genus Saccharomyces sp.

Key words: Antibacterial, endophytic fungi, Swietenia Mahagoni L

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (1). Meningkatnya kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotik pada umumnya, telah mendorong usaha menemukan antibiotik baru yang lebih efektif, paten, mudah diperoleh, memiliki efek samping ringan, dan tersedia secara kontinyu dalam jumlah yang cukup. Berbagai strategi digunakan oleh para peneliti untuk mencari antibiotika baru

melalui sintesis senyawa murni, studi metabolisme spesifik mikroorganisme patogen dan eksplorasi senyawa aktif dari bahan alam atau tanaman obat yang telah digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit infeksi(2).

Tanaman dianggap sebagai sumber yang mudah didapatkan dan hampir 80% populasi di dunia menggunakannya sebagai bahan obat dan biasanya dipilih dari penggunaan tradisional. Produksi senyawa berkhasiat asal tanaman membutuhkan bahan baku yang sangat banyak, sehingga dibatasi oleh ketersediaan tanaman. Keberhasilan produk alam secara komersial bergantung pada ketersediaan tanaman. Salah satu solusi dalam menangani masalah ini adalah

penemuan mikroba yang berada di dalam jaringan tanaman yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang memiliki karakteristik yang sama dengan tanaman inangnya, dikenal dengan mikroba fungi endofit(3).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional adalah tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* L.). Suatu tanaman dikatakan berkhasiat sebagai obat karena di dalamnya terkandung suatu zat yang efektif dalam pencegahan maupun pengobatan suatu penyakit. Seperempat dari obat modern beredar di dunia berasal dari bahan aktif yang diisolasi dan dikembangkan dari tanaman (1).

Pada penelitian dengan ekstrak pekat metanol pada sampel kulit batang mahoni dalam uji fitokimia metabolit sekunder menunjukkan adanya kandungan alkaloid, tanin, saponin, fenol, dan flavonoid, kandungan alkaloid dapat mengubah susunan rantai DNA pada inti sel bakteri. Saponin dan steroid serta terpenoid menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan membran sel bakteri (4).

Fungi endofit merupakan fungi yang hidup secara internal dan berasosiasi didalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada inangnya. Mikroba endofit ini adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis didalam jaringan tanaman (5).

Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dan mengidentifikasi

isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04. Identifikasi isolat fungi endofit dilakukan secara konvensional yaitu dengan mengamati karakterisasi morfologi secara mikroskopik dan makroskopik yang kemudian dibandingkan dengan literatur. Identifikasi dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopik meliputi warna koloni, bentuk koloni, tekstur, elevasi, tepi, dan permukaan koloni. Identifikasi secara mikroskopis dengan melihat ada bentuk pertunasan, bentuk sel, keberadaan hifa, askospora dan pseudohifa.

METODE

Alat - alat yang digunakan adalah Alat-alat gelas, autoklaf (SMIC Model YX-280 B), botol coklat, cawan petri (Normax), chamber, gelas erlenmeyer 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), gelas kimia 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), inkubator (Memmert), gelas ukur 100 mL, lampu spiritus, *laminar air flow* (LAF), lemari pendingin, mikropipet, mikroskop (Olympus), shaker, spoit, ose bulat, oven (Memmert), strirer, sentrifuge, tabung effendorf, timbangan analitik (Chyo), waterbach, vial. Bahan-bahan yang digunakan yaitu aquadest steril, medium Potato Dekstrosa Agar (PDA), kloroform, *natrium chloride* (NaCl), medium Nutrien Agar (NA), medium Potato Dekstrosa Agar (PDA), Maltosa Yeast Broth (MYB), kloramfenikol, bakteri uji *Basillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Salmonella thyposa, Shigella

dysenteriae, Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Vibrio cholerae dan sampel isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04 koleksi Lab. Mikrobiologi Farmasi UMI

Pemurnian Isolat Fungi Endofit Kulit Batang Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04

