

## Ekstraksi bahan aktif antimikroba yang diproduksi oleh jamur endofitik untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.

Taty Rusliati <sup>1)</sup>, Nuki Bambang Nugroho<sup>2)</sup>, Bambang Sumadi <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara  
Jalan Let.Jen. S. Parman 1, Jakarta

<sup>2,3)</sup>Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Kawasan PUSPIPEK Gedung 630 Setu, Tangerang Selatan,  
Banten

Email korespondensi nbngroho@yahoo.com

### Abstrak

Dengan meningkatnya kebutuhan terapi menggunakan antimikroba / antibiotika maka perlu dilakukan pengembangan produksi terhadap bahan aktif antimikroba terutama antimikroba alami. Mikroba endofit merupakan mikroba yang sebagian atau keseluruhan siklus hidupnya berada dalam jaringan hidup tanaman inang. Mikroba endofit hidup secara internal dalam jaringan hidup inangnya secara simbiosis mutualistik. Inang mikroba endofit dapat berupa pohon, semak, rumput atau herba (Petrini *et al.*, 1992).

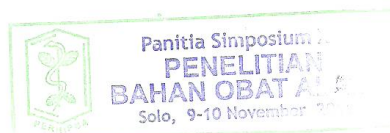
Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari teknik ekstraksi bahan aktif antimikroba yang diproduksi oleh jamur endofitik.

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi bahan aktif antimikroba dengan eksperimen yang terdiri atas kultur jamur endofitik, ekstraksi dengan beberapa pelarut, dan bioautografi.

Dari hasil analisis data proses ekstraksi terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* dengan data ekstraksi yang digunakan pada analisis ini adalah data aktifitas antimikroba oleh ekstrak kultur TI-U1 dan TI-U2, karena hanya ekstrak-ekstrak ini yang menunjukkan aktifitas antimikroba terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*. Analisis ragam satu arah menunjukkan bahwa di antara 12 perlakuan ekstraksi dan 1 kontrol (nystatin) tersebut terdapat perbedaan aktivitas antimikroba yang sangat nyata. Uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi oleh ekstrak etilasetat dari supernatan isolat TI-U2 berbeda nyata dengan aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol maupun ekstrak-ekstrak lainnya.

Dari kultur mikroorganisme endofit memperlihatkan bahwa ekstraksi optimum didapatkan jika supernatan kultur mikroorganisme endofit diekstraksi dengan etilasetat.

**Kata kunci :** jamur endofitik, aktivitas antibiotika, ekstraksi bahan aktif antimikroba



## **Pendahuluan**

Penyakit infeksi adalah salah satu penyakit yang masih tinggi prevalensinya di dunia, termasuk Indonesia. Hal ini menyebabkan tingginya kebutuhan terapi dengan menggunakan antimikroba/antibiotika. Produksi senyawa antibiotika dapat dilakukan melalui sintesis kimiawi, kultur sel (tanaman atau mikroba), atau kombinasi sintesis kimiawi dan kultur sel. Pembuatan senyawa antibiotika dengan sintesis kimiawi memiliki beberapa kekurangan, misalnya tahap reaksi terlalu panjang dan konsumsi energi cukup tinggi. Salah satu sumber antimikroba alami adalah mikroba itu sendiri. Beberapa jenis bakteri, jamur dan khamir dapat menghasilkan senyawa kimia yang aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Disamping itu alam Indonesia dengan hutan tropis hujannya memiliki keanekaragaman jenis tumbuhan tingkat tinggi. Hal ini memberikan keanekaragaman jenis mikroorganisme endofitik dan keanekaragaman mikroorganisme tersebut memberikan peluang ditemukannya senyawa antibiotika baru. Dengan demikian, penelitian terhadap bahan aktif antimikroba, terutama yang berasal dari alam, penting untuk terus dikembangkan.

Pada penelitian tahun I (2008) telah dilakukan eksperimen tahap (1) Isolasi jamur endofitik, dan (2) seleksi jamur endofitik sebagai penghasil antimikroba. Penelitian tahun II (2009) dilakukan eksperimen tahap (3) optimasi parameter kultur jamur endofitik. Penelitian pada tahun ini (tahun III / 2010) dilakukan eksperimen tahap (4) ekstraksi bahan aktif antimikroba yang dihasilkan jamur endofitik, terdiri atas; (a) kultur jamur endofitik, (b) ekstraksi dengan beberapa pelarut, (c) bioautografi. Dari penelitian tahun III ini diharapkan diperoleh metode ekstraksi bahan aktif antimikroba yang optimum untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.

