

IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT PADA DAUN CINCAU (*Cyclea barbata Miers*) dan UJI ANTAGONIS TERHADAP *Salmonella typhi*

*Khusnul, Hera Sova Wahyuni, Dewi Peti Virgianti
Program Studi D-III Analis Kesehatan
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Banyak mikroba yang dapat menyebabkan penyakit, seperti *Salmonella typhi* yang merupakan salah satu bakteri penyebab demam tifoid. Beberapa peneliti menyebutkan bahwa dalam daun cincau terdapat senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Tetapi penggunaan tanaman secara terus-menerus tanpa adanya pelestarian dapat merusak ekosistem tanaman itu sendiri. Jamur endofit dapat dijadikan solusi dalam penemuan antimikroba baru karena dapat diproduksi secara berkesinambungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi jamur endofit dari daun cincau (*Cyclea barbata Miers*) yang mempunyai potensi antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Metode yang digunakan pada penelitian ini bersifat deskriptif. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi jamur endofit dari daun cincau kemudian diidentifikasi dan di uji antagonis terhadap *Salmonella typhi* dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 3 isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari daun cincau (*Cyclea barbata Miers*) yaitu 2 isolat dari genus *Aspergillus* sp. dan 1 isolat dari genus *Absidia* sp, yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Zona hambat yang dihasilkan dari setiap isolat jamur endofit adalah sebesar 22 mm, 21 mm dan 20 mm, dengan zona hambat tertinggi dihasilkan dari isolat jamur endofit genus *Aspergillus* sp.

Kata kunci: Jamur Endofit, Daun Cincau (*Cyclea barbata Miers*), Antimikroba

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki 2 musim yaitu hujan dan kemarau, selain itu Indonesia juga terletak di garis khatulistiwa sehingga memiliki tanah yang subur dan memiliki banyak jenis tanaman yang bisa digunakan sebagai bahan pangan, sandang dan banyak juga yang digunakan untuk bahan membuat obat-obatan atau antibiotik terhadap mikroorganisme patogen. Selain memiliki tanah yang subur, Indonesia juga merupakan negara berkembang dengan tingkat kesehatan yang rendah. Indonesia memiliki berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh mikroba seperti bakteri, jamur virus dan lainnya, tetapi dari semua jenis mikroba tersebut terdapat salah satu mikroba yang bermanfaat untuk kita yaitu mikroba endofit (Wirjohamidjojo, 2010).

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup dalam jaringan tanaman seperti daun, ranting, cabang kecil atau akar yang dapat membuat koloni di dalam jaringan. Tanaman tersebut tidak membahayakan inangnya. Mikroba endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder dari tanaman inangnya (Gandjar *et.al*, 2006).

Jenis tanaman yang tersebar di seluruh permukaan bumi, masing-masing tanaman dapat mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari jamur atau bakteri. Oleh sebab itu jika mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, maka kita tidak memerlukan banyak tanaman aslinya sebagai bahan baku. Penggunaan tanaman untuk pembuatan obat dengan cara terus-

menerus tanpa ada upaya pelestarian di khawatirkan dapat merusak sumber daya hayati yang ada, oleh sebab itu dilakukan upaya untuk memanfaatkan sumber daya yang ada tanpa merusak ekosistemnya. Salah satunya adalah dengan cara memanfaatkan senyawa metabolit pada tanaman yang dihasilkan oleh mikroba (Radji, 2005).

Tanaman bisa dijadikan sebagai bahan pengobatan tradisional hal tersebut telah diketahui oleh masyarakat. Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih menggunakan tanaman untuk pengobatan tradisional. Bagian yang digunakan untuk pembuatan obat biasanya berasal dari daun, tangkai, buah, akar, kulit buah maupun biji. Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk bahan obat adalah daun cincau (Radji, 2005).

