

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Penicillium notatum* ATCC 28089 DENGAN *Penicillium* sp. R1M YANG DIISOLASI DARI MANGROVE *Sonneratia caseolaris*

Comparison of Antibacterial Activity of Penicillium notatum ATCC 28089 and Penicillium sp. R1M Isolated from Mangrove Sonneratia caseolaris

Asep Awaludin Prihanto

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Brawijaya

Diterima 7 Oktober 2011/Disetujui 13 Desember 2011

Abstract

Mangrove *Sonneratia caseolaris* is a potential host for endophytic fungi that commonly produce strong and unique antibiotic. The objective of the research was to compare the antibacterial activity of *Penicillium notatum* ATCC 28089 and endophytic fungus *Penicillium* sp. R1M isolated from Mangrove *Sonneratia caseolaris*. First step of the research was observation the growth curve of each isolate. Second step was isolation of their metabolites to be used in the antibacterial activity assay against *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 and *Escherichia coli* ATCC 8739. The results showed that both isolates indicated different growth curves. *Penicillium* sp. R1M experienced shorter adaptation phase, than *P. notatum* ATCC 28089. The secondary metabolites of *P. notatum* ATCC 28089 was isolated on day 8, while those of *Penicillium* sp. R1M isolated on day 6. The result of antibacterial assay confirmed that the extracts of mycelia *Penicillium* sp. R1M show inhibition diameter in the growth of *S. aureus* and *E. coli* with 11.5 ± 0.6 mm and 10.6 ± 0.4 , mm, respectively, while the medium extracts of *P. notatum* ATCC 28089 were 9.3 ± 0.9 mm and 7.4 ± 0.1 mm, respectively. The inhibitory zone diameter of medium extracts. *Penicillium* sp. R1M against *S. aureus* and *E. coli* were correspondingly 7.5 ± 0.1 mm and 7.1 ± 0.8 mm, while the medium extracts of *P. notatum* ATCC 28089 were 9.3 ± 0.6 mm and 7.4 ± 0.4 mm, respectively. Mycelial extracts of *Penicillium* sp. R1M showed better antibacterial activity than those of *P. notatum* ATCC 28089. On the other hand the medium extracts showed the opposite results.

Keywords: antibacterial, *Penicillium* sp. R1M, *Sonneratia caseolaris*

Abstrak

Mangrove *Sonneratia caseolaris* merupakan salah satu inang kapang endofit yang berpotensi menghasilkan antibiotik yang unik dan kuat. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri *Penicillium notatum* ATCC 28089 dengan kapang endofit *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. Penelitian diawali dengan mengamati kurva pertumbuhan untuk masing-masing isolat dan selanjutnya dilakukan isolasi metabolit dan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki kurva pertumbuhan yang berbeda. Metabolit sekunder *P. notatum* ATCC 28089 diisolasi pada hari ke-8, sedangkan dari *Penicillium* sp. R1M diisolasi pada hari ke-6. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak miselia *Penicillium* sp. R1M menghasilkan diameter penghambatan pada *S. aureus* dan *E. coli* sebesar $11,5 \pm 0,6$ mm dan $10,6 \pm 0,4$ mm; sedangkan ekstrak media *P. notatum* ATCC 28089 berturut-turut sebesar $9,3 \pm 0,9$ mm dan $7,4 \pm 0,1$ mm. Diameter hambat ekstrak media *Penicillium* sp. R1M pada *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut sebesar $7,5 \pm 0,1$ mm dan $7,1 \pm 0,8$ mm; sedangkan ekstrak media *P. notatum* ATCC 28089 adalah $9,3 \pm 0,6$ mm dan $7,4 \pm 0,4$ mm. Ekstrak miselia isolat *Penicillium* sp. R1M mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih baik daripada *Penicillium notatum* ATCC 28089, tetapi pada ekstrak media fermentasi menunjukkan hasil yang berlawanan.

Kata kunci: antibakteri, *Penicillium* sp. R1M, *Sonneratia caseolaris*

PENDAHULUAN

Kapang endofit adalah mikroorganisme unik yang terdapat dalam tumbuhan. Istilah endofit merujuk pada organisme hidup bakteri atau kapang yang berukuran mikroskopis dan sebagian atau keseluruhan hidupnya berada di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang (Strobel dan Daisy 2003). Banyak penelitian telah membuktikan bahwa kapang jenis ini mempunyai aktivitas antibiotik dan aktivitas biologis yang luas. Tanaman mangrove sejak lama diketahui mempunyai khasiat obat berbagai penyakit dan umum digunakan sebagai obat-obatan tradisional. Penggunaan daun, buah, kulit kayu, batang, akar dan buah dari beberapa spesies mangrove telah dilaporkan oleh Bandaranayake (1998).

