

AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT KAPANG ENDOFIT DARI KULIT NANAS (*Ananas comosus (L.) Meer*)

Siti Hamidatul 'Aliyah^{1*}, Musfirotun¹, Nur Antriana²

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi

²Program Studi Keperawatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi

*Email korespondensi: sithamidatula@stikes-hi.ac.id

Abstract

*Pineapple contains an enzyme called bromelain which is can be used as antiseptic of mouth, antibacterial, antifungal, and disinfectant. Endophytic mold is a microbe that forms colonies in healthy tissues of living organisms, generally, endophytic microbes do not cause harmful symptoms in the tissue of their host. This study aims to isolate the endophytic shell origin of pineapple peel that has acted as an antibacterial. A total of 3 endophytic capsules, Ac-I, Ac-II and Ac-III were isolated from pineapple skin using PDA media. The three isolates were purified and microscopic examinations were performed. Antibacterial testing was performed by fermentation to produce supernatant, then tested using disc method (Kirby-Bauer method) with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* test bacteria. The 3 isolates obtained only 1 isolate Ac-III isolates that have activity as antibacterial, with the inhibition zone diameter in bacterium *Staphylococcus aureus* 7.65 mm while in the bacterium *Escherichia coli* 6,9 mm.*

Keywords: *antibacterial, endophytic mold, pineapple peel.*

1. PENDAHULUAN

Infeksi merupakan proses masuknya mikroba patogen kedalam tubuh, kemudian berkembangbiak. Bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi baik secara lokal maupun sistemik. Penyakit infeksi secara umum dapat diobati dengan obat antibakteri/antibiotik. Akan tetapi dengan semakin tingginya penggunaan antibiotik, dapat meningkatkan resistensi dari bakteri patogen. Resistensi terhadap antibiotik pada bakteri mendorong upaya penemuan obat baru yang lebih efektif dan aman. Selain itu penggunaan antibiotik kimiawi harganya relatif mahal dan menimbulkan beberapa efek samping bagi kesehatan, sehingga kapang endofit dapat menjadi salah satu alternatif untuk menghasilkan senyawa antibiotik untuk menghambat mikroba pantogen (Walpajri, Rodesia, & Roza, 2014; Van Antwerpen, Rutherford, & Vogel, 2002).

Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang sebagian ataupun keseluruhan fase hidupnya ada pada tumbuhan inanganya tetapi tidak menimbulkan

penyakit pada tumbuhan inang Fungi endofit biasanya ditemukan pada tumbuhan (Fitriarni & Kasiamdari, 2018). Kapang endofit biasanya dapat diisolasi dari bagian tumbuhan baik daun, batang, bunga, buah dan biji (Roze, Chanda, & Linz, 2011). Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang menarik karena bersimbiosis dengan tumbuhan dan bermanfaat untuk pertahanan diri inangnya dari musuh alaminya (Faeth & Fagan, 2002). Kapang endofit dapat meningkatkan pertahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan baik abiotik maupun biotik. Beberapa kapang endofit menghasilkan zat toksik yang dapat melindungi tumbuhan inang dari pathogen misalnya tumbuhan lain, serangga, nematoda dan herbivora (Mousa & Raizada, 2013).

Penelitian ini mengisolasi kapang endofit dari kulit nanas. Nanas merupakan salah satu tumbuhan yang banyak ditemukan di Jambi. Buah nanas mengandung enzim bromelin, vitamin, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, natrium, kalium, dekstrosa, dan sukrosa. Enzim bromelin pada nanas dapat digunakan sebagai antibakteri, anti jamur dan desinfektan (Rahmat, Ratih L., Nurhidayati, & Ayu Bathini, 2015). Buah nanas yang muda dan yang matang sama-sama memiliki kandungan enzim bromelin, namun pada buah nanas yang muda lebih banyak mengandung enzim bromelin dari pada yang matang (Nurhidayah, Masriany, & Masri, 2013).

