

ISOLASI CENDAWAN ENDOFIT DAUN SITAWA (*Costus speciosus* Koen J.E Smith) DAN POTENSI SEBAGAI ANTI BAKTERI

Mades Fifendy¹, Kurnia Fadila², Yosmed Hidayat²

¹Departement of Biology Faculty Mathematic and Sciences, State University of Padang, Air Tawar Padang, Indonesia.

²Study Programs of Biology Education, STKIP PGRI Sumatera Barat, Padang Indonesia
email: madesfifendy@yahoo.co.id

ABSTRACT

*Endophytic fungus are microorganisms that live in the tissues of plants and produce secondary metabolites similar to its host. Isolates of endophytic fungi could be obtained from various plants, one of the leaves Sitawa (*Costus speciosus* (Koen.) J.E Smith). *Costus speciosus* its potential as a drug, because the content of diosgenin compounds, tannins, steroids, alkaloids and phenols which are secondary metabolites and acts as an antibacterial. This study aims to determine isolates of endophytic fungi found on leaves of *Costus speciosus* and its potential as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*. The research was conducted from May to June 2016 in the Laboratory of Microbiology Department of Biology, Mathematic and Sains of Faculty Padang Univercity. This study was a descriptive study with endophytic fungi isolated from leaf *Costus spesiosus* and test the antibacterial potency against *Staphyllococcus aureus*. The parameters observed in determining the outcome of insulation seen from the colony color, form colonies and the establishment of clear zone on the test results as an antibacterial potency. Endophytic fungi isolation research results obtained three types of isolates that isolates the CS-1, CS-2 and CS-3. To test the potential as an antibacterial obtained clear zone with the average - average isolates CS-1 (12.1 mm), Isolate CS-2 (12.5 mm) and Isolate CS-3 (9.7 mm). 3 endophytic fungi isolates obtained from the leaves of *Costus speciosus* that have potential as an antibacterial.*

Keyword : *Endophytic fungi, Costus speciosus, Staphyllococcus aureus*

PENDAHULUAN

Mikroba endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan. Mikroba endofit bisa diisolasi dari jaringan akar, batang dan daun. Menurut Strobel (2003) mikroba endofit memiliki kemampuan dalam memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya. Kemampuan mikroba endofit tersebut merupakan peluang untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya (Tan and Zou, 2001). Menurut Radji (2005) mikroba endofit mampu menghasilkan jumlah metabolit sekunder yang lebih tinggi dari tumbuhan

inangnya. Isolat mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan bisa dikembangkan hasil metabolit sekundernya tanpa membahayakan tanaman inang dalam jumlah yang besar.

Jenis mikroba yang ditemukan sebagai mikroba endofit adalah bakteri dan cendawan. Cendawan endofit dalam jaringan tanaman hidup dengan membentuk koloni tanpa membahayakan tanaman tersebut. Menurut Tan dan Zou (2001) di dalam jaringan tanaman, endofit membentuk interaksi yang saling menguntungkan. Keberadaan cendawan endofit didalam jaringan membantu tanaman dalam memproduksi senyawa metabolit yang dibutuhkan

kan oleh tanaman, sebaliknya endofit memperoleh nutrisi dan mendapat perlindungan dari tanaman tersebut.

Isolat cendawan endofit bisa diperoleh dari berbagai tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat-obatan dari golongan Familia Zingiberacea, seperti kunyit (*Curcuma domestica*), lengkuas (*Alpinia galanga*), jahe (*Zingiber officinale*) dan pacing yang lebih dikenal dengan nama sitawa (*Costus speciosus*).

