

AKTIVITAS ANTIJAMUR ISOLAT BAKTERI ENDOFIT TANAMAN KUNYIT TERHADAP PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Malassezia furfur* SECARA *IN-VITRO*

Tomi¹, Ambar Rialita², Mahyarudin Mahyarudin³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

²Departemen Dermatologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

³Departemen Mikrobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat

Jalan Profesor Dokter Haji Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Bansir Laut, Kec. Pontianak Tenggara, Kota Pontianak,

Kalimantan Barat 78115

mahyarudin@medical.untan.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: *Pityriasis versicolor* (PV) adalah kelainan kulit akibat jamur atau dermatomikosis yang umumnya disebabkan oleh *Malassezia furfur*. Penggunaan ketokonazol merupakan pengobatan lini pertama pada infeksi *Malassezia furfur*. Penggunaan oral ketokonazol dapat beresiko tinggi terjadinya hepatotoksitas dan pada penggunaan jangka panjang mengakibatkan resistensi jamur. Oleh karena itu, diperlukan pengeksploasian mengenai senyawa metabolit baru yang berpotensi sebagai senyawa antijamur. Ekstrak tanaman kunyit diketahui memiliki aktivitas antijamur, dan bakteri endofit yang hidup bersamaan dengan tanaman inangnya diketahui dapat menghasilkan metabolit sekunder yang identik dengan tanaman inangnya.

Tujuan: Untuk mengetahui aktivitas antijamur bakteri endofit tanaman kunyit terhadap penghambatan pertumbuhan *Malassezia furfur* secara *in vitro*.

Metode: Isolat bakteri endofit dilakukan peremajaan pada media NA dengan metode gores. Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi cakram. Isolat bakteri endofit yang potensial dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel dan karakter biokimianya. Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode Ciulei.

Hasil Penelitian: Sebanyak 17 dari 21 isolat bakteri endofit masuk dalam kriteria inklusi pada penelitian ini. Semua isolat bakteri endofit memiliki potensi sebagai antijamur dengan zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam pengujian yaitu berkisar 7,11-13,6 mm. Isolat yang memiliki zona hambat terluas atau bakteri endofit yang potensial adalah H1 yang memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus*. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan yaitu senyawa yang termasuk kedalam golongan alkaloid, terpenoid dan saponin.

Simpulan: Bakteri endofit yang potensial sebagai antijamur (isolat H1) memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, terpenoid, dan saponin.

Kata kunci: Bakteri endofit, Ketokonazol, *Malassezia furfur*.

ABSTRACT

Background: *Pityriasis versicolor* (PV) is a skin disorder caused by fungus or dermatomycosis which is generally caused by *Malassezia furfur*. Ketoconazole is the first-line treatment for *Malassezia furfur* infection. Oral ketoconazole treatment has a high risk of hepatotoxicity and can cause fungal resistance. Therefore, it is necessary to explore the new potential metabolite compounds as antifungal compounds. Turmeric extract is known to have antifungal activity, and endophytic bacteria that live together with its host plant known to produce secondary metabolites that are identical to its host plant.

Objective: To determine the antifungal activity of endophytic bacteria from turmeric against the growth of *Malassezia furfur* *in vitro*.

Methods: Endophytic bacterial isolates were recultured on NA media with streak plate method. Antifungal activity test used agar disc diffusion method. Potential endophytic bacteria isolates were characterized based on colony morphology, cell morphology and biochemical properties. Identification of secondary metabolite compounds used Ciulei method.

Results: A total of 17 from 21 endophytic bacteria isolates were included in the inclusion criteria in this study. All endophytic bacteria had inhibition zones after 24 hours of incubation, ranged from 7.11 to 13.6 mm. The highest inhibition zone or potential endophytic bacteria isolate was H1, that had similarities with the genus *Bacillus*. The secondary metabolites are alkaloids, terpenoids and saponins.

Conclusion: The potential endophytic bacteria isolate as antifungal (H1) had similarities with the genus *Bacillus* and the secondary metabolites were alkaloids, terpenoids, and saponins.

Keywords: Endophytic bacteria, Ketoconazole, *Malassezia furfur*.

PENDAHULUAN

Pityriasis versicolor (PV) adalah kelainan kulit akibat jamur atau dermatomikosis yang umumnya disebabkan oleh *Malassezia furfur*. Penyakit ini ditandai oleh area depigmentasi atau diskolorasi berskuama halus(1).