Pemurniaan isolat fungi endofit bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan mengamati perbedaan morfologi koloni. Pemurnian sampel dilakukan dengan cara mengambil miselium jamur yang tumbuh dengan menggunakan kawat ose steril, selanjutnya bagian dari jamur tersebut dipindahkan kembali ke media PDA steril

Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04

Identifikasi fungi indofit dilakukan secara makroskopik. Hasil pemurnian yang didapatkan selanjutnya dilakukan identifikasi secara makroskopiknya yang meliputi warna koloni, bentuk koloni, tekstur, elevasi, tepi, dan permukaan koloni khamir. Selanjutnya Identifikasi fungi indofit dilakukan secara mikroskopik Dibersihkan objek gelas dan kaca penutup dengan alcohol 70%, kemudian diteteskan beberapa tetes larutan *lactofenol* diatas permukaan objek gelas tersebut. Diambil sedikit koloni biakan dengan jarum inokulasi, diletakkan dalam tetesan

lactofenol dan diuraikan dengan jarum inokulasi dengan jarum inokulasi. Ditungkup dengan kaca penutup sedemikian rupa sehingga tidak terdapat gelembung udara dalam preparat. Dibersihkan lactofenol dengan kertas hisap. Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100-400 kali. Diidentifikasi secara mikroskopis yang meliputi bentuk pertunasan, bentuk sel, keberadaan hifa, askospora dan pseudohifa.

Fermentasi

isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04 diinokulasikan ke dalam medium MYB sebanyak 250 mL pada gelas erlenmeyer 250 mL, kemudian di shaker pada kecepatan 200 rpm selama 21 hari. Fermentat yang di peroleh dipisahkan supernatan, kemudian diekstraksi dengan ekstrak etil asetat

Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 1 ose suspensi mikroba uji dimasukkan ke dalam vial steril, lalu ditambahkan 10 mL medium NA dihomogenkan dan dituang ke dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat. Kemudian disc blank yang telah direndam pada fermentat isolat fungi endofit ditanamkan kedalam media yang telah berisi bakteri uji diinkubasikan selama 1x24 jam padasuhu 37°C Lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik Isolat Fungi Endofit Kulit

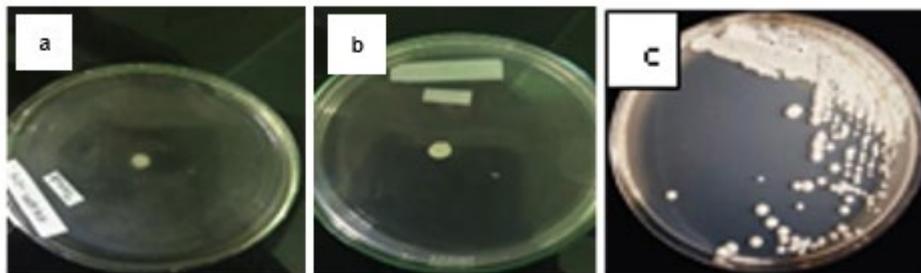
**Batang Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.)
IFKBM04**

Berdasarkan hasil uji makroskopik isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04 memiliki karakteristik yaitu dengan warna koloni putih tulang ke pink muda dengan bentuk koloni round, tepi koloni smooth dan permukaan

halus serta testur koloni lembab. Hasil dari mikroskopik dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1 a,b. Dilihat dari bentuk koloni fungi dapat diketahui jenis fungi ini adalah khamir karena memiliki ukuran koloni yang lebih kecil serta permukaan yang halus dan mengkilap dengan tekstur yang lembab

Tabel 1. Hasil uji makroskopik isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04

Pengamatan Makroskopik					
Warna	Bentuk	Tepi	Permukaan	Tekstur	Elevasi
Putih kekuningan	Round	Smooth	Halus	Lembab	Flat



