

Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Isolation and antibacterial activity test of endophytic fungi from Pluchea indica (L.) against Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027

Kadek Urip Astawa Yasa¹, Maksun Radji¹, Inherni Marti Abna¹

¹ Program Studi Farmasi Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

Kata kunci: Resistensi, Tanaman Beluntas, Kapang Endofit, Fermentasi, Zona hambat, Lemah, Sedang

Keyword: Resistance, Beluntas Plants, Endophytic Fungi, Fermentation, Inhibition Zone, Weak, Moderate.

Korespondensi:

Kadek Urip Astawa Yasa
Universitas Esa Unggul
kadekasta19@gmail.com

ABSTRAK

Resistensi antibiotik terhadap bakteri patogen telah berkembang dalam waktu singkat dan lebih cepat dari yang telah diperkirakan. Maka dari itu perlu ditemukannya alternatif antibiotik baru yang bersumber dari bahan alam seperti dari kapang endofit tanaman beluntas. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dari kapang endofit yang diisolasi dari tanaman beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil seleksi aktivitas antimikroba kapang endofit yang diisolasi dari bagian batang dan daun tanaman beluntas difermentasikan menggunakan shaking method pada media *Potato Dextrose Broth*. Hasil fermentasi diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode difusi sumuran. Dari 9 isolat kapang endofit yang diisolasi, diperoleh dua isolat yang memiliki aktivitas antibakteri yakni isolat D1bKu - Kd dan B3bOr - Kd. Hasil uji aktivitas antibakteri dari isolat D1bKu - Kd terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki zona hambat tertinggi sebesar 8,58 mm dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 memiliki zona hambat tertinggi sebesar 3,4 mm. Pada isolat B3bOr - Kd terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki zona hambat tertinggi sebesar 9,13 mm dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 memiliki zona hambat tertinggi sebesar 2,9 mm. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan isolat kapang isolat dengan kode D1bKu - Kd dan B3bOr - Kd yang memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat sedang terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan memiliki daya hambat lemah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

ABSTRACT

Antibiotic resistance to bacterial pathogens has developed in a short time and at a much faster rate than expected. Therefore, it is necessary to find new alternative antibiotics that are sourced from natural materials, such as the endophyte fungi of the beluntas plant. This study was conducted to test the antibacterial activity of endophyte fungi isolated from Beluntas plants against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The selection results for the antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from the stems and leaves of Beluntas plants were fermented using the shaking method on potato dextrose broth media. The fermentation results were tested for their antibacterial activity using the well-diffusion method. Two isolates with antibacterial activity were obtained from the nine isolated endophytic fungi isolates, namely D1bKu-Kd and B3bOr-Kd. Antibacterial activity test results of isolates D1bKu-Kd against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 had the highest inhibition zone of 8.58 mm, and against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 had the highest inhibition zone of 3.4 mm. B3bOr-Kd isolates against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 had the highest inhibition zone of 9.13 mm, and isolates against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 had the highest inhibition zone of 2.9 mm. Based on the results of antibacterial activity tests conducted by isolates of isolates with codes D1bKu - Kd and B3bOr - Kd which have antibacterial activity with moderate inhibition against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and have weak inhibition against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara berkembang yang banyak ditemukan berbagai kasus penyakit infeksi sehingga diperlukan antibiotik sebagai terapi pengobatannya. Namun sering kali banyak orang keliru dengan menganggap antibiotik sebagai obat dari segala penyakit (Saputra et al., 2021). Hal ini diperparah dengan penggunaan antibiotik yang tidak rasional penggunaannya sehingga meningkatkan resistensi bakteri terhadap suatu jenis antibiotik. Munculnya bakteri yang bersifat resisten terhadap satu atau beberapa jenis antibiotik dapat menimbulkan masalah yang serius bagi dunia pengobatan (Utami, 2012).

Untuk mengatasi resistensi antibiotik maka perlu dilakukan penelitian untuk menemukan sumber-sumber antibiotik baru. Sumber antibiotik baru antara lain kapang endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman

obat. Tanaman diketahui dapat dimanfaatkan dalam menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologis yang beragam yang dapat dikembangkan menjadi obat berbagai jenis penyakit. Namun masih terdapat tanaman yang belum dimanfaatkan secara optimal dalam pengembangan senyawa obat (Oztruk & Hakeem, 2018). Indonesia sebagai negara kepulauan terkenal akan hasil pertanian dan herbalnya dan telah dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari sebagai bahan pangan maupun sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit (Radji, 2005). Sampai tahun 2017 keanekaragaman tanaman dan jamur di Indonesia yang telah diidentifikasi adalah 31.750 jenis, yang terdiri dari 2.273 jenis jamur, 2.722 jenis lumut, 512 jenis lumut kerak, 1.611 jenis pteridofit, dan 24.632 jenis spermatofit (Retnowati et al., 2019).

Pluchea indica (L.) Less. atau tanaman beluntas merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan. Tanaman beluntas tergolong ke dalam famili Asteraceae yang merupakan tanaman yang tumbuh liar pada daerah kering atau sering dimanfaatkan sebagai tanaman pagar (Dalimartha, 1999). Tanaman ini termasuk ke dalam golongan tanaman perdu bercabang banyak, memiliki bentuk daun bulat telur sungsang, berseling, dan ujung daun agak lancip serta daun dan batang ditumbuhi oleh bulu - bulu halus (Pelu, 2017). Tanaman beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) memiliki banyak khasiat seperti mengontrol gula darah, membantu proses penyembuhan luka, sebagai obat anti demam, dan juga memiliki efek antibakteri (Jayadinata et al., 2018).