Penggunaan ketokonazol topikal merupakan pengobatan lini pertama pada infeksi *Malassezia furfur* dikarenakan mempunyai efek samping yang minimal. Akan tetapi, penggunaan ketokonazol oral dosis tinggi dalam waktu singkat dan dosis rendah dalam waktu yang panjang memiliki resiko tinggi pada hepatoksisitas dan resistensi antijamur.(2,3)

Tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman yang banyak terdapat di benua Asia dan sering dimanfaatkan sebagai zat pewarna dan pengharum makanan.(4) Penelitian yang telah dilakukan oleh Kumar, menyatakan bahwa penggunaan ekstrak kunyit dapat digunakan sebagai antijamur dengan terdapatnya senyawa – senyawa seperti kurkumin, minyak atsiri, fenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, dan tanin pada ekstrak kunyit dan bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) dapat menjadi alternatif sebagai agen antijamur.(5)

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa mempengaruhi fungsi dari jaringan tumbuhan tersebut.(6) Bakteri endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiosis sebagai antijamur. Antibiosis

didefinisikan sebagai kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan patogen dengan menghasilkan antibiotik atau toksin.(7) Selulase, kitinase, dan glukonase merupakan enzim-enzim hidrolase yang dimiliki bakteri endofit yang dapat menghambat pertumbuhan jamur.(8)

Bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) diketahui dapat menghasilkan beberapa jenis antibiotik baru seperti ekomisin, pseudomisin, munumbisin, dan kakadumisin yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur patogen.(9)

Berdasarkan pemaparan mengenai potensi bakteri endofit pada kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai antijamur dan belum pernah adanya penelitian mengenai uji efektivitas antijamur bakteri endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) tersebut secara in vitro hingga saat ini mendorong untuk dilakukannya penelitian ini guna melihat efek antijamur dari bakteri endofit pada tanaman kunyit.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif. Penelitian ini berlokasi di Laboratorium Mikroskopik dan non-Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – November 2019

Variabel Penelitian

Variabel bebas (*independent*) pada penelitian ini adalah pemakaian bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma*

longa L.) dan pemakaian ketokonazol. Variabel terikat (*dependent*) pada penelitian ini adalah potensi antijamur berdasarkan diameter zona hambat (mm) *Malassezia furfur*.

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi pada penelitian kali ini adalah:

1. Isolat jamur *Malassezia furfur* yang telah dikonfirmasi menggunakan teknik pewarnaan Gram.
2. Isolat bakteri endofit yang memiliki morfologi koloni dan morfologi sel yang sama dengan penelitian sebelumnya.(10,11)
3. Isolat bakteri endofit yang dapat tumbuh saat peremajaan ulang.

Kriteria eksklusi pada penelitian kali ini adalah:

1. Mikroorganisme lain yang tumbuh bersama dengan isolat jamur *Malassezia furfur*.
2. Isolat bakteri endofit yang telah terkontaminasi mikroorganisme lain yang dikonfirmasi dengan teknik pewarnaan Gram.
3. Isolat bakteri endofit yang tidak tumbuh saat peremajaan ulang.
4. Media kultur telah mencair.
5. Isolat bakteri endofit yang telah mengering.

Peremajaan Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang digunakan merupakan isolat bakteri dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Rizaldi(10) dan Meidina(11) Sebelum diujikan dengan jamur *Malassezia furfur*, bakteri endofit harus dilakukan peremajaan terlebih dahulu menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode gores dan kemudian diinkubasi pada suhu 37-38°C selama 2 hari.(12)

Peremajaan *Malassezia furfur*

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Malassezia furfur* yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Universitas Indonesia. Sebelum diujikan, jamur ini diremajakan terlebih dahulu menggunakan media SDAO (*Saboraud Dextrose Agar with Olive Oil* 1%) yang sudah ditambahkan 1% *olive oil* dengan metode gores. Kemudian, diinkubasi pada suhu 35°C selama 2-7 hari.(12)

Pembuatan Larutan *Mc Farland* 0,5

Larutan Standar *Mc Farland* 0.5 dibuat dengan komposisi yaitu BaCl₂ 1% sebanyak 0,5 mL dan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,5 mL dicampur dengan cara dikocok hingga homogen sampai terbentuk larutan yang keruh. Standarisasi larutan *Mc Farland* dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan panjang gelombang 625 nm dan nilai absorbansi larutan standar *Mc Farland* 0.5 harus berada pada rentang nilai 0,08 – 0,1(13)

