

PEMANFAATAN JAMUR ENDOFIT DARI DAUN MURBEI (*Morus alba* L.) SEBAGAI ANTIBIOTIK

Sukriani Kursia¹, Alimuddin Ali², Fitriyanti Jumaetri Sami¹, Rabiatul
Adhawiyah¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Makassar

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Makassar

Email : sukriani.winie@yahoo.com

ABSTRACT

*Endophytic fungi are fungi colonize internally plant tissue, without giving detrimental effect to the host plant. They act as symbiont, mediated plant resistance against biotic stress i.e. pests and disease and abiotic stress such as drought and extreme of temperature. Endophytic fungi are one of the most creative groups of secondary metabolite producers that play important biological roles for human life. Fungi are among the most important groups of eukaryotic organisms that are well known for producing many novel metabolites which are directly used as drugs or function as lead structure for modification. Mulberry (*Morus alba* L.) is one of the genus species known to have secondary metabolite compound that can be used as an antioxidant, antibacterial, antiviral, antidiabetic, antihypertensive, hypolipidemic, fever, flu, cough, antiemetic and gastrointestinal disorders. This research aimed to determine antibacterial activity of Mulberry Fungi from the leaves against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Isolation of endophytic fungal carried by the direct isolation techniques. Isolates which produced as much as 3 isolates the MUR1, MUR2 and MUR3. Further isolates fermented using PDY medium and extracted using ethyl acetate. The ethyl acetate extract qualitative test the activity against bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The result of the antibacteria activity, ethyl acetat extract from fermentation medium PDY of Mulberry (*Morus alba* L.) inhibited growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* at > 12 mm.*

Keywords: Endophytic fungi, Mulberry (*Morus alba* L.), Antibiotic.

PENDAHULUAN

Endofit secara alami berasal dari bagian tanaman sehat. Endofit didefinisikan sebagai mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan efek negatif, dan bersifat netral.²¹ Endofit dimanfaatkan

sebagai sarana produksi antibiotik untuk keperluan obat dan farmasi, biomassa serta sarana transgenic gen-gen ketahanan.²⁴ Pemanfaatan mikroba endofit sebagai sumber bahan baku obat juga akan mengurangi kerusakan alam yang disebabkan oleh

penebangan tumbuhan obat dalam jumlah besar.²⁵

Daun Murbei (*Morus alba* L) mengandung flavanoid, asam amino, steroid, vitamin, triterpen, sterol, alkaloid, kumarin, dan asam-asam organik.⁷ Senyawa tersebut memiliki kegunaan sebagai antioksidan, hipolipidemik, antibakteri, antivirus, emolien, antiinflamasi, antelmintik, antidiabetes, antiparasit dan antidiare.⁸

Morus alba dilaporkan memiliki efek neuroprotektif, tonik kulit, antioksidan, hiperglikemia, antibakteri, antihipertensi dan anti hiperglikemia.^{4,22} Beberapa laporan dan studi membuktikan bahwa sifat farmakologi karena senyawa polifenol (stilbenes, oxyresveratrol dan resveratrol) dan metabolit sekunder tanaman obat dan mungkin juga bertanggung jawab untuk potensi antioksidan total.^{9,14,15} Menurut Katsube , pada ekstrak kering daun murbei memiliki komponen sebagai antioksidan, yang meliputi rutin, isoquercitrin, astragalin dan quercetin-3-(6-malonil) glukosida, diantaranya quercetin -3-(6-malonil) glukosida yang paling banyak terdapat pada ekstrak kering daun murbei.¹⁶

Hasil penelitian Hastuti menunjukkan adanya pengaruh terhadap *Staphylococcus aureus*

(85%) dan *Shigella dysenteriae* (95%) secara invitro.¹² Penelitian Ali menunjukkan bahwa ekstrak daun Murbei (*Morus alba* L) asal Kab. Soppeng, Gowa dan Enrekang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherechia coli*.¹

Oleh karena itu, isolasi fungi endofit dari Daun murbei (*Morus alba* L.) perlu dilakukan untuk menghasilkan senyawa metabolit yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan penghasil antibiotik.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel Daun Murbei (*Morus alba* L) diperoleh Desa Tajunu, Kecamatan Donri-donri, Kabupaten Soppeng Propinsi Sulawesi Selatan. Sampel tersebut selanjutnya di determinasi di laboratorium Biologi Universitas Negeri Makassar.

Pembiakan jamur endofit penghasil antibiotika

Sampel daun murbei dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir, lalu dibilas dengan alkohol 70% secara merata di setiap permukaan. Potongan sampel disterilkan dengan cara dicuci dalam larutan NaOCl 1 % selama 1 dan diulang 2 kali selanjutnya direndam dengan alkohol 70 % selama 1 menit diulang 2 kali, lalu potongan sampel

dikeringkan diatas tissue steril. Potongan sampel lalu ditanam diatas cawan petri yang berisi medium Potato Dextrosa Agar Kloramfenikol (PDAC) lalu diinkubasikan selama 7 hari pada suhu 25⁰C.

Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diinkubasi kemudian diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopik. Pengamatan ciri-ciri makroskopik dengan cara langsung melihat bentuk dan warna koloni jamur endofit.

Pemurniaan Jamur Endofit

Jamur diambil sebagian dari permukaan agar dengan cara diisolasi pada medium PDA untuk ditumbuhkan kembali. Hal ini dilakukan juga pada jamur berbeda yang tumbuh pada daun murbei tersebut. Pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan morfologi untuk dijadikan isolat tersendiri. Isolat selanjutnya disimpan pada suhu 25 °C selama 3 x 24 jam. Apabila masih ditemukan pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopik maka harus dipisahkan kembali sampai diperoleh isolat murni

Fermentasi biakan murni

Isolat dibuat prekulturr pada Erlenmeyer 250 ml yang mengandung 75 ml medium cair PDY dan diinkubasi

pada suhu 25⁰C selama 12 hari sambil dikocok.

Uji Antagonis Jamur Endofit

Jamur yang telah ditumbuhkan pada medium PDA kemudian dipotong berbentuk tabung dengan ukuran ±0,5 cm dan diletakkan pada permukaan media NA yang telah ditanami oleh bakteri uji. Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37⁰C. Jamur endofit yang positif dapat menghambat bakteri uji akan digunakan untuk uji selanjutnya.

Ekstraksi Senyawa Metabolit

Setelah fermentasi selama 12x24 jam, kemudian miselia dipisahkan dengan media fermentasi dengan menggunakan kertas saring. Ekstrak diperoleh dengan metode ekstraksi cair-cair di dalam corong pisah menggunakan etil-asetat dengan jumlah sama dengan media fermentasi. Cairan fermentasi diekstraksi sebanyak 3 kali dengan perbandingan 1:1. Dan miselia diekstraksi dengan metanol. Ekstrak yang diperoleh diuapkan lalu disimpan didesikator untuk digunakan pada uji selanjutnya.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

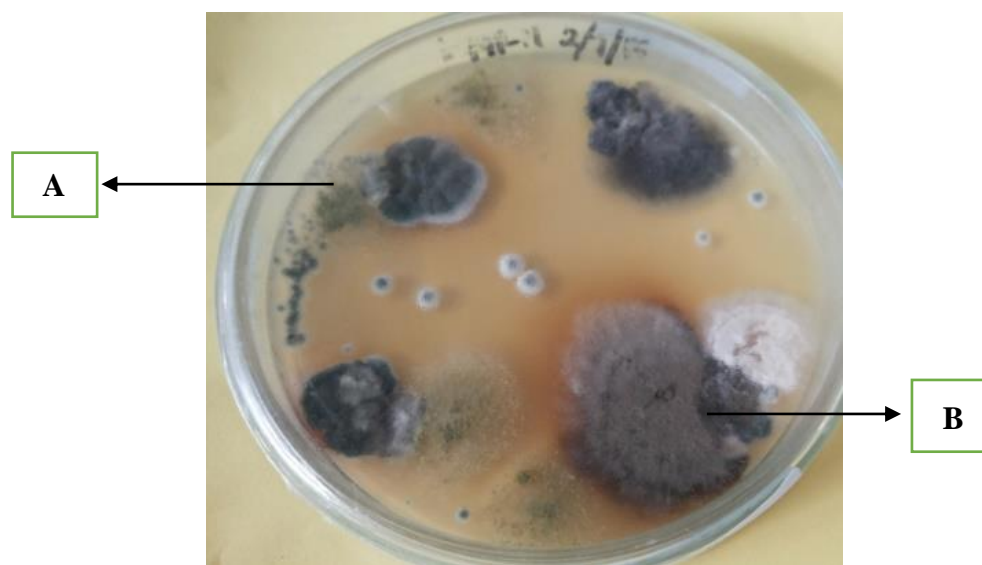
Uji daya hambat menggunakan metode difusi agardengan cara menginokulasikan secara merata biakan bakteri pada permukaan

medium *Nutrient Agar* (NA). Selanjutnya disiapkan paper disk lalu ditetesi masing-masing 20 μ L untuk setiap perlakuan, lalu dibiarkan sampai semua pelarut menguap sempurna. Paper disk yang mengandung ekstrak dan control diletakkan di permukaan medium NA yang telah diinokulasikan bakteri uji. Untuk control positif digunakan tetrasiklin 30 μ g dan control negative etil asetat. Setelah itu cawan petri tersebut diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat/zona bening disekeliling paper disk yang menunjukkan daerah

hambatan pertumbuhan bakteri. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.