Dengan banyaknya manfaat kesehatan yang dimiliki oleh tanaman beluntas, sehingga tanaman ini sangat berpotensi untuk pengembangan obat baru. Namun karena proses budidaya tanaman yang relatif lama, serta masalah lingkungan yang timbul akibat pemanfaatan tanaman yang berlebihan, maka dipilihlah alternatif lain yaitu dengan memanfaatkan kapang endofit yang terdapat pada tanaman beluntas (Setiawan & Musdalipah, 2018). Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang selama siklus hidupnya berlangsung dalam jaringan inang tanpa mengakibatkan efek merugikan bagi inangnya, serta membantu tanaman inang dalam penyerapan nutrisi, dan melindungi tanaman inang dari hama (Maheshwari &

Annapurna, 2017). Selama proses hidupnya kapang endofit telah mengembangkan strategi untuk hidup, bertahan, berkembang, dan menyempurnakan hubungannya dengan tanaman inangnya (Pirttiila & Frank, 2018).

Kapang endofit dipilih sebagai alternatif karena kapang endofit memiliki aktivitas biologis yang hampir sama dengan tanaman inangnya. Alasan lainnya adalah karena kapang endofit dapat dibiakkan dalam waktu yang relatif singkat serta dapat menghasilkan metabolit yang lebih banyak pula, serta dapat mencegah terjadinya masalah lingkungan karena pemanfaatan tanaman beluntas yang berlebihan (Elviasari et al., 2015).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah vortex (Dragonlab), sentrifugasi (Boeco SC), mikroskop (Zeiss Primo Star), autoklaf (Tommy), laminar air flow (Labtech) , mikro pipet (Thermo Scientific) dan tip, inkubator (Santn), neraca analitik (Sartorius), microwave, bunsen, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, kapas, tisu, aluminium foil, tali, kain kasa, tabung reaksi, jarum ose, object glass dan cover glass, spatula, pembolong gabus alat gelas lainnya yang digunakan di laboratorium mikrobiologi.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun dan batang tanaman beluntas (*Pluchea indica*

(L.)Less.), akuades steril, natrium hipoklorit 5,3%, etanol 70%, metilen blue, media Potato Dextrose Agar (PDA), media Potato Dextros Broth (PDB), dan media Nutrient Agar (NA), baku pembanding antibiotik adalah Ciprofloxacin 20 µg, mikroba uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari biakan bakteri di Laboratorium Terpadu Universitas Esa Unggul, dan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 yang diperoleh dari BPOM.

Isolasi Kapang Endofit

Sampel daun dan batang tanaman beluntas dicuci dengan air mengalir kemudian diamkan hingga mengering. Selanjutnya sampel yang daun dan batang dipotong sesuai dengan ukuran yang diinginkan, selanjutnya sampel kemudian disterilisasi permukaan menggunakan etanol 70% dan NaOCl 5.25% secara bergantian dan kemudian dibilas menggunakan akuades steril. Selanjutnya air bilasan diinokulasikan ke dalam media PDA sebagai kontrol (Mahardhika et al., 2021). Potongan daun dan batang yang telah disterilkan diinokulasikan secara aseptik ke dalam cawan petri yang telah berisi media PDA dan inkubasi dengan suhu 28 °C sampai pertumbuhan kapang endofit terlihat. Pindahkan kultur murni ke media PDA dan inkubasi selama 14 hari pada suhu 28 °C (Radji, 2011)

Pemurnian Kapang Endofit

Pemurnian kapang endofit dilakukan untuk memisahkan koloni kapang yang memiliki ciri morfologi yang berbeda. Proses isolasi dilakukan secara bertahap dan diambil tiap – tiap koloni yang tampak yang kemudian diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media PDA dan inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Pemurnian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat murni dari tiap- tiap koloni kapang yang terbentuk (Devi et al., 2021).

Karakterisasi Isolat Kapang Endofit

Karakterisasi isolat murni kapang endofit dilakukan melalui pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati bentuk dan pertumbuhan koloni yang meliputi warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin), tekstur, lingkaran – lingkaran konsentris (konsentris atau tidak konsentris), warna sebalik koloni (*reverse color*), tetes eksudat, dan diameter pertumbuhan koloni kapang (Ilyas, 2007). Karakterisasi secara mikroskopis dilakukan dengan mengamati sekat pada hifa (bersekat atau tidak bersekat), pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak bercabang), bentuk dan ornamentasi spora (Setiawan & Musdalipah, 2018)

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Suspensi mikroba uji di dibuat dengan cara mengambil 1 ose bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml NaCl 0,9%

yang kemudian dihomogenkan lalu dibandingkan dengan standar McFarland 1,0 sehingga didapatkan pengenceran pertama. Sebanyak 1 ml suspensi diambil dan inokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl 0,9% sehingga didapatkan pengenceran ke 2 proses tersebut diulangi sampai didapatkan lima 5 pengenceran. Konsentrasi yang diperoleh melalui pengenceran bertingkat dimulai dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁵ (Radji et al., 2015).