## **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

### **TUJUAN KHUSUS**

Tujuan khusus dari penelitian adalah :

- a. Mempelajari teknik isolasi jamur endofit dari berbagai bagian tanaman-tanaman obat tradisional Indonesia
- b. Mempelajari aktivitas antimikroba dari isolat-isolat jamur endofit tersebut terhadap beberapa mikroba patogen.
- c. Mempelajari teknik optimasi kultur jamur endofitik
- d. Mempelajari teknik ekstraksi bahan aktif antimikroba yang diproduksi oleh jamur endofitik

**Manfaat atau keutamaan rencana penelitian ini:**

Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah diperoleh isolat jamur endofit dengan aktivitas antimikroba yang cukup tinggi sehingga memberikan peluang untuk mendapatkan senyawa bahan baku obat antimikroba baru.

**Materials and Methods****Ruang Lingkup :**

Pada tahun ketiga penelitian ini akan dilakukan ekstraksi bahan aktif antimikroba dari kultur kocok kapang endofit dengan memvariasikan perlakuan ekstraksi. Pengaruh perlakuan pada beberapa eksperimen yang dilakukan akan dianalisis dengan ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji Duncan.

**Alat dan Bahan**

Alat : Laminar airflow (ICN Biomedicals 303124SO433), oven (Mettmert), sentrifuge (Beckman), UV cabinet (Lamag LB 0462), reciproshaker (Taitec SR-25), shaker (Heidolph MR 2002), timbangan (Mettler), water bath (Heto TBVS-01), vortex (Heidolph Reax 2000), konsentrator (Sakuma EC 5000), sonikator, autoklaf (Tommy SS-250 / 32103095), inkubator (Sanyo Gallenkamp MIR 252 / LD 0270), shaker inkubator (Hitachi J100), pH meter (Beckman 246641), neraca analitik (Mettler AJ100), refrigerator (LG 111KR 00207), mikroskop, penghancur biomassa (Master cells), dan microwave (Whirlpool 50130315).

Bahan : Media Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid), media Potato Dextrose Yeast (PDY), media Nutrient Agar (NA, Oxoid), media Potato Dextrose Broth (PDB, Pronadisa), media Nutrient Broth (NB, Oxoid), yeast extract (YE, Oxoid), alkohol, aseton, 1-butanol, etilasetat, metanol, nystatin konsentrasi 10.000 ppm (100 mg nystatin (SIGMA N3503-5MU), dimetilformaldehid 4 ml dan H<sub>2</sub>O 6 ml), cakram kertas 6 mm, amoxilin (25 µg, Oxoid), ampisilin (10 µg, Oxoid), tetrasiklin (30 µg, Oxoid), streptomycin (10 µg, Oxoid), penicillin (10 unit, Oxoid), parafilm, alumunium foil, kertas tissue, dan aquadest.

**1. Prosedur Kultur Jamur Endofitik (Nugroho, 1998)**

- a. Medium kultur untuk jamur endofit adalah PDY (Potato Dextrose Yeast Extract Broth), cara pembuatan:
  - 1) Campur Potato Dextrose Broth, Yeast extract, kocok dan ukur pH 6, kemudian tambahkan CaCO<sub>3</sub>, aquades.
  - 2) Pipet masing-masing 10 ml ke dalam tabung reaksi 50 ml.
  - 3) Sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121 C.
- b. Koloni murni jamur endofit pada medium miring PDA diambil kira-kira 1 x 1 cm dan dipindahkan ke dalam 10 ml medium PDY.
- c. Inkubasi pada suhu kamar dengan shaker incubator 130 rpm selama 120 jam.

