

Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) sebagai Antibakteri

Muhammad Fazrul Rahman*, Witiyasti Imaningsih, Sasi Gendro Sari

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714.

*E-mail: fazrul.m.rahman@gmail.com

ABSTRACT

Medicinal plants such as porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) can produce bioactive compounds from plants-associated endophytes. Therefore, medicinal plants were a sources of isolation of endophytic fungi and endophytic fungi were a sources of secondary metabolites that have anticancer, antimalarial, antimicrobial, and so on. A Porang tuber has been used as a medicine for boils, medicine for sliced wounds and medicine for wounds due to venomous animal bites. The research was aimed to carry out isolation and characterization of endophytic fungi from porang tuber, and to test the ability of endophytic fungi from porang tuber as antibacterial against gram positive (*Staphylococcus aureus*) and gram negative (*Escherichia coli*) bacteria. Isolation of endophytic fungi from porang tubers succeeded in getting five different fungi isolates. Based on macroscopic and microscopic characteristics, endophytic fungi isolated from porang tuber were members of the genus *Curvularia*, *Penicillium*, 2 isolates of *Aspergillus*, and 1 isolate that had not been identified. Porang endophytic fungi had antibacterial activity against *S. aureus*, but did not have antibacterial activity against *E. coli* bacteria. Endophytic fungi that had antibacterial activity were *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp.

Keywords: *antibacterial activity; characterization; endophytic fungi; isolation; porang*

PENDAHULUAN

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam genus *Amorphophallus* dan famili *Araceae*. Di kawasan Asia tropis dan subtropis, genus *Amorphophallus* telah digunakan sebagai sumber

makanan dan obat tradisional selama berabad-abad (Afifah *et al.*, 2014). Umbi porang (*A. muelleri*) telah dimanfaatkan sebagai obat alami yang berkhasiat sebagai obat bisul, obat luka iris dan luka karena gigitan hewan berbisa. Umbi porang mengandung senyawa kimia seperti

glukomanan, saponin, flavonoid dan kalsium oksalat; sedangkan daun porang mengandung tanin (Makiyah *et al.* 2016). Shahim & Mulani (2014) berhasil melakukan isolasi fungi endofit dari umbi *A. sylvaticus* (Roxb.) Kunth. Fungi endofit yang diisolasi termasuk dalam genus *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Rhizoctonia* dan *Drechslera*.

Mikroorganisme yang dapat bertahan hidup serta berasosiasi dalam jaringan tumbuhan, khususnya pada daun, batang dan akar tanpa membahayakan inangnya dikenal dengan nama endofit. Endofit seringkali melakukan simbiosis mutualis, dimana endofit mendapatkan nutrisi dari inangnya, sedangkan endofit mensekresi metabolit sekunder untuk membantu pertahanan inangnya terhadap patogen (Jalgaonwala *et al.*, 2011). Endofit ditemukan di jaringan pengangkut seperti xilem dan organ tumbuhan seperti akar, batang, daun, umbi, tunas, ovula, biji, buah-buahan, dan kulit (Tan & Zou, 2001).

Potensi endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif dapat

digunakan sebagai sumber penyediaan bahan mentah obat. Jika endofit bisa memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inang maka hal tersebut bukan hanya mengurangi pemanenan tumbuhan-tumbuhan yang lambat tumbuh dan mungkin langka tapi juga melestarikan biodiversitas yang semakin menurun. Apalagi produk yang dihasilkan dari sumber mikroorganisme lebih mudah dan lebih ekonomis untuk diproduksi sehingga mengurangi harga pasar (Strobel, 2003). Tumbuhan dengan sejarah etnobotani seperti tumbuhan obat, menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif dari endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan. Oleh karena itu, tumbuhan obat merupakan sumber isolasi fungi endofit dan fungi endofit tersebut merupakan sumber metabolit sekunder (Widowati *et al.*, 2016).

