

ISOLASI FUNGI ENDOFIT DARI *Melastoma malabathricum* L. DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIFUNGI

ISOLATION OF FUNGAL ENDOPHYTES FROM *Melastoma malabathricum* L. AND THEIR POTENTIAL AS ANTIFUNGAL

Rusi Octavianti¹, Israwati Harahap², Elsie²

¹ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

² Universitas Muhammadiyah Riau

Email: rusi_octavianti@yahoo.com, israwatiharahap@umri.ac.id, elsie@umri.ac.id

ABSTRACT

The aim of this study was to isolation the endophytic fungi from medicinal plant *Melastoma malabathricum* L. and to investigate their potential antifungal activity. Isolation endophytic fungi was carried out using surface sterilized method. The fungal extracts were assessed for antifungal activity against *Candida albicans* using agar well diffusion method. A total of 28 isolates fungal endophytes from leaves, stems, flowers and roots of *Melastoma malabathricum* L. The results showed that of twelve have strong category within inhibit growth of *C. albicans*. Isolate 18 isendophytic fungi who produced the largest zones of inhibit is 19 mm.

Keywords: antifungal, fungi, Endophyte, *Melastomamalabathricum* L.

PENDAHULUAN

Candida albicans merupakan salah satu cendawan patogen yang sering menginfeksi dan menyebabkan berbagai penyakit pada manusia diantaranya keputihan, sariawan, candida pada urin (candiduria) dan gastrointestinal candidiasis. Resistensi antibiotik terhadap *C. albicans* menuntut adanya upaya untuk penemuan antibiotik baru yang lebih efektif dengan toksisitas yang rendah. Jenis antibiotik baru dapat diperoleh dengan cara sintesis kimia maupun dengan eksplorasi atau penemuan isolat mikroba baru (Tschertter & Dreyfus, 1992). Salah satu mikroba yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yaitu cendawan endofit. Cendawan endofit hidup dan berasosiasi di dalam jaringan tumbuhan tanpa menyebabkan gejala penyakit (patogen) ataupun merugikan inangnya. Kemampuan cendawan endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif merupakan potensi yang dapat dikembangkan, mengingat

umumnya senyawa aktif diperoleh dengan cara mengekstraksi tumbuhan, khususnya tumbuhan obat.

Setiap tumbuhan di muka bumi dapat mengandung satu atau lebih cendawan endofit, salah satunya yaitu pada senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Senduduk merupakan salah satu tumbuhan obat yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Secara tradisional senduduk digunakan untuk mengobati diare, disentri, keputihan, sariawan, sakit gigi dan perut kembung (Sulaiman *et al.* 2004; Sunilson *et al.*, 2009 dan Jofry *et al.*, 2011). Hasil penelitian Alwash *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun senduduk bersifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei* dan *Bacillus subtilis*. Senduduk mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin (Hariaman, 2008) yang diketahui mampu menghambat *C. albicans*

(Kusumaningtyas *et al.*, 2008). Menurut Zhao *et al.* (2010), cendawan endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan senyawa yang dihasilkan oleh inangnya dan membuka peluang untuk menghasilkan senyawa bioaktif. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh isolat cendawan endofit yang potensial sebagai antifungi asal tumbuhan senduduk (*M. malabathricum* L.).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juni 2016. Sampel daun, batang, bunga dan akar senduduk (*M. malabathricum* L.) diambil dari Jl. Garuda Sakti dan Perkebunan kelapa sawit di daerah Tapung, Kampar. Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *Laminar Air Flow* (ESCO), *oven* (Model 655F), *incubator* (Mettler), *autoclave* (All American), timbangan analitik (Mettler AE 200), *hot plate* (Wise Stir Laboratory Instrumens MSH-20D), *shaking incubator* (Daihan, Lab Tech), *micropipet* (Bio-Rad) dan Tip, cawan Petri (Normax), tabung reaksi (Iwaki), *beaker glass*, erlenmeyer (Iwaki), jarum ose, *cutter* dan bunsen. Bahan yang digunakan yaitu *Malt Extract Agar* (MEA, Merck), *Potato Dextrose Yeast* (PDY), *Potato Dextrose Broth* (PDB), etanol 70%, Natrium Hypochlorite (NaOCl) 1% dan antibiotik kloramfenikol. Cendawan uji yang digunakan yaitu *Candida albicans*.