Sitawa (*C. speciosus*) merupakan jenis tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat luka bekas gigitan serangga, kencing nanah, sipilis, disentri, diare dan bahan baku kontrasepsi (Gunadarma, 2013). Sitawa memiliki kandungan diosgenin, tanin, steroid, alkaloid dan fenol. Menurut Ariharan (2012) dalam Pawarand Pawar (2014) ekstrak daun Sitawa menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

Isolat cendawan endofit yang memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa antibakteri dari tanaman sitawa *C. speciosus* belum diketahui. Penelitian ini bertujuan memberikan pengetahuan mengenai isolat cendawan endofit daun *C. speciosus* yang berpotensi sebagai antibakteri, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan mengisolasi cendawan endofit pada daun sitawa (*Costus speciosus*) dan menguji potensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Padang bulan Mei - Juni 2016.

Alat dan bahan yang digunakan cawan petri, tabung reaksi, mikroskop, erlenmeyer, daun *Costus speciosus*, Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Yeast (PDY) dan Nutrient Agar (NA).

Isolasi jamur endofit

Daun sitawa yang segar dicuci dengan aquades dan disterilisasi secara aseptis permukaannya menggunakan alkohol 70% di dalam erlenmeyer 1000 mL selama 2 menit. Selanjutnya disterilisasi lagi dengan NaClO 5,25% selama 2 menit. Setelah itu dicuci dengan aquades steril selama 1 menit. Daun dipotong dengan ukuran 1cm x 1cm dan dikeringkan di atas kertas saring steril. Potongan sampel kemudian ditanam dalam medium PDA dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 27-29°C.

Pengamatan cendawan endofit

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat bentuk dan warna koloni dan mikroskopis dengan mengamati hifa dan spora cendawan endofit.

Pemurnian Cendawan endofit

Cendawan endofit tumbuh dipindahkan ke media PDA lainnya untuk dimurnikan dan disimpan pada suhu ruang selama 48 jam.

Produksi Antibiotik Cendawan Endofit

Produksi antibiotik cendawan endofit dengan memfermentasi dalam medium cair menggunakan PDY (Potato Dextrose Yeast). Koloni murni cendawan endofit pada cawan petri yang telah diinkubasi selama 5-7 hari, selanjutnya diinokulasikan ke dalam media fermentasi cair PDY sebanyak 20 mL dalam erlenmeyer 100 mL. Dilakukan fermentasi dengan rotary shaker dengan kecepatan 130 rpm pada suhu 27-29°C selama 10 hari. Kultur yang telah difermentasi dimasukkan dalam tabung reaksi ukuran 15 mL dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Suspensi ini digunakan untuk uji aktivitas antibakteri sebagai larutan uji berupa supernatant.

Peremajaan *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* sebanyak 1-2 ose diinokulasikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 5 mL dan dihomogenkan dengan vortex, kekeruhan

nya diseragamkan dengan menggunakan standart McFarland 0,5 (kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$). Inokulasi bakteri dituangkan pada medium NA dan diratakan dengan *drill glass*.

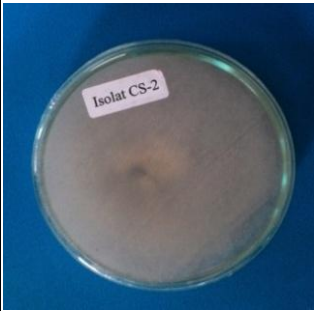
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer (metode kertas cakram). Pengujian dilakukan dengan tiga ulangan. Pengamatan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Cendawan Endofit

Hasil isolasi cendawan endofit daun sitawa *C. speciosus* didapatkan tiga isolat, yaitu isolat CS-1, CS-2 dan CS-3. Isolat yang didapatkan dibedakan berdasarkan bentuk karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis.