Pembuatan Suspensi *Malassezia furfur*

Pembuatan suspensi jamur yaitu dengan cara mengambil 1 ose koloni jamur yang sudah di remajakan sebanyak 1 kali goresan kemudian disuspensikan ke dalam 10 mL NaCl 0,9% di dalam tabung reaksi. Tabung reaksi kemudian divortex dan disesuaikan dengan standar *Mc Farland* (1-5) x 10⁶ CFU/mL.(13)

Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif yang digunakan yaitu ketokonazol dan kontrol negatif yang digunakan yaitu media NB (*Nutrient Broth*).

Produksi Metabolit Antijamur dari Bakteri Endofit

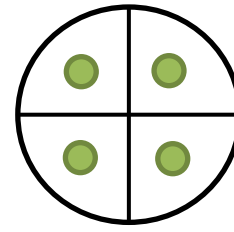
Produksi metabolit antibakteri dari bakteri endofit ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat yang sudah tumbuh diambil masing-masing 1 ose dan diinokulasi ke dalam 10 mL media NB. Media diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37°C, kemudian disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C sehingga didapatkan *supernatant*. Pengujian antijamur dilakukan pada *supernatant* dengan metode difusi cakram.(14)

Skrining Bakteri Endofit yang Berpotensi Sebagai Antijamur terhadap *Malassezia furfur*

Kultur bakteri endofit yang telah diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) dilakukan uji potensi antijamurnya dengan menggunakan metode difusi cakram. Suspensi jamur *Malassezia furfur* sebanyak 150 µL disebar pada permukaan media MHA (*Mueller-Hinton Agar*) dengan menggunakan metode swab. Kertas cakram kosong dengan diameter 6 mm dicelupkan kedalam *supernatant* hasil sentrifugasi kemudian ditiriskan. Skema perletakkan kertas cakram seperti pada Gambar 1. Selanjutnya media MHA diinkubasi pada suhu 35°C selama 1-2 hari.(13)

Pengukuran Zona Hambat Aktivitas Antijamur

Pengamatan dilakukan setelah media MHA diinkubasi selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).



Gambar 1. Skema Peletakkan Kertas Cakram pada Media Uji

Identifikasi Bakteri Endofit

Bakteri yang memiliki efek aktivitas antijamur tertinggi kemudian diidentifikasi secara biokimia di Laboratorium Kesehatan RSUD Soedarso dengan mengacu kepada *Bergey's of Determinative Bacteriology*, pengamatan meliputi morfologi koloni bakteri, morfologi sel bakteri dan karakteristik biokimia bakteri, pewarnaan endospora serta dilakukan uji metabolit sekunder.(15)

HASIL

Peremajaan dan Konfirmasi Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 17 isolat bakteri endofit yang terdiri dari 12 isolat bakteri Gram negatif dan 5 isolat bakteri Gram positif yang masuk dalam kriteria inklusi pada penelitian ini. Akan tetapi, 2 isolat bakteri endofit Gram negatif dan positif lainnya tidak tumbuh pada saat peremajaan ulang. Hasil peremajaan isolat bakteri endofit berdasarkan pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel dapat dilihat pada Tabel 1.

Peremajaan dan Konfirmasi Jamur Uji

Hasil peremajaan *Malassezia furfur* pada media SDAO yaitu berbentuk bulat, permukaannya halus dan warna koloninya putih kekuningan. Morfologi sel jamur uji berbentuk

oval hingga silinder, dan membentuk gambaran bottle-shaped (oval pada satu sisi dan tumpul pada sisi yang lain). Hasil peremajaan dapat dilihat pada Gambar 2.

Skrining Bakteri Endofit Yang Berpotensi Sebagai Antijamur Terhadap *Malassezia furfur*

Hasil pengujian zona hambat bakteri endofit sebagai antijamur yang menggunakan metode difusi cakram menunjukkan bahwa semua isolat memiliki aktivitas antijamur terhadap *Malassezia furfur*. Zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam pengujian yaitu berkisar 7,11 - 13,6 mm. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

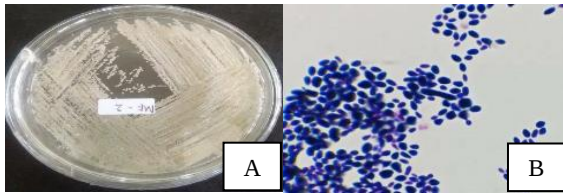
Hasil pengujian zona hambat menggunakan kontrol positif (ketokonazol) pada 48 jam pengujian menghasilkan zona hambat sebesar 54 mm dan kontrol negatif (media NB) 0 mm (tidak ada aktivitas antijamur) yang dapat dilihat pada Gambar 4.