Daun cincau (*Cyclea barbata Miers*) digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu bahan pembuatan obat, salah satunya bisa digunakan untuk pengobatan penurunan panas, radang lambung, penurunan tekanan darah tinggi, diabetes melitus dan digunakan juga untuk obat tifus. Hal tersebut bisa dilakukan karena daun cincau memiliki senyawa yang bersifat antimikroba (Permanasari, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Arifan Asmardi *et.al*, (2014), ekstrak daun cincau terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* diperoleh diameter zona hambat tertinggi 15,89 mm pada konsentrasi 100% dan diameter

terendah 6,85 mm pada konsentrasi 10%. Hal ini dapat dijadikan sebagai dasar pemanfaatan daun cincau untuk diambil mikroba endofitnya untuk mengetahui potensi metabolit jamur endofit yang ada pada daun cincau dengan cara uji antagonis terhadap mikroba patogen *Salmonella typhi*.

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti tertarik untuk mengisolasi mikroba endofit khususnya jamur endofit dari daun cincau (*Ciclea barbata Miers*) untuk diuji antagonis terhadap *Salmonella thypi*.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian ini termasuk ke dalam penelitian yang bersifat deskriptif. Penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi STIKes BTH Tasikmalaya. Penelitian yang dilakukan adalah identifikasi jamur endofit pada daun cincau dan untuk mengetahui daya hambatnya terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

B. Instrumen

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, batang pengaduk, cakram, cawan petri, erlenmeyer, *hot plate*, inkubator, kaca arloji, kertas payung, lampu spiritus, ose bulat, oven, pinset, rak tabung reaksi, tabung reaksi dan timbangan analitik.

C. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, akuades, biakan bakteri *Salmonella typhi*,

antibiotik kloramfenikol, larutan NaOCl 1%, media Muller Hinton Agar, media *Sabouraud Dextrose Agar*, sampel daun cincau.

D. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Daun cincau yang digunakan diambil di depan Laboratorium Mikrobiologi STIKes BTH Tasikmalaya. Daun cincau yang diambil cukup tua, bersih dan warnanya mengkilap. Dipilih daun yang berukuran 11-15 cm, karena pada saat itu kadar bahan aktifnya sudah tinggi. Pengambilannya dilakukan pada pagi hari dan memetikanya dari bawah ke atas (Azizah, 2008).

2. Isolasi Jamur Endofit

- a. Mencuci daun Cincau (*Cyclea barbata*) dengan air mengalir, lalu dipotong sekitar 3 cm².
- b. Setelah pencucian, melakukan sterilisasi permukaan dengan memasukkannya ke dalam larutan alkohol 70 % selama 5 menit.
- c. Kemudian memasukan ke dalam larutan NaOCl 1 % selama 5 menit kemudian dibasuh kembali dengan akuadest steril.
- d. Daun cincau yang telah disterilkan dikeringkan dengan tissue steril.
- e. Kemudian di tanam pada media SDA selama 5-7 hari

pada suhu 27⁰C pada inkubator (Ganjar, 2014).

3. Pemurnian Jamur Endofit

- a. Jamur yang telah tumbuh pada media SDA dari setiap koloni dengan ciri yang berbeda kemudian dipindahkan pada media SDA yang baru.
- b. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 25⁰ C.
- c. Setelah itu melakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni.
- d. Setiap koloni yang memiliki ciri berbeda bentuk atau warnanya kemudian dimurnikan lagi pada media SDA baru sampai koloni yang tumbuh murni (Indriana, 2005.)

4. Identifikasi Jamur Endofit secara Makroskopis

Jamur endofit yang telah berhasil diisolasi kemudian diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dengan melihat secara langsung bentuk dan warna koloni.

5. Identifikasi Jamur Endofit secara Mikroskopis

Secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler pada perbesaran 100x dan 400x. Cara mengidentifikasi jamur metode slide kultur sebagai berikut:

- a. Disiapkan cawan petri steril yang telah diberikan kertas

saring steril didalamnya sesuai dengan ukuran cawan petri yang digunakan.