Kapang endofit juga sumber potensial untuk antibiotik-antibiotik yang unik (Nair *et al.* 2000). Keunikan ini disebabkan oleh habitat mikroorganisme endofit yang berbeda dengan habitat kapang pada umumnya sehingga proses adaptasi kapang endofit terhadap habitatnya seringkali menghasilkan metabolit yang mempunyai struktur dan karakter yang berbeda jika dibandingkan dengan kapang isolat umum.

Beberapa ilmuwan menyebutkan bahwa bioaktivitas yang terdapat dalam bagian-bagian mangrove tersebut tidak selalu berasal dari tanaman mangrove itu sendiri, tetapi dapat berasal dari makhluk lain di dalam bagian mangrove yang mampu mensintesis bioaktif tersebut. Berdasarkan asumsi tersebut dapat diduga bahwa kapang atau bakteri endofit yang mendiami tumbuhan mangrove adalah penghasil senyawa bioaktif yang sebenarnya, seperti yang kemukakan oleh Shan *et al.* (2009).

Tumbuhan mangrove merupakan sumber inang yang kaya kapang endofit (Andana dan Sridhar, 2002). Penelitian Firdaus *et al.* (2010)

telah berhasil mengisolasi *Penicillium* sp. R1M dari akar mangrove *Sonneratia caseolaris*. Analisis makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa *Penicillium* sp. R1M adalah kapang *P. notatum*. Isolat *Penicillium* sp. R1M diduga mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih kuat jika dibandingkan dengan isolat *P. notatum* ATCC 28089. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri kapang *Penicillium* sp. R1M dengan isolat *P. notatum* ATCC 28089 dan mengetahui dampak buangan limbah lumpur Lapindo terhadap peningkatan aktivitas antibakterinya.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Sampel kapang yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Penicillium* sp. R1M (kapang endofit akar mangrove *Sonneratia caseolaris* diisolasi bulan Agustus sampai Oktober 2010 dari daerah Muara Sungai Porong, Sidoarjo) dan *P. notatum* ATCC 28089. Bakteri uji menggunakan *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 dan *Escherichia coli* ATCC 8739 (koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya).

Media fermentasi dan uji antibakteri menggunakan *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Merck), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Merck), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck), *Blank disc* (Oxoid) dan inkubasi dilakukan dengan inkubator (Memmert, IFP 550).

Metode

Fermentasi kapang

Proses fermentasi dimulai dengan menumbuhkan kultur murni pada media PDA selama ± 7 hari. Miselia dan media agar dari kedua kapang dipotong kecil-kecil berbentuk kotak ($\pm 3 \text{ cm}^2$) kemudian dilakukan fermentasi pada media PDB. Setiap potongan blok dimasukkan kedalam media PDB dan kemudian diinkubasi selama 7 hari dengan suhu $30 \text{ }^\circ\text{C}$ dalam kondisi statis dan gelap.

Korespondensi: Universitas Brawijaya Malang 65145.
Telp. +62341553512, Fax +62341557837 E-mail : asep_awa@ub.ac.id

Pembuatan kurva pertumbuhan

Pertumbuhan diamati dari jumlah sel atau massa sel dengan bobot kering sel yang dilakukan setiap 24 jam selama 10 hari.

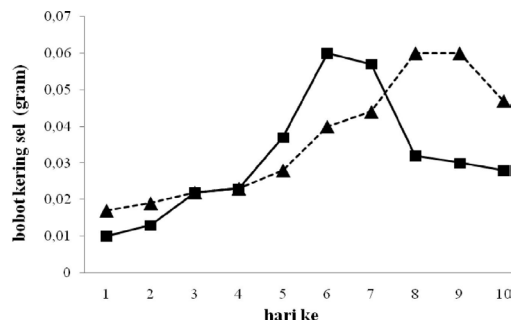
Uji antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak miselia dan media pertumbuhan kapang menggunakan metode cakram (Qi *et al.* 2009). Cakram tanpa ekstrak diameter 6-mm diisi 50 µg ekstrak kasar yang dilarutkan dengan MeOH dan dievaporasi sampai kering. Selanjutnya cakram ditempatkan di atas media MHA yang telah diinokulasikan bakteri uji dengan kepadatan $1,2 \times 10^8$ CFU/mL. Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Streptomycin (400 µg/mL) digunakan sebagai kontrol positif. Diameter hambat diukur menggunakan jangka sorong. Semua pengujian dilakukan secara duplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan kapang