Isolasi cendawan endofit yang dimodifikasi dari Okane *et al.* (2008). Sampel daun, batang, bunga dan akar senduduk (*M. malabathricum* L.) segar dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya di bawah air mengalir dan dipotong secara aseptik dengan ukuran 1 - 3 cm. Seluruh sampel disterilisasi permukaan dengan cara

direndam ke dalam larutan etanol 70% selama 1 menit, natrium hipoklorit 1% selama 2 menit, etanol 70% selama 30 detik dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Sebanyak 5 ml dari aquades bilasan terakhir diambil dan diisolasikan ke dalam cawan petri yang telah berisi media MEA untuk dijadikan blanko pada uji sterilisasi permukaan. Selanjutnya, sampel senduduk dikeringkan dengan menggunakan tisu steril selama ± 3 jam. Sampel senduduk diinokulasikan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media MEA yang telah diberi antibiotik kloramfenikol (0,25 g/100 ml). Setiap cawan petri berisi 6 potongan sampel organ tumbuhan senduduk. Masing-masing sampel diinokulasi dengan 3 kali pengulangan (Triplo). Selanjutnya, seluruh cawan Petri yang telah diinokulasi sampel senduduk diinkubasi pada suhu 25 - 30 °C selama 5 - 7 hari.

Pemurnian cendawan endofit dilakukan pada setiap koloni cendawan yang dianggap berbeda berdasarkan morfologi makroskopis yang dapat dilihat dari warna koloni (permukaan depan dan belakang), tepi koloni dan pola koloni (depan dan belakang). Cendawan yang dianggap berbeda secara morfologi makroskopis, diambil hifa-hifanya dengan menggunakan jarum ose dan dipindahkan ke media MEA yang baru dengan cara menusukkan jarum ose ke media tidak terlalu dalam. Cendawan yang telah diinokulasi, selanjutnya diinkubasi selama 5 - 7 hari pada suhu 25 - 27 °C.

Fermentasi isolat cendawan endofit menggunakan media PDB. Sebanyak 6 potongan koloni isolat cendawan endofit diambil dari cawan Petri dengan menggunakan sedotan steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml media PDB. Selanjutnya diinkubasi di dalam *shaking incubator* selama 21 - 28 hari pada suhu 28 °C dengan kecepatan 120 ppm.

Sebanyak satu ose koloni *C. albicans* diinokulasikan dalam tabung

reaksi yang telah berisi 10 ml media PDY cair, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 - 48 jam.

Pengujian aktivitas antifungi dilakukan dengan metode sumuran dan menggunakan media PDY Agar. *C. albicans* berumur 18 - 24 jam yang sudah ditumbuhkan pada media PDY cair diambil dengan menggunakan *cutton bud*. Selanjutnya, *cutton bud* dicelupkan ke dalam tabung reaksi dan ditekan perlahan pada dinding tabung reaksi agar *cutton bud* tidak terlalu basah, kemudian di *swab* secara horizontal pada media PDY Agar yang sudah memadat. Setelah itu, media PDY Agar dilubangi dengan menggunakan sedotan steril yang berdiameter 6 mm. Setiap cawan Petri berisi 3 sumuran yang masing-masing sumuran berisi 0,1µl hasil fermentasi isolat cendawan endofit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang dan diamati zona hambat yang terbentuk selama 24 - 48 jam. Zona hambat yang terbentuk pada setiap isolat selanjutnya diukur diameternya. Diameter zona hambat diperoleh dengan cara mengukur selisih diameter zona hambat (mm) dengan diameter sumuran (mm) (Azoro, 2002).

