

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR (*FUNGI*) TANAH GAMBUT PONTIANAK

Zakia Maya Fanida^{1*}, Puji Ardiningsih¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*e-mail: zakiamayaf@gmail.com

ABSTRAK

Kasus resistansi bakteri patogen terhadap beberapa antibiotika yang ada di pasaran menunjukkan bahwa eksplorasi sumber senyawa antibiotika baru perlu dilakukan sebagai upaya untuk menghasilkan senyawa antibakteri baru. Salah satu organisme yang dapat dijadikan sebagai penghasil antibakteri adalah jamur. Tujuan dari penelitian ini yaitu memperoleh isolat jamur dari tanah gambut yang memiliki aktivitas antibakteri. Total sebanyak 8 isolat murni diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etil asetat untuk diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri uji *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji Aktivitas antibakteri 8 isolat jamur dengan metode difusi sumur menunjukkan bahwa hanya 1 isolat jamur HAI yang aktif dengan zona hambat 9,27 mm terhadap *S. typhi*. Isolat jamur HA1 diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis, diduga merupakan jamur *Trichoderma* sp.

Kata Kunci: antibakteri, tanah gambut, jamur

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) manusia (Darmadi, 2008). Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen, contohnya: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*. Pengobatan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotika.

Antibiotika pertama kali ditemukan oleh Alexander Fleming pada tahun 1928 dan sampai saat ini masih menjadi obat andalan kasus-kasus penyakit infeksi. Penelitian tentang antibiotika terus dilakukan karena adanya kasus resistansi bakteri patogen terhadap beberapa obat antibiotika yang ada di pasaran (Rajasekar *et al.*, 2012). Oleh karena itu penelitian ini dilakukan sebagai upaya untuk menghasilkan senyawa antibakteri baru penghasil antibiotika dengan efektifitas optimal dalam mengobati penyakit infeksi.

Salah satu organisme yang dapat dijadikan sebagai penghasil antibakteri adalah jamur. Jamur telah memberikan kontribusi terhadap perkembangan obat-obatan. Jamur *Penicillium* merupakan sumber antibiotika pertama yang menghasilkan antibiotika Penisilin. Jamur *Aspergillus* menghasilkan antibiotika *Fumigatin* dan *Aspergillin* (Dwidjoseputro, 2005).

Keberagaman struktur dan jenis jamur menjadikan jamur sebagai salah satu sumber senyawa antibakteri yang hingga saat ini masih menarik untuk terus diteliti. Salah satu lingkungan penghasil jamur yang memiliki sifat unik karena mempunyai pH 2,7-5,0 adalah tanah gambut (Noor, 2001). Tanah gambut merupakan tumpukan bahan organik yang berasal dari sisa-sisa tanaman yang sudah melapuk, terjadi dalam jangka waktu yang lama dan selalu tergenang (Sarief, 1986). Suplai makanan dan lingkungan pada tanah gambut mendukung populasi mikroba tanah gambut baik bakteri maupun jamur untuk dapat berkembang dengan baik (Fitria, 2012).

Berdasarkan kajian literatur, penelitian tentang isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari jamur tanah gambut Pontianak, Kalimantan Barat belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk memperoleh dan menguji isolat jamur dari tanah gambut Pontianak, Kalimantan Barat.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah *autoclave*, batang pengaduk, botol semprot, bunsen, cawan petri, Erlenmeyer, *hot plate*, *incubator*, kapas, kasa, kulkas, *laminar air flow*, mikropipet, mikroskop, neraca analitik, ose, pH-meter, pipet ukur, pipet tetes, *shaker*, spatula, tabung reaksi dan seperangkat alat gelas umum.

Bahan-bahan yang digunakan adalah agar, akuades (H_2O), antibiotika (tetrasiklin), asam sulfat (H_2SO_4), *buffer saline*, etanol (C_2H_5OH) 75%, etil asetat ($CH_3COOC_2H_5$), kertas saring, kalium dihidrofosfat (KH_2PO_4), kalium klorida (KCl), *Malt Extract Agar* (MEA), dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4), natrium klorida (NaCl), *Nutrient Agar* (NA), dan spiritus.

Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* diperoleh dari koleksi Ibu Mega Sari Juane Sofiana, S.Si, M.Sc.

Prosedur Kerja sampling tanah Gambut

Pengambilan sampel tanah gambut dilakukan di Jl. Budi Utomo, Kelurahan Siantan Hilir, Kecamatan Pontianak Utara, Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat pada 3 titik berbeda, yaitu titik A ($0^{\circ}00'11''N$ $109^{\circ}20'45''E$ 3 m); titik B ($0^{\circ}00'12''N$ $109^{\circ}20'46''E$ 4 m); titik C ($0^{\circ}00'11''N$ $109^{\circ}20'44''E$ 3 m). Sampel tanah gambut febris diambil pada kedalaman 10-20 cm, sedangkan sampel tanah gambut hemis 50-60 cm. Setiap sampel tanah gambut disimpan pada wadah steril untuk dibawa ke laboratorium.

Preparasi sampel tanah gambut

Preparasi sampel tanah gambut diawali dengan pengeringan sebanyak 1 gram tanah pada suhu ruang selama 7 hari. Selanjutnya, sampel tanah gambut kering ditambahkan dengan 9 ml *phosphate buffer saline* (PBS) steril. Suspensi tanah yang dihasilkan selanjutnya diencerkan secara bertingkat menggunakan PBS steril menjadi 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} .

Inokulasi dan isolasi jamur tanah gambut

Inokulasi dan isolasi jamur tanah gambut dilakukan dengan metode tuang menggunakan media MEA dengan pH 2 yang mengandung $50 \mu\text{g/ml}$ tetrasiklin. Sebanyak $100 \mu\text{l}$ suspensi tanah gambut pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} masing-masing diinokulasikan ke dalam media kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan diamati setiap hari selama 7 hari. Jamur yang tumbuh diisolasi kemudian dimurnikan dengan ditumbuhkan pada media MEA dengan pH 2.

Produksi dan ekstraksi jamur tanah gambut

Produksi jamur diawali dengan memotong miselia berukuran $0,5 \times 0,5$ cm dan ditumbuhkan pada media MEA dan diinkubasi pada suhu ruang. Setelah 7 hari miselia pada cawan petri ditambahkan etil asetat dan dikikis. Larutan miselia dituang ke dalam botol yang sudah disterilkan dan dibiarkan. Setelah 24 jam, campuran disaring menggunakan filter dan filtrat dikeringkan kemudian ditimbang.

Peremajaan bakteri uji

Stok kultur murni bakteri uji diinokulasikan sebanyak 1 ose pada media cair *Nutrient Broth* (NB) dalam tabung reaksi dengan cara dicelupkan, selanjutnya dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 140 rpm selama 12-16 jam.

Uji aktivitas antibakteri jamur tanah gambut

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri jamur tanah gambut adalah metode difusi sumur (*well*) dengan NA sebagai media untuk uji. Sebanyak $20 \mu\text{l}$ ekstrak jamur dengan dosis $1000 \mu\text{g/well}$ dipipet ke dalam sumur pada media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Zona hambat yang terbentuk disekitar sumur diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

Identifikasi jamur tanah gambut yang memiliki aktivitas antibakteri

Isolat jamur tanah gambut antibakteri diidentifikasi dengan mengamati karakter morfologi jamur secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis meliputi: warna dan permukaan koloni. Pengamatan secara mikroskopis meliputi: pengamatan hifa, fialid, dan bentuk konidia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