## **2. Prosedur Ekstraksi (Gambar 1)**

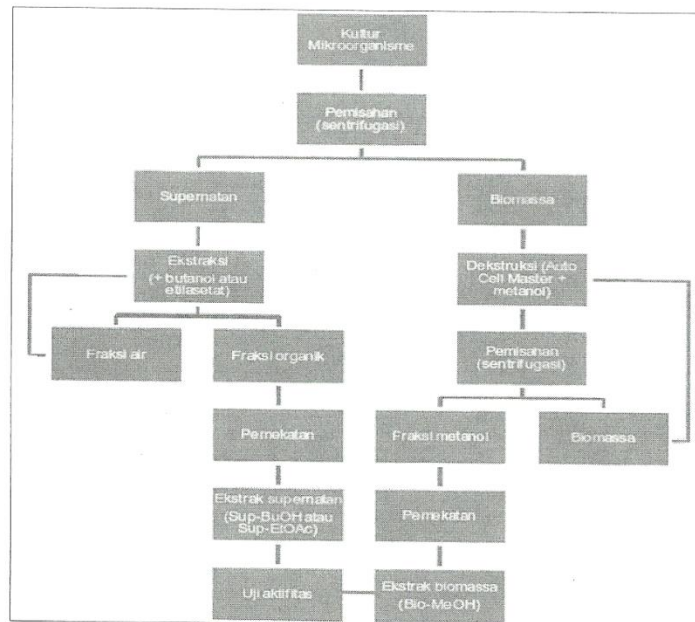
- a. Kultur disentrifugasi untuk memisahkan supernatan dan biomassa.
- b. Supernatan diekstraksi dengan n-butanol atau etilasetat. Fraksi organik (butanol atau etilasetat) dipisahkan, sementara fraksi air diekstraksi kembali 2 kali.
- c. Seluruh fraksi organik dikumpulkan, kemudian dipekatkan. Ekstrak supernatan yang terbentuk diambil untuk pengujian aktifitas antimikroba.
- d. Biomassa yang terpisah pada tahap pemisahan (1) ditambahkan metanol, kemudian dihancurkan dengan penghancur sel (Auto Cell Master).
- e. Campuran biomassa (+metanol) disentrifugasi (3000 rpm selama 10 menit). Fraksi metanol dipisahkan, sementara biomassa diekstraksi kembali 2 kali.
- f. Seluruh fraksi metanol dikumpulkan, kemudian dipekatkan. Ekstrak biomassa yang terbentuk diambil untuk pengujian aktifitas antimikroba.

## **3. Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Mikroba Patogen**

- a. Pembuatan media PGA, PDA dan NA sebagai media uji:
- b. Uji Aktivitas Antimikroba
- c. Ekstrak supernatan dan ekstrak biomassa dipakai untuk menguji adanya aktivitas antimikroba, dengan cara:
- d. Celupkan dua paper dish dengan diameter 6 mm ke dalam masing-masing ekstrak, lalu keringkan di atas kertas saring steril.
- e. Letakkan secara aseptik masing-masing pada permukaan medium PGA dan PDA yang berisi jamur patogen dan medium NA yang berisi bakteri patogen.
- f. Inkubasi untuk bakteri selama 16-24 jam pada suhu 37,5°C, dan jamur selama 2-5 hari pada suhu 27°C.
- g. Setelah diinkubasi, amati zona jernih yang terbentuk pada plate persegi dan ukur diameternya.

## **4. Prosedur bioautografi.**

Media disiapkan sama seperti pada Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba. Sampel (15 µL), sama seperti sampel pada Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba, dikromatografi pada plat TLC (Merck, Silica gel 60 F254) dengan eluen campuran etilasetat-metanol pada berbagai komposisi dari 100% etilasetat sampai 100% metanol. Plat TLC dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV, bercak yang terlihat ditandai dengan pensil. Plat TLC diletakkan pada permukaan media dengan cara permukaan silika gel kontak dengan permukaan media. Media diinkubasi pada 37°C dan 25°C untuk aktifitas antibakteri dan antijamur sampai terbentuk zona jernih. Aktifitas diukur sebagai jarak (diameter) zona jernih dalam satuan mm.



Gambar 1. Skema ekstraksi antimikroba dari supernatan dan biomassa kultur mikroorganisme endofit.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan dari supernatan dan biomassa kultur jamur endofitik dan ekstraksi dengan beberapa pelarut yang dilakukan diperoleh data ekstraksi dan korelasinya dengan aktifitas antimikroba. Data ini dikelompokkan berdasarkan pengaruh ekstraksi terhadap aktifitas antimikroba (Tabel 1 dan Tabel 2).

