
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans*

Alvi Milliana dan Wahyu Safitri

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang
Email: alvimilliana@yahoo.com

ABSTRAK

*Infectious diseases in humans by microbes in developing countries including Indonesia remains a major problem. Forty-three percent of deaths in developing countries are caused by infections. Candida is a yeast species that often cause opportunistic infections. Disease caused by Candida can affect the mouth, vagina, skin, nails, lungs, sometimes can cause septicemia, endocarditis and meningitis. Rising yeast-leavened which has resistance to antifungal compounds that exist, encourage researchers continue to discover new compounds which have antifungal properties. In addition, the side effects caused by the use of antifungal drugs, causing people still expect the natural ingredients that can be used as an alternative treatment. According to WHO, 80% of the world's population still relies on traditional medicine, including the use of drugs from plants, one of which is the use of turmeric plant (*Curcuma xanthorrhiza*). Bioactive compounds of plants that are antifungal generally are volatile oil, aldehyde and phenol compounds. The existence of endophytic microbes in plants have economic significance for the industry favorable treatment. Endophytic microbes easily grown, have a shorter life cycle than the plant and capable of producing bioactive compounds similar to the host plant. Therefore, it is necessary to study the potential of endophytic bacteria ginger rhizome (*C. xanthorrhiza*) as a producer of *Candida albicans* antifungal compounds. This study uses ginger rhizome obtained from Stone and Pasuruan. After the isolation of microbes from ginger rhizome, further purification by means of subcultures. The endophytic microbial isolates gram staining and identification of bacteria. The result is a gram-positive bacterium *Actinomyces viscosus*, *Bacillus brevis* gram-positive bacteria and gram-negative bacteria *Pseudomonas stutzeri*. Then do the production of antifungal metabolites produced by endophytic bacteria and *C. albicans* antifungal test Paper Disc Diffusion method. The result looks the inhibition zone with a diameter of 4 mm, 15 mm and 45 mm.*

Keywords: Curcuma xanthorrhiza, endophytic bacteria, antifungal activity

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi pada manusia oleh mikroba di Negara berkembang termasuk Indonesia masih menjadi masalah besar (Susanti, 2008). Penyakit infeksi telah menyebabkan kematian 13 juta orang di seluruh dunia setiap tahun terutama di Negara-negara berkembang seperti Indonesia. Empat puluh tiga persen kematian di Negara-negara berkembang disebabkan oleh infeksi (Syaifuddin, 2004). Spesies *Candida* merupakan salah satu spesies khamir yang sering menyebabkan infeksi. *Candida* adalah anggota flora normal terutama saluran pencernaan, selaput mukosa, saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit, di bawah kuku tangan dan kaki. *Candida* bersifat oportunistik. Penyakit yang disebabkan oleh *Candida* dapat menyerang mulut, vagina, kulit, kuku dan paru, kadang-kadang dapat menyebabkan

septikemia, endocarditis atau meningitis (Ridawati, dkk, 2011).

Timbulnya mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antimikroba semakin meningkat. Resistensi antibiotik telah menjadi masalah klinik dan kesehatan masyarakat sampai saat ini (Levy, 2004; Rosana dkk, 1999). Penggunaan senyawa antifungal dari kelompok *poliena* seperti *nistatin*, *amfoterisin*, *natamisin*, kelompok *imidazol* dan *triazol* telah banyak digunakan dalam dunia medis untuk pengobatan infeksi akibat khamir. Meningkatnya khamir-khamir yang memiliki resistensi terhadap senyawa antifungal yang ada, mendorong peneliti terus melakukan eksplorasi senyawa baru yang memiliki sifat antifungal. Selain itu, efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan obat antibiotik, menyebabkan masyarakat tetap mengharapkan bahan-bahan alami yang dapat digunakan

sebagai pengobatan alternatif (Ridawati, dkk, 2011).

Tanaman telah diketahui merupakan salah satu sumber daya yang sangat penting dalam pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan masyarakat. Menurut WHO (*World Health Organization*), 80% penduduk dunia masih bergantung pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan obat dari tanaman (Izza, 2011). Indonesia kaya akan tumbuhan obat, salah satu diantaranya adalah dari marga *Curcuma* yang tergolong ke dalam suku temu-temuan *Zingiberaceae*. *Curcuma* banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba karena kandungan senyawa aktifnya mampu mencegah pertumbuhan mikroba. Tanaman ini terdiri dari beberapa spesies diantaranya *C. xanthorrhiza* (temulawak), *C. domestica* (kunyit), *C. mangga* (temu mangga), *C. zedoaria* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu hitam) (Tjitrosoepomo, 1994).

Berdasarkan hasil penelitian Adila dkk (2013) yang menguji ekstrak enam jenis rimpang *Curcuma spp.*, yang paling besar potensinya dalam menghambat mikroba uji adalah *C. xanthorrhiza* (temulawak). Senyawa antimikroba yang terdapat dalam rimpang *Curcuma* yaitu minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tannin, kurkuminoid dan terpenoid (Rukmana, 2004). Senyawa flavonoid mampu merusak dinding sel bakteri (Heinrich *et al*, 2009); menghambat pembentukan protein sehingga menyebabkan kematian sel (Sundari *et al*, 1998). Senyawa alkaloid mampu mendenaturasi protein sehingga merusak aktivitas enzim dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1991). Senyawa tannin juga dapat merusak membrane sel dan dapat merusak pembentukan konidia jamur (Cowan, 1999). Senyawa bioaktif tanaman yang bersifat antifungal umumnya adalah minyak atsiri, senyawa aldehida dan senyawa fenol (Ridawati, 2011).

Rimpang temulawak telah digunakan secara luas dalam rumah tangga dan industri, termasuk industri obat-obatan. Hal ini memerlukan teknik pengolahan yang baik untuk menjaga mutunya sehingga membutuhkan biaya yang tinggi dan banyak mengalami kendala ketika akan dikembangkan dalam skala industri. Oleh karena itu diperlukan alternatif pencarian bahan bioaktif yang lebih murah dan tidak mengganggu lingkungan. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme yang ada pada tumbuhan yang disebut sebagai

mikroba endofit (Petrini, 1992). Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan bahaya dan dapat diisolasi dari jaringan tanaman (Hallman *et al*, 1997).