Identifikasi Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Yang Potensial Sebagai Antijamur

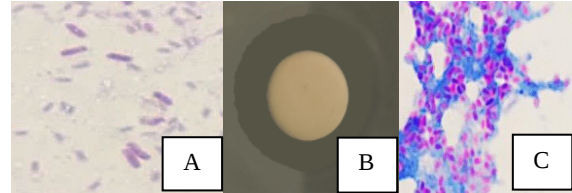
Hasil pengujian metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit potensial (bakteri endofit yang dapat menghasilkan zona hambat terluas) yaitu bakteri endofit dengan kode H1 dapat dilihat pada Gambar 3. Pengujian metabolit sekunder bakteri endofit meliputi pengujian flavonoid, fenol, saponin, terpenoid, dan alkaloid.

Tabel 1. Hasil Peremajaan Bakteri Endofit

No.	Nama Isolat	Morfologi koloni				Morfologi sel
		Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna	
1	M2	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
2	M3	Bulat	Cembung	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
3	M4	Irregular	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
4	M5	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
5	M6	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
6	M7	Irregular	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
7	M8	Irregular	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
8	M9	Irregular	Timbul	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
9	M10	Irregular	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
10	M11	Irregular	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
11	M13	Irregular	Timbul	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
12	M14	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
13	H1	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram positif
14	H2	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Coccus, Gram positif
15	H4	Irregular	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	Coccus, Gram positif
16	H5	Irregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram positif
17	H6	Irregular	Datar	Datar	Putih kekuningan	Basil, Gram positif



Gambar 2. A. Morfologi Koloni *Malassezia furfur* Pada Media SDAO B. Morfologi Sel *Malassezia furfur* Usia 3 Hari Pada Perbesaran 100x.



Gambar 3. A. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Endofit H1 Usia 2 Hari Pada Perbesaran 1000x, B. Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit H1. C. Pewarnaan Endospora Isolat H1

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Bakteri Endofit

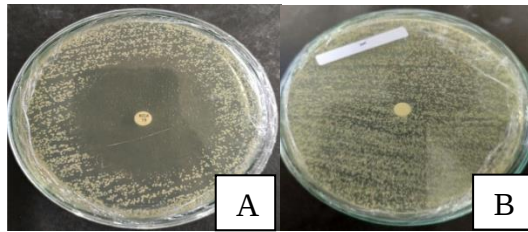
No.	Nama Isolat	Zona Hambat (mm)	Interpretasi	No.	Nama Isolat	Zona Hambat (mm)	Interpretasi
1.	H1	13,6	Kuat	10.	M6	10,6	Kuat
2.	H2	10,6	Kuat	11.	M7	11,7	Kuat
3.	H4	9,61	Sedang	12.	M8	9,4	Sedang
4.	H5	10,1	Sedang	13.	M9	11,2	Kuat
5.	H6	10,7	Kuat	14.	M10	9,3	Sedang
6.	M2	10	Sedang	15.	M11	11,1	Kuat
7.	M3	7,11	Sedang	16.	M13	8,5	Sedang
8.	M4	10,2	Sedang	17.	M14	8,1	Sedang
9.	M5	10,4	Kuat				

Keterangan:(16)

Sangat kuat	= > 26,8 mm
Kuat	= 10,4 – 26,8 mm
Sedang	= 6,3-10,3 mm
Lemah	= 1,4 - 6,2 mm
Tidak ada aktivitas	= 0 mm

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit yang Potensial (Isolat H1)