Enzim bromelin dapat mengubah atau merusak struktur protein penyusun dinding luar sel bakteri sehingga berakibat dinding sel bakteri pecah (Eshamah, Han, Naas, Rieck, & Dawson, 2013). Husniah & Gunata, (2020), telah melaporkan bahwa ekstrak kulit nanas memiliki aktivitas antibakteri terutama pada bakteri gram positif. Selain itu, Fitriana et al (2016) juga telah melakukan penelusuran terhadap fungi endofit pada daun nanas yang berpotensi sebagai anti bakteri. Namun, informasi terkait isolasi kapang endofit pada kulit nanas yang berpotensi sebagai antibakteri masih sangat terbatas. Sehingga tujuan penelitian ini untuk mengisolasi kapang endofit dari kulit nanas yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Kulit nanas diambil dari lahan perkebunan warga di Tangkit Baru, Kecamatan Sungai Gelam, Kabupaten Muaro Jambi, Provinsi Jambi. Sampel kulit nanas yang masih muda, berwarna hijau, dan segar dicuci bersih dengan air mengalir selama ± 10 menit, kemudian diiris sepanjang ± 1 cm lalu dibilas dengan aquades steril, kemudian kulit nanas dikering anginkan diatas kertas saring steril kemudian permukaan kulit nanas disterilisasi dengan cara direndam dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam natrium hipoklorit (NaOCl) 1% selama 5 menit. Setelah itu dilakukan pengulangan direndam kembali dalam alkohol 70% selama 1 menit. Selanjutnya, dibilas 3 kali dengan aquades steril.

2.2 Isolasi dan pemurnian Kapang Endofit

Kulit nanas yang telah disterilisasi dan diiris sepanjang 1 cm diletakkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah dicampur dengan kloramfenikol 0,05mg/mL (Crozier, Thomas, Aime, Evans, & Holmes, 2006). Setelah itu diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 37°C, amati hingga ada pertumbuhan kapang, isolasi kapang endofit dilakukan dengan tiga kali pengulangan (*triplo*). Pada isolasi sampel yang pertama diberinama Ac-1 yang berarti *Ananas comosus*-1, begitu juga seterusnya pada sampel yang ke dua dan ketiga. Isolat kapang endofit yang tumbuh dan menunjukkan morfologi dan warna koloni yang berbeda kemudian dimurnikan untuk memperoleh isolat tunggal. Isolat yang telah murni kemudian dilakukan karakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis (Noverita, Dinah Fitria, 2009).

2.3 Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Karakterisasi makroskopis kapang endofit dilakukan dengan mengamati morfologi koloni dan warna koloni. Morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, dan elevasi dari koloni tersebut Sedangkan pemeriksaan mikroskopis dengan teknik pewarnaan sel vegetatif. Objek glass dan penutup dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70%, lalu teteskan sedikit larutan *Lacto Fenol Cotton Blue* (LFCB) ditengan permukaan objek glass, koloni kapang diambil dari bagian tepi

media dan diletakkan di permukaan kaca objek. Selanjutnya hifa kapang diuraikan menggunakan jarum ose secara perlahan kemudian jika kapang sudah terurai ditutup dengan gelas penutup. Kemudian amati bentuk hifa dan warna hifa dibawah mikroskop dengan perbesaran mulai terkecil,

2.4 Fermentasi Isolat Kapang Endofit

Fermentasi kapang endofit dilakukan dengan cara fermentasi cair menggunakan media *Potato Dextrose Borth* (PDB). Koloni kapang endofit murni kemudian diambil menggunakan sedotan steril sebanyak 1 potongan dimasukkan kedalam medium PDB cair sebanyak 50 mL kemudian diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang dengan kultur diam (statis). Masing-masing kultur yang telah difermentasi dimasukkan kedalam tabung 10 mL steril kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, setelah disentrifus, bagian supernatan diambil untuk pengujian aktivitas antibakteri (Noverita, Dinah Fitria, 2009).

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan media *Nutrien Agar*. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) dan bakteri gram positif (*S. aureus*) dengan metode Kirby-Bauer (metode cakram). Tuang media *Nutrien agar* ke dalam masing-masing cawan petri steril sebanyak ± 20 ml dan didiamkan sampai media menjadi padat selama 15 menit. Bakteri *E.coli* dan *S. aureus* yang telah disuspensikan sebelumnya masukkan kedalam cawan petri yang telah berisi media nutrien agar sebanyak 100 μ l kemudian disebar diatas media tersebut dan di ratakan atau digores menggunakan batang L yang steril hingga biakan bakteri tersebut merata diatas media setelah bakteri merata masukkan kertas cakram yang telah disterilkan terlebih dahulu lalu tetesi kertas cakram tersebut dengan suspensi kapang endofit sebanyak 20 μ l hingga kertas cakram tersebut jenuh.