Mikroba endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman, diantaranya biji, ovula, buah, batang, akar, umbi akar dan daun. Mikroba endofit mempunyai arti ekonomis karena mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Hal ini karena mikroorganisme merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi (Izza, 2011). Mikroba endofit di dalam medium fermentasi akan menghasilkan senyawa sejenis yang terkandung pada tanaman inang dengan bantuan aktivitas enzim (Shibuya *et al*, 2005). Oleh karena itu, isolasi mikroorganisme endofit yang dapat memproduksi metabolit sekunder dari tanaman inangnya merupakan sebuah peluang besar dimasa mendatang sehingga Indonesia dapat meminimalisir impor antibiotik yang mencapai Rp. 81,6 sampai Rp. 122,4 miliar per tahun (Izza, 2011).

Menurut Radji (2005) mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, sehingga kita tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil simplisisa. Oleh karena itu diperlukan kajian potensi bakteri endofit rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*) sebagai penghasil senyawa antifungi *C. albicans* serta bakteri apa saja yang dapat diisolasi dari rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan bahan rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*) yang diperoleh dari dua daerah yaitu Batu dan Pasuruan. Sedangkan fungi yang digunakan adalah *C. albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Setelah diperoleh rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*), tahap pertama penelitian adalah isolasi bakteri endofit dari rimpang temulawak. Sampel rimpang temulawak dipotong sepanjang kurang lebih 10 cm, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit dan dilakukan sterilisasi permukaan secara

bertahap dengan cara direndam ke dalam etanol 75% sebanyak 10 ml selama 5 menit, dilanjutkan ke dalam *sodium hipoklorit* (NaOCl) 6% sebanyak 10 ml selama 30 detik dan dibiarkan kering. Kemudian sampel direndam kembali ke dalam etanol 75% sebanyak 10 ml selama 1 menit. Setelah itu dibilas dengan aquades steril selama 1 menit dan diulang

dua kali. Potongan sampel yang sudah disterilkan, dikeringkan dan dibelah secara longitudinal menjadi dua bagian secara aseptis. Setiap bagian dalam potongan ditempatkan masing-masing pada cawan petri yang berisi media nutrient agar (NA) yang diberi suplemen nystatin 100 µg/ml dan diinkubasi pada suhu kamar (27°C) sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai tampak pertumbuhan koloni bakteri endofit yang memperlihatkan warna putih, kuning atau hitam (Strobel, 2000; Rosana, 2001; Utami, 2011).

Bakteri endofit yang tumbuh pada media NA, dimurnikan pada media lempeng dan agar miring NA. Bakteri yang tumbuh pada media isolasi NA, disubkultur pada media lempeng NA pada suhu 35°C selama 24-48 jam sampai diperoleh koloni yang murni. Koloni murni kemudian dipindahkan ke media agar NA miring dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Setiap isolat bakteri endofit dibuat dua pada media agar miring, masing-masing dipergunakan sebagai *working culture* dan *stock culture*.

Biakan murni bakteri endofit yang ditumbuhkan pada media lempeng NA, diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Preparat yang dibuat dari koloni bakteri yang tumbuh diwarnai dengan pewarnaan Gram, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, dilakukan uji biokimiawi untuk identifikasi lanjutan. Uji dengan *Mikrobact* dilakukan terhadap bakteri berbentuk batang Gram negatif yang sebelumnya telah dilakukan tes oksidase memakai oksidase strip. Bakteri Gram positif berbentuk batang dan kokus diuji dengan cara konvensional, memakai gula-gula glukosa, laktosa, *maltose*, *manitol* dan sakarosa serta agar semi solid, sitrat, dan kertas *oksidase*. Tahap selanjutnya adalah produksi metabolit bakteri endofit. Produksi metabolit antimikroba oleh bakteri endofit dilakukan dengan cara menumbuhkannya di dalam media MHB (*Muller-Hinton Broth*). Koloni bakteri endofit yang telah diinkubasi

pada media lempeng NA selama 24-48 jam pada suhu 35°C, diambil satu sengkeli dan dipindahkan ke dalam 5 ml media MHB, kemudian dilarutkan memakai *tube-stirrer* sampai mencapai kekeruhan 0,5 McFarland. Suspense koloni bakteri endofit dipindahkan sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml medium MHB pada 50 ml tabung Erlenmeyer, diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan *shaker incubator* 130 rpm selama 48 jam. Setelah proses fermentasi selesai, masing-masing medium pertumbuhan di sentrifugasi 2000 g (3800 rpm) 4°C selama 20 menit. Penyaringan supernatan hasil fermentasi isolat bakteri endofit menggunakan kertas saring whatman 0,22 µm. Supernatant yang diperoleh dipergunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba.

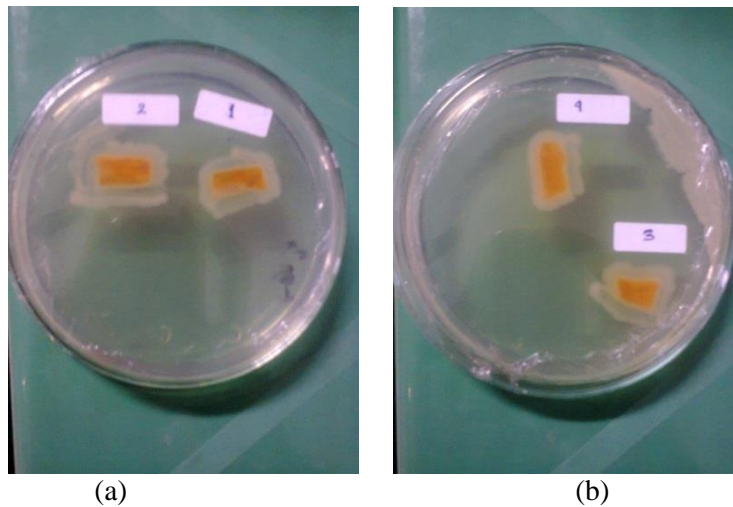
Persiapan uji antifungi dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur uji *C. albicans* pada media lempeng NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Isolat bakteri yang sudah tumbuh, diambil masing-masing satu sengkeli ose dan dicampur dengan 5 ml media NB sampai mencapai kekeruhan 0,5 McFarland.