Seleksi Kapang Endofit yang Berpotensi Sebagai Antibakteri

Seleksi kapang endofit yang memiliki potensi sebagai anti bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan potongan koloni kapang endofit ke dalam cawan petri yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Selanjutnya seluruh kultur diinkubasikan selama 5 hari pada suhu 37°C. Isolat kapang endofit yang memiliki potensi anti bakteri dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat disekitar isolat kapang endofit (Abna et al., 2021).

Produksi Metabolit Sekunder Kapang Endofit

Produksi metabolit sekunder dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat kapang endofit yang memiliki aktivitas menghambat bakteri tertinggi ke dalam media PDB steril. Inkubasi kultur kapang endofit dilakukan pada suhu ruang dan diberikan aerasi dengan bantuan shaker pada kecepatan 150 rpm.

Proses sampling dilakukan tiap 6 jam sekali yang kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Hasil sentrifugasi kemudian dipisahkan dari biomasnya lalu simpan di refrigerator untuk digunakan pada uji selanjutnya (Abna et al., 2021)

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 diambil sebanyak 1 ml dan diinokulasikan secara *pour plate* ke dalam cawan petri berbeda lalu masukan 15 ml media NA. Setelah media NA memadat selanjutnya dibuat lubang sumuran sebanyak sampel yang digunakan menggunakan pencadangan. Masing-masing lubang kemudian ditambahkan dengan dengan sampel uji sebanyak 50 µl lalu beri tanda (sampel; kontrol positif; kontrol negatif). Kemudian inkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam, zona hambat yang terbentuk selanjutnya diukur menggunakan jangka sorong (Ngajow et al., 2013; Rahayu et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses isolasi dimulai dengan melakukan sterilisasi sampel daun dan batang tanaman yang akan digunakan. Sterilisasi dilakukan untuk memastikan bahwa kapang yang tumbuh di sekitar sampel batang dan daun adalah benar kapang endofit dan bukan

akibat kontaminasi mikroba epifit yang ada di permukaan tanaman ((Daud et al., 2012; Maheshwari, 2017). Sterilisasi permukaan dilakukan dengan etanol 70% dan NaOCl 5.3%. Tujuan digunakannya etanol 70% adalah karena proses denaturasi protein dan melarutkan lemak pada membran protein mikroba. Selain penggunaan etanol juga dikombinasikan dengan penggunaan NaOCl dalam bentuk larutan dapat melepaskan radikal klor (Cl) yang mampu merusak membran dan protein mikroba (Pratiwi, 2008).

Media PDA merupakan media umum yang digunakan untuk menumbuhkan kapang endofit sebagai media isolasi, dan pemurnian kapang endofit. Media dipilih karena memiliki semua nutrisi yang dibutuhkan oleh kapang agar bisa tumbuh maksimal. PDA mengandung karbohidrat dari kentang dan dekstrosa yang diperlukan untuk pertumbuhan kapang (Agusta, 2009). Selain itu media PDA memiliki pH asam yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Zimbro et al., 2009)

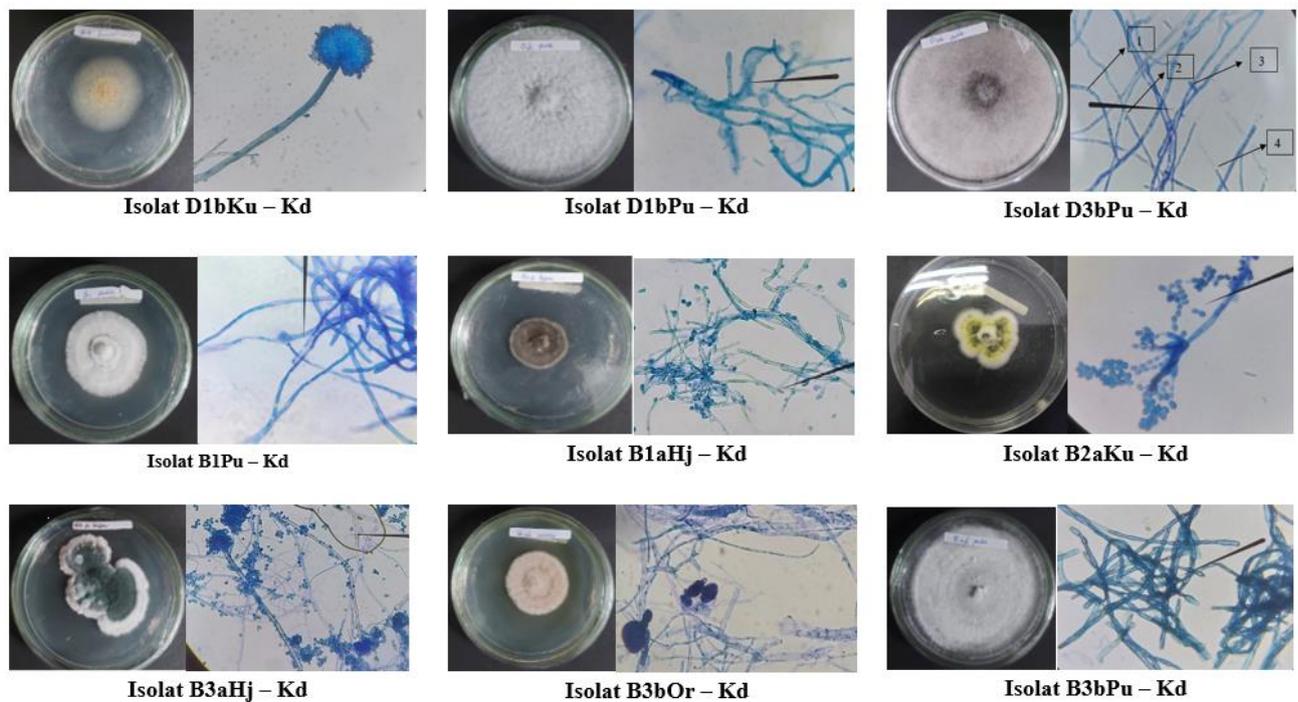
Kapang endofit yang telah tumbuh pada media PDA kemudian secara bertahap diinokulasikan ke media PDA baru untuk peremajaan sekaligus pemurnian kapang endofit yang didapatkan dari proses isolasi kapang endofit. Pemurnian bertujuan untuk memisahkan koloni kapang endofit hasil isolasi yang berbeda berdasarkan morfologi sehingga diperoleh isolat kapang murni pada tiap – tiap cawan petri (Huda & Salni, 2012). Pemurnian kapang endofit dilakukan berdasarkan morfologi kapang secara