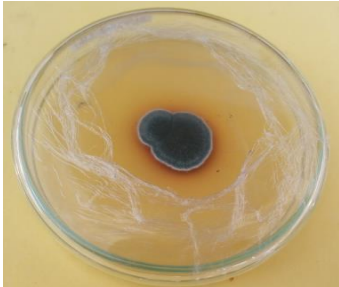
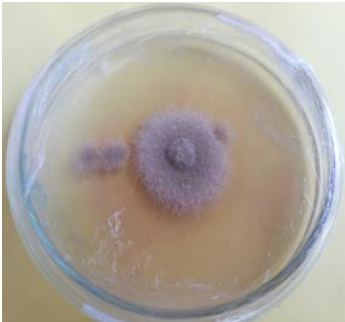
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi jamur endofit dari Daun Murbei (*Morus alba*) menghasilkan 3 isolat. Isolat diperoleh setelah inkubasi selama 5-7 hari menggunakan medium PDAC (*Potato Dextrosa Agar Chloramphenikol*). Berdasarkan pengamatan makroskopik isolat yang dihasilkan memiliki ciri yang berbeda yakni warna dan bentuk koloni jamur. Hasil isolat tersebut terlihat pada gambar1 dan tabel 1.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni Fungi Endofit pada hari ke-5. **A:** Sampel daun, **B:** Hifa Fungi

Tabel 1. Hasil Pengamatan makroskopik ke tiga jenis isolat fungi endofit daun murbei (*Morus alba* L.) pada hari ke-5.

Kode Isolat	Gambar Koloni Fungi	Ciri Makroskopik
Mur1		Warna koloni putih, pertumbuhan koloni tebal dan rata, bagian tepi rata, bagian permukaan halus dan berbulu, bagian tengah terdapat titik yang akan menonjol.
Mur2		Warna koloni hitam- keabuan, bagian tepi berwarna putih, pertumbuhan koloni tipis, bagian permukaan halus, serta pada medianya berwarna merah.
Mur3		Warna koloni coklat, pertumbuhan koloni tebal, bagian tepi coklat dan berbulu, bagian permukaan halus dan bagian tengah terdapat titik yang menonjol berwarna coklat.

Tabel 2. Hasil pengujian antagonis isolat fungi endofit dari *Morus alba* L. terhadap pertumbuhan mikroba uji

Isolat	Hasil	
	<i>Eschericia coli</i>	<i>Stapylococcus aureus</i>
Mur 1	-	-
Mur 2	-	-
Mur 3	+	+

Keterangan :

(+) = Terbentuknya zona bening

(-) = Tidak terbentuk zona bening

Pemurnian isolat jamur dari *Morus alba* L. dilakukan untuk menghasilkan isolat murni sehingga kontaminasi saat proses fermentasi dapat dihindari. Isolat murni tersebut diuji antagonis dengan menggunakan *coli*, dan *Stapylococcus aureus*. Uji antagonis merupakan uji untuk mengetahui aktivitas langsung terhadap organisme uji dan menyeleksi isolat yang memiliki aktivitas antimikroba.

Hasil pengujian isolat menunjukkan bahwa hanya terdapat 1 isolat yang aktif dengan diameter zona hambat 33.8 mm dan 2 isolat yang tidak aktif. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh kemampuan difusi dari zat aktif. Kemampuan berdifusi dipengaruhi oleh waktu predifusi (preinkubasi), suhu inkubasi, ketebalan lempeng agar, populasi mikroorganisme dan konsentrasi kritis zat aktif.

Isolat murni yang dihasilkan dari peremajaan jamur tersebut, selanjutnya difermentasi. Fermentasi yang dilakukan menggunakan sistem batch artinya semua nutrisi yang dibutuhkan mikroba selama pertumbuhan dan pembentukan produk berada di dalam satu fermentor. Jadi tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil selama

fermentasi berlangsung. Keuntungan sistem ini adalah mudah, sederhana, dan kecil kemungkinan adanya kontaminasi. Fermentasi dilakukan dengan bantuan pengocokan merupakan metode pemanfaatan medium oleh mikroorganisme yang hasilnya lebih efisien, mempercepat pertumbuhan serta pertumbuhannya lebih homogen. Perubahan warna yang terjadi pada saat inkubasi menunjukkan adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh isolat fungi endofit dimana perubahan ini menunjukkan metabolit sekunder telah diproduksi.¹⁷ Fermentasi dilakukan selama 12 hari dikarenakan menurut penelitian Huang, Y, bahwa diperkirakan produksi senyawa metabolit sekunder dari fungi endofit terjadi antara hari ke-11 dan hari ke-12. Fermentasi dilakukan dengan pengocokan yang berguna untuk memperoleh hasil yang lebih efisien, mempercepat pertumbuhan dan pertumbuhannya lebih homogeny.¹³

Hasil fermentasi disaring untuk memisahkan misellia dan cairan fermentasi. Cairan fermentasi, diekstraksi 3 kali menggunakan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah. Etil asetat digunakan sebagai pengekstraksi karena merupakan pelarut organik yang sangat baik

menarik senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.² Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan dan disimpan untuk dilakukan pengujian. Adapun hasil ekstrak yang diperoleh untuk Mur1 yaitu 70 mg, Mur2 yaitu 100 mg dan Mur3 yaitu 90 mg.

Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat fungi endofit aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata zona hambat >12 mm. secara umum faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambat yaitu preparasi larutan uji, aplikasi larutan uji ke kertas cakram, ketebalan lempeng agar, konsentrasi inokulum, suhu dan waktu inkubasi.⁶

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa Isolat jamur endofit memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat rata-rata >12 mm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ali A, Kursia S, Nadia. Deteksi Antibakteri pada Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba* L) dari beberapa lokasi pengambilan sampel tanaman di Sulawesi Selatan. *Bionature* 2016;(17):2.

2. Arora DS and Candra P. Assay Of Antioxidant Potential Of Two *Aspergillus* Isolated By Different Methods Under Various Physio-Chemical Conditions. *Brazilian Journal Of Microbiology*; 765-777.
3. Backman PA dan Sikora.. Endophytes an emerging tool for biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. *Biological Control* 2008.
4. Butt MS, Nazir A, Sultan MT. Schroen K. *Morus alba* L. nature's functional tonic. *Trends Food Sci Techno* 2008;19: 505-512.
5. Cadenas E and Packer L.. *Handbook of Antioxidants*. Switzerland: Marcel Dekker Inc., 2002.
6. Davis WW, Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay; Factor Influencing Variability and Error. *Applied Microbiology*, 1971.
7. Desmukh SV, Pathak and Takalikar DA. Nutritional effect of Mulberry (*Morus alba*) leaves as sole ration of adult rabbits. *World rabbit Sci J*; 1993.
8. El-beshbishy HA. Singab AN, Snkkonen J. and Pihlaja K. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (*Egyptian mulberry*) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sci* 2006;78: 2724-33.
9. Elfallah WN, Tlili N, Nasri Y, Yahia, H, Hannachi and Chaira N. Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*). *Fruits. J Food Sci* 2011;76: 707-713.

10. Gibbons S. *An Introduction to Planar Chromatography*. Totowa New Jersey: Humana Press, 2006.
11. Gurav S, Deshkar N, Gulkari V, Duragka N, Patil A. Free Radical Scavenging Activity of *Polygala Chinensis* Linn. *Pharmacology Line* 2 2007;245-253.
12. Hastuti US, Oktantia A, Khasanah HN. Daya Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Murbei (*Morus alba* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. in *Prosiding Seminar Biologi*, 2012.
13. Huang Y, Wang J, Li G, Zheng Z. Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plant taxuz mairei, *Cephalataxus fortune* and *torreye grandis*. *FEMS immunology and medical microbiology* 2001;31:163-167.
14. Jin W, Na M, An R, Lee H, Bae Km, Kang SS. Antioxidant compounds from twig of *Morus alba* . *Nat Prod Sci* 2002;8(4):129-132.
15. Kaison O, Sinamompun S, Weerapreeyakul N, Meeso N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *J Funct Food* 2011;3 : 88-99.
16. Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Tamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chem* 2006;113:964-969.
17. Mc.Neil B and Harvey LM. *Practical fermentation technology*. Jhon wiley & Son Ltc England 2008;42:70-90,100-101.
18. Pietta PG.. Review: Flavonoid as Antioxidants. *Journal of Natural Products* 2000;63(7): 1035-1042.
19. Purwanto R. Peranan Mikroorganisme Endofit sebagai Penghasil Antibiotik. Jakarta, 2008.
20. Rodriguez RJ, White JF, Arnold AE, Redman RS. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist* . 2009; 182: 314-330.
21. Schulz B, Boyle C. What are Endhophytes. *Soil Biology*, 2006.
22. Sun F, Shen LM and Ma ZJ. Screening for ligand of human aromatase from mulberry (*Morus alba* L.) leaf by using high-performance liquid chromatography /tandem mass spectrometry. *Food chem* 2011;126:1337-1343..
23. Verma VC, Kharmar RN, Strobel GA. Chemical and functional diversity of natural products from plant associated endophytic jamur. *Natural Product Communications* . 2009; 4: 1511-1532.
24. Zhao JL, Zhou J, Wang T, Shan L, Zhong. Fungi for producing bioactive compounds originally from ther host plants. In *Current Reasearch. Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbiol Technology*, 2010.
25. Xiang L, Lu C, Huang Y, Zeng Z, Su W, Shen Y. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007.