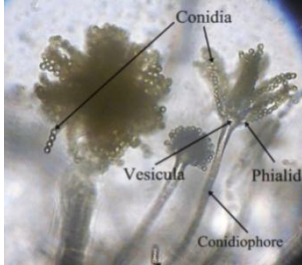
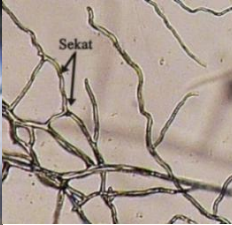
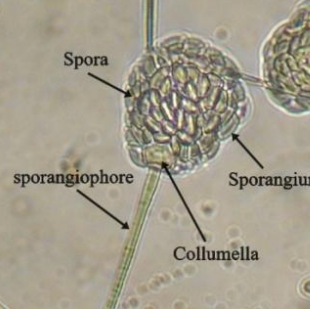

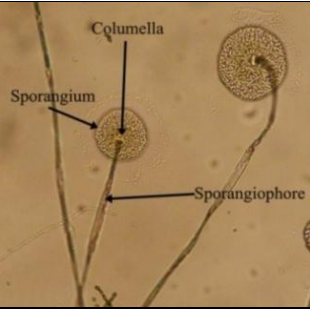

Tabel 1. Karakter Makroskopis Cendawan Endofit dari *C. speciosus*

Gambar Makroskopis	Ciri - ciri
<p>Isolat CS-1</p> 	<p>Koloni memiliki bentuk <i>filamen</i> dengan warna putih. Permukaan koloni <i>umbonate</i> dan pinggiran <i>undulat</i>.</p>
<p>Isolat CS-2</p> 	<p>Koloni memiliki bentuk <i>filamentous</i> warna putih keabu-abuan. Permukaan koloni <i>elevation raised</i> dan pinggiran <i>filamentous</i>.</p>
<p>Isolat CS-2</p>	<p>Koloni memiliki bentuk <i>rhizoid</i></p>



dan berwarna putih. Permukaan koloni *umbonate* dan pinggiran koloni *curled*.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Mikroskopis Cendawan Endofit dari *C. speciosus*

Isolat	Hifa
	
<p>Keterangan : Isolat CS-1, perbesaran 40x10. Conidia bulat. Vesicula bulat. Phialid menempel langsung pada vesikel. Hifa bersekat.</p>	
	
<p>Keterangan : Hifa Isolat CS-2 dengan perbesaran 40 x 10. Sporangiohore tegak, spora lonjong panjang, memiliki collumella. Hifa bersekat.</p>	
	

Keterangan :

Isolat CS-3 dengan perbesaran 10 x 10. Hifa dengan perbesaran 40x10. Sporangiofere tegak, sporangium bulat, spora halus. Collumella berbentuk bulat. Hifa tidak bersekat.

Keragaman endofit yang didapatkan dihubungkan dengan kondisi mikrohabitat tanaman inang dan kecocokan genotip antara tanaman inang dengan endofit. (Petrini *et al.* 1992 dalam Safitri (2011).

Isolat CS-1

Isolat CS-1 pada pengamatan mikroskopis conidiophore tidak bercabang, vesicula berbentuk bulat, phialid terbentuk langsung pada vesikel, konidia berbentuk bulat, hifa bercabang dan bersekat. Salah satu ciri yang terlihat pada pengamatan mikroskopis yaitu vesicula berbentuk bulat, phialid terbentuk langsung pada vesikel. Ciri ini menunjukkan salah satu ciri khas yang dimiliki oleh genus *Aspergillus* yang memiliki bagian ujung conidiofor membesar atau menggelembung, ujung ini dinamakan dengan vesicula (Samson and Ellen, 2004). Berdasarkan ciri tersebut dapat dikatakan isolat CS-1 kemungkinan termasuk kedalam genus *Aspergillus*.

Isolat CS-2

Isolat CS-2 pada pengamatan mikroskopis sporangiofere tegak, spora lonjong panjang, memiliki collumella, hifa bersekat dan bercabang. Hasil yang diamati, karakter isolat CS-3 memiliki ciri yang hampir sama dengan ciri yang ditunjukkan oleh *Mortierella*. Menurut Watanabe (2011) genus *Mortierella* memiliki sporangiofere tegak dan bercabang dan collumella bulat. Sporangiofores hialin, sehingga dapat dikatakan bahwa isolat CS-3 kemungkinan termasuk kedalam genus *Mortierella*.