Metode Difusi Kertas (*Paper Disc Diffusion*) dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ml jamur uji ke dalam 10 ml media MHA steril suhu 40-45°C, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah padat, diletakkan kertas saring whatman steril ukuran 6 mm. secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam 50 µm supernatan kultur bakteri endofit selama 3 hari. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antimikroba (media lempeng MHA). Sebagai kontrol positif digunakan cakram *nistatin* 1%, *kloramfenikol* dan kontrol negatif digunakan cakram kosong steril. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengukuran terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona jernih (Utami, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

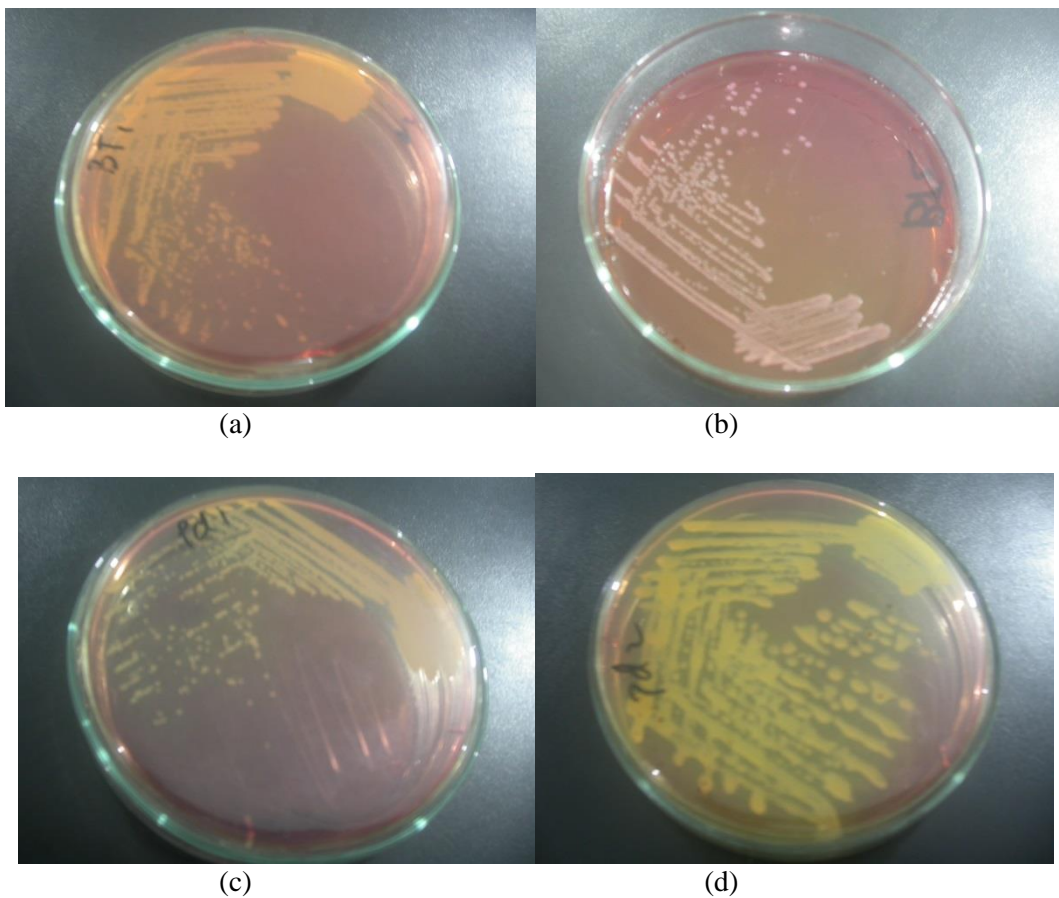
Isolasi mikroba endofit dari rimpang temulawak dilakukan dengan mengambil potongan rimpang temulawak yang telah disterilkan permukaannya dan diletakkan pada media lempeng NA. Hasil isolasi mikroba

endofit dari rimpang temulawak dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Hasil isolasi mikroba endofit dari rimpang Temulawak
Keterangan: (a) Temulawaak dari lokasi Batu, (b) Temulawak dari lokasi Pandaan

Setelah didapatkan isolate mikroba endofit tersebut lalu dimurnikan pada media lempeng dan agar miring NA. Bakteri yang tumbuh pada media isolasi NA, disubkultur pada media lempeng NA. Hasil pemurnian mikroba tampak pada gambar 2 berikut



Gambar 2 Hasil pemurnian mikroba endofir rimpang temulawak

Keterangan: (a) Temulawak dari lokasi Batu 1, (b) Temulawak dari lokasi Batu 2, (c) Temulawak dari lokasi Pandaan 1, (d) Temulawak dari lokasi Pandaan 2

Setelah mikroba endofit dimurnikan, kemudian dilakukan identifikasi mikroba endofit yang tumbuh. Hasil identifikasi mikroba endofit tersebut adalah sebagai berikut:

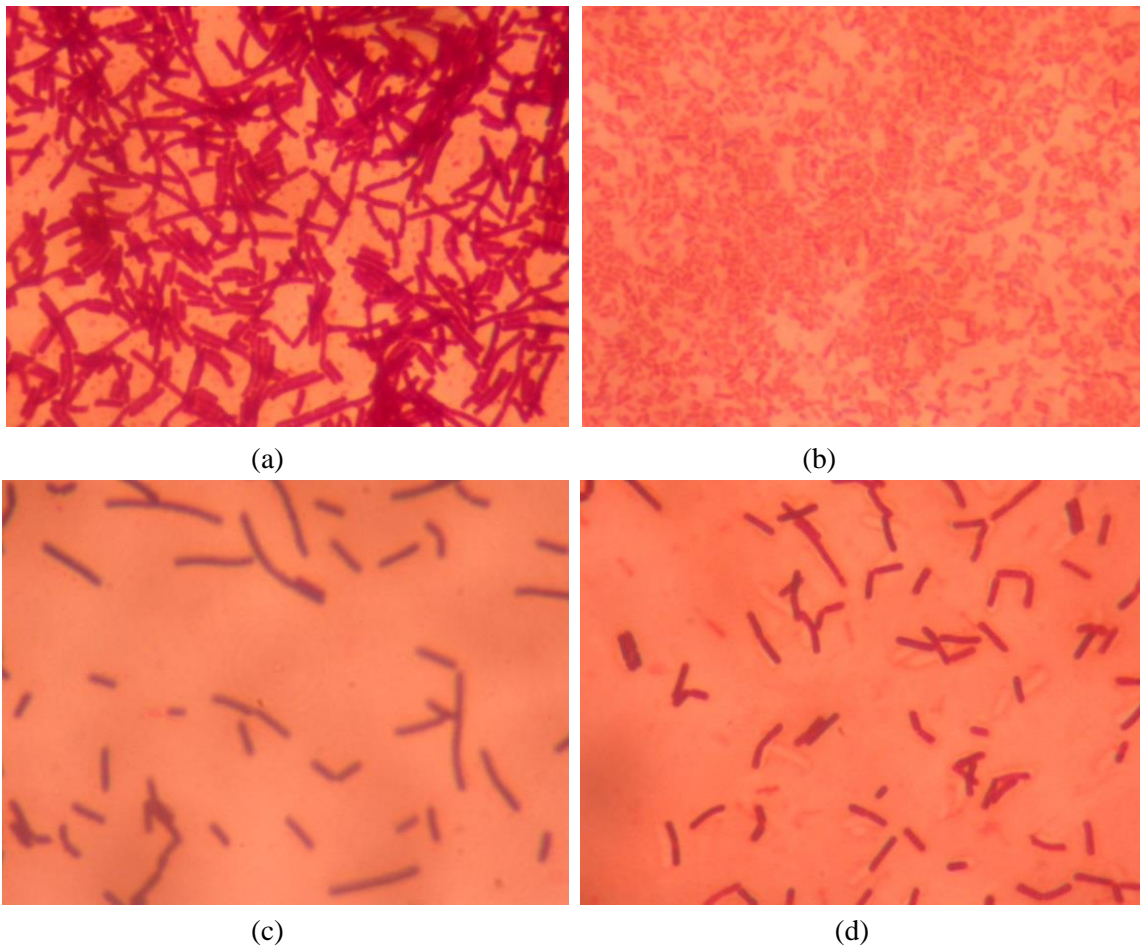
KODE ISOLAT	Pd1
JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
Spora	NEGATIF
Koloni Filamentous	POSITIF
Diftroid sel	POSITIF
Warna Koloni krem	POSITIF
UJI FISILOGIS	
Katalase	NEGATIF
Indol	NEGATIF
NO ₃ --> NO ₂	POSITIF
Metil Red	POSITIF
Voges-Proskouer	POSITIF
H ₂ S	NEGATIF
TSI	NEGATIF
Urease	NEGATIF
Starch hydrolysis	NEGATIF
Gelatin hydrolysis	NEGATIF
FERMENTASI KARBOHIDRAT	
Arabinosa	POSITIF
Fruktosa	POSITIF
Glukosa	POSITIF
Inositol	POSITIF
Laktosa	POSITIF
Maltosa	POSITIF
Mannitol	NEGATIF
Raffinosa	POSITIF
Rhamnosa	NEGATIF
Salicin	POSITIF
Sorbitol	NEGATIF
Sukrosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
DX LAB.	<i>Actinomyces viscosus</i>

KODE ISOLAT	Pd2
JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
Spora	POSITIF
FERMENTASI GULA-GULA	
Glukosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
Mannitol	NEGATIF
Laktosa	NEGATIF
Sukrosa	NEGATIF
Maltosa	POSITIF
Arabinosa	NEGATIF
SUHU PERTUMBUHAN	
25 ⁰ C	POSITIF
37 ⁰ C	POSITIF
40 ⁰ C	POSITIF
55 ⁰ C	POSITIF
TUMBUH DI	
Nutrient Broth	POSITIF
MCA	NEGATIF
TSI	A/A,H ₂ S-
CITRAT	NEGATIF
INDOL	NEGATIF
MR	NEGATIF
VP	NEGATIF
NaCl 7%	NEGATIF
Motilitas	POSITIF
Starch hydrolysis	NEGATIF
PENICILLIN	SENSITIV
BETA-HEMOLISA	POSITIF
Katalase	POSITIF
Oksidase	POSITIF
Reduksi Nitrat	NEGATIF
Reduksi Meth. Blue	NEGATIF
DX LAB.	<i>B. brevis</i>

KODE ISOLAT	Bt1
JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
Spora	NEGATIF
Koloni Filamentous	POSITIF
Diftroid sel	POSITIF
Warna Koloni krem	POSITIF
UJI FISILOGIS	
Katalase	NEGATIF
Indol	NEGATIF
NO ₃ --> NO ₂	POSITIF
Metil Red	POSITIF
Voges-Proskouer	POSITIF
H ₂ S	NEGATIF
TSI	NEGATIF
Urease	NEGATIF
Starch hydrolysis	NEGATIF
Gelatin hydrolysis	NEGATIF
FERMENTASI KARBOHIDRAT	
Arabinosa	NEGATIF
Fruktosa	POSITIF
Glukosa	POSITIF
Inositol	POSITIF
Laktosa	POSITIF
Maltosa	POSITIF
Mannitol	NEGATIF
Raffinosa	POSITIF
Rhamnosa	NEGATIF
Salicin	POSITIF
Sorbitol	NEGATIF
Sukrosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
DX LAB.	<i>Actinomyces viscosus</i>

KODE ISOLAT	Bt2
JENIS TES	HASIL
Spora	NEGATIF
Oksidase	POSITIF
Motilitas	POSITIF
Nitrat	POSITIF
Lysin	NEGATIF
Ornithin	NEGATIF
H ₂ S	NEGATIF
Glukosa	NEGATIF
Manitol	NEGATIF
Xylosa	NEGATIF
ONPG	POSITIF
Indole	NEGATIF
Urease	NEGATIF
V-P	NEGATIF
Sitrat	NEGATIF
TDA	NEGATIF
Gelatin	NEGATIF
Malonat	NEGATIF
Inositol	NEGATIF
Rhamnosa	NEGATIF
Sukrosa	NEGATIF
Lactosa	NEGATIF
Arabinosa	NEGATIF
Adonitol	NEGATIF
Raffinosa	NEGATIF
Salicin	NEGATIF
Arginin	NEGATIF
Katalase	NEGATIF
Koagulase	NEGATIF
DX Lab	<i>Pseudomonas stutzeri</i>

Hasil pewarnaan gram dari keempat spesies mikroba endofit adalah seperti yang tampak pada gambar 3 berikut



Gambar 3 Hasil pewarnaan gram mikroba endofit

Keterangan:

- Mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Batu 1
- Mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Batu 2
- Mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Pandaan 1
- Mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Pandaan 2

Dari table hasil identifikasi tersebut dapat diketahui bahawa bakteri endofit yang tumbuh dari lokasi Pandaan pertama (kode Pd1) adalah *A. viscosus*, sedangkan dari lokasi Pandaan kedua (kode Pd2) adalah *B. brevis*. Sedangkan bakteri endofit yang tumbuh dari lokasi Batu pertama (kode Bt1) adalah *A. viscosus* dan dari lokasi Batu kedua (kode Bt2) adalah *P. stutzeri*. Sedangkan dari hasil pewarnaan gram tampak bahwa mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Batu 1 merupakan gram positif, mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Batu 2 merupakan gram negatif, mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Pandaan 1

merupakan gram positif dan mikroba endofit dari rimpang temulawak lokasi Pandaan 2 merupakan gram positif.