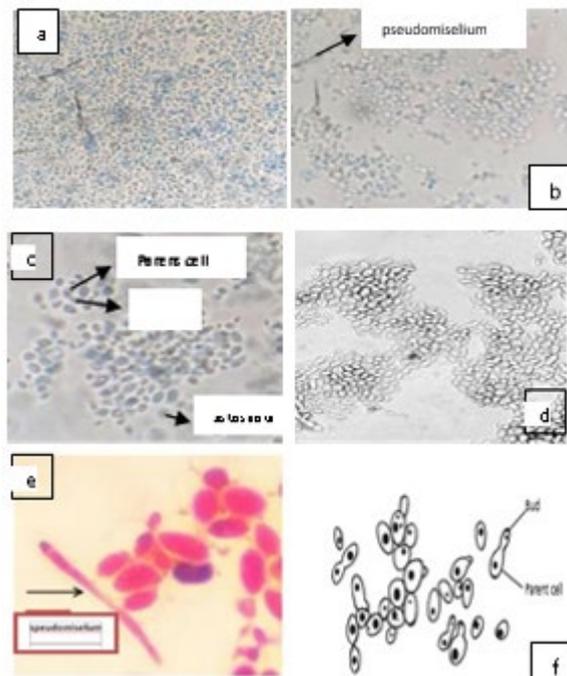
Gambar 1 Gambar makroskopik hasil pemurnian sampel isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L)

Ket : A : Tampak depan

B : Tampak belakang

C : Coloni *Saccharomyces* sp. (Welsch C, twelfth edition 2009)

Setelah dilakukan pemeriksaan identifikasi secara makroskopik kemudian dilakukan identifikasi secara mikroskopik yang diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40-1000 kali. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2 Pengamatan mikroskopik hasil pemurnian sampel isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) Ket : a. pembesaran 100x, b. pembesaran 400x, c. pembesaran 1000x, d. *Coloni Saccharomyces* sp. (Thomas h, 2018) e. pseudomycelium (Tuasikal, 2016), f. pertunasan (welsh C, 2019).

Dari hasil pengamatan mikroskopik ini yang telah dilakukan menunjukkan bahwa Isolat fungi endofit tidak memiliki hifa. Isolat fungi endofit memiliki reproduksi aseksual yaitu dengan pertunasan multilateral (dimana tunas muncul disekitar ujung sel) dengan bentuk sel oval. Pada sel isolat fungi endofit ini terdapat *pseudomycelium* (miselium palsu) yaitu fungi dari sel-sel oval yang memanjang sambung menyambung. Terdapat askospora pada sel fungi yang merupakan spora bersel satu yang terbentuk didalam kantung.

Identifikasi secara konvensional ini dengan mengamati karakter morfologi secara makroskopik dan mikroskopik yang dibandingkan dengan literatur untuk

mengetahui karakteristik sampel secara umum. Hasil identifikasi morfologi menunjukkan bahwa isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04 merupakan jenis khamir. Dan berdasarkan hasil uji mikroskopik menunjukkan bentuk koloni oval dengan pertunasan multilateral, tidak terdapat hifa dan memiliki pseudohifa yang sangat pendek dan terdapat satu aksospora. Berdasarkan literatur isolat fungi endofit kulit batang mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) IFKBM04 memiliki kecocokan dengan *Saccharomyces* sp (6,7); Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh sumerta dkk. 2017 salah satu khamir dari genus *Saccharomyces* sp yang dapat menghambat bakteri patogen adalah *Saccharomyces cerevisiae* (8).

Fermentasi

Fermentasi pada penelitian ini dilakukan selama 14 hari, karena selama 14 hari tersebut diperkirakan fase stasioner telah tercapai. Nisak (2013) melalui uji antibakteri dengan metode *disc diffusion* pada ekstrak etil asetat fungi endofit kode DJ2, melaporkan bahwa ekstrak dari waktu fermentasi selama 14 hari memberikan zona hambat bakteri dibandingkan dengan ekstrak dari waktu fermentasi selama 10 hari (9)

Uji Aktivitas Antibakteri

Fermentat hasil fermentasi dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer Test) terhadap bakteri *Eschericia coli*,

Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Streptococcus mutans, dan Pseudomonas

aeruginosa, Shigella dysenteriae, Salmonella typhi, Vibrio cholera (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri

Kode fungi	Diameter zona hambatas (mm)							
	BS	VC	PA	SA	SD	SM	ST	EC
IFKBM04	8,57	8,98	7,88	8,1	8,26	7,76	6,61	9,08

Aktivitas antibakteri yang terdapat dalam fungi endofit dapat diketahui dengan melihat daya antibakteri berdasarkan luas zona penghambatan dari fungi endofit tersebut terhadap pertumbuhan bakteri uji. Uji ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram yang berisi isolat yang diuji. Luas zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 2.