- b. Pada cawan petri tersebut didalamnya di simpan batang penyangga untuk meletakkan objek glass steril.
- c. Balok agar steril berukuran 1 cm kuadrat dipotong dari medium SDA dalam cawan petri steril kemudian diletakkan di atas objek glass.
- d. Jamur di inkubasi pada balok agar yang di simpan pada objek glass tersebut dan ditutup oleh cover glass.
- e. Diinkubasi selama 3 hari pada suhu 27⁰C.
- f. Morfologi jamur (bentuk dan ukuran hifa, konidia, spora) yang terbentuk diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x - 400x (Hamdiyati, 2012).

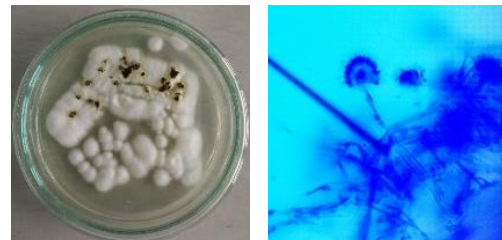
6. Uji Antagonis Jamur Terhadap *Salmonella typhi*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan uji antagonis metode difusi agar. Sebelumnya disediakan agar Muller Hinton kemudian diinokulasikan bakteri *Salmonella typhi* dengan kepadatan 1 Mc Farland membentuk goresan pada agar tersebut. Pada isolat jamur endofit dari daun cincau yang telah tumbuh pada media SDA diambil sedikit bagian agar yang telah

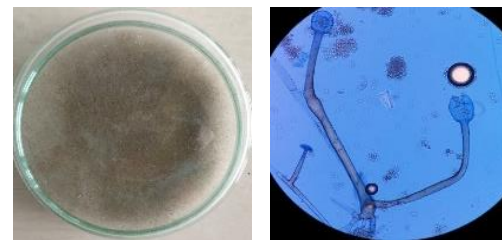
ditumbuhi jamur dengan menggunakan tabung steril berdiameter 5 mm. Bagian agar tersebut diletakkan di tengah-tengah media Muller Hinton yang telah diinokulasikan bakteri *Salmonella typhi*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C (Virgianti, 2015).

HASIL PENELITIAN

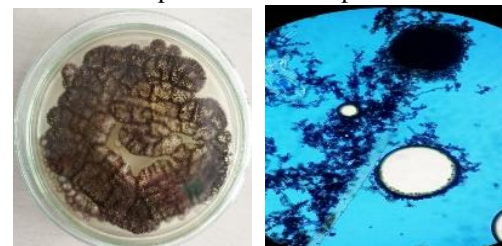
Berdasarkan hasil identifikasi didapatkan jumlah total isolat jamur endofit yang dari daun cincau terdapat 3 isolat yaitu Isolat C1 *Aspergillus* sp, Isolat C2 *Absidia* sp dan Isolat C3 adalah *Aspergillus* sp. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis jamur endofit tersebut seperti gambar 1 dibawah ini.



Makroskopis dan mikroskopis isolat C1



Makroskopis dan mikroskopis isolat C2



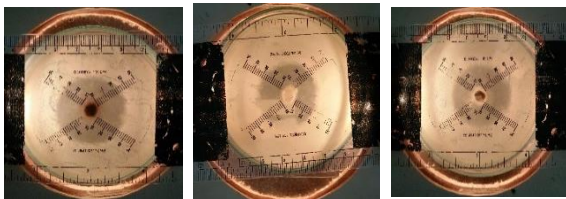
Makroskopis dan mikroskopis isolat C3

Gambar 1. Hasil Identifikasi Jamur Endofit dari Daun Cincau (*Cyclea barbata Miers*)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dari hasil uji antagonis antara jamur endofit dari daun cincau pada *Salmonella typhi* didapatkan diameter zona hambat (dalam mm) diukur menggunakan jangka sorong dengan metode Kirby bauer. Adapun rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2 berikut.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat pada uji antagonis jamur endofit daun cincau terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Isolat	Rerata zona hambat	Keterangan
C1	22 mm	Menghambat
C2	21mm	Menghambat
C3	20 mm	Menghambat



Gambar 2. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh jamur endofit dari daun cincau terhadap *Salmonella typhi*

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun cincau (*Cyclea barbata Miers*) didapatkan isolat jamur sebanyak tiga isolat. Hal tersebut dapat membuktikan bahwa di dalam jaringan daun cincau (*Cyclea barbata Miers*) dapat ditemukan jamur endofit. Worang 2003 menyatakan bahwa jamur endofit berada di dalam jaringan tumbuhan seperti daun, ranting, bunga maupun akar tumbuhan.