Tabel 1. Aktifitas antimikroba terhadap *Candida albicans* yang dipengaruhi oleh proses ekstraksi skala laboratorium

| Isolat & kultur kocok | Parameter ekstraksi     |                         |                         | Ulangan bioassay    |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|
|                       | Supernatan-BuOH         | Supernatan-EtOAc        | Biomassa-MeOH           |                     |
| TIU1 kultur A         | 6<br>6.00               | 9.08<br>10.71           | 6<br>6.00               | 1<br>2<br>rata-rata |
| TIU1 kultur B         | 6<br>6.00               | 8.9<br>8.61             | 6<br>6.00               | 1<br>2<br>rata-rata |
| TIU2 kultur A         | 6<br>6.00               | 23.9<br>19.31           | 6<br>6.00               | 1<br>2<br>rata-rata |
| TIU2 kultur B         | 6<br>6.00               | 10.13<br>9.79           | 6<br>6.00               | 1<br>2<br>rata-rata |
| Kontrol positif       |                         |                         |                         |                     |
| Nystatin              | 17.25<br>17.38<br>17.32 | 17.25<br>17.38<br>17.32 | 17.25<br>17.38<br>17.32 | 1<br>2<br>rata-rata |
| Kontrol negatif       |                         |                         |                         |                     |
| Butanol               | 6<br>6.00               | -<br>-                  | -<br>-                  | 1<br>2<br>rata-rata |
| Etilasetat            | -<br>-                  | 6<br>6.00               | -<br>-                  | 1<br>2<br>rata-rata |
| Metanol               | -<br>-                  | -<br>-                  | 6<br>6.00               | 1<br>2<br>rata-rata |

Keterangan:  
Diameter cakram kertas = 6 mm.  
Data 6 mm berarti tidak ada aktivitas penghambatan, yang diukur hanya diameter cakram kertas.

Tabel 2. Aktivitas antimikroba terhadap *Aspergillus niger* yang dipengaruhi oleh proses ekstraksi skala laboratorium.

| Isolat & kultur kocok | Parameter ekstraksi |                  |               | Ulangan bioassay |
|-----------------------|---------------------|------------------|---------------|------------------|
|                       | Supernatan-BuOH     | Supernatan-EtOAc | Biomassa-MeOH |                  |
| TIU1 kultur A         | 6                   | 6                | 6             | 1                |
|                       | 6                   | 6                | 6             | 2                |
|                       | 6.00                | 6.00             | 6.00          | rata-rata        |
| TIU1 kultur B         | 6                   | 6                | 6             | 1                |
|                       | 6                   | 6                | 6             | 2                |
|                       | 6.00                | 6.00             | 6.00          | rata-rata        |
| TIU2 kultur A         | 6                   | 7.03             | 6             | 1                |
|                       | 6                   | 7.59             | 6             | 2                |
|                       | 6.00                | 7.31             | 6.00          | rata-rata        |
| TIU2 kultur B         | 6                   | 6                | 6             | 1                |
|                       | 6                   | 6                | 6             | 2                |
|                       | 6.00                | 6.00             | 6.00          | rata-rata        |
| Kontrol positif       |                     |                  |               |                  |
| Nystatin              | 17.85               | 17.85            | 17.85         | 1                |
|                       | 19.11               | 19.11            | 19.11         | 2                |
|                       | 18.48               | 18.48            | 18.48         | rata-rata        |
| Kontrol negatif       |                     |                  |               |                  |
| Butanol               | 6                   | -                | -             | 1                |
|                       | 6                   | -                | -             | 2                |
|                       | 6.00                | -                | -             | rata-rata        |
| Etilasetat            | -                   | 6                | -             | 1                |
|                       | -                   | 6                | -             | 2                |
|                       | -                   | 6.00             | -             | rata-rata        |
| Metanol               | -                   | -                | 6             | 1                |
|                       | -                   | -                | 6             | 2                |
|                       | -                   | -                | 6.00          | rata-rata        |

Keterangan:

Diameter cakram kertas = 6 mm.

Data 6 mm berarti tidak ada aktivitas penghambatan, yang diukur hanya diameter cakram kertas.

