

NICHE Journal of Tropical Biology

Available online: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>

Isolasi kapang endofit dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan potensi antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Isolation endophytic mould from ciplukan plant (*Physalis angulata* L.) and antibacterial potential against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Wahyu Aji Mahardhika^a, M.G Isworo Rukmi^{a*}, Sri Pujiyanto^a

^aDepartemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang, Semarang 50275

ABSTRACT

Ciplukan (*Physalis angulata*) is a one of medicinal plant that can be used as antimicrobial because they contain bioactive compound that can inhibit microbial growth. Ciplukan can also be used as source of endophytic mold isolates which can be developed as an alternative for producing antimicrobial compound. This study aims to isolate and characterize the endophytic molds present in ciplukan plants and to select mold isolates that have the potential to inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria. This study used a completely randomized design (CRD). Ten isolates of mold that have been isolated from ciplukan are from the genus *Curvularia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, and several cultures genus is unknown. The obtained mold supernatant was then tested on the tested bacteria using the Kirby-Bauer Method. The results showed that 8 isolates were able to inhibit the growth of *E. coli* and as many as 5 isolates were able to inhibit the growth of *S. aureus*. The anova test results showed that each supernatant had a significant difference ($p < 0,5$).

Keywords: Antimicrobial, Ciplukan Plant (Physalis angulata), Endophytic mould, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

ABSTRAK

Ciplukan (*Physalis angulata*) merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai antimikroba karena mengandung senyawa bioaktif yang mampu menghambat mikroorganisme. Tanaman tersebut juga digunakan sebagai salah satu sumber isolat kapang endofit yang dapat dikembangkan sebagai alternatif penghasil senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi kapang endofit yang ada pada tanaman ciplukan dan menyeleksi isolat kapang yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Kapang yang berhasil diisolasi dari ciplukan sebanyak 10 isolat diantaranya berasal dari genus *Curvularia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, dan beberapa kultur yang belum diketahui genusnya. Supernatan kapang yang telah didapatkan kemudian diujikan pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan metode Kirby-Bauer. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor berbagai jenis isolat. Hasil didapatkan sebanyak 8 isolat mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan sebanyak 5 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hasil uji Anova menunjukkan bahwa masing masing supernatan terdapat pengaruh yang berbeda signifikan ($p < 0,05$).

Kata kunci: Antibakteri, ciplukan, kapang endofit, E. coli, S. aureus

I. PENDAHULUAN

Ciplukan (*P. angulata*) merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia. Tanaman ciplukan ini telah dimanfaatkan sejak dahulu sebagai pengobatan tradisional untuk beberapa penyakit, diantaranya mengobati bisul, borok, susah buang air besar, nyeri perut, dan sebagainya (Nul, 2017). Bagian tanaman ciplukan yang sering dimanfaatkan sebagai obat adalah buah dan daun. Potensi ciplukan sebagai obat tradisional antara lain sebagai penurun kolesterol, mengobati diabetes mellitus, malaria, leishmania, asma, tuberculosis, kanker khususnya kanker usus, mengobati hipertensi, dan sebagainya (Sharma *et al.*, 2015). Senyawa bioaktif yang dikandung ciplukan diantaranya flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan antrakuinon yang diantaranya memiliki aktivitas antimikroba Viogenta (2012). Pengambilan senyawa bioaktif secara langsung akan mengakibatkan tanaman tersebut semakin langka. Penggunaan mikroba endofit merupakan salah satu peluang untuk mengatasi masalah tersebut. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan, dan tidak merugikan inangnya. Endofit sering digunakan sebagai sumber antibakteri, antifungi, antioksidan, antikanker dan antivirus (Guo *et al.*, 2008). Mikroba

*Penulis korespondensi: isworo.rukmi@gmail.com

endofit terdiri atas bakteri, kapang, khamir. Menurut Strobel dan Daisy (2012), kapang endofit mampu bersimbiosis mutualisme dan diduga memiliki senyawa yang sama dengan inangnya.