Kurva pertumbuhan kapang kedua isolat menunjukkan hasil yang berbeda (Gambar 1). *Penicillium* sp. R1M menunjukkan waktu adaptasi yang lebih cepat dibandingkan *P. notatum* ATCC 28089. Kapang endofit sudah mengalami fase pertumbuhan cepat (*exponential phase*) pada hari ke-2, sedangkan *P. notatum* ATCC 28089 membutuhkan waktu hampir satu minggu. Perbedaan fase adaptasi (*lag phase*) ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan habitat kedua isolat. Habitat *Penicillium* sp. R1M yang keras diduga menghasilkan kemampuan adaptasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan isolat sejenis yang habitatnya banyak tersedia nutrisi. Bugni dan Ireland (2004) menunjukkan bukti bahwa mikroorganisme endofit mengalami adaptasi nutrisi yang unik dengan melibatkan tumbuhan inang melalui serangkaian pola ekspresi gen. Nutrisi yang disediakan tumbuhan sangat menentukan interaksi dan adaptasi yang terjadi dengan endofit didalamnya (Saikkonen *et al.* 1998).



Gambar 1 Kurva pertumbuhan kapang; —■— *Penicillium* sp. R1M; -▲- *Penicillium notatum* ATCC 28089

Fase stasioner (*stationary phase*) kedua isolat menunjukkan hasil yang berbeda. Titik stasioner kapang endofit *Penicillium* sp. R1M terjadi lebih cepat dengan waktu yang lebih singkat. Isolat *P. notatum* ATCC 28089 mengalami fase stasioner lebih lama (± 2 hari).

Fase kematian (*death phase*) pada isolat endofit terjadi pada hari ke-7, sedangkan *P. notatum* ATCC 28089 terjadi pada hari ke-9. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa siklus hidup kapang sangat dipengaruhi oleh habitat asal isolat kapang. Data pengamatan kurva pertumbuhan selanjutnya digunakan untuk menentukan masa panen fermentasi yang digunakan pada pengujian antibakteri.

Aktivitas antibakteri

Pengamatan aktivitas antibakteri kedua isolat kapang menunjukkan hasil yang berbeda baik terhadap bakteri Gram- negatif maupun Gram positif (Tabel 1). Hasil pengujian ekstrak miselia *Penicillium* sp. R1M memberikan daya hambat sebesar 11,5 mm terhadap *S. aureus* dan 10,6 mm terhadap *E. coli*. Ekstrak miselia *P. notatum* ATCC 28089 berturut-turut menghasilkan zona hambat hanya 7,5 mm dan 7,1 mm. Ekstrak miselia *Penicillium* sp. R1M menunjukkan penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak miselia *P. notatum* ATCC 28089. Hasil ini membuktikan bahwa habitat kapang endofit yang berada dalam sel tumbuhan mangrove menghasilkan metabolit yang lebih kuat. Aly *et al.* (2011)

Tabel 1 Hasil uji antibakteri isolat *Penicillium* sp. R1M dan *P. notatum* ATCC 28089

Mikroba	Ekstrak	bakteri uji	zona hambat (mm)
<i>Penicillium</i> sp. R1M	miselia	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	11,5 ± 0,6
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	10,6 ± 0,4
	media	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	7,5 ± 0,1
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7,1 ± 0,8
<i>P. notatum</i> ATCC 28089	miselia	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	9,3 ± 0,9
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7,4 ± 0,1
	media	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	9,3 ± 0,6
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7,4 ± 0,4

mengemukakan bahwa habitat kapang di dalam tumbuhan (endofit) memicu produksi metabolit yang unik sebagai respon dari habitat yang tidak biasa. Inang endofit yang tumbuh di daerah yang keras, banyak tantangan secara fisik dan kimia merupakan sumber yang potensial untuk penapisan kapang endofit dan bioaktifnya (Raghukumar 2008).