Data hasil penelitian berupa data kualitatif dan kuantitatif yang disusun dalam bentuk tabel dan gambar. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif meliputi pengamatan morfologi makroskopis isolat cendawan endofit yang diperoleh dari daun, batang, bunga dan akar tumbuhan senduduk (*M. malabathricum* L.) dan hasil pengamatan pada uji aktivitas antifungi. Data kuantitatif meliputi hasil pengukuran diameter zona hambat pada pengujian aktivitas antifungi dengan metode sumuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Cendawan Endofit

Hasil isolasi cendawan endofit dari daun, batang, bunga dan akar

tumbuhan senduduk (*M. malabathricum* L.) yaitu diperoleh sebanyak 28 isolat cendawan endofit. Keberadaan isolat cendawan endofit sangat bervariasi. Beberapa isolat hanya ditemukan pada satu organ tumbuhan saja dan beberapa isolat dapat ditemukan pada satu atau lebih organ tumbuhan senduduk. Isolat cendawan endofit yang ditemukan pada kedua lokasi pengambilan sampel yaitu sebanyak 18 isolat ditemukan pada daun (isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22 dan 26); pada batang ditemukan 18 isolat (isolat 1, 2, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24 dan 25); 9 isolat pada bunga senduduk yang terdiri dari isolat 1, 7, 9, 11, 13, 19, 20, 26 dan 28 dan 12 isolat ditemukan pada akar tumbuhan senduduk yaitu isolat 1, 4, 6, 11, 13, 15, 16, 19, 22, 23, 25 dan 27 (Tabel 1). Berdasarkan isolasi yang telah dilakukan, tumbuhan senduduk menghasilkan lebih dari satu cendawan endofit. Seperti yang dikemukakan oleh Tan & Zou (2001) dan Noverita *et al.* (2009) bahwa setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat menghasilkan satu atau lebih cendawan endofit spesifik.

Tabel 1. Hasil Isolasi Cendawan Endofit dari Tumbuhan Senduduk (*M. malabathricum* L.) dan pertumbuhan diameter koloninya.

No.	Isolat	Organ Tumbuhan				Diameter Hari ke-7 (cm)
		BS	DS	FS	AS	
1	Isolat 1	√	√	√	√	
2	Isolat 2	√	√	-	-	
3	Isolat 3	-	√	-	-	4,4
4	Isolat 4	√	√	-	√	
5	Isolat 5	-	√	-	-	
6	Isolat 6	√	√	-	√	7,8
7	Isolat 7	√	√	√	-	
8	Isolat 8	-	√	-	-	4,9
9	Isolat 9	-	√	√	-	3,0
10	Isolat 10	√	-	-	-	9,0
11	Isolat 11	√	-	√	√	
12	Isolat 12	-	√	-	-	
13	Isolat 13	√	-	√	√	
14	Isolat 14	√	√	-	-	7,9
15	Isolat 15	√	-	-	√	
16	Isolat 16	√	√	-	√	8,4

17	Isolat 17	✓	✓	-	-	
18	Isolat 18	✓	✓	-	-	4,1
19	Isolat 19	✓	-	✓	✓	9,0
20	Isolat 20	✓	✓	✓	-	
21	Isolat 21	-	✓	-	-	4,7
22	Isolat 22	-	✓	-	✓	4,6
23	Isolat 23	✓	-	-	✓	2,6
24	Isolat 24	✓	-	-	-	2,2
25	Isolat 25	✓	-	-	✓	
26	Isolat 26	-	✓	✓	-	
27	Isolat 27	-	-	-	✓	4,0
28	Isolat 28	-	-	✓	-	4,8

Keterangan : DS: Daun Senduduk; BS: Batang Senduduk; FS: Flower Senduduk; AS: Akar Senduduk; ✓: ditemukan; - : tidak ditemukan

Dua puluh delapan isolat cendawan endofit yang diperoleh dari penelitian ini diamati morfologi makroskopisnya yakni dari warna koloni pada permukaan atas (*surface*) dan bawah (*reverse*), tepi koloni, bentuk koloni, tekstur koloni and elevasi koloni. Ciri morfologi makroskopis yang terlihat pada 28 isolat berbeda-beda.

Uji Aktivitas Antifungi

Hasil uji aktivitas antifungi dengan menggunakan metode sumuran yang dilakukan, diperoleh 18 isolat yang menghasilkan zona hambat (Tabel 2).

Tabel 2. Uji Aktivitas Antifungi Isolat Cendawan Endofit dari Tumbuhan Senduduk (*M. malabathricum* L.)

