

Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

{*Antibacterial Inhibition Test of Endophytic Fungi on Lime Peel (Citrus aurantifolia)
Against Staphylococcus aureus*}

Muhammad Azdar Setiawan^{1*}, Hasnawati², Sernita¹, Lisa Sulistia¹

¹Akademi Farmasi Bina Husada, Kendari

²Universitas Halu Oleo, Kendari

Keywords:
antibacterial,
endophytic, fungi, lime
peel.

Kata Kunci:
antibakteri, jamur,
endofit, kulit,
jeruk nipis (*Citrus
aurantifolia*).

ABSTRACT: Endophytic fungi is fungi that lives within plant tissue and it is not harm to the plant it self. Endophytic fungi can produce a substance potensial to be antibacteria. This research aimed to test the antibacterial effect of endophytic fungi that has been isolated from lime skin *Citrus auranti folia* of *Staphylococcus aureus*. The methods that has been used to test antibacterial effect was paper disc method, done by gluing paper disc containing of endophytic fungi in agar combination media that has been smear with *Staphylococcus aureus*. The result of this researh is both endophytic fungi has effect as antibacterial against *Staphylococcus aureus*, but the type II of endophytic fungi has more effective and stronger antibacterial effect compare to endophytic fungi type I.

ABSTRAK: Fungi endofit merupakan jamur yang hidup didalam jaringan tumbuhan dan tidak membahayakan tumbuhan tersebut. Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji ada tidaknya efek antibakteri pada jamur endofit yang diisolasi dari kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan yaitu metode kertas cakram, dilakukan dengan cara menempelkan kertas cakram yang berisi supernatan fungi endofit pada media agar kombinasi yang telah dioleskan bakteri uji. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh dua jenis fungi endofit yang diisolasi dari kulit jeruk nipis *Citrus aurantifolia*. Kedua jamur endofit memiliki efek sebagai antibakteri terhadap bakteri uji, akan tetapi jamur endofit tipe II memiliki efek antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan jamur endofit tipe I.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang cukup luas di hutan tropika. Munculnya fenomena *back to nature* mengisyaratkan bahwa tanaman maupun tumbuhan dialam semakin penting peranannya.

Perkembangan peranan tersebut perlu diperkuat dengan penelitian, baik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk keamanan dan penggunaannya. Kekayaan hutan tropika Indonesia merupakan sumber tumbuhan berkhasiat obat yang potensinya perlu dikaji secara sungguh-sungguh untuk kepentingan kesejahteraan masyarakat. Untuk

*Corresponding Author: Muhammad Azdar Setiawan (Akademi Farmasi Bina Husada, Kendari)
email: muhazdar86@gmail.com

Article History:
Received: 22 Oct 2016
Published: 19 Dec 2016
Accepted: 8 Nov 2016
Available online: 23 Dec 2016

dapat meningkatkan pengembangan budidaya dan produksi tanaman obat maka diperlukan berbagai usaha penelitian terhadap tanaman obat yang tumbuh di Indonesia [1].

Salah satunya ialah tanaman jeruk nipis. Jeruk nipis mempunyai banyak kegunaan dalam kehidupan manusia terutama sebagai bahan minuman dan obat tradisional. Berdasarkan kebiasaan masyarakat Indonesia, air perasan buah jeruk nipis dapat menyembuhkan penyakit batuk. Selain buah, kulit buah jeruk nipis juga mempunyai kegunaan sebab didalam kulit buah jeruk nipis terkandung minyak atsiri [2].

Minyak atsiri kulit buah jeruk nipis diperoleh dari kulit buah terluar yang masak dan segar. Penelitian oleh Widiasningrum (2004) menemukan bahwa minyak atsiri dari kulit buah jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%. Berdasarkan penelitian tersebut maka diperkirakan kulit buah jeruk nipis mempunyai aktivitas antibakteri. Minyak atsiri mengandung campuran senyawa kimia seperti citral, limonene, fenchon, terpineol, bisabolene, cadinen, linalin asetat, flavanoid, seperti poncirin, hesperidine, rhoifolin, dan narigin [3]. Minyak atsiri dapat menghambat beberapa jenis bakteri merugikan seperti *E. coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* dan *Pasteurella* (Agusta, 2000) serta berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suciati, dkk (2011) bahwa fungi endofit yang terdapat pada buah jeruk nipis adalah fungi jenis *Fusarium oxysporum*.

Fungi endofit adalah salah satu agen pengendali hayati yang saat ini mulai banyak dikenal oleh masyarakat. Fungi endofit dapat diartikan sebagai simbiosis mutualisme dengan batang, pohon, daun, rumput atau herba sebagai inangnya [4].