Penggunaan mikroorganisme endofit telah banyak dilakukan dan diteliti kegunaan senyawa bioaktifnya. Fungi endofit dapat diisolasi dari berbagai macam jaringan tumbuhan diantaranya akar, batang, daun, rimpang, bunga, dan biji. Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan adanya fungi endofit yang berguna dalam perkembangan tumbuhan (Wu *et al.*, 2013). Penelitian Kursia dkk. (2018) menyatakan bahwa fungi endofit yang diisolasi dari tanaman kelor (*Moringa oleifera*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. Aureus*. Hal ini didukung pula oleh penelitian yang dilakukan Setiawan dan Musdalipah (2018), fungi endofit yang diisolasi dari daun Beluntas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* penyebab kerusakan pada gigi. Berdasarkan banyaknya penelitian kapang endofit tersebut, maka sampai sekarang para peneliti terus mengeksplorasi mikroba endofit terutama dari tanaman obat. Kuncoro (2011) menyatakan bahwa fungi endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif dan berpotensi sebagai sumber obat baru untuk mengobati suatu penyakit.

Salah satu penyebab penyakit adalah infeksi yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh dan berkembang biak sehingga menimbulkan penyakit. Salah satu mikroorganisme penyebab infeksi adalah bakteri. Bakteri mampu menyebabkan infeksi lokal maupun sistemik. Contoh bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi antara lain *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya dengan antibiotik. Efek antibiotik terhadap bakteri antara lain menghambat sintesis protein, merusak sintesis dinding sel, menghambat enzim esensial, dan menghambat sintesis asam nukleat. Antibiotik umumnya didapatkan dari fungi, bakteri, aktinomiset, dan ekstrak tanaman (Lerner *et al.*, 2003). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit pada ciplukan dan juga menguji potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

II. MATERI DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel akar, batang, daun tanaman ciplukan (*Physalis angulata*) diambil di Desa Ngadirejo, Kecamatan Kartasura, Sukoharjo, Jawa Tengah yang sehat, tidak layu, dan tidak ada tanda-tanda serangan penyakit tanaman, kemudian disimpan di dalam *ice box* dan dibawa ke laboratorium untuk diisolasi kapang endofitnya.

Isolasi Kapang Endofit

Sampel akar, batang, daun tanaman ciplukan, dipotong dengan masing-masing ukuran kurang lebih 3 x 3 cm dicuci bersih dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel pada permukaannya, kemudian ditiriskan. Langkah berikutnya sampel direndam dalam etanol 70% selama 1 menit, lalu direndam menggunakan Natrium hipoklorit atau NaOCl 5.25% selama 1 menit, selanjutnya direndam kembali dengan menggunakan etanol 70% selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril, lalu dikeringkan dengan tissue steril. Air bilasan terakhir sampel diteteskan ke cawan petri steril berisi media PDA sebagai kontrol. Sampel kemudian diletakkan secara aseptis pada medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), dan setiap cawan petri diletakkan sebanyak 3 sampai 4 potong. Cawan petri berisi sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih 7 sampai 14 hari. Kapang yang telah tumbuh diamati ciri-ciri morfologi koloninya. Koloni yang representatif kemudian dipindahkan ke media agar miring, jika koloni yang diperoleh belum murni maka dilakukan purifikasi.

Karakterisasi Kapang Endofit

Kapang yang telah diisolasi kemudian dikarakterisasi berdasarkan ciri morfologi makroskopis dan struktur mikroskopisnya pada medium PDA dalam cawan petri. Ciri makroskopis kapang meliputi warna koloni, diameter koloni, *reverse of colony*, pigmen, tetes eksudat, *growing zone*, dan *radial furrow*, sedangkan ciri mikroskopis meliputi bentuk konidia, ukuran konidia, panjang dan lebar hifa, septa, sel kaki, percabangan pada konidiofor, tekstur permukaan konida dan hifa.