Identifikasi dilakukan dengan petunjuk klasifikasi menurut Luis M *et al.*, (1997).

Sebelumnya telah dilakukan identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis dengan melihat petunjuk klasifikasi menurut Luis M *et al.*, (1997). Hasil identifikasi tersebut adalah ditemukannya jamur endofit dengan genus *Aspergillus* sp dan *Absidia* sp. Semua isolat jamur endofit yang didapatkan dari daun cincau ternyata semuanya terbukti masuk ke dalam kelas Ascomycetes.

Berdasarkan hasil uji antagonis jamur endofit terhadap bakteri *S. typhi*. didapatkan diameter zona hambat. Pengamatan zona hambat dilakukan setelah bakteri *S. typhi* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Isolat yang memiliki potensi menghambat *S. typhi* dengan diameter tertinggi adalah isolat C1 yaitu 22 mm.

Bauer *et al.*, (1966) dalam Volk (1993) menyebutkan bahwa antibiotik Kloramfenikol pada gram negatif dikatakan peka jika zona hambat yang dihasilkan lebih dari 17 mm, Vankomisin lebih dari 11 mm, Tetrasiklin lebih dari 18 mm, Streptomisin lebih dari 14 mm dan Basitrasin lebih dari 12 mm. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa antibiotik yang dihasilkan dari metabolit jamur endofit dapat dikategorikan antibiotik yang peka.

Hal tersebut membuktikan bahwa metabolit sekunder dari jamur endofit yang berasal dari daun cincau dapat berpotensi sebagai antibakteri. Pernyataan tersebut didukung oleh pendapat Carrol

(1998) dalam Worang (2003) yang menyatakan bahwa jamur endofit dapat menghasilkan mikotoksin, enzim dan antibiotika. Seperti jamur endofit *Aspergillus* sp. dari tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan *Xanthomonas albilineans* L. penyebab penyakit vaskular bakteri, dengan diameter zona hambat sebesar 4,40 mm (Wahyuni *et al*, 2016).

Pernyataan tersebut membuktikan bahwa jamur endofit yang berhasil diisolasi dan diteliti potensi antibakterinya ini juga menghasilkan metabolit sekunder yang sesuai dengan yang dihasilkan dengan inangnya dalam hal ini adalah daun cincau (Radji, 2005). Secara umum kandungan daun cincau adalah karbohidrat, lemak, protein, dan senyawa aktif lainnya seperti polifenol, flavonoid serta mineral-mineral dan vitamin (Hatta S, 1995). Brooks *et al.*, menyatakan bahwa fenol merupakan zat antibakteri atau antikuman yang kuat yang dapat menyebabkan denaturasi protein pada bakteri. Dengan demikian dapat dimungkinkan jamur endofit dari daun cincau mengandung senyawa aktif fenol.

Fenol bekerja dengan merusak membran plasma sehingga enzim menjadi inaktif dan menyebabkan denaturasi protein. Suatu sel dapat hidup bergantung pada molekul-molekul dan asam nukleat yang ada pada tubuhnya. Jika terjadi denaturasi protein dan asam nukleat maka kerusakan sel tersebut tidak dapat diperbaiki kembali (Pelczar, 1988). Apabila digunakan dalam konsentrasi

tinggi fenol dapat merusak membran siloplasma secara total. Akan tetapi apabila dalam konsentrasi 0,1% sampai 2% fenol akan merusak membran sitoplasma dan menyebabkan menginaktifkan sistem enzim bakteri (Volk, 1993).