#### I. Analisis data proses ekstraksi terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*.

Data ekstraksi yang digunakan pada analisis ini adalah data aktifitas antimikroba oleh ekstrak kultur TI-U1 dan TI-U2, karena hanya ekstrak-ekstrak ini yang menunjukkan aktifitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Analisis ragam satu arah menunjukkan bahwa di antara 12 perlakuan ekstraksi dan 1 kontrol (nystatin) tersebut terdapat perbedaan aktivitas antimikroba yang sangat nyata. Uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi oleh ekstrak etilasetat dari supernatan isolat TI-U2 berbeda nyata dengan aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol maupun ekstrak-ekstrak lainnya. (Tabel 3 dan Tabel 4)

Tabel 3. Analisis Ragam Satu Arah pengaruh proses ekstraksi skala laboratorium terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*

| Perlakuan<br>(isolat, kultur kocok dan ekstraksi) |   |            |            | Ulangan |       | Total  |
|---------------------------------------------------|---|------------|------------|---------|-------|--------|
| TI-U1                                             | A | supernatan | butanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
|                                                   |   |            | etilasetat | 9,08    | 10,71 | 19,79  |
|                                                   |   | biomassa   | metanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
| TI-U1                                             | B | supernatan | butanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
|                                                   |   |            | etilasetat | 8,90    | 8,61  | 17,51  |
|                                                   |   | biomassa   | metanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
| TI-U2                                             | A | supernatan | butanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
|                                                   |   |            | etilasetat | 23,90   | 19,31 | 43,21  |
|                                                   |   | biomassa   | metanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
| TI-U2                                             | B | supernatan | butanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
|                                                   |   |            | etilasetat | 10,13   | 9,79  | 19,92  |
|                                                   |   | biomassa   | metanol    | 6,00    | 6,00  | 12,00  |
| Nystatin                                          |   |            |            | 17,25   | 17,38 | 34,63  |
| Total                                             |   |            |            |         |       | 231,06 |

|                                              |  |    |          |         |  |  |
|----------------------------------------------|--|----|----------|---------|--|--|
| Perlakuan ( $p$ ) = 13                       |  |    |          |         |  |  |
| Ulangan ( $n$ ) = 2                          |  |    |          |         |  |  |
| FK = 2053,4124                               |  |    |          |         |  |  |
| JK total = 615,2542                          |  |    |          |         |  |  |
| JK perlakuan = 603,2834                      |  |    |          |         |  |  |
| JK galat perc = 11,9708                      |  |    |          |         |  |  |
| Derajat bebas (db) perlakuan = 12            |  |    |          |         |  |  |
| Derajat bebas (db) galat percobaan = 13      |  |    |          |         |  |  |
| Kuadrat tengah (KT) perlakuan = 50,2736      |  |    |          |         |  |  |
| Kuadrat tengah (KT) galat percobaan = 0,9208 |  |    |          |         |  |  |
| Sumber Keragaman                             |  |    |          |         |  |  |
|                                              |  | db | JK       | KT      |  |  |
| Perlakuan                                    |  | 12 | 603,2834 | 50,2736 |  |  |
| Galat percobaan                              |  | 13 | 11,9708  | 0,9208  |  |  |
| Total                                        |  | 25 | 615,2542 |         |  |  |

| F Hitung | F Tabel         |                 |
|----------|-----------------|-----------------|
|          | $\alpha = 0,05$ | $\alpha = 0,01$ |
|          | 54,60           | 3,96            |

Tabel 4. Uji Jarak Berganda Duncan pengaruh proses ekstraksi skala laboratorium terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*

| Perlakuan dan nilai tengahnya | Perlakuan dan nilai tengahnya |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                   |                   |                   |          |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|
|                               | T1-U1 A sup BuOH              | T1-U1 A bio MeOH | T1-U1 B sup BuOH | T1-U1 B bio MeOH | T1-U2 A sup BuOH | T1-U2 A bio MeOH | T1-U2 B sup BuOH | T1-U2 B bio MeOH | T1-U1 B sup EtOAc | T1-U1 A sup EtOAc | T1-U2 B sup EtOAc | Nystatin |
| T1-U1 A sup BuOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,76              | 9,90              | 9,96              | 17,32    |
| T1-U1 A bio MeOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U1 B sup BuOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U1 B bio MeOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U2 A sup BuOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U2 A bio MeOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U2 B sup BuOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U2 B bio MeOH              | 6,00                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U1 B sup EtOAc             | 6,76                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U1 A sup EtOAc             | 9,90                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 2,76              | 3,90              | 3,96              | 11,32    |
| T1-U2 B sup EtOAc             | 9,96                          | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 1,14              | 1,21              | 8,96              | 12,96    |
| Nystatin                      | 17,32                         | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,07              | 7,42              | 11,71             | 4,28     |
| T1-U2 A sup EtOAc             | 21,61                         | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 7,36              | 7,36              | 11,66             | 4,28     |