Produksi Senyawa Bioaktif

Suspensi spora isolat fungi endofit dibuat dengan menambahkan 5 ml akuades steril yang mengandung Tween 80 0,01% (v/v) ke dalam biakan fungi endofit pada medium PDA miring yang berumur 7 hari. Spora dilepaskan dengan ose tajam secara hati-hati. Kerapatan spora dihitung dengan haemositometer untuk didapatkan konsentrasi 10^8 sel/ml. Suspensi spora sebanyak 1% (v/v) diinokulasikan ke dalam 50ml medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*) cair steril dalam erlenmeyer 100ml, selanjutnya diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 130rpm selama 14 hari pada suhu ruang. Pada akhir inkubasi kultur fungi endofit disaring menggunakan kertas saring Whatman

No.1. Supernatan yang diperoleh kemudian di sterilkan menggunakan *filter* dengan porositas 0,22 μ m steril dan selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

Pembuatan Inokulum Bakteri Uji

Kultur *E. coli* dan *S. aureus* pada medium NA berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose diinokulasikan secara aseptis ke dalam larutan NaCl 0.9% steril sebanyak 5ml. Kekeruhannya diseragamkan dengan standar McFarland 0.5 untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan konsentrasi 1.5×10^8 /ml. Standar McFarland dibuat dengan cara menambahkan 9.5mL larutan H₂SO₄ 1% ke dalam 0.5mL larutan BaCl₂ 1%.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Suspensi bakteri uji umur 24 jam pada larutan NaCl fisiologis 0.9% diinokulasikan secara aseptis ke dalam medium Mueller-Hinton Agar (MHA) pada cawan petri dengan menggunakan swab steril. Supernatan kapang endofit sebanyak 10 μ l diteteskan secara aseptik ke kertas cakram Oxoid dengan diameter 6mm dan didiamkan 15 menit, selanjutnya secara aseptis kertas cakram tersebut diletakkan pada permukaan medium yang telah diinokulasi bakteri uji. Cawan petri uji tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. *Paperdisk* chloramphenicol 30 μ g digunakan untuk kontrol positif, sedangkan kontrol negatif digunakan medium PDY steril 10 μ l. Pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kapang Endofit

Koloni kapang yang berhasil diisolasi dari tanaman ciplukan sebanyak 10 isolat. Bagian daun didapatkan 7 isolat dengan kode IFD, pada batang 2 isolat dengan kode IFB, dan akar sebanyak 1 isolat dengan kode IFA. Menurut Selim *et al.* (2012) pengaruh lingkungan sangat memengaruhi kolonisasi fungi endofit di dalam tanaman. Pengaruh tersebut juga berefek pada senyawa bioaktif yang dihasilkan, variasi fungi endofit di bagian tertentu dan juga kecepatan pertumbuhan tanaman

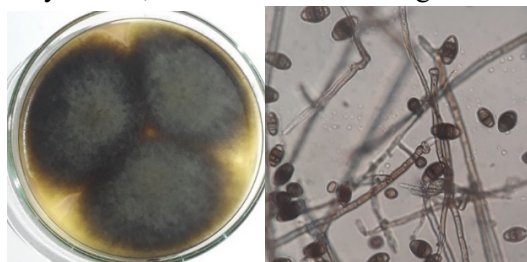
Karakterisasi Kapang Endofit

Hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dibandingkan dengan literatur Samsons *et al.* (2010) dan Klich (2002). Isolat IFD1 diketahui berasal dari genus *Curvularia* yang ditandai dengan koloni yang berwarna hitam, hifa berpigmen sehingga berwarna gelap serta memiliki septa, memiliki mikrokonidia dan makrokonidia, bentuk konidia adalah phragmospora (konidia terdapat septum lebih dari dua).