Kontrol positif menggunakan cakram kloramfenikol, sebagai kontrol negatif digunakan kertas cakram steril. Selanjutnya, dilakukan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, zona bening yang terbentuk dan diukur

diameternya. Zona bening menunjukkan aktivitas antibakteri dari isolate kapang endofit.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan pada periode tertentu dan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tetapi tidak merugikan inangnya. Tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan metabolit sekunder yang dihasilkan inangnya (Radji, 2005). Kumaran dkk, (2010) menyatakan bahwa mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa berupa enzim, vitamin, antibakteri, antioksidan dan agen farmakologi

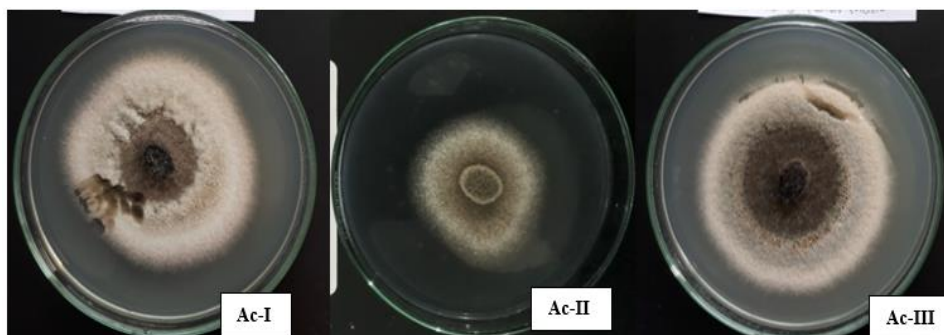
Sampel penelitian ini adalah kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) yang merupakan penghasil kapang endofit. Isolasi kapang endofit asal kulit nanas dilakukan menggunakan difusi agar. Sampel tanaman nanas diambil dari lahan perkebunan warga di Tangkit Baru, Kecamatan Sungai Gelam, Kabupaten Muaro Jambi, Provinsi Jambi.

3.1 Hasil Pemurnian Isolat Kapang Endofit

Sebanyak 3 isolat kapang endofit yang berhasil diisolasi dari kulit nanas yang diambil dari lahan perkebunan warga di Tangkit Baru yang diberi nama Isolat Ac-1, Isolat Ac-II, dan Isolat Ac-III (Gambar 1). Semua isolat tumbuh dengan baik pada media PDA karena media PDA merupakan media selektif untuk pertumbuhan kapang. Media mudah dicerna sehingga memudahkan untuk kapang endofit yang telah berhasil diisolasi lebih mudah untuk tumbuh. Peremajaan kapang endofit bertujuan untuk menjamin kapang endofit agar tidak berada pada fase kematian dipercepat dimana lebih banyak sel-sel yang mati dari pada sel-sel yang hidup (Gandjar, Syamsuridzal & Oetari, 2006).

Media fermentasi yang digunakan adalah media PDB, karena dalam media ini mengandung sumber karbon dan sumber nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan kapang endofit. Selain itu juga mengandung garam-garam organik serta beberapa vitamin dan mineral. Proses fermentasi dilakukan selama tujuh hari

dimana kapang endofit diperkirakan sudah mencapai fase stationer dan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik.



Gambar 1. Hasil isolat murni kapang endofit asal kulit nanas (Isolat Ac-1 , Isolat Ac-II, dan Isolat Ac-III).

3.2 Hasil Pengamatan Makroskopis

Isolat yang telah murni kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis. Isolat kapang endofit yang diperoleh diduga mempunyai genus *Mucor*, dengan karakteristik: koloni kapang endofit ini memiliki hifa bercabang, warna hifa putih kecoklatan hingga kehitam dengan permukaan koloni membentuk cembung, bentuk koloni bundar dengan memiliki tepian menyebar kasar, tidak merata. Warna koloni putih kecoklatan hingga kehitam. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang diperoleh berdasarkan pengamatan morfologi koloni di atas media padat secara makroskopis (Tabel 1).