Diantara bakteri endofit yang sudah dikenal mampu memproduksi berbagai senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat adalah dari golongan bakteri *Actinomycetes*. *Actinomycetes* telah dikenal sebagai mikrobia produsen berbagai jenis antibiotic baik antijamur maupun antibakteri. Sekitar 0% dari antibiotik yang ada saat ini diisolasi dari *Actinomycetes*, dimana sebagian besar berasal dari genus *Streptomyces*. Berbagai jenis antibiotik yang dihasilkan bakteri ini telah

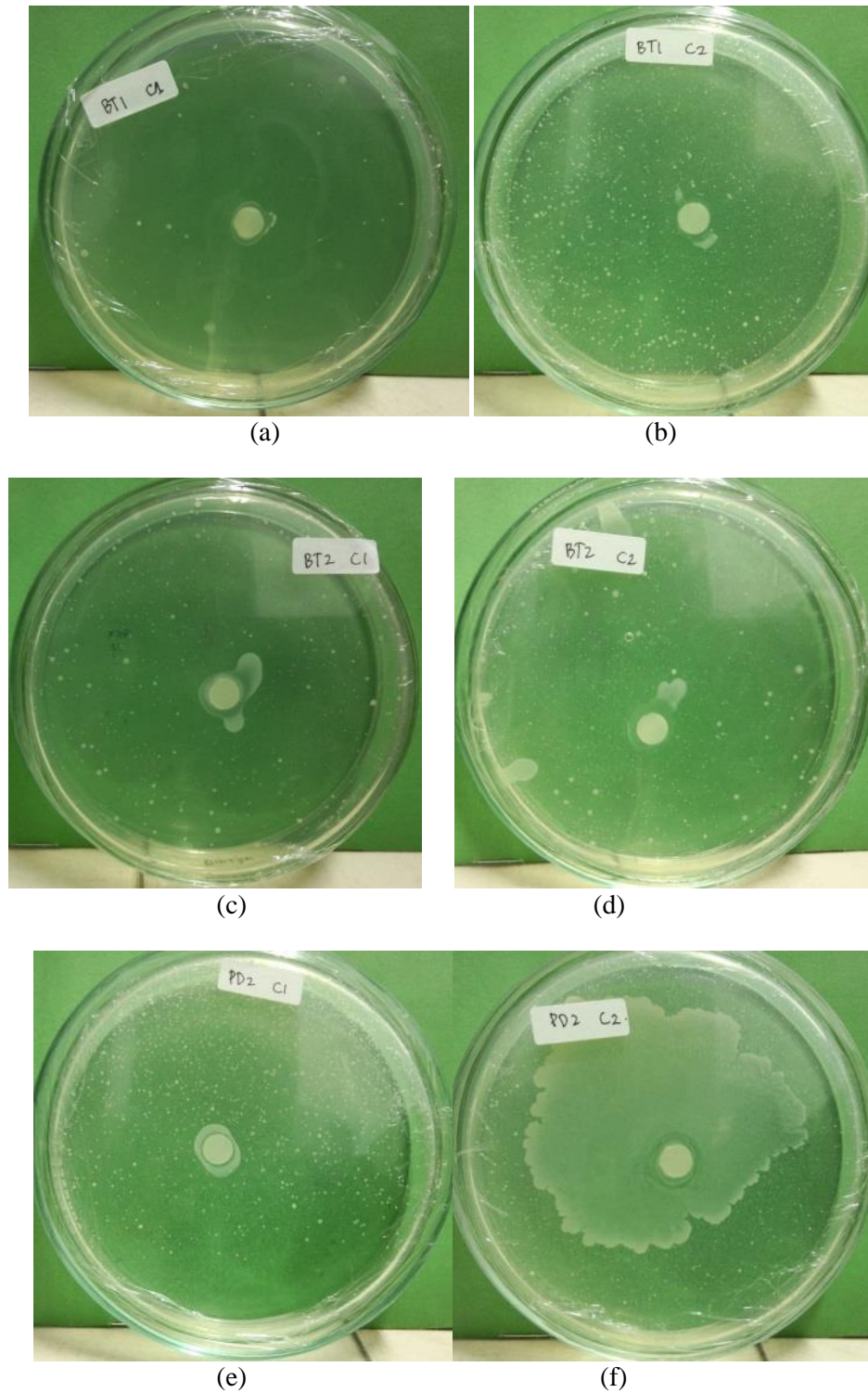
banyak dimanfaatkan baik dalam bidang kedokteran maupun pertanian. Selain antibiotik, *Actinomycetes* juga mampu mensekresi berbagai senyawa lain yang berguna dalam bidang pertanian seperti zat pengatur tumbuh, enzim pendegradasi dinding sel seperti *chitinase* and β -*glucanas* serta *siderophore*. Empat isolat endofitik *Actinomycetes* dari tanaman padi lokal Lombok memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur fitopatogenik *Fusarium* sp. and *Rhizoctonia solani* (Listiana dkk, 2012). *Actinomyces* adalah kelompok ke 17 dari bakteri yang diakui dalam edisi mutakhir Bergey's Manual, termasuk domain bakteri. Semua *Actinomyces* adalah gram positif dan bersifat anaerob fakultatif. Spesies *Actinomyces* dapat membentuk spora, dan ketika berada dalam bentuk bakteri tunggal berbentuk batang. Secara morfologi koloni, *Actinomyces* berbentuk seperti fungi dengan adanya jaringan hifa yang bercabang (Safinah, 2008). Bakteri endofit *Actinomycetes* terbukti mampu menghasilkan senyawa aktif antimikroba. Bakteri endofit ini diperoleh dari tanaman *Curcuma domestica*, *Phaleria macrocarpa*, *Isotoma longiflora*, dan *Symplocos cochinchinensis*. Isolate *Actinomycetes* ini terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis* (Sunaryanto dan Mahsunah, 2013).