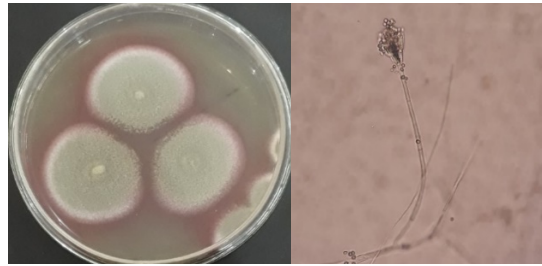
Isolat IFD2 dan IFD6 diketahui berasal dari genus *Penicillium*. Kapang ini memiliki warna koloni hijau, percabangan hifa berbentuk seperti garpu atau sapu, menghasilkan *soluble pigment* berwarna merah, memiliki fialid, dan menghasilkan konidiospora.

Isolat IFD3, IFD5, dan IFD7 memiliki karakteristik yang sama, yaitu memiliki vesikel, hifa berseptata, menghasilkan konidiospora, serta memiliki tekstur koloni seperti tepung. Berdasarkan karakteristik tersebut ketiga isolat berasal dari genus *Aspergillus*. *Aspergillus* memiliki vesikel dengan berbagai macam bentuk, selain itu *Aspergillus* memiliki koloni seperti bubuk atau bertepung. Kapang *Aspergillus* memiliki konidiofor yang pada apikalnya menggelembung atau membesar (vesikel), konidia satu sel dan tidak langsung dibentuk pada hifa fertil.

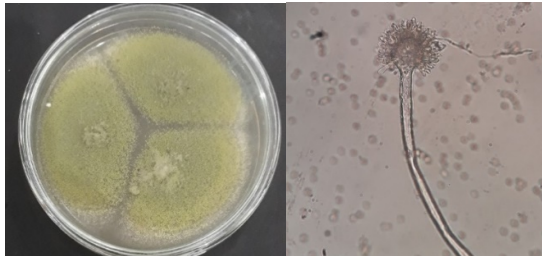
Isolat IFD4 memiliki koloni berwarna merah muda dan memiliki tekstur yang keras, hasil karakteristik mikroskopis kapang tersebut didapatkan hifa berseptata serta membesar pada ujungnya. Isolat IFB1 dan IFB2 berdasarkan hasil karakterisasi didapatkan memiliki koloni halus dan bertepung, memiliki hifa berseptata dan menghasilkan konidia berbentuk elips. Isolat IFA1 berdasarkan hasil karakterisasi didapatkan morfologi koloni seperti kapas, mampu menghasilkan synemata, hifa bersekat dan menghasilkan konidia berbentuk bulat.