3.3 Hasil Pengamatan Mikroskopis

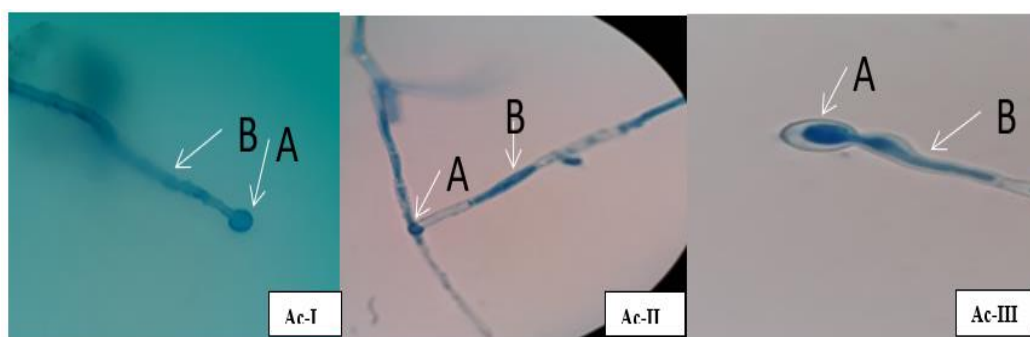
Identifikasi kapang endofit dapat dilakukan dengan menggunakan karakterisasi mikroskopis menggunakan larutan LFCB. Penggunaan larutan LFCB pada pengamatan mikroskopis menyebabkan warna biru pada hifa karena larutan LFCB yang digunakan berwarna biru (Gambar 2).

3.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

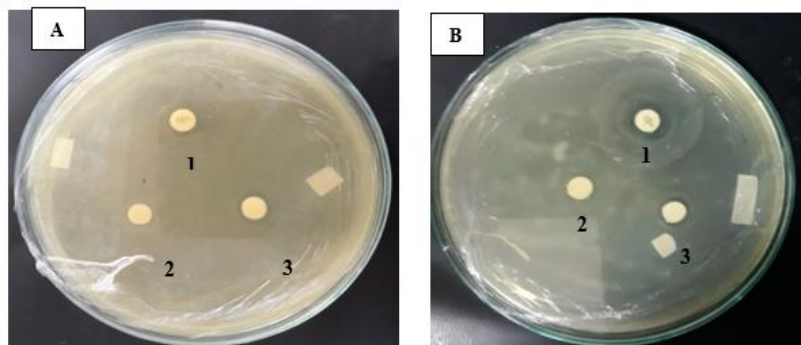
Hasil uji antibakteri isolat kapang endofit terhadap bakteri uji yang dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer (metode cakram) dengan kontrol positif antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan adanya zona hambat sebesar 28 mm pada bakteri *S. aureus* sedangkan pada bakteri *E. coli* memiliki diameter zona hambat sebesar 22 mm, yang terbentuk pada sekeliling cakram. Kedua kontrol positif tersebut memiliki diameter zona hambat yang dikategorikan sangat kuat. Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Sedangkan pada kontrol negatif tidak ada zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis kapang endofit

| Isolat | Warna Koloni | Bentuk Koloni | Elevasi | Tepian |
|--------|-----------------------------------|-------------------------------|---------|-----------|
| Ac-I | Putih Kecoklatan hingga kehitaman | Bundar dengan tepian menyebar | Cembung | Bercabang |
| Ac-II | Putih kecoklatan hingga kehitamna | Bundar dengan tepian menyebar | Cembung | Bercabang |
| Ac-III | Putih kecoklatan hingga kehitaman | Bundar dengan tepian menyebar | Cembung | Bercabang |



Gambar 2. Hasil pengamatan mikroskopis. Ac = *Ananas comosus*, A = Sporangiospora, B = Hifa



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat kapang endofit terhadap bakteri A.S. *Aureus*; B. *E. coli*. 1 = Cakram kloramfenikol (kontrol +); 2 = Kontrol negatif (cakram steril); 3 = Isolat Isolat Ac-III

Menurut penelitian yang dilakukan Fitriana, *et al* (2016) bahwa kapang endofit mempunyai aktivitas antibakteri, sama halnya pengujian aktivitas antibakteri yang di lakukan menggunakan metode Kirby-Bauer yang lebih sering dikenal dengan sebutan metode cakram. Hasil dari penelitian yang diperoleh dari isolat Ac-III dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat sebesar 7,65 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 6,9 mm. Hal ini ditandai dengan adanya zona bening yang terdapat di sekitar *paper disk*. Sama halnya pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan menunjukkan hasil pada daun nenas dan daging nenas mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* hal ini ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk*. Hal ini diduga bahwa isolat kapang endofit yang terdapat pada kulit nenas mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan oleh tumbuhan inangnya (Rahmat *et al.*, 2015).