Angka tercantok lebih adalah selisih dua nilai tengah perlakuan berurutan yang lebih besar dari Jarak Nyata Terkecil (JNT) pada taraf nyata ( $\alpha$ ) 0,05.

| Jarak ( $g$ ) = $p-1$   | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| JND ( $\alpha = 0,05$ ) | 3,06 | 3,21 | 3,3  | 3,35 | 3,38 | 3,41 | 3,42 | 3,44 | 3,45 | 3,47 | 3,47 | 3,47 |
| JNT ( $\alpha = 0,05$ ) | 2,08 | 2,18 | 2,24 | 2,27 | 2,29 | 2,31 | 2,32 | 2,33 | 2,34 | 2,35 | 2,35 | 2,35 |

JND = Jarak Nyata Duncan, JNT = Jarak Nyata Terkecil.

|                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                   |                   |                   |          |                   |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|-------------------|
| T1-U1 A sup BuOH | T1-U1 A bio MeOH | T1-U1 B sup BuOH | T1-U1 B bio MeOH | T1-U2 A sup BuOH | T1-U2 A bio MeOH | T1-U2 B sup BuOH | T1-U2 B bio MeOH | T1-U1 B sup EtOAc | T1-U1 A sup EtOAc | T1-U2 B sup EtOAc | Nystatin | T1-U2 A sup EtOAc |
| a                | a                | a                | a                | a                | a                | a                | a                | b                 | b                 | b                 | c        | d                 |

Keterangan: A=kultur A, B=kultur B, sup=supernatan, bio=biomassa, BuOH=butanol, MeOH=metanol, EtOAc=etilasetat.

## II. Analisis data proses ekstraksi terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Aspergillus niger*

Data ekstraksi yang digunakan pada analisis ini adalah data aktifitas antimikroba oleh ekstrak kultur TI-U1 dan TI-U2, karena hanya ekstrak-ekstrak ini yang menunjukkan aktifitas antimikroba terhadap *Aspergillus niger*. Analisis ragam satu arah menunjukkan bahwa di antara 12 perlakuan ekstraksi dan 1 kontrol (nystatin) tersebut terdapat perbedaan aktivitas antimikroba yang sangat nyata. Uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi oleh ekstrak etilasetat dari supernatan isolat TI-U2 berbeda nyata dengan aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol maupun ekstrak-ekstrak lainnya. (Tabel 5 dan Tabel 6)

Tabel 5. Analisis Ragam Satu Arah pengaruh proses ekstraksi skala laboratorium terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Aspergillus niger*