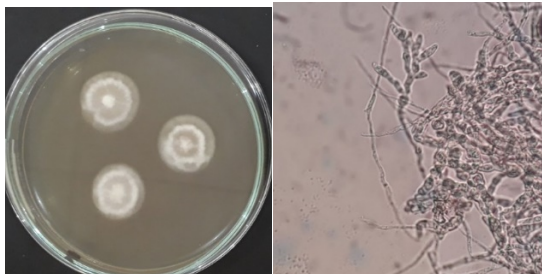
Gambar 1. Isolat IFD1



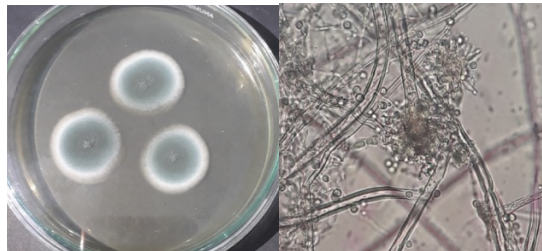
Gambar 2. Isolat IFD2



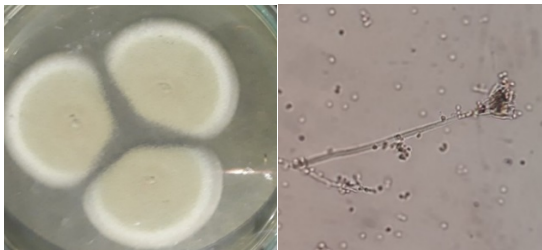
Gambar 3. Isolat IFD3



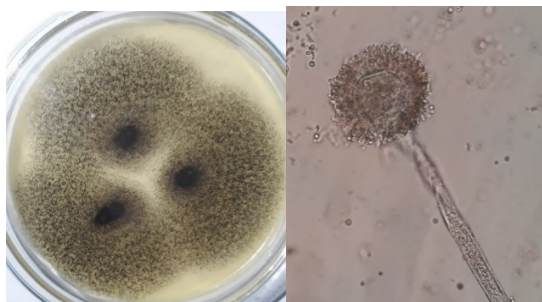
Gambar 4. Isolat IFD4



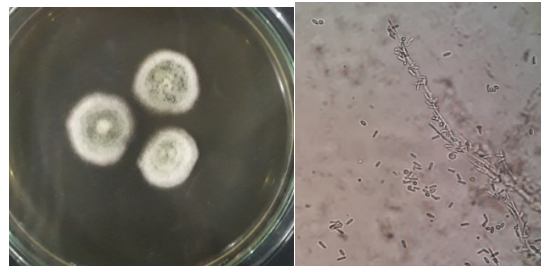
Gambar 5. Isolat IFD5



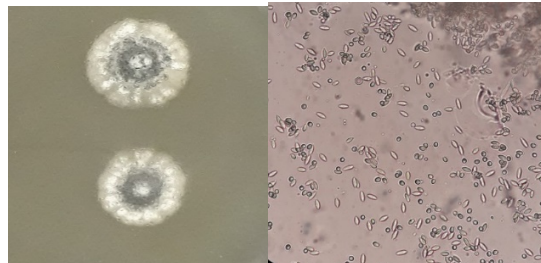
Gambar 6. Isolat IFD6



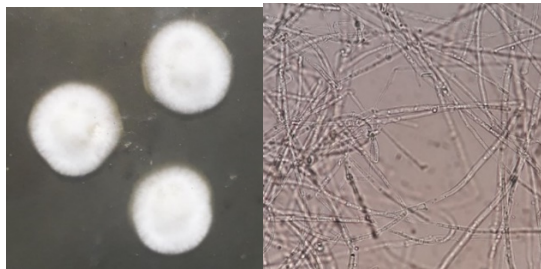
Gambar 7. Isolat IFD7



Gambar 8. Isolasi IFB1



Gambar 9. Isolasi IFB2



Gambar 10. Isolasi IFA1

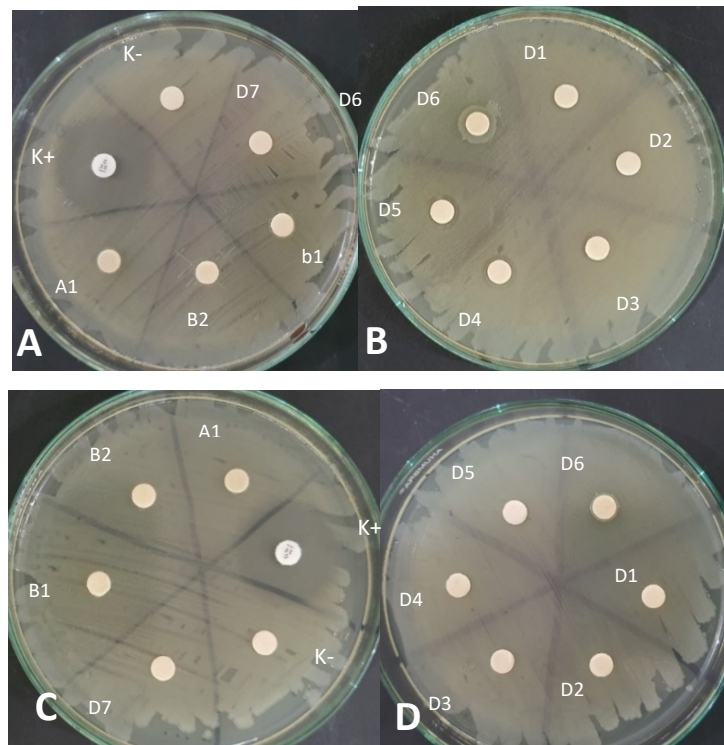
Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 8 isolat kapang mampu menghambat *E. coli*. Aktivitas isolat IFD4 memiliki kemampuan lebih besar terhadap *E. coli* dibanding aktivitas isolat lain, akan tetapi tidak cukup kuat dibandingkan dengan kontrol positif, selain itu sebanyak 5 isolat kapang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Aktivitas IFD6 memiliki kemampuan lebih besar dibanding aktivitas isolat yang lain, tetapi tidak cukup kuat dibandingkan kontrol positif. Sebanyak 4 isolat yang terdiri dari IFD2, IFD4, IFB1, dan IFA1 dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji.