No.	Isolat	Zona Hambat (mm)	Kategori
1	Isolat 1	-	-
2	Isolat 2	-	-
3	Isolat 3	-	-
4	Isolat 4	-	-
5	Isolat 5	11 mm	Kuat
6	Isolat 6	15 mm	Kuat
7	Isolat 7	-	-
8	Isolat 8	18 mm	Kuat
9	Isolat 9	6 mm	Medium
10	Isolat 10	12 mm	Kuat
11	Isolat 11	16 mm	Kuat
12	Isolat 12	16 mm	Kuat
13	Isolat 13	8 mm	Medium
14	Isolat 14	8 mm	Medium
15	Isolat 15	-	-
16	Isolat 16	15 mm	Kuat
17	Isolat 17	1 mm	Lemah
18	Isolat 18	19 mm	Kuat
19	Isolat 19	18 mm	Kuat
20	Isolat 20	9 mm	Medium
21	Isolat 21	11 mm	Kuat

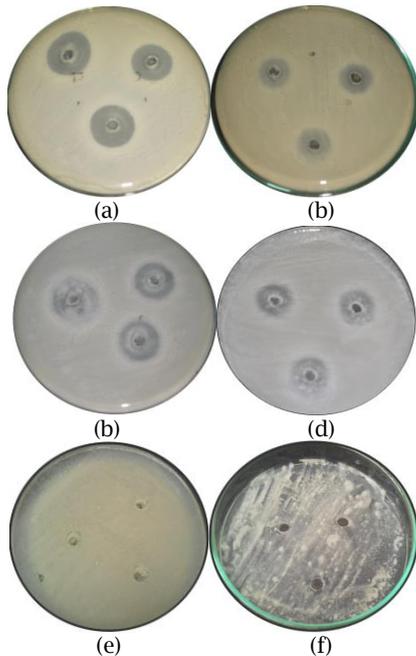
22	Isolat 22	11 mm	Kuat
23	Isolat 23	15 mm	Kuat
24	Isolat 24	1 mm	Lemah
25	Isolat 25	-	-
26	Isolat 26	-	-
27	Isolat 27	-	-
28	Isolat 28	-	-

Keterangan : - (tidak memiliki zona hambat)

Berdasarkan tabel di atas, diperoleh 18 isolat cendawan endofit memiliki diameter zona hambat yang berbeda-beda. Menurut Frazier & Westhoff (1988), kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu konsentrasi zat antimikroba, suhu lingkungan, waktu penyimpanan, sifat-sifat mikroba (meliputi jenis, jumlah, umur dan keadaan mikroba) serta fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawa di dalamnya. Kategori penghambatan antifungi berdasarkan diameter zona hambat yang diperoleh menggunakan pengkategorian dari Davis & Stout (1971) yaitu untuk kategori lemah (<5 mm), medium (5-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20). Hasil pengukuran yang telah dilakukan, terdapat 2 isolat dengan kategori lemah dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* yaitu isolat 17 dan 24; 4 isolat berkategori medium dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* yaitu isolat 9, 13, 14 dan 20, sisanya, 12 isolat termasuk kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* yaitu isolat 5, 6, 8, 10, 11, 12, 16, 18, 19, 21, 22 dan 23. Zona hambat terbesar dihasilkan oleh isolat 18 yaitu sebesar 19 mm dan zona hambat terkecil dihasilkan oleh isolat 17 dan 24 dengan diameter sebesar 1 mm. Sedangkan 10 isolat cendawan endofit yang tidak menghasilkan zona hambat adalah isolat 1, 2, 3, 4, 7, 15, 25, 26, 27 dan 28.

Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan aktivitas suatu senyawa antifungi dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh cendawan patogen.

Menurut Bérdy (2005), berbagai metabolit sekunder yang dihasilkan cendawan bersifat bioaktif, salah satunya dapat berupa senyawa antimikroba yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk diduga karena adanya perbedaan kemampuan dalam membunuh maupun menghambat dari senyawa antifungi yang dihasilkan tiap isolat cendawan endofit.



Gambar 1. Uji aktivitas antifungi pada media PDY Agar dengan masa inkubasi 24 jam. Gambar (a) isolat 23; (b) isolat 22; (c) isolat 12 & (d) isolat 14 yang menghasilkan zona hambat sedangkan gambar (e) isolat 25 & (f) isolat 2 merupakan contoh isolat yang tidak menghasilkan zona hambat.