No.	Uji Biokimia	Hasil	Interpretasi
1.	Motilitas	+	Bakteri ini memiliki flagel untuk bergerak.
2.	Glukosa	+g	Bakteri ini dapat memfermentasi glukosa menghasilkan asam dan gas.
3.	Laktosa	+	Bakteri ini dapat memfermentasi laktosa menghasilkan asam.
4.	Manitol	+	Bakteri ini dapat memfermentasi manitol menghasilkan asam.
5.	Maltosa	+	Bakteri ini dapat memfermentasi maltosa menghasilkan asam.
6.	Sacarosa (sukrosa)	+	Bakteri ini dapat memfermentasi sukrosa menghasilkan asam.
7.	Indol	-	Bakteri ini tidak memiliki enzim triptopanase.
8.	Urea	+	Bakteri memiliki enzim urease, dapat mengubah urea menjadi ammonia
9.	Simon sitrat	+	Bakteri ini dapat menggunakan sitrat sebagai sumber energinya.
10.	Oksidase	-	Bakteri ini tidak mempunyai enzim sitokrom c oksidase
11.	Katalase	+	Bakteri ini memiliki enzim katalase untuk mengubah H ₂ O ₂ menjadi air
12.	Glukosa OF	F	Bakteri dapat memfermentasi karbohidat pada keadaan tabung tertutup (mikroorganisme anaerob).



Gambar 4. A. Pengujian Zona Hambat Kontrol Positif (Ketokonazol), B. Pengujian Zona Hambat Kontrol Negatif (Media NB).

Tabel 4. Uji Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Potensial (Isolat H1)

No.	Uji Metabolit Sekunder	Sampel	
		Isolat H1	Media NB
1.	Saponin	+	-
2.	Alkaloid	+	-
3.	Terpenoid	+	-
4.	Flavonoid	-	-
5.	Fenol	-	-

Keterangan:

- Hasil (+) saponin jika terjadi perubahan warna larutan menjadi merah tua setelah ditambahkan lempeng logam magnesium dan setetes asam klorida pekat.
- Hasil (+) alkaloid jika terbentuk busa yang stabil selama 10 – 15 menit .
- Hasil (+) terpenoid jika terjadi perubahan warna larutan menjadi biru-hitam setelah ditambahkan larutan besi (III) klorida
- Hasil (+) flavonoid jika terjadi perubahan warna menjadi jingga setelah penambahan pereaksi *Dragendorff* dan warna putih setelah penambahan pereaksi *Meyer*
- Hasil (+) fenol jika terjadi perubahan warna merah setelah diberi asam asetat dan asam sulfat pekat (pereaksi *Lieberman-Burchardt*)

Tabel 5. Perbandingan Karakteristik Bakteri Berdasarkan Buku *Bergey's of Determinative Bacteriology Grup 18.*(17)

No.	Karakteristik	AmphiBacillus	Bacillus	Clostridium	Desulfotomaculum	Oscillospira	Sporohalobacter	Sporolactobacillus	Sporosarcina	Sulfidobacillus	Syntrophospora	Isolat Bakteri Endofit H1
1.	Bentuk batang pada kultur muda	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
2.	Bentuk koloni : Filaments	ND	-	D	-	+	-	-	-	-	-	-
3.	Bentuk kokus (tetrad)	-	-	D	D	+	-	-	NA	-	ND	-
4.	Produksi Endospora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	Motil	+	+	+	+	+	+	+	+	-	ND	+
6.	Bakteri Gram positif pada kultur muda	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+	+
7.	<i>Strict aerobes</i>	-	D	-	-	ND	-	-	+	+	-	-
8.	<i>Facultative anaerobes</i>	+	D	-	-	ND	-	+	-	-	-	+
9.	<i>Strict anaerobes</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-
10	Katalase	-	+	-	-	ND	-	-	+	ND	ND	+
11	Oksidase	-	D	-	ND	ND	-	ND	+	ND	ND	-
12	Fermentasi Glukosa	+	+	D	-	ND	+	+	-	ND	ND	+

Keterangan :

- (+) = 90-100% strain tersebut adalah positif
 (-) = 90-100% strain tersebut adalah negatif
 d = 11-89% positif dari strain bakteri tersebut
 D = Sebagian besar bakteri dari strain bakteri tersebut adalah positif
 ND = Tidak diketahui (*Not determined*)

PEMBAHASAN

Peremajaan bakteri endofit dilakukan dengan tujuan untuk didapatkannya biakan mikroorganisme yang baru, muda, dan aktif. Suatu mikroorganisme yang sebelumnya berada di dalam lemari pendingin berada dalam kondisi inaktif. Kondisi ini mengakibatkan mikroorganisme menjadi kurang optimal dalam produksi metabolit sekunder.(13)