Fungi endofit yang tumbuh pada jaringan tumbuhan obat, juga dapat menghasilkan senyawa

yang memiliki khasiat sama pada tumbuhan inangnya, dengan jenis senyawa yang sama dan berbeda. Bahkan, senyawa yang dihasilkan fungi endofit seringkali memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas senyawa dari tumbuhan inangnya [4]. Oleh karenanya pemanfaatan kulit jeruk nipis dalam bentuk fungi endofit kedepannya diharapkan dapat memberikan manfaat bagi perkembangan dunia pengobatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Autoklaf, Batang pengaduk, Botol sentrifuge 15 mL, Cawan petri, Erlenmeyer (Pyrex), Gelas kimia (Pyrex), Gelasukur (Pyrex), Inkubator (Yenaco), Jarum ose, Kain flanel Korek api, Lampu spiritus, LAF (laminar airflow), Oven (Yenaco), Pingset, Paperdisk, Pisau, Mikropipet 100, Senrifuge, Tabung reaksi (Pirex), Tim bangan analitik.

Bahan yang digunakan adalah akuades, aqua pro injeksi, bakteri *staphylococcus epidermidis*, etanol 70%, clindamisin gel, kulit jeruk nipis, NaClO, media NA, PDA, PDY dan BHIB.

Pembuatan fungi endofit kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) yang segar dicuci dengan air mengalir guna menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel, Dikecilkan ukurannya menjadi 2 cm lalu sampel dikeringkan di atas cawan petri, Sampel dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer 250 ml, ditambahkan etanol 70% sampai terendam, lalu dikocok pelan dan disterilisasi selama 2 menit. Cairan etanol 70% dibuang, sterilisasi dilanjutkan dengan (NaClO 5,25%) selama 2 menit, Dibilas dengan aqua pro injeksi sebanyak 3 kali, masing-masing selama 1 menit, sterilisasi dilakukan didalam autoklaf, selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri

steril. Bagian tersebut ditanam pada media PDA dengan suhu kamar (25°C) selama 3 hari. Sebagai kontrol, air bilasan terakhir diinokulasikan pada medium PDA. Setelah 3 hari terjadi pertumbuhan fungi, lalu diisolasi untuk mendapatkan morfologi fungi endofit murni.

Fermentasi fungi endofit kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

Fungi endofit di fermentasi menggunakan media PDY, Masing-masing koloni fungi endofit diambil menggunakan ose bulat dengan ukuran 1×1 cm, kemudian fungi endofit diinokulasikan ke dalam media PDY sebanyak 100 ml dalam Erlenmeyer. Media fermentasi tersebut dishaker selama 14 hari, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung sentrifus ukuran 15 mL, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit, hasil dalam bentuk Supernatan kemudian diambil untuk dibuat pengenceran 0,5%, 1,5% dan 2,5%.

Pengujian Diameter Zona Hambatan Fungi Endofit Kulit Jeruk Nipis Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Paper disk

Disiapkan sampel pengenceran fungi endofit kulit jeruk nipis 0,5%, 1,5% dan 2,5%, serta kontrol positif dan kontrol negatif, Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dimasukkan ke dalam media kombinasi (PDA+NA). Di pipet 15 mL inokulum ke dalam cawan petri, tunggu sampai memadat. Celupkan $\frac{1}{2}$ bagian dari masing-masing paper disk ke dalam sampel pengenceran fungi endofit kulit jeruk nipis. Tempelkan masing-masing paper disk tersebut pada permukaan media kombinasi yang telah memadat. Inkubasi pada suhu 25°C selama 1×24 jam, selanjutnya amati dan ukur zona hambat dari masing-masing sampel pengenceran tersebut.

HASIL DAN DISKUSI

Isolasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Kulit buah jeruk nipis yang ditumbuhkan kedalam media PDA, diperoleh 2 isolat fungi endofit. Untuk mengetahui hasil isolat fungi endofit yang berhasil ditumbuhkan pada media PDA dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni fungi endofit yang di isolasi dari Kulit Jeruk Nipis pada Medium PDA pada suhu 25°C .

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan diperoleh jamur endofit kulit jeruk nipis dengan menunjukkan ciri-ciri fungi yaitu tumbuh di sebelah kulit jeruk nipis. Ini sesuai dengan pernyataan bahwa fungi endofit terdapat didalam jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting, maupun buah dari tumbuhan. Keberadaan fungi ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika yang bermanfaat bagi tumbuhan inang sehingga dapat dikatakan hubungan antara fungi endofit dengan tanaman inangnya dapat berupa mutualistik [5].

Tabel 1. Hasil isolasi fungi endofit pada kulit jeruk nipis.

Jumlah Isolat	Kode Isolat
2	Putih
	Hitam

Tabel 2. Deskripsi bentuk warna koloni isolat fungi endofit

Kode Isolat	Ciri Makroskopis
Putih	Warna koloni putih, miselium teratur, pertumbuhan koloni rata, tebal.
Hitam	Warna koloni mula-mula hijau tua lama-lama menjadi hitam, pertumbuhan koloni menyebar dan tebal.



Gambar 2. koloni fungi endofit berdasarkan morfologi bentuk dan warna.

Uji aktifitas Antibakteri Fungi Endofit Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil penelitian diperoleh fungi endofit yang telah diisolasi dari kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan diameter zona hambat yang bervariasi, seperti pada tabel dibawah ini.