Bacillus brevis atau *Aneurinibacillus migulanus* dalam Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2nd ed. 2004) disebut sebagai *Brevibacillus brevis*. spesies *Bacillus* berbentuk batang, dapat membentuk endospore, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, merupakan bakteri gram positif. Bakteri ini mampu hidup pada berbagai kondisi lingkungan. Sporanya tahan terhadap panas, dingin, radiasi, desikasi dan desinfektan. Spesies *Bacillus* digunakan pada berbagai bidang kedokteran, farmasi, pertanian, dan proses industry karena karakteristik fisiologi

dan kemampuannya dalam memproduksi enzyme hospes, antibiotik dan metabolit lain. *Basitrasin* dan *polymyxin* adalah contoh antibiotik yang didapat dari spesies *Bacillus* (Turnbull, 1996)

Pseudomonas stutzeri memiliki habitat yang luas pada berbagai kondisi lingkungan, dan merupakan pathogen oportunistik pada manusia. *Pseudomonas stutzeri* merupakan bakteri gram negative yang berbentuk batang, dengan ukuran panjang 1-3 μ m dan lebar 0,5 μ m serta memiliki flagella pada salah ujungnya (monotrikus), tetapi ada pula strain yang memiliki flagella di samping tubuhnya. Bakteri ini termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Koloninya memiliki bentuk yang khas yaitu tampak berkerut, berwarna merah kecoklatan, memiliki konsistensi keras, kering, mudah dipindahkan dari permukaan yang padat dan memiliki bentuk polygonal yang irregular atau zona konsentris. Organisme ini dapat bergerak (Lalucat, et al, 2006). Penelitian tentang bakteri endofit *Pseudomonas stutzeri* sudah pernah dilakukan sebelumnya. *Pseudomonas stutzeri* pernah diisolasi dari umbi tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). Umbi tanaman dahlia mampu menghasilkan senyawa sekunder golongan fenolik, flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa metabolit sekunder terutama senyawa antimikroba oleh isolat bakteri endofit ini dapat diproduksi dengan cara menumbuhkannya pada media fermentasi *Mueller-Hinton Broth*. Bakteri endofitik *Pseudomonas stutzeri* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* (Elita dkk, 2013).

Uji aktifitas antifungi dilakukan dengan metode difusi. Hasil uji aktivitas antifungi dapat dilihat pada table 1 dan gambar 2 (a, b, c, d, e dan f). Isolate mikroba endofit yang dinyatakan mempunyai aktivitas antifungi adalah jika terbentuk zona jernih di sekeliling isolat mikroba endofit yang ditumbuhkan pada media yang telah diinokulasi oleh mikroba pathogen.



Gambar 4. Isolate bakteri yang menunjukkan aktivitas antifungi

Keterangan:

- a. Isolate endofit dari lokasi Batu 1
- b. Isolate endofit dari lokasi Batu 1 (duplo)
- c. Isolate endofit dari lokasi Batu 2
- d. Isolate endofit dari lokasi Batu 2 (duplo)
- e. Isolate endofit dari lokasi Pandaan 2
- f. Isolate endofit dari lokasi Pandaan 2 (duplo)

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat isolate terhadap *C. albican*

Kode isolate	Luas zona hambat terhadap <i>C. albican</i> (cm)
Bt 1	0,4
Bt 2	0,15
Pd 1	0,4
Pd 2	0,45

Berdasarkan table 1 diperoleh hasil bahwa seluruh isolate mikroba endofit dari 2 lokasi di daerah Batu dan Pandaan memperlihatkan potensi aktivitas antifungi. Isolate dari lokasi 2 Pandaan memperlihatkan zona hambat yang paling luas yaitu 0,45 mm, sedangkan dari lokasi 2 Batu memperlihatkan zona hambat yang paling kecil yaitu 0,15 cm. Isolate dari lokasi 1 Batu dan lokasi 1 Pandaan

memperlihatkan luas zona hambat yang sama. Isolate yang menunjukkan aktivitas antifungi lebih sempit mungkin mempunyai kandungan senyawa aktif namun jumlahnya lebih kecil atau mungkin juga mengandung senyawa aktif potensial yang lain (Simarmata, dkk, 2007).

Tabel 2. Hasil pengamatan uji antifungi pada bakteri endofit Temulawak

Kode isolate	Uji antifugi terhadap <i>C. albican</i>
Bt 1	+
Bt 2	+
Pd 1	+
Pd 2	+

Keterangan:

+ : terbentuk zona hambat

Bt 1 : temulawak yang diambil dari lokasi 1 Batu

Bt 2 : temulawak yang diambil dari lokasi 2 Batu

Pd 1 : temulawak yang diambil dari lokasi 1 Pandaan

Pd 2 : temulawak yang diambil dari lokasi 2 Pandaan

Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa jenis bakteri endofit yang dapat diisolasi dari rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*) dari 2 lokasi sampel di Batu dan Pandaan adalah *A. viscosus*, *B. brevis* dan *P. stutzeri*. Rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*) dari 2 lokasi sampel di Batu dan Pandaan menunjukkan adanya aktivitas antifungi terhadap *C. albicans*

Temulawak diketahui mengandung zat antimikroba, salah satu kandungannya adalah kurkumin yang dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikroorganisme (Ardiansyah, 2007). Komposisi kimia dari rimpang temulawak adalah protein pati, kurkumin dan minyak atsiri. felandrean dan turmerol. Selain itu juga mengandung kamfer, glukosida, foluymetik karbinol. Temulawak mengandung minyak atsiri seperti limonina yang mengharumkan, sedangkan kandungan

flavonoidnya berkhasiat menyembuhkan radang. Minyak atsiri juga mampu membunuh mikroba. (Purnowati, 2008).

Sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau bahan obat merupakan metabolit sekunder. Metabolit sekunder termasuk antibiotic atau antimikroba dapat diproduksi oleh mikroorganisme endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman. Mikroorganisme dapat ditemukan dalam batang, umbi akar dan akar tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut (Izza, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Erna Listiana dkk terhadap bakteri endofit *Actinomyces* dari tanaman padi local Lombok didapatkan hasil bahwa *Actinomyces* dapat menghambat pertumbuhan jamur fitopatogenik

Fusarium sp. and Rhizoctonia solani (Listiana, dkk, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi antifungi bakteri endofit rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*) terhadap spesies jamur lainnyadan untuk mengetahui jenis senyawa aktif antifungi yang dihasilkan oleh bakteri endofit rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adila, R., Nurmiati, dan Anthoni, A. 2013. Uji Antimikroba terhadap Pertumbuhan *Candida Albica*, *Staphilococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Jurnal Biologi*, hl 6-11.
- Afifah,E. 2003. Khasiat dan manfaat temulawak, rimpang penyembuh aneka penyakit. *Agromedika Pustaka*, Jakarta.
- Aini, L. Q. dan A. L. Abadi . 2004. Keragaman Bakteri Endofitik dalam Jaringan Akar Tanaman Pisang Serta Potensi Antagonistiknya. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. **16 (2)**: 114-115.
- Batubara, R., Mohammad Rafi, Latifah K. 2005. *Estimasi Kandungan Kurkumin pada Sediaan Herbal Komersial Secara Spektrofotometri Derivative*. *JurnalSains Kimia* vol 9, No. 1,: 28-3.
- Castillo UF, Strobel, Ford EJ, Hess WM, Porter H, Jensen JB, Albert H, Robison R, Condron MAM, Teplow DB, Stevens D, Yaver D. 2002. Munumbicins, 34 wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology*. 148:2675–2685.developments (Review). *Drugs*. 53:539-549.
- Cowan, M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology* (12) 4: 564-582 Hwang, J.K. 2000.
- Dwidjoseputro, D. 1989. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan
- Elita, A., Saryono, S., Christine, J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. Dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *J. Ind.Che.Acta* Vol. 3 (2) Mei 2013, p. 56-62
- Ezra D *et al.*. 2004. Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate *Streptomyces* sp. (MSU-2110) endophytic on *Monstera* sp.. *Microbiology*. 150:785–793.
- Fatmawati, D.A. 2008. *Pola Protein dan Kandungan Kurkuminoid Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.)*. [Skripsi]. FMIPA.ITB. Bandung.
- Fengxia L, Lijun S, Zhaoxin L, Xiaomei B, Yaowei F, Shu L. 2007. Isolation and identification of an endophytic strain EJS-3 producing novel fibrinolytic enzymes. *Curr Microbiol*. 54:435–439.
- Hallman, J. Quadr-Hallman A, Mahaffee, WF, Klopper, JW. 1997. *Bacterial Endophytes in Agricultural Crop*. *Can J Microbiol*. 43: 895-914.
- Hedge, B.M. 2005. *Antibiotic Crisis-A Time Bomb*. *Jurnal Kuwait Med*. 37 (2): 79-81 Hansel, R. 1980. *Pharmazeutische Biology*, Springer-Verlag. Berlin.
- Heinrich, M. 2009. *Farmakognasi dan Filoterapi*. Buku Kedokteran Indonesia. Jakarta.
- Hallman, J. Quadr-Hallman A, Mahaffee, WF, Klopper, JW. 1997. *Bacterial Endophytes in Agricultural Crop*. *Can J Microbiol*. 43: 895-914.
- Hwang, J.K. 2000. *Xhantorrhizol a Potential Antibacterial Agent for Curcuma Xantorrhiza Against Streptococcus Mutans*. *Planta Med* 66: 196-197.
- Izza, I. 2011. *Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antimikroba*. UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- Jawetz,E.,J.L. Melnick & E.A. Adelberg. 2004. *Medical Microbiology*. Lange Medical Publications, Canada.
- Lalucat, J., Bennasar, A., Bosch, R., Garcia-Valdes, E., Pallero, N.J. 2006. *Biology of Pseudomonas stutzeri*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, June 2006, p. 510–547
- Levy, S.B. 2002. *Faktors Impacting on the Problem of Antibiotic Resistance*. *J. of Antimicrobial Chemotherapy*. 49: 25-30.
- Listiana, E., Anugrahwati, D.R., Muthahanas, I. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofitik Actinomycetes dari Tanaman Padi Lokal Lombok*. Downloaded on February 2, 2015