Konfirmasi *Malassezia furfur* menggunakan teknik pewarnaan Gram (Gambar 2). Pewarnaan Gram bisa menjadi alternatif pewarnaan yang digunakan walaupun gambaran sel jamur yang akan terlihat akan terlihat lebih gelap (biru gelap). Hal ini dikarenakan pewarna akan mewarnai lapisan polisakarida *Malassezia furfur* yang terdiri dari *mannan* dan β -*glucan*.(18)

Berdasarkan Tabel 2, diketahui sebanyak 8 isolat bakteri endofit memiliki zona hambat kuat dan sebanyak 9 isolat bakteri endofit memiliki zona hambat sedang. Zona hambat terbesar dihasilkan oleh isolat H1 yaitu sebesar 13,6 mm dan menjadi bakteri endofit yang potensial untuk menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur*.

Identifikasi bakteri endofit potensial (H1) dilakukan secara bertahap dimulai dari pemeriksaan morfologi koloni dan sel, serta pewarnaan endospora pada Tabel 1 dan Gambar 3. Kemudian, karakteristik biokimia isolat H1

(Tabel 3) memiliki kemiripan dengan bakteri genus *Bacillus* yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Bakteri genus *Bacillus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,5-2,5 x 1,2-10 μ m. Bakteri ini termasuk bakteri motil dikarenakan mempunyai flagela. Endospora yang dapat dihasilkan bakteri genus ini berbentuk oval, terkadang bulat, dan silinder yang bersifat resisten terhadap berbagai kondisi lingkungan. Satu sel bakteri hanya akan memiliki satu spora dan sporulation tidak akan terganggu oleh terpaparnya bakteri dengan udara. Genus ini biasanya merupakan bakteri aerob atau fakultatif anaerob dan memiliki aktivitas enzim katalase.(17)

Pada penelitian ini diketahui metabolit sekunder yang dapat dihasilkan oleh isolat bakteri endofit H1 yaitu saponin, alkaloid, dan terpenoid.

Metabolit sekunder adalah molekul bermassa rendah yang diproduksi oleh sebagian kecil mikroorganisme pada saat fase pertumbuhan akhir mikroorganisme yang diperlukan dalam bertahan hidup dari pertumbuhan mikroorganisme lain. Regulasi pembentukan metabolit sekunder berbanding lurus dengan penurunan laju pertumbuhan bakteri.(19)

Pengujian metabolit sekunder saponin menunjukkan hasil positif dikarenakan satu di

antara bakteri dari genus *Bacillus* yaitu *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan metabolit sekunder golongan *cyclic lipopeptide* (*surfactin*, *iturin*, dan *fengycin*). Metabolit sekunder ini termasuk dalam golongan saponin yang memiliki ikatan β -hydroxy dan/atau β -amino pada struktur cincinnya.(20)

Saponin berefek sebagai antijamur dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel jamur sehingga permeabilitasnya meningkat kemudian menyebabkan nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, dan protein dalam sel keluar dan jamur mengalami kematian.(16)

Pengujian metabolit sekunder alkaloid menunjukkan hasil positif dikarenakan *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, dan *Bacillus licheniformis* diketahui dapat menghasilkan senyawa golongan alkaloid berupa *guanosine* dan *inosine* pada saat difermentasi menggunakan media cair (*broth*). (8)

Alkaloid mempunyai efek sebagai antijamur dengan mengubah permeabilitas membran jamur, merusak kerja mitokondria, memproduksi stress oksidatif, dan merusak integritas membran jamur.(21)

Pengujian metabolit sekunder terpenoid menunjukkan hasil positif dikarenakan *Bacillus subtilis* diketahui dapat menghasilkan senyawa terpenoid melalui beberapa mekanisme, dua jalur mekanisme pembentukan struktur atas terpenoid (*Mevalonate pathway* dan *MEP pathway*), satu jalur pembentukan struktur bawah terpenoid (*Carotenoid*, *ubiquinone*, *terpenoid-quinone biosynthesis pathway*). (22)

Terpenoid/steroid memiliki fungsi sebagai antijamur dengan cara menghambat

pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur.(23)

KESIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak 17 dari 21 isolat bakteri endofit tanaman kunyit memiliki aktivitas antijamur terhadap *Malassezia furfur* dengan zona hambat yang terbentuk paling besar dihasilkan oleh isolat H1 yang memiliki zona hambat 13,6 mm. Morfologi koloni, morfologi sel, dan hasil uji biokimianya mempunyai kemiripan dengan bakteri genus *Bacillus* dan dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa saponin, alkaloid, dan terpenoid.