Pengujian antibakteri ekstrak media *P. notatum* ATCC 28089 diperoleh hasil diameter penghambatan pada *S. aureus* dan *E. coli* sebesar 9,3±0,6 mm dan 7,4±0,4 mm, sedangkan ekstrak media *Penicillium* sp. R1M berturut turut sebesar 7,5 ± 0,1 mm dan 7,1±0,8 mm. Pengujian antibakteri ekstrak media memperlihatkan hasil yang berbeda dengan ekstrak miselia. Hasil ini kemungkinan disebabkan senyawa bioaktif penghambat bakteri pada kapang endofit *Penicillium* sp. R1M adalah metabolit intraseluler, sedangkan senyawa penghambat bakteri yang terdapat pada isolat *P. notatum* ATCC 28089 adalah jenis metabolit ekstraseluler.

Kedua isolat secara umum menunjukkan penghambatan yang lebih baik pada bakteri Gram-positif (*S.aureus* ATCC 9144). Beberapa antibiotik asal *Penicillium* diketahui mempunyai aktivitas yang baik terhadap bakteri *Staphylococcus*. Bakteri Gram positif diketahui lebih sensitif daripada bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif, selain itu pada bakteri Gram positif,

peptidoglikan tidak terlindungi oleh membran luar (Navarre dan Schneewind 1999). Perbedaan struktur lapisan membran tersebut menyebabkan bakteri Gram negatif kurang sensitif terhadap antibiotik daripada bakteri Gram positif terutama antibiotik golongan β-laktam yang merupakan antibiotik asal *Penicillium* sp. Antibiotik β-laktam bekerja membunuh bakteri dengan cara mengganggu sintesis dinding sel melalui penghambatan enzim transpeptidase yang mengakibatkan dinding sel menjadi lebih lemah, sensitif, dan mudah terdegradasi (Giguère et al. 2006)

KESIMPULAN

Ekstrak miselia isolat *Penicillium* sp. R1M mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan *P. notatum* ATCC 28089, tetapi pada ekstrak media fermentasi menunjukkan hasil yang berlawanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Brawijaya yang memberikan biaya penelitian melalui program World Class University Grant berdasarkan SK No. 190/SK/2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Aly AH, Debbab A, Proksch P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology* 90(6):1829-1845
- Andana K, Sridhar KR. 2002. Diversity of

- endophytic fungi in the roots of mangrove species on west coast of India. *Canadian Journal of Microbiology* 48:871-878.
- Bandaranayake WM. 1998. Traditional dan medicinal uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes* 2: 133-148
- Bugni TS, Ireland CM. 2004. Marine-derived fungi: a chemically dan biologically diverse group of microorganisms. *Natural Product Reports* 21:143-63
- Firdaus M, Prihanto AA, Nurdiani R. 2010. Potensi jamur endofit asal mangrove sebagai anti methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan anti vancomycin resistant *Enterococcus faecium* (VREF). Laporan hasil penelitian Hibah penelitian dalam peningkatan publikasi ilmiah internasional program *World Class University*, Universitas Brawijaya. Malang.
- Giguère S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Dowling PM. 2006. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 4th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- Nair S, Sasirekha N, Appunu C, Bharathkumar, Loganathan, Rameshkumar N, Sridhar R, Subathra G Prabhavathy VR. 2000. Microbial diversity in Mangrove ecosystem: A Review. *Biobytes* 3:1-6
- Navarre WW, Schneewind O. 1999. Surface proteins of gram-positive bacteria dan mechanisms of their targeting to the cell wall. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(1):174-229.
- Qi SH, Xu EY, Xiong HR, Qian PY, Zhang S. 2009. Antifouling and antibacterial compounds from a marine fungus *Cladosporium* sp. F14. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25: 399-406
- Raghukumar C. 2008. Marine fungal biotechnology: an ecological perspective. *Fungal Diversity* 31: 19-35
- Saikkonen K, Faeth, SH, Heldenner M, Sullivan TJ. 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:319-343
- Shan CZ, Hui PJ, Cheng TW, Jin CQ, Cheng LY. 2009. Biodiversity and biotechnological potential of mangrove-associated Fungi. *Journal of Forestry Research* 20(1):63-72
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes dan their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67: 491-502