makroskopis yang dapat diamati dari warna dan bentuk koloni yang tumbuh, jika terdapat koloni dengan morfologi yang berbeda maka koloni tersebut dianggap sebagai isolat yang berbeda dan untuk warna koloni yang sama dianggap sebagai satu isolat (Kumala, 2019).

Selanjutnya hasil isolat murni kapang endofit dikarakterisasi secara makroskopis maupun mikroskopis. Hasil karakterisasi makroskopis maupun mikroskopis ditemukan 9 isolat murni kapang endofit yang memiliki karakteristik yang berbeda dari segi warna, bentuk koloni, dan kecepatan pertumbuhan koloni, secara mikroskopis ditemukan perbedaan dari segi ada tidaknya sekat pada hifa, ada tidaknya cabang pada hifa serta ornamentasi hifanya. Adanya keragaman jenis kapang endofit sangat dipengaruhi oleh geografi, iklim, dan kesuburan tanah. Keragaman jenis jamur endofit lebih tinggi di daerah beriklim tropis dibandingkan dengan daerah beriklim sedang. Hal ini sebagian diakibatkan oleh keanekaragaman tanaman inang tapi juga karena iklim panas dan lembab memberikan kondisi pertumbuhan yang optimal pada berbagai jenis jamur. Selain peran kondisi geografis dan iklim kesuburan tanah juga merupakan faktor yang sangat penting, sifat kimiawi tanah seperti pH atau ketersediaan mineral dan unsur hara mampu mendukung tanaman inang dari kapang endofit (Sieber & Grünig, 2007). Selain dari faktor lingkungan jaringan tanaman yang digunakan juga mempengaruhi keragaman jenis isolat kapang endofit, Pada penelitian yang

dilakukan diperoleh 6 isolat dari batang dan 3 isolat dari daun. hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Utama & Suryanti (2018) tentang jumlah koloni kapang

endofit pada tanaman anggur Bali ditemukan isolat kapang endofit lebih banyak ditemukan pada bagian akar, kemudian bagian batang dan yang paling sedikit adalah bagian daun.



Gambar 1 Karakterisasi Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Murni Kapang Endofit

Seleksi kapang endofit ini dilakukan sebagai skrining awal untuk mengetahui isolat kapang yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Isolat kapang yang berpotensi sebagai antibakteri dapat dilanjutkan ke tahap fermentasi. Seleksi kapang endofit dilakukan menggunakan metode difusi agar yang dilakukan dengan meletakkan potongan kapang pada media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dan kemudian aktivitas antibakteri dapat dilihat dari zona hambat yang tampak di sekitar potongan kapang (Pratama et al., 2018).

Hasil seleksi kapang endofit yang tampak pada **Tabel 1** terlihat bahwa dari 9

isolat kapang endofit yang ada hanya ada 2 isolat yang mampu memberikan efek penghambatan pada mikroba uji. Kedua isolat itu adalah isolat D1bKu - Kd dan B3bOr - Kd yang masing – masing mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Penyebab hal ini adalah perbedaan senyawa bioaktif yang dihasilkan masing - masing kapang berbeda. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Siswandono (2017) bahwa senyawa bioaktif mempunyai spesifikasi dan efektivitasnya masing – masing.