REFERENSI

1. Djuanda A. Ilmu penyakit kulit dan kelamin. Dr. dr. Sri Linuwih SW Manaldi Sp. KK, editor. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2017. 103–5 p.
2. Karray M, McKinney WP. Tinea versicolor. StatPearls. StatPearls, Treasure Island (FL); 2019. 1–2 p.
3. Alawiyah T, Khotimah S, Mulyadi A. Aktivitas antijamur ekstrak teripang darah (*Holothuria atra* Jeager .) terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* penyebab panu. Protobiont. 2016;5(1):59–67.
4. Simanjuntak P. Studi kimia dan farmakologi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L) sebagai tumbuhan obat serbaguna. Lemb Ilmu Pengetah Indones. 2012;17(2):103.
5. Kumar A, Singh R, Yadav A, Singh

- DDGPK. Isolation and characterization of bacterial endophytes of *Curcuma longa* L. 3 Biotech. 2016;6(1):1–8.
6. Joseph A, Jasim AB, Jyothis M, Radhakrishnan EK. Identification of two strains of *Paenibacillus* sp. as indole 3 acetic acid-producing rhizome-associated endophytic bacteria from *Curcuma longa*. 2013;3(3):219–24.
7. Ayu Fidya Ningtyas. Uji potensi antibakteri dan uji keberadaan enzim squalene sintase bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Skripsi. 2015;6–7.
8. Singh M, Kumar A, Singh R, Pandey KD. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. 3 Biotech. 2017;7(5):1–14.
9. Vinayarani G, Prakash HS. Growth promoting rhizospheric and endophytic bacteria from *Curcuma longa* L. as biocontrol agents against rhizome rot and leaf blight diseases. 2018;34(3):218–35.
10. Rizaldi H. Karakterisasi bakteri gram positif endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa*) yang memiliki kemampuan quorum quenching. Skripsi. 2018;
11. Yuanita MM. Eksplorasi bakteri gram negatif endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) yang memiliki kemampuan quorum quenching. Skripsi. 2018;
12. Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Koneman EW, editor. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 345–78 p.
13. Jorgensen JH, Pfaller MA. Manual of clinical microbiology. 11th ed. Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, editors. Washington DC: Wiley Publisher; 2017. 467–89 p.
14. Pratiwi BE. Isolasi dan skrining fitokimia bakteri endofit dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang berpotensi sebagai antibakteri. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2015. 40–81 p.
15. Santana JO, Azevedo FLA de, Filho PCC. Pityriasis versicolor: clinical-epidemiological characterization of patients in the urban area of Buerarema-BA, Brazil. An Bras Dermatol. 2013;88(2):216–21.
16. Pulungan ASS. Aktivitas antijamur ekstrak etanol daun kunyit (*Curcuma longa* LINN.) terhadap jamur *Candida albicans*. BIOLINK (Jurnal Biol Lingkungan, Ind Kesehatan). 2017;3(2):124–8.
17. Holt JG. Bergey's of determinative bacteriology. 9th Ed. USA: A Wolters Kluwer Company Philadelphia; 2000. 471–473 p.
18. Shamly V, Kali A, Srirangaraj S, Umadevi S. Comparison of Microscopic Morphology of Fungi Using Lactophenol Cotton Blue (LPCB), Iodine Glycerol and Congo Red Formaldehyde Staining. 2014;8(7):7–8.
19. Ruiz B, Chávez A, Forero A, García-huante Y, Romero A. Production of microbial secondary metabolites: - Regulation by the carbon source. 2010;32(2):146–67.
20. Kaspar F, Neubauer P, Gimpel M. Bioactive Secondary Metabolites from *Bacillus subtilis*: A Comprehensive Review. 2019;82(7):2038–53.
21. Khan H, Mubarak MS, Amin S. Antifungal

- potential of alkaloids as an emerging therapeutic target. *Curr Drug Targets*. 2016;18(16):1825–35.
22. Guan Z, Xue D, Abdallah II, Dijkshoorn L, Setroikromo R, Lv G, et al. Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* for terpenoid production. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015;99(22):9395–406.
23. Dinastutie R, YS SP. Uji efektifitas antifungal ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. *Maj Kesehat FKUB*. 2015;2:173–80.