Berdasarkan hal tersebut dapat dibuktikan bahwa jamur endofit memiliki peran penting dalam pertumbuhan bakteri karena didalam jamur endofit tersebut terdapat metabolit sekunder yang didapatkan dari inangnya. Kemungkinan besar adanya zat aktif yang sama dengan tanaman tersebut karena rekombenasi genetik yang terjadi antara jamur endofit dengan tumbuhan inangnya dalam waktu yang cukup lama (Azevedo *et al*, 2000).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sebanyak 3 isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari daun cincau (*Cyclea barbata* Miers). Hasil uji antagonis terhadap bakteri *Salmonella typhi* ditemukan sejumlah 3 isolat jamur pada konsentrasi 100 % memiliki potensi menghasilkan senyawa antibakteri.

SARAN

Berdasarkan dari hasil penelitian penyusun memberikan saran agar melakukan identifikasi lebih lanjut terhadap jamur endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri, melakukan pengujian terhadap berbagai jenis bakteri untuk diuji antagonis dengan jamur endofit dan melakukan karakterisasi

terhadap komponen aktif dari jamur endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifan, at.al. 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Cyclea barbata (L.) Miers. Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Salmonella typhi*. Jurnal JOM FMIPA, Vol. 1.
- Azevedo, et al. 2000. *Plant Biotechnology Enviromental Biotechnology, Endophytic Microorganisms*. Jurnal Elektronik Bioteknologi, Vol. 3, No. 1.
- Azizah, Netty Nur. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Penghasil Antibakteri terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Malang.
- Gandjar, Indrawati Roosheroe, et.al. 2014. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia: Jakarta.
- Hamdiyati, Yanti. 2012. *Cara Membuat Slide Culture*. Jurnal Bioedukasi.
- Hatta S.1995. *Budidaya Cincau*. Kamisius: Yogyakarta.
- Indriana, Heny H. 2005. *Eksplorasi Jamur Endofit Antagonis Terhadap Phytophthora spp. Penyebab Pebyakit Busuk Pada Batang Jeruk*. Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Luis M, et al. 1997. *Color Atlas of Diagnostic Microbiology*. Mosby-Year Book, Inc.
- Noverita at.al. 2009. *Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun Dan Rimpang Zingiber Ottensil Val*. Jurnal Farmasi Indonesia, Vol. 4, Hal 171-176.
- Pelczar, et al. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edisi 2, Terjemahan Ratna Siri H, Teja Imas, S. Sutarmi dan Sri Lestari A. Jakarta: UI-Press.
- Permanasari, Dimes Atika. 2016. *Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (Cyclea barbata Miers) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm Bakteri Salmonella typhi*. Journal of Agromedicine and Medical Sciences, Vol. 2.
- Petrini, et al. 1992. *Ecology Metabolit Production and Substrat Utilization in Endophytic Fungi*. Natural Toxins 1:185-196.
- Radji, M. 2005. *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. Majalah Ilmu Kefarmasian.
- Virgianti, Dewi Peti. 2015. *Uji Antagonis Jamur Tempe (Rhizofus Sp) terhadap Bakteri Patogen Enterik*. Jurnal Biosfera, vol.32, Hal 162.
- Volk, et al. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.

- Wahyuni, et al. 2016. *Identifikasi dan Antagonisme Jamur Endofit Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.) dalam Menghambat Xanthomonas albilineans L. Penyebab Penyakit Vaskular Bakteri*. Jurnal Pertanian Tropik, Vol. 3, No.1, Hal 31-42.
- Wirjohamidjojo, Soerjadi, dan Yunus Swarinoto. 2010. *Iklm Kawasa Indonesia (Dari Aspek CDinamik - Sinopatik)*. Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika: Jakarta.
- Worang, RI. 2003. *Fungsi Endofit Sebagai Penghasil Antibiotika*. Makalah Pengantar Falsafah Sains Program Pasca Sarjana Institusi Pertanian Bogor.