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* adalah penyebab utama berbagai infeksi manusia dan hewan. *S. aureus* penyebab infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi situs bedah (SSI), dan infeksi tulang dan sendi. *S. aureus* adalah penyebab umum bakteremia dan berkaitan

dengan infeksi saluran pernapasan yang terjadi di rumah sakit. Adapun infeksi saluran kemih (UTI) pada manusia, dan infeksi enterik dan infeksi sistemik secara umum disebabkan oleh *E. coli*. Infeksi sistemik termasuk bakteremia, nosokomial pneumonia, kolesistitis, kolangitis, peritonitis, selulitis, osteomielitis, dan radang sendi menular. *E. coli* juga penyebab utama neonatal meningitis (Raho & Abouni, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan penelitian terhadap fungi endofit dari umbi *Amorphophallus*, termasuk spesies porang (*A. muelleri*) berpotensi besar sebagai sumber untuk mengisolasi fungi endofit yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2017 sampai Desember 2017 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Isolasi Fungi Endofit

Sampel umbi porang (*A. muelleri*) usia 11 bulan diambil dari tumbuhan porang yang tumbuh di bawah tegakan pohon karet di kebun karet milik PT. Arutmin yang berlokasi di Desa Sungai Cuka, Kecamatan Kintap, Kabupaten Tanah Laut, Kalimantan Selatan dengan koordinat 3°50'40.8"S 115°19'06.0"E.

Sampel umbi porang dibawa ke laboratorium dalam kantong plastik steril. Kemudian sampel dibersihkan dengan mencucinya pada air mengalir. Sampel dipotong-potong kecil menggunakan *scalpel* (2.0-3.0 cm) dan selama 30 detik dicelupkan dalam alkohol 70% (sterilisasi permukaan). Potongan sampel kemudian dikeringkan, dipotong menjadi lebih kecil (1.0-1.5 cm) dan potongan sampel ditanam pada PDA. Sampel tersebut diinkubasi didalam ruangan selama 2-14 hari tergantung pertumbuhan miselia fungi (Sinaga *et al.*, 2009).

Pemurnian Fungi Endofit

Fungi endofit pada sampel PDA telah tumbuh dan memiliki koloni yang berbeda secara makroskopik,

koloni yang berbeda tersebut kemudian dimurnikan satu demi satu dengan cara memindahkan miselia fungi menggunakan *scalpel* ke PDA baru. Setelah inkubasi didalam ruangan selama 7 hari, karakteristik makroskopik fungi endofit diamati kembali, dan jika masih ditemukan koloni yang berbeda pada satu cawan petri maka fungi endofit dimurnikan kembali sampai didapatkan isolat murni (Sinaga *et al.*, 2009).

Karakterisasi Fungi Endofit

Karakteristik makroskopik dan mikroskopik digunakan untuk mengkarakterisasi isolat fungi endofit. Warna koloni, warna sebalik koloni, diameter koloni, ada atau tidaknya titik eksudat dan lingkaran konsentris merupakan karakteristik makroskopik sesuai buku referensi Gandjar *et al.* (1999). Sementara itu, karakterisasi mikroskopik meliputi bentuk konidia dan struktur hifa sesuai dengan kunci identifikasi dan ilustrasi pada buku *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett & Hunter, 2006).

Persiapan Bakteri yang Digunakan dalam Pengujian Aktivitas Antibakteri

S. Aureus dan *E. coli* merupakan bakteri yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri fungi endofit asal umbi porang. Pertama-tama, satu ose koloni bakteri diinokulasi ke dalam 5 mL NaCl fisiologis 0,9 %. Standar McFarland 0,5 (kepadatan sekitar $1,5 \times 10^8$ cfu/mL) digunakan untuk menstandarisasi kekeruhan. Kekeruhan tabung berisi koloni bakteri dan standar McFarland dibandingkan didepan kertas putih dengan garis hitam (Sinaga *et al.*, 2009). Selanjutnya, dilakukan penggoresan suspensi bakteri dengan menggunakan *cotton bud* steril pada media *Mueller-Hinton Agar*.

Penentuan Kurva Pertumbuhan Isolat Fungi Endofit

Isolat fungi difermentasi pada media PDB. Miselia fungi dipanen setiap 24 jam, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring/*filter paper* Whatman No.1 (sebelum disaring kertas saring

ditimbang terlebih dahulu) dan fungi dioven selama 24 jam pada suhu 100°C untuk memperoleh berat sel kering untuk mendapatkan profil pertumbuhan fungi endofit dalam bentuk kurva berdasarkan pertambahan berat sel kering miselia fungi (Singh *et al.*, 2012).

Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit

Isolat fungi yang telah berumur 7 hari diinokulasi kedalam 50 mL medium *Potato Dextrose Broth* (PDB), kemudian di kultur dengan kecepatan 130 rpm diatas *rotary shaker* sampai masa stasioner pada hari ke 3. Sentrifugasi media cair hasil kultur tersebut selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi dilakukan pengentalan dengan penangas air. Supernatan yang telah kental digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri (Sinaga *et al.*, 2009).

Pengujian Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Asal Umbi Porang

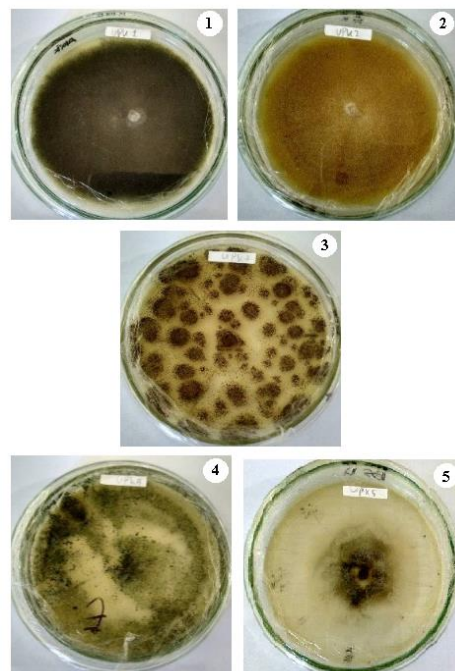
Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan uji *Agar Disc Diffusion*, masing-masing dengan tiga kali ulangan (kontrol positif:

gentamicin 10 mg) menggunakan media *Mueller-Hinton Agar*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan kemudian diameter zona hambat diukur (Sinaga *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN



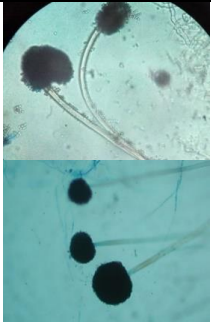
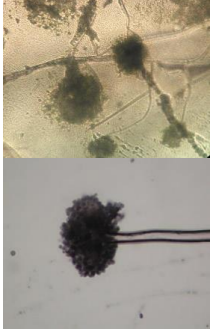
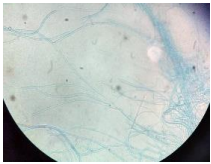
Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Umbi Porang

Hasil pemurnian isolat fungi endofit porang didapatkan lima isolat yang berbeda secara makroskopik (Gambar 1). Tabel 1 menyajikan hasil karakterisasi kelima isolat secara lebih lengkap.



Gambar 1. Isolat fungi endofit umbi porang: 1 = *Curvularia* sp. (UPK1); 2 = *Penicillium* sp. (UPK2); 3 & 4 = *Aspergillus* sp. (UPK 3 & 4); 5 = Belum teridentifikasi (UPK 5). UPK = umbi porang karet.

Tabel 1. Karakteristik fungi endofit umbi porang berdasarkan hasil pengamatan.