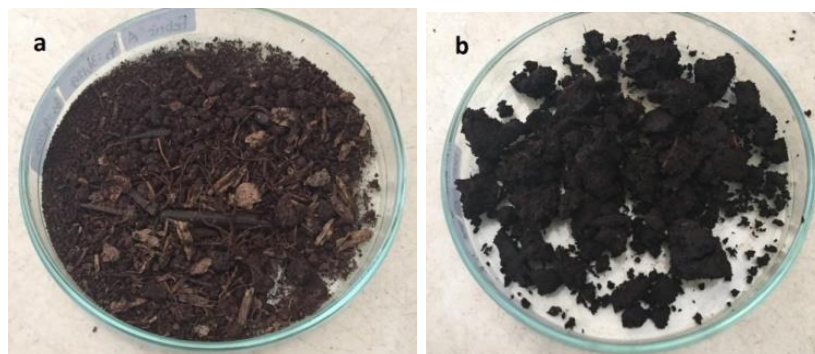
Samplng Tanah Gambut

Kalimantan Barat yang sebagian besar wilayahnya merupakan dataran rendah memiliki area lahan gambut yang cukup luas. Mengingat wilayah ini dilewati garis khatulistiwa, maka kondisi geologis dan klimatis tanah gambut setempat dapat dikatakan unik. Sampel tanah gambut pada penelitian ini diambil pada tanggal 21 Januari 2018 di Jl. Budi Utomo, Kelurahan Siantan Hilir, Kecamatan Pontianak Utara, Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Pengambilan sampel dilakukan di kawasan yang jauh dari area aktivitas warga agar didapatkan jamur endogen tanah gambut. Pengambilan sampel tanah gambut dilakukan pada tiga titik berbeda, yaitu: titik A ($0^{\circ}00'11''N$ $109^{\circ}20'45''E$ 3 m), B ($0^{\circ}00'12''N$ $109^{\circ}20'46''E$ 4 m), dan C ($0^{\circ}00'11''N$ $109^{\circ}20'44''E$ 3 m) (Gambar 1).



Gambar 1. Lokasi samplng tanah gambut

Setiap titik samplng diambil dua jenis tanah gambut, yaitu: fibris dan hemis. Tanah fibris berwarna hitam muda memiliki serat sebanyak 2/3 volume, kerapatan gambut $<0,10 \text{ g/cm}^3$, dan kadar air sekitar 850-3000% (Gambar 2 a) (Barchia, 2006). Tanah hemis berwarna hitam agak gelap kandungan seratnya 1/3-2/3 volume, kerapatan gambut $<0,07-0,18 \text{ g/cm}^3$, dan kadar air sekitar 450-850% (Gambar 2 b) (Darmawijaya, 1990). Sampel tanah fibris diberi kode F. Pengambilan sampel F pada 3 titik A, B, dan C, sehingga setiap sampel diberi kode FA, FB, dan FC. Sampel tanah hemis diberi kode H dan setiap titik sampel A, B, dan C diberi kode HA, HB, dan HC.



Gambar 2. Sampel tanah gambut Fibris (a); Hemis (b)

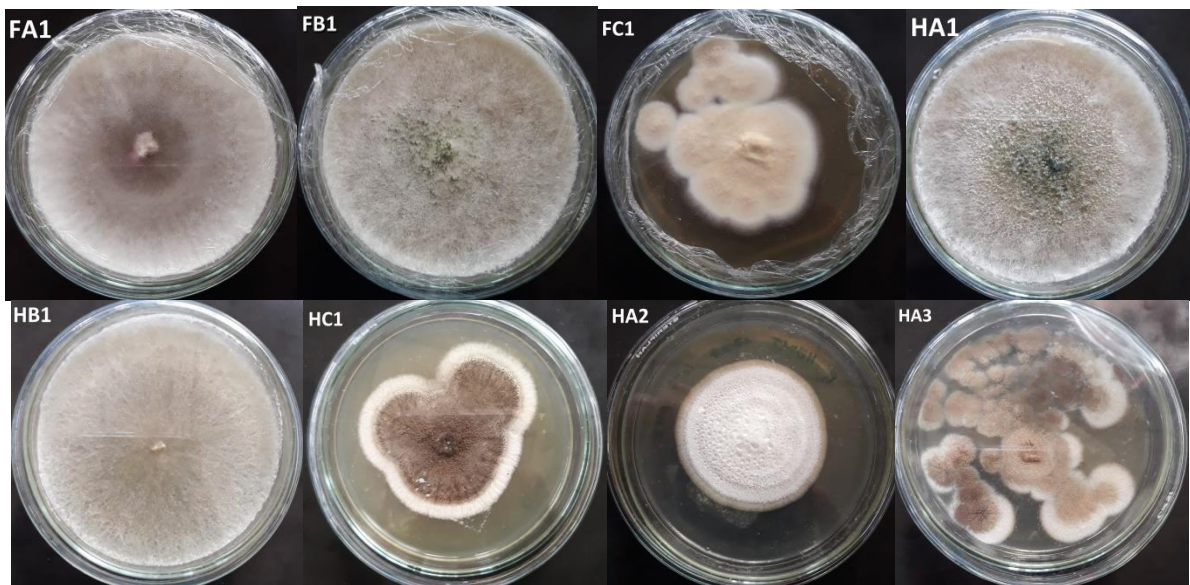
Inokulasi dan Isolasi Jamur Tanah Gambut

