

## Fermentasi Diam dan Goyang Isolat Kapang Endofit dari *Brucea javanica* L. Merr. dan Uji Aktivitas Antimikroba

SHIRLY KUMALA<sup>1\*</sup>, WIBOWO MANGUNWARDYO<sup>2</sup>, PENY BUDIARTI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Pancasila,  
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta, 12640

<sup>2</sup>Departemen Biologi, FMIPA-UI, Depok

Diterima 4 Juni 2005, Disetujui 3 Agustus 2005

**Abstract:** Exploring an antibiotic from microorganism is potential to discover the new antibiotic. The endophytic microorganism is one of the minimanufacturer producing the secondary metabolite such as antibiotic. Screening on the endophytic molds isolated from *Brucea javanica* L. Merr has been carried out. Fermentation in still and shake culture were used to produce the antibiotic using PDY medium. Antimicrobial activity was assayed using diffusion agar method. The results revealed that shake culture gave a better antimicrobial activity than still culture. Amount of eight isolate studied showed microbial activity against Gram positive bacteria: *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* also Gram Negative bacteria: *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*, however no microbial activity recorded against *Candida albicans*. Isolate number 1.2 gave the highest antimicrobial activity on still culture and isolate number 1.7 gave the highest antimicrobial activity on shake culture. Further research should be carried out on identification and purification of the antimicrobial agent.

**Key words:** fermentation, endophytic, antimicrobial activity, *Brucea javanica* L. Merr.

### PENDAHULUAN

Usaha untuk memenuhi kebutuhan akan antibiotik selalu dikembangkan di Indonesia, baik secara sintesis atau mencari bahan baru yang berasal dari mikroorganisme. Pengembangan antibiotik telah dimulai sejak perang dunia ke dua dengan ditemukannya penisilin oleh Alexander Flemming. Indonesia yang kaya akan biodiversitas belum banyak melakukan eksplorasi dari mikroorganisme yang mempunyai potensi untuk menghasilkan antibiotik. Salah satu mikroorganisme yang menjanjikan sebagai penghasil antibiotik adalah mikroorganisme endofit. Mikroba tersebut hidup di dalam jaringan hidup tanaman dan berasosiasi dengan inangnya<sup>(1)</sup>. Mikroba endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder di antaranya adalah antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain<sup>(2)</sup>. Diduga mikroorganisme endofit yang berasal dari tanaman obat mempunyai kecenderungan menghasilkan antibiotik.

Salah satu tanaman yang dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan adalah *Brucea javanica* L. Merr., yang mempunyai khasiat analgetik, antipiretik dan

hemostatik<sup>(3)</sup>. Namun kajian tentang mikroorganisme yang hidup dalam tanaman *Brucea javanica* L. Merr belum banyak mendapat perhatian.

Mikroorganisme endofit dapat berupa kapang atau bakteri dan di alam keduanya dapat ditemukan. Namun antara kapang dan bakteri endofit yang paling banyak ditemukan adalah kapang sebanyak 2/3 dari jumlah mikroorganisme. Penelitian tentang mikroba endofit saat ini sedang intensif dilakukan, perkembangan lebih jauh menunjukkan bahwa perhatian para ahli terhadap mikroorganisme endofit lebih banyak tertuju pada jenis kapang dibandingkan dengan bakteri endofit<sup>(4)</sup>.

Hasil penelitian mikroba endofit menunjukkan bahwa bagian tanaman yang berbeda dari satu tanaman inang memperlihatkan isolat mikroba endofit yang berbeda pula. Beberapa kajian terhadap mikroba endofit terbukti mempunyai potensi ekonomi yang cukup penting, baik sebagai penghasil antimikroba maupun metabolit sekunder yang bermanfaat<sup>(4)</sup>.

Laporan tentang mikroba endofit menunjukkan bahwa kapang endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder, seperti enzim-enzim yang berfungsi untuk merombak, zat pengatur tumbuh tanaman, antimikroba termasuk antijamur dan antibakteri. Dapat dikatakan bahwa manfaatnya sangat besar dalam bidang industri, pertanian, dan industri farmasi<sup>(4)</sup>.

\* Penulis untuk korespondensi, Hp.08129026821,  
e-mail: fskumala@yahoo.com

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji fermentasi kapang endofit isolat dari tanaman *Brucea javanica* L. Merr dengan metode fermentasi diam dan goyang serta pengujian aktivitas antimikroba hasil fermentasi.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN. Mikroorganime.** Isolat kapang endofit dari tanaman *Brucea javanica* L. Merr diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta. Mikroba uji yang digunakan antara lain: *Staphylococcus aureus* turunan ATCC 25923, *Bacillus subtilis* turunan ATCC 6633, *Escherichia coli* turunan ATCC 25922, *Salmonella typhi* turunan ATCC 00302 dan *Candida albicans* turunan ATCC 120231 dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta. **Media.** Media pertumbuhan: Potato Dextrose Agar (PDA), Nutrient Agar (NA), Yeast extract (YE), Pepton, medium fermentasi cair: Potato Dextrose Yeast (PDY). Larutan Standar 0.5 McFarland Cakram kertas (Oxoid) dengan diameter 6 mm, etanol.