Tabel 1 Seleksi Isolat Kapang Endofit Terhadap Bakteri Uji

No	Isolat Kapang Endofit	Diameter Zona Hambat	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
1	D1bKu - Kd	10 mm	15 mm
2	D1bPu - Kd	-	-
3	D3bPu - Kd	-	-
4	B1bKr - Kd	-	-
5	B1aHj - Kd	-	-
6	B2aHj - Kd	-	-
7	B3aHj - Kd	-	-
8	B3bOr - Kd	7 mm	5 mm
9	B3bPu - Kd	-	-

Fermentasi dilakukan untuk mendapatkan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit. Sebelum fermentasi dilakukan perlu dipastikan kemurnian dari isolat dan dilakukan secara aseptik guna menghindari kontaminasi yang dapat mengganggu proses fermentasi.. Fermentasi dilakukan selama 5 hari dikarenakan sudah terjadinya fase stasioner yang diakibatkan persediaan nutrisi yang ada dalam media fermentasi mulai berkurang serta terjadi akumulasi zat-zat metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan (Hilakore et al., 2013). Fermentasi berlangsung dalam kondisi bergoyang dengan kecepatan putaran 150 rpm pada suhu ruang. Penggunaan media *Potato Dextrose Broth* bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif yang lebih banyak dan lebih efektif dalam memproduksi biomassa. Hal ini dapat terjadi karena pengadukan yang dilakukan dapat mengoptimalkan kontak antara kapang dengan nutrisi karena seluruh bagian kapang berada di dalam media cair (Demain & Sanchez, 2011). Metabolit yang diproduksi kebanyakan akan dilepaskan ke

dalam media fermentasi, namun tidak menutup kemungkinan metabolit sekunder juga terdapat dalam sel kapang (biomassa) (Kumala, 2019).

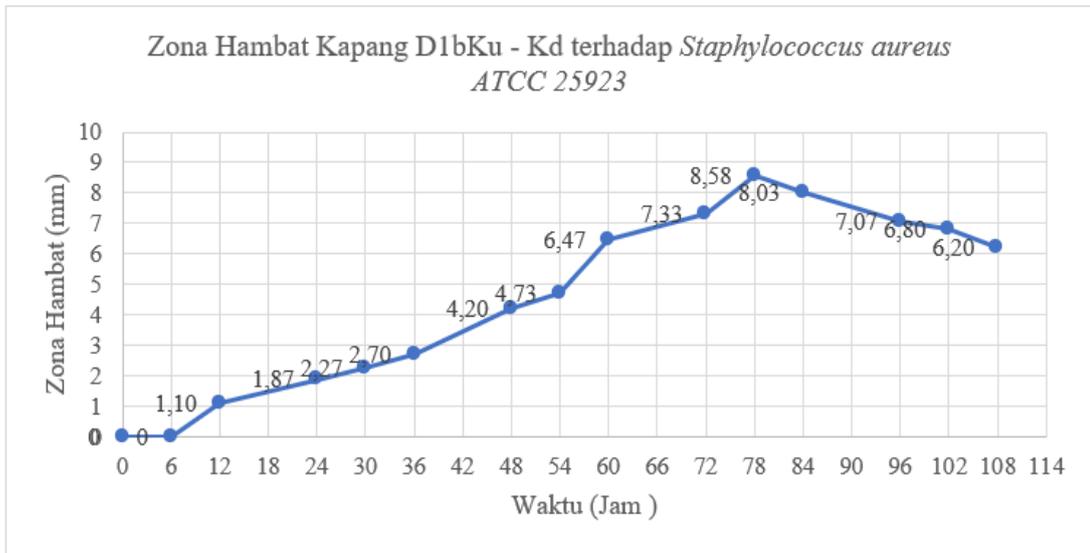
Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. *Staphylococcus aureus* dipilih sebagai bakteri yang mewakili kelompok bakteri gram positif, sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri gram negatif, yang mana kedua bakteri ini telah dinyatakan resisten terhadap sejumlah antibiotik (Radji et al., 2011). Pada pengujian kali ini menggunakan antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif karena ciprofloxacin merupakan antibiotik dengan spektrum luas (Wahyudi et al., 2019). Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan quinolone yang bekerja dengan cara menghentikan pertumbuhan bakteri atau bakteriosatik. Ciprofloxacin berperan dalam menghambat mekanisme kerja enzim DNA girase dalam proses pembelahan sel bakteri (Rame & Dewangga, 2022).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder kapang endofit

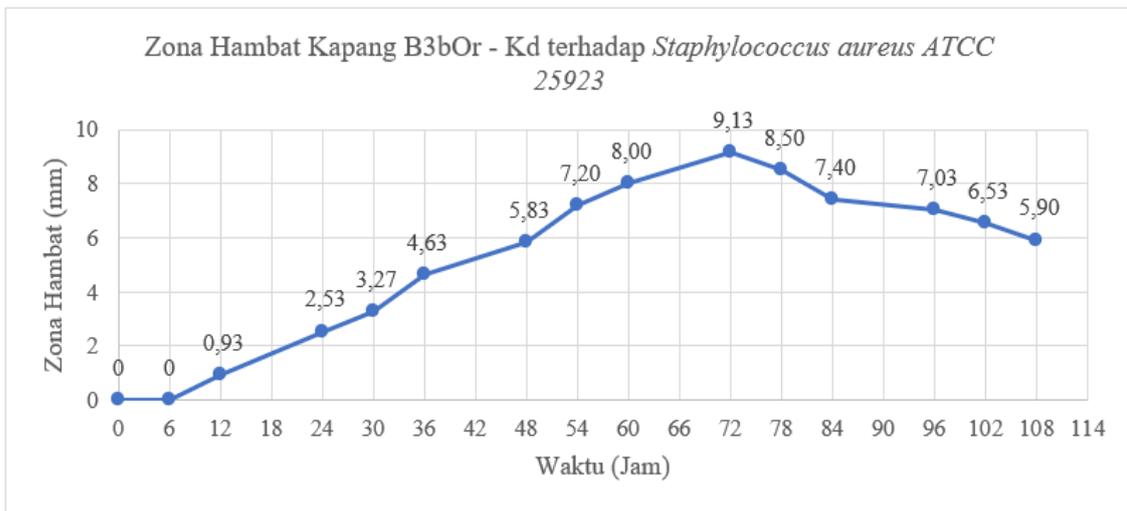
tanaman beluntas yang dapat dilihat pada **Gambar 2 – Gambar 5** mulai menunjukkan aktivitas antibakteri pada jam ke 12 dan menunjukkan aktivitas tertinggi pada jam ke 78. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar lubang sumuran. Berdasarkan hasil ini menunjukkan bahwa supernatan hasil fermentasi kemungkinan mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan triterpenoid karena masing - masing senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri (Hafsari et al., 2015).