Tabel 1. Uji Aktivitas Antibakteri

Kapang Endofit	Rata Rata Zona Hambat (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
IFD1	7,5	0,0
IFD2	7,6	6,4
IFD3	7,0	0,0
IFD4	8,8	6,4
IFD5	6,4	0,0
IFD6	0,0	7,8
IFD7	0,0	0,0
IFB1	7,4	6,5
IFB2	0,0	0,0
IFA1	6,3	6,5

Kontrol positif	20,7	27,1
Kontrol negatif	0,0	0,0



Gambar 11. Uji Antibakteri Supernatan Kapang Endofit pada Bakteri Uji *E. coli* (A,B) dan *S. aureus* (C, D).

Isolat kapang endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbanyak berasal dari daun. Daun ciplukan memiliki kandungan senyawa bioaktif diantaranya flavonoid, steroid, alkaloid, tanin/polifenol, antrakuinon, terpenoid, dan saponin yang diantaranya mampu menghambat bakteri, sehingga diduga kapang endofit tersebut mempunyai senyawa yang sama seperti kandungan fitokimia pada daun ciplukan (Rohyani, 2015). Adanya perbedaan zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan kapang endofit selain struktur sel bakteri uji juga bisa disebabkan oleh kecepatan difusi supernatan dari *paper disk* ke media uji, perbedaan kandungan senyawa yang terdapat pada supernatan, dan sebagainya. Faktor yang lainnya antara lain sifat media yang digunakan, ukuran molekul dan stabilitas bahan antimikroba, konsentrasi bahan kimia serta kondisi saat inkubasi, serta jumlah organisme yang diinokulasi (Izzati, 2007). Pengujian terhadap supernatan kapang endofit merupakan salah satu langkah awal untuk mengetahui potensi dari metabolit sekunder yang dihasilkan kapang endofit. Menurut Idris *et al.*, (2013) menyatakan bahwa supernatan fungi endofit yang dihasilkan menunjukkan aktivitas antimikroba yang rendah disebabkan oleh campuran berbagai senyawa metabolit, sehingga memungkinkan jika supernatan dipurifikasi akan menghasilkan senyawa aktif yang lebih kuat. metabolit sekunder yang diduga memiliki kemampuan aktivitas antimikroba yang terdapat dalam supernatan hasil fermentasi (filtrat ekstraseluler) diantaranya saponin, flavonoid, terpenoid, alkaloid, tannin, dan glikosida (Govindappa *et al*, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kapang endofit dapat diisolasi dari akar, batang, dan daun ciplukan. Isolat kapang endofit ciplukan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami tujukan kepada program studi S1 Biologi Universitas Diponegoro yang telah memberikan kepercayaan dan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini dan menyediakan sarana dan prasarana yang mendukung.