- Lumyong S, Norkaew N, Ponpathachart D, Lumyong P, dan Tomita F, 2001. Isolation, Optimisation and Characterization of Xylanase from Endophytic fungi. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources. *The Tropic*, 15.
- Manitto, P. 1981. *Biosynthesis of Natural Products*. Ellis Hormood Limited. Koensoemardiyah (penterjemah). 1992. Biosintesis Produk Alami. IKIP Semarang Press.
- Melo FMP, Fiore MF, Moraes LAB, Scramin S, Teixeira MA, Melo IS. 2009. Antifungal compound produced by the cassava endophyte *Bacillus pumilus* MAIIM4A. *Sci Agr*. 66: 583–592.
- Miller RV, Miller CM, Garton Kinney D *et al.*, 1998. Ecomycins, Unique Antimucotis from *Pseudomonas Virid Flava*. *J. Appl Microbiol*; 151: 67-73.
- Myers, RS. 2006. *Antifungal Agents*. Immunizing and Antimicrobial Agents. Spring 2006. MEDCH 401
- Pelczar, M. J, Jr., and Chan E. C. S, 1986, Mikrobiologi Dasar, Edisi Kelima, Jilid I, a.b. Sri, R. H., dkk, Universitas Indonesia-Press, Jakarta. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Pelczar, M.J dan E.C.S Chan, 1998. *Mikrobiologi*. Penterjemah: Hadioetomo, R.S dan Tjitrosomo, S.L. Penerbit UI Jakarta.
- Petrini OTN, Sieber LT, Viret O. 1992. *Ecology, Metabolite Production and Substrate Utilization and Endhophytic Fungi*. *Natural Toxin*.p. 185-196.
- Pujiyanto S, Lestari Y, Suwanto A, Budiarti S, Darusman LK. 2012. Alpha-glucosidase inhibitor activity and characterization of endophytic actinomycetes isolated from some indonesian diabetic medicinal plants. *Int J Pharm Pharm Sci*. 4: 327–333.
- Purnomowati, Sri. 2008. *Khasiat Temulawak: Tinjauan Literatur tahun 1980-1997*. http://www.indofarma.co.id/index.php?option=com_content&task=view&id=21&Itemid=125. Downloaded on Agustus 31, 2008).
- Qiong-Ying W, Jun-Qiang J, Guang-Xiu T, Hui Y, Zhong-Zheng G. 2012. Isolation and characterization of an antimicrobial endophytic bacterium ME-2 from mulberry twig in China. *Afr J Mic Res*. 6: 6462–6467
- Radji, Maksum. 2005. *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II No. 3, 113-126.
- Rahman, M. 2008. *Aktivitas Anti Bakteri Senyawa Hasil Biotransformasi Kurkumin Oleh Mikrob Endofil Asal Kunyit*. <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/14837/G09mnr.pdf> [15 Februari 2015].
- Rahmat Rukmana, Ir. 1995. Temulawak: Tanaman rempah dan obat.
- Ridawati, Jenie, BSL., Djuwita, I., Sjamsuridjal, W. 2011. Aktiivitas Antifungal Minyak Atsiri Jinten Putih Terhadap *Candida* parapsilosis SS25, *C. orthopsilosis* NN14, *C. metapsilosis* MP27, dan *C. etchellsii* MP18. *Makara Sains*, Vol.15 No.1, April 2011: 58-62
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. ITB. Bandung.
- Rosana, Y, Sjahrurachman, A., Setyaningsih, ER. *Studi Resistensi N. Gonorrhoeae yang diisolasi dari Pekerja Seks Komersial di Beberapa Tempat di Jakarta*. *Mikrobiol Indon*. 1999; 4: 60-63.
- Rukmana, R. 2004. *Temu-temuan Apotek Hidup di Pekarangan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ and Dowling DN. 2007. Minireview: Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett*. 278:1–9.
- Safinah. 2008. *Optimasi Separasi dan Purifikasi Senyawa Antibiotika yang Dihadiskan oleh Aktinomiset Endofit*
- Shibuya H, Agusta A, Ohashi K, Maehara S, and Simanjuntak P. 2005. *Biooxidation of (/)- Catechin and (-)- Epicatechin into 3,4-Dihydroxy flavan Derivatives by the Endophytic Fungus Diaporthe sp. Isolated from a Tea Plant*. *Chem Pharm Bull*. 53 (7): 866-7.
- Sidik, Mulyono M.W., & Muhtadi A., 1985, *Temulawak (Curcuma xanthorriza Roxb.)*, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica, Jakarta.
- Simanjuntak, P., Titik K.P., Bustanussalam, Kazuyoshi O., Hirotaka S., 2001.
-

- Biochemical Character of Endophyte Microbes Isolates from Cinchona Plnts.* In Biotechnology for Sustainable Utilization Biological Resources in the Tropics. Vol. 15.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., Sukimin, H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. Berk. Penel. Hayati: 13 (85–90)
- Srikandace Y, Hapsari Y, Simanjuntak P. 2007. Seleksi mikroba endofit *Curcuma zedoaria* dalam memproduksi senyawa kimia antimikroba. *JIFI*. 5(2):77–84.
- Strobel GA, Hess WM, Fund E, Sidhu RS, And Yang X. 1996a. *Taxol from Fungal Endophytes and the Issue of Biodeversity*. *J Industrial Microbiol*. 17; 417-29.
- Strobel GA, Yang X, Sears J, Kramer P. Sidhu RS, and Hess WM. 1996b. *Taxol from Pestatiopsis Microspore an Endophytic Fungus of Taxus Wallachiana*. *Microbiology*. 142: 435-40.
- Sunaryanto, R., Mahsunah, A.H. 2013. Isolation, Purification, and Characterization of Antimicrobial Substances from Endophytic Actinomycetes. *Makara J. Sci*. 17/3 (2013), p. 87-92
- Sundari, D., Dzulkarnain, B., Widowati, L., Astuti, Y., Adjirni., Pudjiastuti. 1998. *Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia IX*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI.
- Sunitha VH, Ramesha A, Savitha J, Srinivas C. 2012. Amylase production by endophytic fungi *Cylindrocephalum* sp. isolated from medicinal plant *Alpinia calcarata* (haw.) Roscoe. *Braz J Microbiol*. 2012:1213–1221.
- Susanti, Ivy. 2008. *Pemprov NAD Luncurkan Tahun Sanitasi Internasional*. *Harian Waspada Online* 03 Maret 2008, diakses dari <http://www.waspada.co.id> tanggal 03 Maret 2008.
- Syaifuddin, M. 2004. *Peranan Teknik Nuklir dalam Pemberantasan Penyakit Infeksi, Puslitbang Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir-BATAN*. *Bulletin Alara* 5 (1); 15-22.
- Taechowisan T, Chuaychot N, Chanaphat S, Wanbanjob A, Shen Y. 2008. Biological activity of chemical constituents isolated from *Streptomyces* sp. Tc052 and endophyte in *Alpinia galanga*. *Int J Pharm*. 4:95–101.
- Taechowisan T, Lumyong S. 2003. Activity of endophytic actinomycetes from roots of *Zingiber officinale* and *Alpinia galanga* against phytopathogenic fungi. *Ann Microbiol*. 53:291–298.
- Tan, R. X. and W. X. Zou. 2001. Endophytes: A rich of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep*. 18: 448-459.
- Tjitosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tanaman Obat-obatan*. UGM. Yogyakarta.
- Tortora, G.J., B.R/ Funke, Christine L.C. 2001. *Microbiology an Introduction*. International Edition. Addison Wesley Longman, Inc. New York. Isolation, id.
- Turnbull, P.C.T. 1996. *Bacillus*. In: Baron, S., editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. Chapter 15
- Utami, U. 2011. *Isolation, Identification and antimicrobial activities selection of endophytic bacterial from Mangrove Bruguiera Gymnorhiza*. *Intern. Journal of Academic Research*, vol.3, p. 187-194.
- Waluyo,Lud. 2008. *Dasar Teknik Metode Mikrobiologi*. Malang: UMM Press.
- Wikipedia. 2015. *Actinomyces*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Actinomyces>. Downloaded on February 2, 2015