Hasil uji aktivitas dari 2 isolat fungi endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh bahwa kedua isolat tersebut memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada tabel 3 untuk isolat jamur putih dengan konsentrasi supernatan 0,5% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat yaitu 1,14 mm, konsentrasi 1,5% sebesar 1,36 mm dan konsentrasi 2,5% menghasilkan diameter zona hambat 1,48 mm. Dan pada tabel 4 untuk isolat jamur hitam diperoleh hasil pada konsentrasi 0,5% rata-

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat pada uji aktivitas metabolit fungi endofit isolat (jamur putih) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (mm).

No.	Perlakuan	Diameter zona hambat Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
		1	2	3		
1.	A1	1,53	1	0,9	3,43	1,14
2.	A2	1,46	1,63	1	4,09	1,36
3.	A3	1,3	1,7	1,4	4,46	1,48
4.	A4	5,6	6,3	5,3	17,2	5,73
5.	A5	0	0	0	0	0

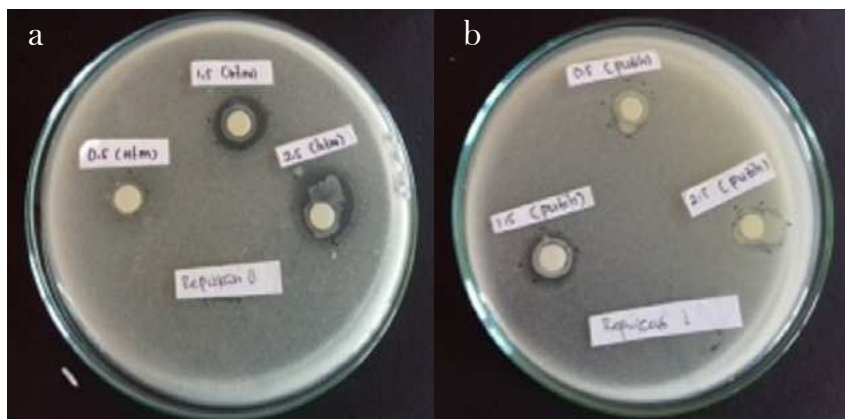
Tabel 4. Rata-rata diameter zona hambat pada uji aktifitas metabolit fungi endofit isolat (jamur hitam) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam (mm).

No.	Perlakuan	Diameter zona hambat Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
		1	2	3		
1.	A1	1,1	1,6	0,8	3,5	1,16
2.	A2	0,7	1,3	1,6	3,6	1,2
3.	A3	2,2	1,5	1,6	5,3	1,76
4.	A4	5,6	6,3	5,3	17,2	5,73
5.	A5	0	0	0	0	0

Keterangan :

A1 = Pengenceran jamur endofit kulit jeruk nipis 0,5%, A2= Pengenceran jamur endofit kulit jeruk nipis 1,5%, A3= Pengenceran jamur endofit kulit jeruk nipis 2,5%, A4= Clyndamicin gel (kontrol positif), A5= API (kontrol negatif).

Gambar 3. Zona hambat bakteri



Keterangan:

- (a) Zona hambat supernatan oleh fungi endofit isolat jamur putih
 (b) Zona hambat supernatan jamur endofit isolat jamur hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

rata zona hambat yaitu 1,16 mm, konsentrasi 1,5% sebesar 1,2 mm dan pada konsentrasi 2,5% menghasilkan diameter zona hambat 1,76 mm. Zona hambat yang ditimbulkan oleh metabolit fungi endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang terlihat pada gambar 3a dan 3b. Pada gambar menunjukkan zona hambat yang dibentuk oleh fungi endofit terhadap bakteri uji. Pada gambar terlihat lingkaran bening yang menunjukkan diameter zona hambat yang di hasilkan oleh jamur endofit tersebut.

KESIMPULAN

- Kulit jeruk nipis menghasilkan dua isolat jamur endofit yang di bedakan berdasarkan morfologi yaitu isolat jamur putih dan hitam.
- Kedua isolat fungi endofit dari kulit jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

- Konsentrasi supernatan fungi endofit yang paling efektif dari kedua isolat jamur tersebut yaitu supernatan dari isolat jamur hitam pada konsentrasi 2,5% dengan rata-rata diameter zona hambat 1,76 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Wasitaningrum. 2009. Uji Resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap beberapa Antibiotik. Surakarta: UMS
- Agusta, A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung, 101.
- Anna, Karina. 2012. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Surabaya: Stomata.
- Prihatiningtias, W. 2005. Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Tumbuhan Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Sebagai Agensia Antimikroba. Tesis. Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana UGM.
- Strobel, G. A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Review of Microbiology*, 11
- Suciatmih, dkk. 2011. Isolasi, Identifikasi, Dan Skrining Jamur Endofit Penghasil Agen Biokontrol Dari Tanaman Di Lahan Pertanian Dan Hutan Penunjang Gunung Salak. Jakarta : UI
- Widiasningrum, D. 2004. Uji Daya Hambat Antibakteri Minyak Atsiri Dari Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Fakultas Farmasi, STIFAR, Semarang.