| Perlakuan (isolat, kultur kokok dan ekstraksi) |            | Ulangan |                 | Total           |
|------------------------------------------------|------------|---------|-----------------|-----------------|
|                                                |            | 1       | 2               |                 |
| TI-U1 A                                        | supernatan | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | etilasetat | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | metanol    | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
| TI-U1 B                                        | supernatan | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | etilasetat | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | metanol    | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
| TI-U2 A                                        | supernatan | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | etilasetat | 7,03    | 7,59            | 14,62           |
|                                                | metanol    | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
| TI-U2 B                                        | supernatan | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | etilasetat | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
|                                                | metanol    | 6,00    | 6,00            | 12,00           |
| Nystatin                                       |            | 17,85   | 19,11           | 36,96           |
| Total                                          |            |         |                 | 183,58          |
| Perlakuan (p) = 13                             |            |         |                 |                 |
| Ulangan (n) = 2                                |            |         |                 |                 |
| JK = 1296,2160                                 |            |         |                 |                 |
| JK total = 266,6276                            |            |         |                 |                 |
| JK perlakuan = 285,6770                        |            |         |                 |                 |
| JK galat percobaan = 0,9506                    |            |         |                 |                 |
| Derajat bebas (db) perlakuan = 12              |            |         |                 |                 |
| Derajat bebas (db) galat percobaan = 13        |            |         |                 |                 |
| Kuadrat tengah (KT) perlakuan = 23,8064        |            |         |                 |                 |
| Kuadrat tengah (KT) galat percobaan = 0,0731   |            |         |                 |                 |
| Sumber Keragaman                               |            |         |                 |                 |
|                                                |            | db      | JK              | KT              |
| Perlakuan                                      |            | 12      | 285,6770        | 23,8064         |
| Galat percobaan                                |            | 13      | 0,9506          | 0,0731          |
| Total                                          |            | 25      | 286,6276        |                 |
| F Hitung                                       |            |         |                 |                 |
|                                                |            | 325,57  | F Tabel         |                 |
|                                                |            |         | $\alpha = 0,05$ | $\alpha = 0,01$ |
|                                                |            |         | 2,60            | 3,96            |

Tabel 6. Uji Jarak Berganda Duncan pengaruh proses ekstraksi skala laboratorium terhadap aktifitas penghambatan pertumbuhan *Aspergillus niger*

| Perlakuan dan nilai tengahnya | Perlakuan dan nilai tengahnya |                   |                  |                  |                   |                  |                  |                  |                  |                   |                  |                   | Nystatin |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|----------|
|                               | TI-U1 A sup BuOH              | TI-U1 A sup EtOAc | TI-U1 A bio MeOH | TI-U1 B sup BuOH | TI-U1 B sup EtOAc | TI-U1 B bio MeOH | TI-U2 A sup BuOH | TI-U2 A bio MeOH | TI-U2 B sup BuOH | TI-U2 B sup EtOAc | TI-U2 B bio MeOH | TI-U2 A sup EtOAc |          |
| TI-U1 A sup BuOH              | 6,00                          | 6,00              | 6,00             | 6,00             | 6,00              | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00             | 6,00              | 6,00             | 7,31              | 18,48    |
| TI-U1 A sup EtOAc             | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U1 A bio MeOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U1 B sup BuOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U1 B sup EtOAc             | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U1 B bio MeOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 A sup BuOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 A bio MeOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 B sup BuOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 B sup EtOAc             | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 B bio MeOH              | 6,00                          | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00              | 0,00             | 1,31              | 12,48    |
| TI-U2 A sup EtOAc             | 7,31                          |                   |                  |                  |                   |                  |                  |                  |                  |                   |                  | 1,31              | 12,48    |
| Nystatin                      | 18,48                         |                   |                  |                  |                   |                  |                  |                  |                  |                   |                  |                   | 11,17    |

Angka terendah nilai adalah terendah dan nilai tengah perlakuan berurutan yang lebih besar dari Jarak Nyata Terkecil (JNT) pada taraf nyata ( $\alpha$ ) 0,05.

| Jarak (d) = p - 1       | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| JNT ( $\alpha = 0,05$ ) | 3,06 | 3,21 | 3,3  | 3,35 | 3,38 | 3,41 | 3,42 | 3,44 | 3,45 | 3,47 | 3,47 | 3,47 |
| JNT ( $\alpha = 0,01$ ) | 0,59 | 0,61 | 0,63 | 0,64 | 0,65 | 0,65 | 0,65 | 0,66 | 0,66 | 0,66 | 0,66 | 0,66 |

JNT = Jarak Nyata Duncan, JNT = Jarak Nyata Terkecil.

|                  |                   |                  |                  |                   |                  |                  |                  |                  |                   |                  |                   |          |
|------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|----------|
| TI-U1 A sup BuOH | TI-U1 A sup EtOAc | TI-U1 A bio MeOH | TI-U1 B sup BuOH | TI-U1 B sup EtOAc | TI-U1 B bio MeOH | TI-U2 A sup BuOH | TI-U2 A bio MeOH | TI-U2 B sup BuOH | TI-U2 B sup EtOAc | TI-U2 B bio MeOH | TI-U2 A sup EtOAc | Nystatin |
| a                | a                 | a                | a                | a                 | a                | a                | a                | a                | a                 | a                | b                 | c        |

Keterangan: A=kultur A, B=kultur B, sup=supernatan, bio=biomassa, BuOH=butanol, MeOH=metanol, EtOAc=etilasetat.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan :

Ekstraksi antimikroba dari kultur mikroorganisme endofit memperlihatkan ekstraksi optimum didapatkan jika supernatan kultur mikroorganisme endofit diekstraksi dengan etilasetat.