Isolat Fungi Endofit	Makroskopik	Mikroskopik	Gambar dan Referensi
<i>Curvularia</i> sp. (UPK1)	Diameter koloni pada hari ke-7 adalah 8,5 cm, membentuk lingkaran konsentris, warna depan hitam bercampur putih, dan warna bawah hitam.	Konidia berbentuk lonjong, memiliki septa 3, konidiofor panjang dan bercabang.	
<i>Penicillium</i> sp. (UPK2)	Diameter koloni pada hari ke-7 adalah 8 cm, memiliki lingkaran konsentris, ada garis radial, pada hari ke-7 koloni berwarna kuning, warna kemudian secara bertahap berubah menjadi kemerahan, pada hari ke-14 koloni berwarna merah, bagian atas dan bawah koloni memiliki warna yang sama.	Konidiofor bercabang, memiliki fialid, konidia berbentuk bulat, membentuk rantai dan berlimpah.	
<i>Aspergillus</i> sp. (UPK3)	Diameter koloni 1,3 cm, terdiri dari banyak koloni bentuk bulat kecil, spora koloni berwarna hitam seperti serbuk, warna depan dan belakang sama yaitu warna coklat kehitaman.	Konidiofor panjang tunggal, konidia berbentuk bulat, berlimpah dan berwarna hitam.	
<i>Aspergillus</i> sp. (UPK4)	Diameter koloni pada hari ke-7 adalah 8 cm, spora melimpah memenuhi cawan petri, warna depan dan belakang sama yaitu hijau kekuningan.	Konidiofor panjang tunggal, konidia berbentuk bulat, berlimpah dan berwarna hitam.	
Isolat Belum Teridentifikasi (UPK5)	Diameter koloni pada hari ke-7 adalah 4 cm, membentuk lingkaran konsentris, warna depan dan belakang sama yaitu putih bercampur hitam.	Miselia berbentuk seperti tali dan bercabang, serta tidak membentuk konidia.	

Tabel 2. Pengujian kemampuan fungi endofit umbi porang sebagai antibakteri

Supernatan Endofit	Fungi	Zona Bening (mm)		Daya Hambat	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Curvularia</i> sp. UPK1		14	-	Kuat	-
<i>Penicillium</i> sp. UPK2		14,67	-	Kuat	-
<i>Aspergillus</i> sp. UPK3		11,67	-	Kuat	-
<i>Aspergillus</i> sp. UPK4		5,67	-	Sedang	-
Isolat Teridentifikasi. UPK5	Belum	-	-	-	-
Kontrol +		30	33		

Keterangan: UPK=Umbi Porang Karet; Kontrol + = Antibiotik Gentamisin; Rata-rata = n:3

Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Asal Umbi Porang

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit digunakan untuk menguji kemampuan antibakteri fungi endofit. Kemampuan antibakteri diuji dengan uji *Agar Disc Diffusion* dan pengamatan menggunakan ukuran diameter zona hambat.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat fungi endofit memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri yang digunakan dalam pengujian. Hal tersebut ditunjukkan dengan keberadaan zona hambat disekeliling kertas cakram, meskipun tidak semua isolat menunjukkan aktivitas antibakteri (Tabel 2).

Supernatan dari semua isolat tidak menunjukkan hambatan terhadap bakteri *E. coli*. Sedangkan pada bakteri *S. aureus* menunjukkan

terjadinya penghambatan, kecuali isolat UPK5 yang belum teridentifikasi. Supernatan isolat *Curvularia* sp. UPK1 memiliki zona hambat sebesar 14 mm pada *S. aureus*. Sedangkan zona hambat supernatan isolat *Penicillium* sp. UPK2 pada *S. aureus* yaitu 14,67 mm. Zona hambat supernatan isolat *Aspergillus* sp. UPK3 pada *S. aureus* yaitu 11,67 mm. Dan zona hambat supernatan isolat *Aspergillus* sp. UPK4 pada *S. aureus* yaitu 5,67 mm yang termasuk kategori daya hambat sedang (bakteri cukup resisten). Daya hambat supernatan isolat *Curvularia* sp. UPK1, *Penicillium* sp. UPK2 dan *Aspergillus* sp. UPK3 termasuk kategori daya hambat kuat.

Pembahasan

Endofit dapat ditemukan di jaringan pengangkut seperti xilem dan organ tumbuhan seperti akar,

batang, daun, umbi, tunas, ovula, biji, buah-buahan, dan kulit (Tan & Zou, 2001). Penelitian sebelumnya berhasil mengisolasi fungi endofit dari umbi *Amorphophallus sylvaticus* (Roxb.) Kunth. Fungi endofit yang diisolasi termasuk dalam genus *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Rhizoctonia*, dan *Drechslera* (Shahim & Mulani, 2014). Fungi endofit dari umbi *Amorphophallus muelleri* berhasil mengisolasi sebanyak 5 isolat fungi yang termasuk dalam genus *Curvularia*, *Penicillium*, 2 isolat *Aspergillus*, dan 1 isolat yang belum teridentifikasi. Umbi *A. muelleri* berhasil mengisolasi fungi endofit genus *Curvularia* yang sama. Sedangkan genus *Penicillium* dan *Aspergillus* memiliki kelas Hyphomycetes yang sama dengan *Fusarium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, dan *Drechslera*.