Isolat CS-3

Isolat CS-3 pada pengamatan mikroskopis memiliki sporangium seperti kipas, conidiophore tidak bercabang. Sporangium bulat, spora halus dan teratur. Collumella berbentuk bulat, hifa tidak bersekat dan bercabang. Berdasarkan ciri yang diamati,

karakter morfologi isolat CS-3 memiliki ciri hampir sama dengan ciri genus *Mucor*. *Mucor* merupakan salah satu genus dari *Zygomycota*. Menurut Watanabe (2011) genus *Mucor* memiliki ciri sporangiofere tegak dan ada yang bercabang, sporangia bulat, collumella memiliki bentuk bulat dan elips. Sehingga dapat dikatakan isolat CS-3 kemungkinan termasuk kedalam genus *Mucor*.

Hasil Uji Potensi Antibakteri

Hasil uji potensi antibakteri ketiga isolat cendawan endofit menunjukkan adanya zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata – Rata Zona Bening Isolat Cendawan Endofit terhadap *S.aureus*

Isolat	Zona bening (mm)
Cakram steril	-
Amoxilin	28,6
Isolat CS-1	12,1
Isolat CS-2	12,5
Isolat CS-3	9,7

Potensi antibakteri isolat cendawan endofit *C.speciosus* terhadap bakteri *S.aureus* dilihat berdasarkan zona bening yang terbentuk. Apabila disekitar kertas cakram membentuk zona bening berarti isolat cendawan endofit *C.speciosus* mampu menghasilkan antibakteri. Menurut Pelczar and Chan (1988) semakin tinggi zat antibakteri yang dihasilkan maka semakin tinggi daya hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening.

Hasil uji ketiga isolat cendawan endofit memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Perbedaan zona bening pada masing-masing isolat diduga karena perbedaan konsentrasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh ketiga isolat tersebut. Selain itu juga oleh adanya perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan masing-masing isolat.

Melihat kemampuan isolat cendawan endofit dalam menghambat bakteri uji

maka dapat dikatakan bahwa isolat–isolat cendawan endofit ini memiliki potensi sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

Didapatkan tiga isolat cendawan endofit dari daun sitawa (*Costus speciosus* (Koen.) J.E Smith) yaitu isolat CS-1 (*Aspergillus*), CS-2 (*Mortierella*) dan CS-3 (*Mucor*). Ketiga isolat cendawan endofit dari daun sitawa memiliki potensi sebagai antibakteri.

Menganalisis senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat cendawan endofit dari daun (*Costus speciosus* (Koen.) J.E Smith).Melakukan uji antibakteri terhadap jenis-jenis patogen lain, agar dapat dikembangkan sebagai bahan antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunadarma. 2013. **Tanaman Obat**. <ftp://ftp.gunadarma.ac.id> diakses 28 Mei 2013
- Pawar, V.A and Pawar P.R. 2014. **Costus speciosus : An Important Medicinal Plant**.International Journal of Science and Research (IJSR). Vol 3 : 1-6
- Pelczar, M. J. Jr, and Chan, E. C. S. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Cetak ke-1**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Raju, J. and R. Mehta. 2009. **Cancer Chemopreventive And Therapeutic Effects Of Diosgenin, A Food Saponin**. Nutr Cancer 61(1): 27-35
- Safitri, L. Yohana. 2015. **Isolasi Cendawan Endofit Dari Daun Bambu Betung (*Dendrocalamus Asper* Baker) dan Potensi Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus***. FMIPA UNP : Padang
- Samson, R.A., Ellen S.H., and Jens C.F. 2004. **Introduction to Food and Airborne Fungi, 7th ed**. Ponsen & Looyen. Netherlands
- Strobel GA. 2003. **Natural Products From endophytic Microorganism**. Journal of Natural Products 2004. 67
- Tan and Zou. 2001.**Endophytes: A Rich Source Of Functional Metabolites**. This journal is The Royal Society of Chemistry. Vol.18. Hlm 448–459
- Watanabe, T. 2011. **Pictorial Atlas of Soil And Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species**. Second Edition. CRC Press : Washington, D.C