### Saran

Terhadap ekstrak etilasetat kultur mikroorganisme endofit yang memiliki aktivitas optimum, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian lanjutan sebaiknya ditujukan untuk pemurnian senyawa aktif dan identifikasi/elusidasi struktur molekulnya.

### Daftar Pustaka

- Nugroho NB, Sukmadi. B. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotik. Diajukan pada Pertemuan Ilmuan Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 14-15 Desember 1998, Bandar Lampung: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 1998.
- Anonim, *Pemanfaatan Tanaman Obat*, ed III. Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1989.
- Aspergillus, [www.botany.utoronto.ca/](http://www.botany.utoronto.ca/) 08/01/2005/ 19.00 WIB.
- Bacillus subtilis, [www.micron.ac.uk/](http://www.micron.ac.uk/) 08/01/2005/19.00 WIB.
- Candida, [www.doctorfungus.org/](http://www.doctorfungus.org/) 20/12/2004/ 16.30 WIB.
- Carroll, George. Fungal Endophytes in Stems and Leaves: from Latent Pathogen to Mutualistic Symbion. Ecology, Vol. 69, No.1, 1988, 2-9.
- Domsch KH, Gams W. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, 1980.
- Fischer PJ, Anson AE, Petrini O. Antibiotic Activity of Some Endophytic Fungi from Ericaceous Plants. Bot. Helv, 1984, vol 94, 249-253.
- Folk. A, Wesley, Margaret F. Whecler. Mikrobiologi Dasar, ed V, jilid 1. Editor Soenarto Adisomarto Phd, Penerbit Erlangga, Jakarta, 1988, hal 357.
- Nugroho NB, Sukmadi. B. Isolasi dan Seleksi Jamur Endofit Penghasil Antibiotik. Diajukan pada Pertemuan Ilmuan Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 14-15 Desember 1998, Bandar Lampung: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, 1998.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. Ecology, Metabolite Production, And Substrate Utilization In Endophytic Fungi. Natural Toxin Vol 1, 1992, 185-196.
- Rosana, Yeva. Isolasi dan Seleksi Mikroba Endofit Penghasil Anti Mikroba dari Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn). Tesis Program Pasca Sarjana Biomedik FKUI, 2001.
- Singelton, Paul, Diana. S. Introduction to Bacteria, For Students in the Biological Sciences. John Wiley & Sons, New York, 1981.
- Strobel GA, Long DM. Endophytic Microbes Embody Pharmaceutical Potential. ASM News 1998; 64; 263-268.

- Susilo J. Parasitologi Kedokteran. FKUI, Jakarta, 1990, 239- 242.
- Suryanarayanan, T.S, G. Venkatesan, T.S Murali. Endophytic Fungal Communities in Leaves of Tropical Forest Trees: Diversity and Distribution Patterns. *Current Science*, 2003, Vol 85, No. 4, 289-291.
- Tjay, Tan Hoan, Kirana Rahardja. Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya. Elex Media Komputindo, Jakarta, 2002, 63-97.
- Tjitrosoepomo, Gembong. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). UGM Press, Yogyakarta, 2000,
- Wahyudi, Priyo. Mikroba Endofitik Sebagai Penghasil Materi yang Bermanfaat. Sub Direktorat Bioteknologi, Direktorat Pengkajian Ilmu Kehidupan, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu dasar dan Terapan, BPPT, Jakarta, 1997.
- Wahyudi, Priyo. Skrining Mikroba Endofit Penghasil Enzim Pemecah Mannan, Xylan dan Inulin. Sub Direktorat Bioteknologi, Direktorat Pengkajian Ilmu Kehidupan, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu dasar dan Terapan, BPPT, Jakarta, 1997.
- What are Salmonella, [www.ifst.org/](http://www.ifst.org/) 20/12/2004/ 16.40 WIB.