Metode ini adalah suatu metode untuk menguji daya antibakteri berdasarkan berdifusinya zat antimikroba dalam media padat dengan pengamatan pada daerah pertumbuhan. Biasanya metode ini digunakan untuk zat antimikroba yang larut dan tidak larut. Metode difusi berdasarkan pencadangnya terdiri atas metode difusi dengan sumuran, metode difusi dengan silinder/cakram dan metode dengan parit (10).

Disk Diffusion (Kirby-Bauer test) dilakukan dengan cara meletakkan piringan (*disk*) yang mengandung senyawa antimikroba pada permukaan media terinokulasi mikroba uji. Selama inkubasi,

senyawa antimikroba tersebut akan berdifusi ke dalam media agar. Kecepatan difusi melewati media agar tidak secepat kecepatan ekstraksi senyawa antimikroba dari *disk*. Oleh karena itu, konsentrasi senyawa antimikroba terbesar adalah yang paling dekat dengan *disk* dan berkurang secara logaritmik dengan bertambahnya jarak dari *disk* (11). Efektifitas senyawa antimikroba ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekeliling disk setelah inkubasi. Semakin luas zona hambatnya semakin sensitif senyawa tersebut (12).

Keefektifan aktivitas antibakteri dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang dilihat berdasarkan diameter zona hambatan terdiri dari 4 kelompok yaitu respon lemah (diameter 5 mm) sedang (diameter 5-10 mm), kuat (diameter 10-20 mm) dan sangat kuat (diameter 20 mm). Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit IFKBM04 termasuk dalam zona hambatan sedang.

1. Radji M. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC, 2011.
2. Katzung B. *Basic and Clinical Pharmacology*. Second edi. USA: Lange Medical Publications, 2021.
3. Hidayat M dan H. *Isolasi Dan Karakterisasi Molekuler Mikroba Tanaman Pegagan (Centella asiatica L.) Sebagai Penghasil Antimikroba*. Universitas Hasanuddin, 2018.
4. Masruri, Qodri dan U. *Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Dari Kulit Batang Mahoni (Swietenia mahagony Jacq.)*. Universitas Brawijaya, 2014.
5. Rolando. *Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit*. Malang: CV. Seribu Bintang, 2019.
6. Thomas H. Pengaruh Partikel Bahan Terlambat Dan Osmoprotektan On Gravitasi Yang Sangat Tinggi Etanol Fermentasi By Saccharomyces Cerevisiae. *Mikrobiol Terap dan Lingkungan*; 60.
7. Welsh C. *Microbiology A Laboratory Manual*. Twelfth. New York, 2019.
8. Sumerta & Kanti. *Rekayasa Bioproses Produksi Bioetanol Dari Ubi Kayu Dengan Teknik Ko-Kultur Ragi Tape Dan Saccharomyces Cerevisiae*. *Agrointek*; 7.
9. Nisak U. *Isolasi Fungi Penghasil Senyawa Antimikroba dari Tanaman Jinten (Coleus amboinicus Lour.) dan Karakterisasi Senyawa Aktifnya dengan Metode KLTBioautografi*. Universitas Gadjah Mada, 2013.
10. Denyer, S.P., Hodges, N., Gorman, S.P., dan Gilmore B. *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*. John Wiley & Sons.
11. Hudziki J. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. 2019.
12. Tortora, G., Funke, B. A, Case C. *Microbiology: An Introduction*. San Fransisco: Pearson Benjamin Cummings, 2010.