Suspensi tanah gambut diinokulasikan pada media *Malt Extract Agar* (MEA) karena media tersebut merupakan media umum untuk pertumbuhan jamur. MEA mengandung *Malt Extract* yang berperan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan jamur. MEA diatur menjadi pH 2 dengan penambahan asam sulfat (Hujislova *et al*, 2014). Tujuan pengasaman media adalah untuk menumbuhkan jamur endogen tanah gambut sekaligus skrining agar jamur pH lain tidak tumbuh. Media yang diasamkan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan memungkinkan *recovery* yang baik bagi jamur. Tetrasiklin ditambahkan ke dalam media pada penelitian ini tujuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pengamatan koloni yang tumbuh pada media MEA dilakukan setiap hari. Koloni yang diduga sebagai jamur mulai terlihat pada hari ketiga (Gambar 3).



Gambar 3. Koloni jamur dari sampel tanah gambut

Koloni yang diduga sebagai jamur tanah gambut selanjutnya diisolasi ke media tanam baru untuk mendapatkan isolat murni jamur, yaitu setiap koloni merupakan hasil dari pembelahan satu sel (Lestari, 2012). Hasil isolasi jamur dari seluruh koloni diperoleh 8 isolat murni (Gambar 4). Sampel tanah pengenceran 10^{-1} diberi kode 1, pengenceran 10^{-2} diberi kode 2, dan pengenceran 10^{-3} diberi kode 3.



Gambar 4. Isolat jamur tanah gambut

Gambar diatas menunjukkan berbagai karakter isolat jamur tanah gambut. Karakter yaitu ciri organisme yang dapat digunakan sebagai dasar untuk perbandingan organisme lain. Tipe karakter isolat jamur tanah gambut dapat ditinjau dari segi morfologi warna miselia dan sporanya (Tabel 1). Miselia adalah bagian jamur multiseluler yang dibentuk oleh kumpulan beberapa hifa, sedangkan spora merupakan organ reproduksi jamur.

Tabel 1. Karakteristik Isolat Jamur Tanah Gambut

No.	Isolat	Morfologi (Warna)	
		Miselial	Spora
1	FA1	Putih	Putih
2	FB1	Putih	Hijau tua
3	FC1	Putih	Krem
4	HA1	Putih	Hijau tua
5	HB1	Putih	Putih
6	HC1	Putih	Coklat
7	HA2	Putih	Putih
8	HA3	Putih	Coklat

Keterangan : huruf tebal (isolat yang diidentifikasi)

Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Tanah Gambut

Uji aktivitas pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumur (*well*) dengan NA sebagai media untuk uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *P. aeruginosa*, *S. aureus*, dan *S. typhi*. Ekstrak yang aktif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sumur. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak jamur tanah gambut menunjukkan bahwa hanya 1 isolat yang menunjukkan kemampuan aktivitas antibakteri, yaitu ekstrak isolat HA1 (Tabel 2). Ekstrak isolat jamur HA1 hanya dapat menghambat aktivitas 1 bakteri uji. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh isolat HA1 dengan dosis 1000 µg/*well* adalah 9,27 mm menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak jamur tanah gambut terhadap pertumbuhan *S. typhi*.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat (mm) Ekstrak Jamur terhadap Bakteri Uji