Perbedaan aktivitas dari senyawa antibakteri yang terdapat pada isolat kapang endofit terhadap bakteri uji *S. aureus* dan bakteri *E. coli* disebabkan karena perbedaan dinding selnya, *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding selnya yang tersusun atas tiga lapis yaitu lipoprotein, fosfolipit dan polimer atau yang biasa disebut lipopolisakarida, sedangkan bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang memiliki dinding relative lebih sederhana karena berupa sel berlapis tunggal (Polapa, 2015). Kemampuan daya hambat bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram uji,

jika diameter hambatnya lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang dan kurang dari 5 mm dikategorikan lemah (Rante, Herlina, Taebe, 2013). Hasil penelitian ini melaporkan bahwa aktivitas antibakteri isolat kapang endofit Ac-III dikategorikan sedang karena memiliki daya hambat 7,65 pada bakteri uji *S. aureus* dan 6,9 mm diameter zona hambat pada bakteri *E. coli*.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Isolat kapang endofit asal kulit buah nanas yang masih muda (hijau) diduga berasal dari genus *Mucor* dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif.

4.2 Saran

Perlu dilakukan identifikasi molekuler untuk mengidentifikasi jenis kapang endofit pada kulit buah nanas.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Crozier, J., Thomas, S. E., Aime, M. C., Evans, H. C., & Holmes, K. A. (2006). Molecular characterization of fungal endophytic morphospecies isolated from stems and pods of *Theobroma cacao*. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01446.x>
- Eshamah, H., Han, I., Naas, H., Rieck, J., & Dawson, P. (2013). Bactericidal Effects of Natural Tenderizing Enzymes on *Escherichia Coli* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Research*. <https://doi.org/10.5539/jfr.v2n1p8>
- Faeth, S. H., & Fagan, W. F. (2002). Fungal endophytes: Common host plant symbionts but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology*. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.360>
- Febri Walpajri, Rodesia M. Roza, F. (2014). Eksplorasi dan uji daya hambat bakteri endofit dari tanaman benalu sawo (. *JOM FMIPA*, 1(2), 1–10.
- Fitriana, Maryam, S., Naid, T., & Maryana. (2016). Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (*Ananas comosus* (L.) Meer). *J. As-Syifaa*.

- Fitriarni, D., & Kasiamdari, R. S. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Fungi from Leave and Stem of *Calopogonium mucunoides*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(1), 30. <https://doi.org/10.22146/jtbb.32477>
- Husniah, I., & Gunata, A. F. (2020). Ekstrak Kulit Nanas sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(1), 85–90. <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i1.51>
- Kumaran, R. S., Kim, H. J., & Hur, B. K. (2010). Taxol promising fungal endophyte, *Pestalotiopsis* species isolated from *Taxus cuspidata*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.06.007>
- Mousa, W. K., & Raizada, M. N. (2013). The Diversity of Anti-Microbial Secondary Metabolites Produced by Fungal Endophytes: An Interdisciplinary Perspective. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00065>
- Noverita, Dinah Fitria, E. S. F. (2009). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun Dan Rimpang. *Farmasi Indonesia*.
- Nurhidayah, N., Masriany, M., & Masri, M. (2013). Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas comosus*) Berdasarkan Variasi pH. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(2), 116–122. <https://doi.org/10.24252/bio.v1i2.457>
- Polapa, F. S. (2015). Antibakteri dari Ekstrak Kasar Bakteri Asosiasi Karang Batu yang terinfeksi Penyakit Brown Band (Brb) terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus Aureus* dan, *Skripsi FIKP*.
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i3.3388>
- Rahmat, D., Ratih L., D., Nurhidayati, L., & Ayu Bathini, M. (2015). Peningkatan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan Pembentukan Nanopartikel. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(5), 236–244. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i5.45>
- Rante, Herlina, Taebe, B. dan I. S. (2013). Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annum* L var. *chinensis*) Dan Profil Klt Bioautografi. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*.
- Roze, L. V., Chanda, A., & Linz, J. E. (2011). Compartmentalization and molecular traffic in secondary metabolism: A new understanding of established

cellular processes. *Fungal Genetics and Biology*.
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.05.006>

Van Antwerpen, T., Rutherford, R., & Vogel, J. (2002). Assessment of sugarcane endophytic bacteria and rhizospheric Burkholderia species as antifungal agents. *Proc Annu Congr S Afr Sugar Technol Assoc*.