**METODE. Fermentasi Diam.** Delapan isolat kapang endofit masing-masing ditumbuhkan dalam medium PDA selama 5-7 hari sampai bersporulasi. Sebanyak 3-5 potong biakan kapang berukuran  $\pm 1 \times 1$  cm, dimasukkan dalam media fermentasi cair PDY 50 ml dalam Erlenmeyer 250 ml. Fermentasi secara diam (*still culture*) selama 21 hari pada suhu ruang (27°C). Hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit pada suhu kamar. Supernatan hasil sentrifugasi digunakan untuk uji hayati.

**Fermentasi Goyang.** Persiapan inokulum dan medium fermentasi sama dengan fermentasi diam. Fermentasi dilakukan di atas *shaker* dengan kecepatan 130 rpm selama 14 hari pada suhu ruang (27°C). Hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit pada suhu kamar. Supernatan hasil sentrifugasi digunakan untuk uji hayati.

**Uji Hayati.** Uji hayati menggunakan teknik difusi agar dengan cakram kertas. Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri Gram positif: *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, bakteri uji Gram negatif: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan khamir *Candida albicans* (4).

Cakram kertas dijenuhkan ke dalam supernatan hasil fermentasi isolat kapang endofit kemudian ditiriskan dan segera diletakkan di atas media agar

yang telah diinokulasi dengan mikroba uji yang kekeruhan setara dengan Standar 0,5 McFarland. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 2 hari untuk bakteri dan suhu ruang (27°C) untuk khamir. Pengamatan dilakukan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram dan diukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong (5).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan terhadap delapan isolat kapang endofit yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat kapang endofit *Brucea javanica* L. Merr dalam menghasilkan senyawa yang bersifat antimikroba. Komposisi nutrisi dalam media fermentasi merupakan sumber nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan sel, sumber energi, penyusunan substansi sel, dan biosintesis produk fermentasi. Komponen media yang paling penting yaitu sumber C dan N, karena sel mikroba dan produk fermentasi sebagian besar dari komponen ini. Medium fermentasi cair yang digunakan dalam penelitian ini adalah PDY, medium PDY mengandung sumber karbon yang berasal dari ekstrak kentang dan dektrosa, serta ekstrak khamir sebagai sumber nitrogen.

Fermentasi dilakukan dengan dua cara yaitu, fermentasi diam dan fermentasi goyang. Fermentasi diam membutuhkan waktu yang lebih lama yaitu 21 hari dan dilakukan pada suhu kamar. Pertumbuhan kapang membentuk karpet pada permukaan medium fermentasi disebabkan kapang bersifat aerob, sehingga miselium yang dihasilkan akan menuju permukaan medium. Fermentasi goyang dilakukan pada suhu kamar selama 14 hari dengan kecepatan goyangan 130 rpm menghasilkan pelet. Fermentasi goyang menghasilkan senyawa antimikroba yang lebih besar dibandingkan dengan fermentasi diam tetapi ada pula isolat kapang yang menghasilkan senyawa antimikroba lebih besar pada metode diam dibandingkan dengan fermentasi goyang (Tabel 1 dan 2). Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan karakteristik dari masing-masing kapang. Hal tersebut dibuktikan pengujian hayati, dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram kertas yang menunjukkan terjadinya zona penghambatan pertumbuhan mikroba uji oleh metabolit sekunder yang dihasilkan (antibiotik).

Fermentasi metode goyang memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan fermentasi metode diam karena proses fermentasi metode goyang dipengaruhi oleh aerasi dan agitasi. Fermentasi memerlukan sistem aerasi untuk menyuplai kebutuhan oksigen mikroorganime sedangkan agitasi bertujuan untuk

Tabel 1: Hasil uji hayati supernatan fermentasi diam isolat kapang endofit dari *Brucea javanica* L. Merr

No.	Kode Isolat	Gram Positif				Gram Negatif				Khamir	
		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S.typhi</i>		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>	
		24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam
1.	1.7	-	+++	-	+	-	+++	-	++	-	-
2.	1.1	-	+++	-	++	-	+++	-	+++	-	-
3.	1.3	-	+++	-	+++	-	+++	-	++	-	-
4.	1.2	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	++	-	-
5.	1.8	++	++	++	+++	+++	++	-	+	-	-
6.	1.4	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+	-	-
7.	1.5	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	-	-
8.	1.9	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
9.	Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabel 2. Hasil uji hayati supernatan fermentasi goyang isolat kapang endofit dari *Brucea javanica* L Merr