Isolat	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>
FA1	-	-	-
FB1	-	-	-
FC1	-	-	-
HA1	-	-	9,27
HB1	-	-	-
HC1	-	-	-
HA2	-	-	-
HA3	-	-	-
Tetrasiklin	21,7	27,0	24,0

Keterangan : - (tidak terbentuk zona hambat)

S. typhi merupakan bakteri patogen penyebab demam tifoid, yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gejala berupa demam yang berlangsung lama dan adanya bakterimia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati (Girgis *et al.*, 1999).

Identifikasi Jamur Tanah Gambut yang Memiliki Aktivitas Antibakteri

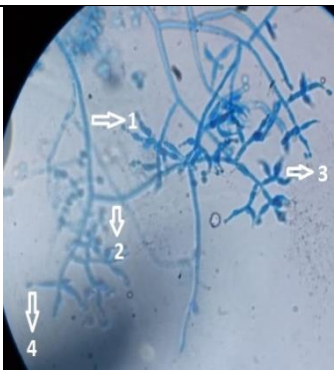
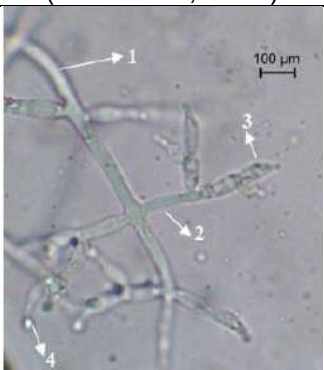
Identifikasi jamur dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis pada isolat jamur yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*, yaitu isolat jamur HA1 (Gambar 5). Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati miselia, spora, dan permukaan koloni. Makroskopis jamur HA1 memiliki miselia berwarna putih dan spora berwarna hijau tua. Permukaan koloni jamur HA1 datar tetapi terlihat kasar seperti berserat dengan bagian tepi halus. Selama pengamatan, mula-mula koloni jamur HA1 berwarna putih kemudian bagian tengah berwarna hijau muda dan berubah menjadi hijau tua apabila diinkubasi dalam waktu yang lebih lama. Koloni *Trichoderma* sp. pada awal inkubasi akan berwarna putih dan berubah menjadi hijau tua pada umur inkubasi lanjut (Supiandi, 1999).



Gambar 5. Isolat jamur HA1

Identifikasi berikutnya dilakukan secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x (Tabel 3). Karakteristik jamur HA1 menunjukkan kemiripan dengan jamur *Trichoderma* sp., yaitu memiliki konidiospora, cabang konidiospora, fialid, dan konidia. Konidiospora adalah spora aseksual yang dihasilkan oleh *basidiomycota*. *Basidiomycota* hidup di tanah yang mengandung sampah organik. Fialid merupakan tempat tumbuh konidia, sedangkan konidia berbentuk bulat dan dihasilkan secara basipetal.

Tabel 3. Perbandingan Mikrograf Jamur

Keterangan	Jamur HA1	Jamur <i>Trichoderma</i> sp. (Watanabe, 1994)
		
1. Konidiospora	Panjang	Panjang
2. Cabang Konidiospora	Lebih dari 2	Lebih dari 2
3. Fialid	Pendek	Pendek
4. Konidia	Bulat pada ujung fialid	Bulat pada ujung fialid

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa kemampuan antagonisme *Trichoderma* sp. berpotensi menghambat aktivitas bakteri *S. typhi*. Hal ini ditunjang dengan penelitian yang telah dilakukan Chet, *et al* (2005), dimana hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa metabolit sekunder *Trichoderma* sp. berperan dalam aktivitas antimikroba. Menurut Harjono dan Wisyastuti (2001) *Trichoderma* sp. melakukan penetrasi ke dalam dinding sel inang dengan bantuan enzim pendegradasi dinding sel, yaitu kitinase, glukonase, dan protease, selanjutnya menggunakan isi hifa inang sebagai sumber makanan. Saat melilit dan menghasilkan enzim untuk menembus dinding sel inang, *Trichoderma* sp. juga menghasilkan antimikroba viridin. Viridin tergolong senyawa steroid dan memiliki fungsi sebagai antimikroba dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba (Chet, *et al.*, 2005).