Berdasarkan spektrum kerja aktivitas antibakteri isolat D1bKu – Kd dan B3bOr – Kd termasuk ke dalam spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Isolat yang termasuk ke dalam spektrum luas dipengaruhi salah satu faktor yaitu isolat tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri dengan konsentrasi zat aktif yang lebih besar, semakin besar konsentrasi zat yang terkandung maka semakin banyak sel-sel mikroorganisme yang mati (Kursia et al., 2018).

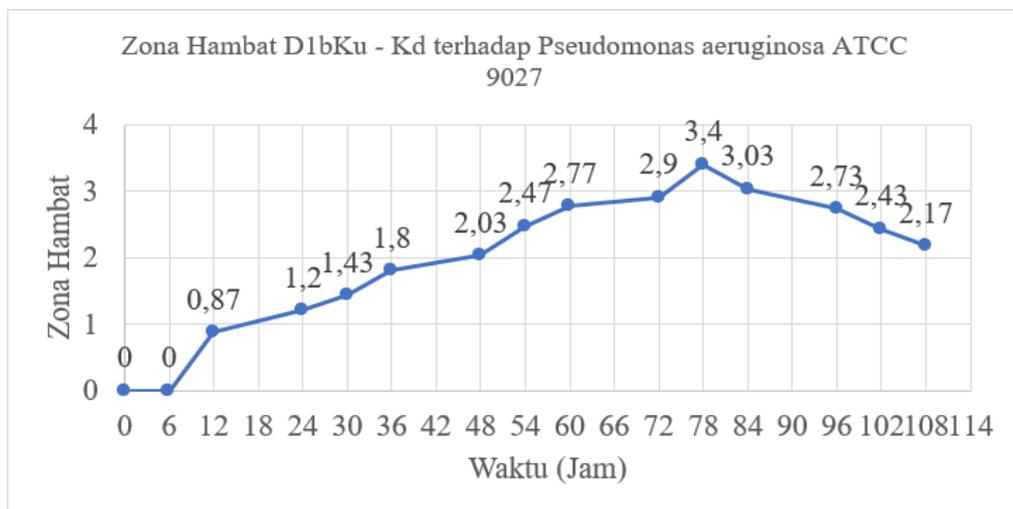
Hasil uji aktivitas antibakteri yang ditunjukkan pada **Gambar 2** sampai **Gambar 5** dapat dilihat bahwa terjadi penurunan aktivitas senyawa metabolit dari supernatan setelah mencapai titik tertingginya. Penurunan ini dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah waktu pertumbuhan dari isolat kapang yang digunakan. Indikator waktu optimum produksi antibakteri adalah waktu dimana senyawa antibakteri diproduksi secara maksimal yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri uji (Elita et al., 2011). Selain itu penurunan senyawa bioaktif terjadi akibat senyawa metabolit mengalami biodegradasi. Pada kultur dengan nutrisi yang tetap, setelah melewati fase stasioner jumlah sel kapang endofit akan berkurang akibat menurunnya nutrisi pada media fermentasi. Nutrisi yang semakin berkurang sementara aktivitas reproduksi sel tetap berlangsung dan hanya tersedia senyawa metabolit sekunder, kondisi inilah yang memicu terjadinya biodegradasi senyawa metabolit sekunder yang kemudian akan dimanfaatkan oleh kapang endofit untuk mendukung pertumbuhannya (Wahyuningrum et al., 2021).



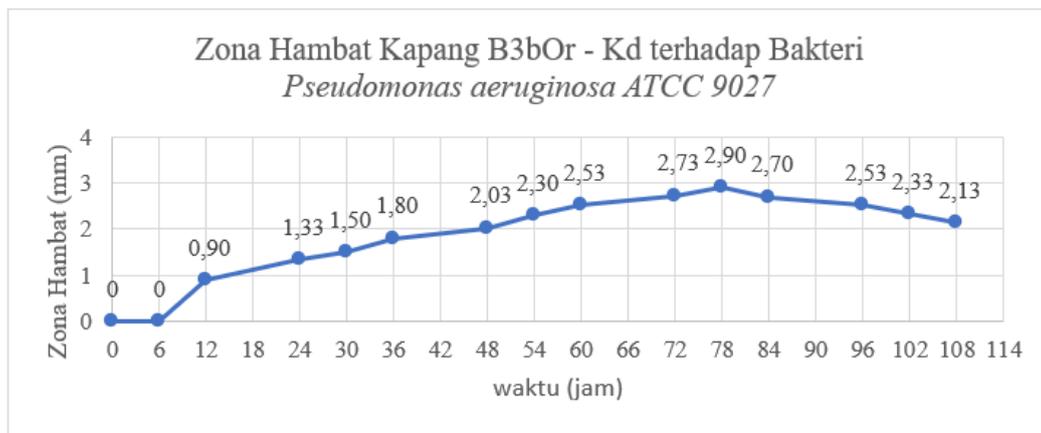
Gambar 2 Zona Hambat Kapang D1bKu - Kd terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 3 Zona Hambat Kapang B3bOr – Kd terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 4 Zona Hambat Kapang D1bKu - Kd terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027