DAFTAR PUSTAKA

- Govindappa M., Nagar S.S., Poojasri M.N., Sadananda T.S., and Chandrappa C.P. (2011). Antimicrobial, Antioxidant, and In Vitro Antiinflammatory Activity of Ethanol Extract and Active Phytochemical Screening of *Wedelia trilobata* (L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 3:(43-51). <https://doi.org/10.5897/JPP.9000012>
- Guo, B.Y. & Wang, Y & Sun, Xiulan & Tang, K. (2008). Bioactive natural products from endophytes: A review. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia.* 44. 153-8. <https://doi.org/10.1134/S0003683808020026>.
- Idris A, Ietidal A., Idris, M. (2013). Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Extract from the Medicinal Plants *Kigelia africana*. *Egypt Acad J Biol Sci* 5(1):1-9. DOI: [10.21608/EAJBSG.2013.16639](https://doi.org/10.21608/EAJBSG.2013.16639)
- Izzati, M. (2007). Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Jurnal BIOMA*9(2):62-67 <https://doi.org/10.14710/bioma.9.2.62-67>.
- Klich, M.A. (2002). *Identification of Common Aspergillus Species*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures : Netherlands.
- Kuncoro, Hadi & Sugijanto, Noor. (2011). JAMUR ENDOFIT, BIODIVERSITAS, POTENSI DAN PROSPEK PENGGUNAANNYA SEBAGAI SUMBER BAHAN OBAT BARU. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry.* 1. 250-265. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i3.35>.
- Kursia S., Aksa R., Nolo M. M. (2018). Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmauho* Volume 4, No. 1, April 2018, Hal. 30-33 *Majalah Farmasi, Sains, dan Kesehatan* ISSN 2442-9791.
- Lerner, K. L., B.W. Lerner. (2003). *World of Microbiology and Immunology*. Detroit. Gale.
- Nul, F., Susetyarini, R., Waluyo, L. 2017. The Effect of Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Fruit Extract on SGPT and SGOT Levels Against White Male Mice (*Mus Musculus*) Hyperglycemia Induced by Alloxan as Biology Learning Resources. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia.* 2. 2527-6204. [10.22219. https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i2.3763](https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i2.3763).
- Rohyani, Immy Suci, dkk. (2015). Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal Yang Sering Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat Di Pulau Lombok. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.* Vol.1 N0.2. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010237>
- Samsons, R.A., Hoekstra, E.S. (2004). *Introduction to Food and Airborne Fungi*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures : Netherlands.
- Selim, K.A., El-Beih, A.A., Abdel-Rahman T.M, Al-Diwany, A.I. 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environtmental & Applied Mycology.* 2(1), 31-82. <https://doi.org/10.5943/cream/2/1/3>
- Setiawan, M. A., Musdalipah. (2018). Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica*(L.) Less.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Mandala Pharmacoon.* Vol.4(1):53-60. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.24>
- Sharma, Navdeep & Bano, Anisha & Dhaliwal, Harcharan & Sharma, Vivek. (2015). A PHARMACOLOGICAL COMPREHENSIVE REVIEW ON 'RASSBHARY' PHYSALIS ANGULATA (L.). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 7. 34-40.
- Strobel, Gary & Daisy, Bryn & Castillo, Uvidelio & Harper, James. (2004). Natural Products from Endophytic Microorganisms. *Journal of natural products.* 67. 257-68. <https://doi.org/10.1021/np030397v>
- Viogenta, P., Lilik. K., dan Ika. H. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *JFL.* 6(2): Halaman 40–41. <https://doi.org/10.37090/jfl.v6i2.20>
- Wu, H., Yang, H. Y., You, X. L., & Li, Y. H. 2013. Diversity of endophytic fungi from roots of *Panax ginseng* and their saponin yield capacities. *SpringerPlus,* 2(1), 107. doi:10.1186/2193-1801-2-107.