Isolat yang tidak menunjukkan aktivitas antifungi ini dikarenakan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran pada uji yang dilakukan, diduga 10 isolat cendawan endofit ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* atau kandungan senyawa aktif yang

dimiliki cendawan endofit yang diisolasi dari tumbuhan senduduk tidak berpotensi untuk menghambat *C. albicans* dan lambatnya reaksi yang diperlihatkan dari metabolit sekunder yang dihasilkan cendawan endofit sehingga tidak membentuk zona hambat. Seperti yang dikemukakan Son & Cheah (2002) bahwa tidak terbentuknya zona hambat ketika uji aktivitas antimikroba yang dilakukan bukan karena mikroba tidak memiliki kandungan senyawa aktif, namun jumlahnya lebih kecil atau mengandung senyawa aktif potensial yang lain.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian isolasi cendawan endofit dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dan potensinya sebagai antifungi adalah:

1. Hasil isolasi cendawan endofit dari tumbuhan senduduk diperoleh 28 isolat.
2. Hasil uji aktivitas antifungi terdapat 18 isolat yang memiliki zona hambat dan 8 isolat yang tidak memiliki zona hambat terhadap *Candida albicans*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi (KEMENRISTEK DIKTI) yang telah mendanai penelitian ini dalam Program Kreativitas Mahasiswa bidang Penelitian Eksakta (PKM-PE) 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Azoro, C. 2002. Antibacterial Activity of Crude Aqueous of *Azadirachta indica* on *Salmonella typhi*. *World J Biotechnol.*; 3: 347 - 351.
- Bérdy, J. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *J. Antibiot.* 58(1): 1 - 26.
- Davis and Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological

- Antibiotic Essay. *Journal of Microbiology*. Vol. 22, No. 4.
- Frazier, W. C. and D. C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology*. 4th ed. NewYork : McGraw Hill Publ. Co. Ltd.
- Hariaman, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Kusumaningtyas E, Sukmawati L. dan Astuti E. 2008. Evaluation of Group of *Alpinia galangal* n-hexane-Extract against *Candida albicans* by Bioautography and Thin Layer Chromatography. *JITV* **13 (4)**: 323 - 328.
- Noverita, D. Fitria, dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang *Zingiberottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 4 No. 4: 171 - 176.
- Okane, I., P. Srikitikulchai; K. Toyama; T. Læssøe; S. Sivichai; N.H. Jones; A. Nakagiri; W. Potacharoen and K. Suzuki. 2008. Study of Endophytic Xylariaceae in Thailand: Diversity and Taxonomy Inferred from rDNA Sequence Analyses with Saprobes Forming Fruit Bodies in the Field. *Mycoscience* **49**: 359 - 372.
- S. M. Jofrry, N. J. Yob, M. S. Rofiee, M. M. R. Meor Mohd. Affandi, Z. Suhaili, F. Othman, M. A. Abdah, M. N. M. Desa and Z. A. Zakaria, "Melastoma malabathricum (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents, and Pharmacological Properties: A Review," *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2012, 2011, p. 48.
- Son R. and Cheah Y K. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medical Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, **9 (2)**: 23 - 33.
- Sulaiman MR, Somchit MN, Israf DA, Ahmad Z, Moin S, Antinociceptive effect of *Melastoma malabathricum* ethanolic extract in mice, *Fitoterapia*, **75**, 2004, 667 - 672.
- Sunilson, J.A.J., Anandarajagopal, K., Kumari, A.V.A.G. and Mohan, S. 2009. Antidiarrhoeal Activity of Leaves of *Melastoma malabathricum*. *Indian J Pharm Sci*, **71**: 691 - 695.
- Tan R.X. and Zou W.X. 2001. Endophytes : A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep*; **18**: 448 - 459.
- Tscherter, H. and Dreyfuss. 1992. New Metabolites, Processes for Their Production and Uses. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (PCT). *International Publication*. **38**: 28 - 45.
- Zhao, J., Xu, L., J. Wang, P. Li, T. Shan and X. Li. 2010. Beauvericin from Endophytic Fungus, *Fusarium redolens*, Isolated from *Dioscorea zingiberensis* and Its Antibacterial Activity. *Nat. Prod. Commun.* **5(5)**: 811-814.