Umbi porang (*A. muelleri*) mengandung senyawa kimia seperti glukomanan, saponin, flavonoid dan kalsium oksalat; sedangkan daun porang mengandung tanin (Makiyah *et al.*, 2016). Metabolit sekunder antibakteri fungi endofit dari

golongan senyawa terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, senyawa alipatik, poliketida dan peptida (Mousa & Raizada, 2013). Umbi porang telah dimanfaatkan sebagai obat alami yang berkhasiat sebagai obat bisul, obat luka iris dan obat luka karena gigitan hewan berbisa. Bisul terutama disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang hidup dikulit (Makiyah *et al.*, 2016). Memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya atau senyawa yang mirip fungsinya merupakan salah satu keunggulan endofit. Contoh pada paklitaksel, obat anti kanker terkenal yang dihasilkan oleh pohon yew (*Taxus spp.*) juga dihasilkan oleh fungi *Taxomyces andreanae* yang diisolasi dari yew *Taxus brevifolia* (Strobel, 2003). Fungi endofit yang diisolasi dari umbi porang memiliki kemampuan sebagai antibakteri pada *S. aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Fungi endofit dari umbi porang berhasil diisolasi dan berdasarkan karakteristiknya fungi tersebut dari genus

Curvularia, *Penicillium*, 2 isolat *Aspergillus*, dan 1 isolat belum teridentifikasi.

2. Fungi endofit umbi porang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri pada bakteri *S. aureus* kecuali isolat belum teridentifikasi dan fungi endofit tidak mempunyai kemampuan sebagai antibakteri pada bakteri *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E., M. Oktorina, & S. Setiono. 2014. Peluang Budidaya Iles-Iles (*Amorphophallus* spp.) sebagai Tanaman Sela di Perkebunan Karet. *Warta Perkaratan*. **33(1)**, 35-46.
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. 2006. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th Edition. American Phytopathological Society Press, Minnesota, USA.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. Tweel-Vermeulen, A. Oetari, & I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Jalgaonwala, R.E., B.V. Mohite, & R.T. Mahajan. 2011. A review: natural products from plant associated endophytic fungi. *J Microbiol Biotechnol Res*, **1(2)**, 21-32.
- Makiyah, A., U.A. Husin, & R. Sadeli. 2016. Efek Immunostimulasi Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Tikus Putih Strain Wistar yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Bandung*. **48(2)**, 68-77.
- Mousa, W.K., & M.N. Raizada. 2013. The diversity of antimicrobial secondary metabolites produced by fungal endophytes: an interdisciplinary perspective. *Frontiers in Microbiology*. **4**, 1-18.
- Raho, G.B., & B. Abouni. 2015. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* most common source of infection. *The Battle against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*; Méndez-Vilas, A., Ed: 637-648.
- Shahim, S., & R.M. Mulani. 2014. Endophytic Fungal Diversity in Corms of *Amorphophallus sylvaticus* (Roxb.) Kunth. *International Journal of Scientific Engineering and Research (IJSER)*. **4(2)**, 32-34.
- Sinaga, E., Noverita, & D. Fitria. 2009. Daya Antibakteri Jamur Endofit yang Diisolasi dari Daun dan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* Sw.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4(4)**, 161-164.
- Singh, K., S. Nizam, M. Sinha & P.K. Verma. 2012. Comparative transcriptome analysis of the necrotrophic fungus *Ascochyta rabiei* during oxidative stress: insight for fungal survival in the host plant. *PloS one*. **7(3)**, e33128.
- Strobel, G.A. 2003. Endophytes as Sources of Bioactive Products. *Microbes and Infection*. **5(6)**, 535-544.
- Tan, R.X., & W.X. Zou. 2001. Endophytes: A Rich Source Of Functional Metabolites. *Natural Product Reports*. **18(4)**, 448-459.
- Widowati, T., B. Bustanussalam, H. Sukiman, & P. Simanjuntak.

2016. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai Penghasil Antioksidan. *Biopropal Industri*. **7(1)**, 9-16.