No.	Kode Isolat	Gram Positif				Gram Negatif				Khamir	
		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S.typhi</i>		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>	
		24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam	24 Jam	48 Jam
1.	1.7	++++	++++	-	++++	++++	++++	++++	++++	-	-
2.	1.1	-	+	-	++	-	+	-	++	-	-
3.	1.3	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
4.	1.2	-	++	-	++	-	+	-	+++	-	-
5.	1.8	-	++	-	++	-	++	-	+	-	-
6.	1.4	-	+++	-	+++	-	+++	-	++	-	-
7.	1.5	-	+++	-	+++	-	+	-	+++	-	-
8.	1.9	-	++	-	++	-	++	-	++	-	-
9.	Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) Menunjukkan zona hambat dengan diameter, + : 6,50 mm < Ø < 7,50 mm, ++ : 7,60 mm < Ø < 8,60 mm, +++ : 8,70 mm < Ø < 9,70 mm, ++++ : 9,80 mm < Ø > 10,80 mm

meningkatkan suplai oksigen dalam medium karena oksigen mempunyai kelarutan rendah. Dan tujuan agitasi lainnya untuk meningkatkan berlangsungnya pertukaran panas sehingga distribusi suhu menjadi homogen di seluruh bagian substrat, juga kontak nutrisi dan hifa menjadi efisien<sup>(7)</sup>. Sedangkan untuk isolat kode 1.2 lebih baik dengan metode fermentasi diam daripada fermentasi goyang, kemungkinan karena kapang isolat 1.2 termasuk jenis kapang semi fakultatif aerob yaitu kapang dengan kebutuhan oksigen yang sedikit, oksigen justru merupakan faktor pembatas, bila ada goyangan justru akan menghambat pembentukan metabolit sekunder.

Dari hasil uji hayati tersebut senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh kapang endofit mempunyai

spektrum luas karena mampu menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Tetapi pada mikroba uji *Candida albicans* tidak menghasilkan zona hambat di sekitar cakram kertas yang menandakan tidak ada penghambatan pertumbuhan.

Pada penelitian ini mikroba uji yang digunakan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang termasuk mikroba prokariotik, sedangkan *Candida albicans* termasuk mikroba eukariotik bersel tunggal. Hasil negatif pada mikroba uji *Candida* disebabkan oleh perbedaan komposisi dinding sel. Pada prokariotik komponen struktural dinding sel mengandung peptidoglikan sedangkan pada eukariotik, komponen struktural dinding sel mengandung kitin, selulose atau glukukan<sup>(8)</sup>. Atau dapat juga disebabkan metabolit yang

dihasilkan tidak cocok untuk mikroorganisme eukariotik karena metabolit sekunder yang dihasilkan tidak dapat bergabung dengan gugus sterol yang terdapat dalam membran sel sehingga tidak dapat merusak sel-sel khamir<sup>(6)</sup>.

Penelitian ini menunjukkan fermentasi diam isolat kapang kode 1.2 yang memberikan daya antimikroba paling optimal terhadap *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. typhi*, *E. coli*. karena zona hambat yang dihasilkan paling besar. Sedangkan untuk fermentasi goyang kapang yang memberikan daya antimikroba paling optimal terhadap *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. typhi*, *E. coli* adalah isolat kode 1.7 karena zona hambat yang dihasilkan paling besar. Perlu dilakukan penelitian untuk produksi dalam skala besar, purifikasi dan identifikasi untuk mendapatkan informasi lebih lanjut tentang antimikroba yang dihasilkan oleh kapang endofit yang potensial.

#### SIMPULAN

Delapan isolat kapang endofit mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* tetapi tidak pada *Candida albicans* baik pada fermentasi diam dan goyang. Isolat kapang kode 1.2 memiliki daya hambat paling besar pada fermentasi diam. dan isolat kapang kode 1.7 memiliki daya hambat paling besar pada fermentasi goyang.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Wahyudi P. Teknik terhadap mikroba endofitik penghasil antibiotika baru. Prosiding Temu Ilmiah Jaringan Kerjasama Kimia Indonesia. Seminar Nasional II Kimia Dalam Pembangunan Jaringan Kerjasama Kimia Indonesia, Yogyakarta 5-6 Mei, 1998: 316-328.
2. Petrini O, Sieber TN, L Toti, D Viret. Ecologi metabolic production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxin*. 1992; 1:185-196.
3. Soedibyo M. Alam sumber kesehatan, manfaat dan kegunaan. Jakarta: Balai Pustaka; 1998. hal. 95-6.
4. Tomita F. Screening of useful strains in international. post graduate university courses in microbiology japanese national commission for UNESCO; 1985.p. 221-32.
5. Miles CO. Endophytes fungi indigenous australian grasses. Associated with Toxicity of Livestock Applied and Environmental Microbiology; 1998.p.601-6.
6. Pelczar MJ, Chan ECS. Mikrobiologi 2. diterjemahkan oleh Hadioetomo R.S., Imas T, Tjitrosomo S.S. Agra S.L. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1986. hal.523-5.
7. Liesbetini H. Teknologi fermentasi. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB; 1990. hal.3-4; 198 - 226.
8. Pelczar MJ, Chan ECS. Mikrobiologi 1. Diterjemahkan oleh Hadioetomo R.S, Imas T, Tjitrosomo SS, Agra SL, Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1986. hal.188-99.