Gambar 5 Zona Hambat Kapang B3bOr - Kd terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri yang diketahui bahwa isolat kapang D1bKu – Kd memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Isolat kapang B3bOr – Kd memiliki memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Berdasarkan metode David Stout terkait pengukuran kekuatan antibiotik bila diameter hambat ≤ 5 mm menunjukkan kekuatan antibakteri lemah, diameter 5-10 mm menunjukkan kekuatan antibakteri sedang, diameter 10-20 mm menunjukkan kekuatan antibakteri kuat, dan diameter > 20 mm menunjukkan kekuatan antibakteri sangat kuat (Yani et al., 2020).

Pada pengujian supernatan isolat D1bKu - Kd dan B3bOr - Kd pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 terjadi perbedaan yang signifikan dengan proses

seleksi kapang endofit yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri uji, hal ini mungkin terjadi akibat terjadinya perubahan suhu yang ekstrim dan berulang ulang yang mengakibatkan terjadinya penurunan senyawa bioaktif dari supernatan, selain itu pada proses seleksi senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh kapang endofit langsung dilepaskan ke media yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji yang mengakibatkan hasilnya lebih jelas daripada saat uji aktivitas senyawa metabolit sekunder hasil fermentasi. Selain itu struktur dinding sel dari bakteri gram negatif memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi daripada bakteri gram positif, sehingga sistem pertahanan pada bakteri gram negatif lebih kompleks dan sulit ditembus oleh senyawa antibakteri (Amalia et al., 2016).

KESIMPULAN

Isolasi kapang endofit dari daun dan batang tanaman beluntas dihasilkan 9 isolat kapang dengan kode D1bKu - Kd, D1bPu - Kd, D3bPu - Kd, B1Kr - Kd, B1aHj - Kd, B2aHj -

Kd, B3aHj - Kd, B3bOr - Kd, B3bPu - Kd dan yang memiliki potensi sebagai antibakteri sebanyak 2 isolat yaitu isolat dengan kode D1bKu - Kd dan B3bOr - Kd yang memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat sedang terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan memiliki daya hambat lemah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

DAFTAR PUSTAKA

- Abna, I. M., Bella Sylvia, & Mellova Amir. (2021). Isolasi Dan Analisis Antimikroba Kapang Endofit Dari Tanaman Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lam). *Jurnal Katalisator*, 6(2), 146–163.
- Agusta, A. (2009). *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. ITB Press.
- Amalia, S., Wahdaningsih, S., & Untari, E. K. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2), 61–64. <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i2.191>
- Dalimartha, S. (1999). Atlas tumbuhan obat indonesia jilid 1. In S. Dalimartha (Ed.), *Jakarta, Indonesia: Trubus Agriwidya*. (1st ed., Vol. 99, Issue 12). Trubus Agriwidya.
- Daud, N. H., Jayaraman, S., & Mohamed, R. (2012). Methods paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 20(2), 55–58.
- Demain, A. L., & Sanchez, S. (2011). *Fermentation Microbiology and Biotechnology* (Third Edit). <https://doi.org/10.1201/b13602-9>
- Elita, A., Saryono, S., & Christine, J. (2011). Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *J. Ind. Che Acta*, 3(2), 56–62.
- Elviasari, J., Rusli, R., & Ramadhan, A. M. (2015). Isolasi Jamur Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(3), 126–130. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i3.29>
- Hafsari, A. R., Cahyanto, T., Sujarwo, T., & Lestari, R. I. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) LESS.) Terhadap *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *ISTEK*, 9(1), 142–161.
- Hilakore, A. M., Wiryawan, K., & Mangunwijaya, D. (2013). Peningkatan Kadar Protein Putak melalui Fermentasi oleh Kapang *Trichoderma reesei* (The Increase Of Protein Level From Putak Through Fermentation Of Fungi *Trichoderma reesei*). *Jurnal Veteriner*, 14(2), 250–254.
- Huda, C., & Salni, M. (2012). Penapisan

- Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak Sarcophyton sp. *Maspari Journal*, 04, 69–76.
- Ilyas, M. (2007). Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang pada Sampel Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Gunung Lawu, Surakarta, Jawa Tengah. *Biodiversitas*, 8(2), 105–110.
- Jayadinata, E. P., Andriani, S., & Ratnasari, D. (2018). Pembuatan Simping Herbal Dari Daun Beluntas (*Plucea Indica* (L) Less). *Journal of Holistic and Health Science*, 2, No. 1(L), 30–35.
- Kumala, S. (2019). *Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi* (P. Sirnianto (ed.); 2nd ed.). PT. ISFI Penerbitan.
- Kursia, S., Aksa, R., & Nolo, M. M. (2018). Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 30–33. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4631>
- Mahardhika, W. A., Isworo Rukmi, M. G., & Pujiyanto, S. (2021). Isolation Endophytic Mould from Ciplukan Plant (*Physalis angulata* L.) and Antibacterial Potential against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 4(1), 33–39. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>
- Maheshwari, D. K. (2017). Sustainable Development and Biodiversity 15 Endophytes: Biology and Biotechnology Volume 1. In Maheshwari Dinesh K (Vol. 1).
- Maheshwari, D. K., & Annapurna, K. (2017). *Sustainable Development and Biodiversity 16 Endophytes: Crop Productivity and Protection Volume 2* (Vol. 2). <http://www.springer.com/series/11920>
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Oztruk, M., & Hakeem, K. R. (2018). Plant and Human Health, Volume 1: Ethnobotany and Physiology. In *Springer International Publishing* (Vol. 1).
- Pelu, A. D. (2017). Pemeriksaan Farmakognostik Tanaman Beluntas (*Plucea indica* L) Asal Maluku. *Global Health Science*, 2(4), 390–393.
- Pirttiila, A. M., & Frank, A. C. (2018). *Endophytes of Forest Trees Biology and Applications* (second). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89833-9_3
- Pratama, N. A., Kusdiyantini, E., & Pujiyanto, S. (2018). Kemampuan Isolat Fungi Endofit Tanaman Nilam (*Pogostemon Cablin*) Sebagai Penghasil Antimikroba Terhadap *Escherichia coli* dan

- Staphylococcus aureus. *Jurnal Akademika Biologi*, 7(4), 1–6. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/22290>
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlanga.
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 113–126. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i3.3388>
- Radji, M. (2011). *Mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran*.
- Radji, M., Fauziah, S., & Aribinuko, N. (2011). Antibiotic sensitivity pattern of bacterial pathogens in the intensive care unit of Fatmawati Hospital, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1), 39–42. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60065-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60065-8)
- Radji, M., Kurniati, M., & Kiranasari, A. (2015). Comparative antimycobacterial activity of some Indonesian medicinal plants against multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1), 019–022. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50104>
- Rahayu, T. P., Kiromah, N. Z. W., & Maretha, F. (2021). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Serai Dan Ekstrak Pandan Wangi Terhadap Staphylococcus epidermidis. *Jurnal Farmasi Klinik Dan Sains*, 1(1), 18. <https://doi.org/10.26753/jfks.v1i1.655>
- Rame, A., & Dewangga, V. S. (2022). Uji Resistensi Bakteri Pada Urin Penderita ISK Terhadap Antibiotik Levofloxacin dan Ciprofloxacin di Laboratorium Klinik Prodia Makassar. *Jurnal Analisis Kesehatan*, 11, 1591–1596.
- Retnowati, A., Rugayah, Rahajoe, J. S., & Arifian, D. (2019). *Status keanekaragaman hayati Indonesia: Kekayaan Jenis Tumbuhan dan Jamur Indonesia*. LIPI Press.
- Setiawan, M. A., & Musdalipah, M. (2018). Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(1), 53–60. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.24>
- Sieber, T. N., & Grünig, C. R. (2007). Biodiversity of Fungal Root-Endophyte Communities and Populations, in Particular of the Dark Septate Endophyte *Phialocephala fortinii* s. l. *Microbial Root Endophytes*, January, 107–132. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_7
- Siswandono. (2017). *Kimia Medisinal* (p. 716). Airlangga University Press.
- Utama, P. A. P. N. P. R., & Suryanti, I. A. P. (2018). Jumlah Total Koloni Jamur Endofit pada Tanaman Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. var Alphonso Lavalle) Di Desa Banjar, Kecamatan Banjar, Buleleng Bali. *Jurnal Pendidikan Biologi*

- Undiksha, 5, 166–175.
- Utami, E. R. (2012). Antibiotika, Resistensi, Dan Rasionalitas Terapi. *El-Hayah*, 1(4), 191–198.
<https://doi.org/10.18860/elha.v1i4.1783>
- Wahyudi, D., Aman, A. T., Handayani, N. S. N., & Soetarto, E. S. (2019). Uji Kepekaan Sel Biofilm Pseudomonas aeruginosa Terhadap Ciprofloxacin dan Amikacin Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 1(1), 16–22.
<https://doi.org/10.37013/jf.v1i1.70>
- Wahyuningrum, S. A., Bahar, M., & Pramono, A. P. (2021). Uji Daya Hambat Isolat Actinomycetes sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 10(1), 16.
<https://doi.org/10.25077/jka.v10i1.1595>
- Yani, I. S., Muthmainah, N., & Yasmina, A. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung dan Daun Jambu Biji Terhadap Staphylococcus aureus In Vitro. *Homeostasis*, 3(2), 277–282.
<http://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/1999>
- Zimbro, M. J., Power, D. A., Miller, S. M., Wilson, G. E., & Johnson, J. A. (2009). Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media. In *Citeseer*. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010316\)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010316)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C)