Trichoderma sp. merupakan salah satu dari sekian banyak genus jamur yang terdapat pada tanah gambut (Supiandi, 1999). *Trichoderma* sp. yang berfungsi sebagai biokontrol patogen tanaman telah diisolasi dari tanah Riau, yaitu *Trichoderma asperellum* yang terbukti dapat

menghambat beberapa fungi patogen tanaman seperti *Fusarium sp.*, *Phytophthora sp.*, dan *Albugo sp.* (Nugroho, 2006).

SIMPULAN

Isolasi jamur pada tanah gambut di Pontianak, Kalimantan Barat diperoleh 8 isolat murni jamur. Hanya terdapat 1 isolat (HA1) yang aktif bersifat antibakteri terhadap *S. Typhi* dengan zona hambat 9,27 mm. Isolat HA1 diidentifikasi secara makroskopis serta mikroskopis dan diduga merupakan genus *Trichoderma sp*

DAFTAR PUSTAKA

- Barchia M., 2006, *Gambut Agroekosistem dan Transformasi Karbon*, UGM Press, Yogyakarta
- Chet, Benhamou, and Haran, 2005, *Mycoparasitism and Lytic Enzymes in Harman and Kubicek, Trichoderma and Glicocladium Enzymes Biological Control and Commercial Application*, London
- Darmadi, 2008, *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*, Salemba Medika, Jakarta
- Darmawijaya M., 1990, *Klasifikasi Tanah*, UGM Press, Yogyakarta
- Dwidjoseputro D., 2005, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta
- Fitria, Rahmi, Delita Zul, Bernadeta Leni, 2012, Enumerasi Total Ppopulasi Mikroba Tanah Gambut di Teluk Meranti Kabupaten Riau, *Jurnal FMIPA Binawidya*
- Girgis N., Butler, Frenk, 1999, Azithromycin versus Ciprofloxacin for Treatment of Uncomplicated Typhoid Fever in Randomized Trial in Egypt that Included Patients with Multidrug Resistance, *Journal Antimicrob, Agents, and, Chemother*, 43:1441-1444
- Harjono and Widyastuti, 2001, Antifungal Activity of Purified Endochitinase Produced by Biocontrol Agent *Trichoderma Reesei* Againsts *Ganoderma Philippii*, *Journal Biol. Sc.*, 4(10): 1232-1234
- Hujsova M., Alena, Martin, Robert, Wilhelm, Milada, and Miroslav, 2014, Three New Genera of Fungi Extremely Acidic Soils, *Journal Mycol Progress*, 13:819-831
- Lestari A., 2012, *Aktivitas Antimikroba Aktinomisetes yang diisolasi dari Tanah Gambut Kabupaten Kuburaya Kalbar*, Skripsi Fak. Kedokteran, Untan, Pontianak
- Noor M., 2001, *Pertanian Lahan Gambut Potensi dan Kendala*, Kanisius, Yogyakarta
- Nugroho, 2006, Isolasi Jamur dari Tanah Sawah Sebagai Penghasil Antibiotik, *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10(2): 101-111
- Rajasekar T., Balaji S., Kumaran S., Deivasigamani B., Pugzhavendhan S.R., 2012, Isolation and Characterization of Marine Fungal Metabolites against Clinical Pathogens, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease Elsevier*, S387-S392
- Sarief, E.S., 1986, *Ilmu Tanah Pertanian*, Pustaka Buana, Bandung
- Supiandi, 1999, A Non-Polyene Antifungal Antibiotic, *Journal Bioscience*, 30(2): 201–11
- Watanabe, Tsuneo, 1994, *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*, California