

## Uji Daya Antimikroba Kapang Endofit Dari Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis Lamk*)

Eka Pebi Hartianty

Universitas Gunadarma, ekapebi@staff.gunadarma.ac.id

### ABSTRAK

Pemanfaatan tanaman dalam bidang pengobatan merupakan sesuatu yang menjanjikan dalam upaya penemuan senyawa kimia yang memiliki khasiat tertentu. Salah satunya adalah senyawa yang memiliki khasiat sebagai antimikroba. Suatu metode dalam menghasilkan senyawa aktif dalam waktu yang lebih singkat tanpa harus merusak habitat tanaman obat, adalah pemanfaatan mikroba endofit. Salah satu mikroba endofit penghasil antibiotika yang sedang banyak dibicarakan sekarang adalah kapang endofit. Tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani yang menjanjikan untuk diteliti adalah *Aquilaria malaccensis Lamk.*, yang sejak lama digunakan sebagai antimikroba. Isolasi kapang endofit dilakukan dengan cara tanam langsung pada media CMM, kemudian dipindahkan ke media PDA untuk peremajaannya. Lima isolat kapang endofit yang memiliki karakteristik yang berbeda-beda, di skrining untuk memperoleh isolat kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba. Fermentasi dalam media cair PDY, kemudian diekstraksi dengan etil asetat dan *n*-butanol. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-butanol kapang endofit kode AM-EK3 memiliki aktivitas antimikroba yang paling baik terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fraksinasi dilakukan secara kromatografi kolom dan menghasilkan 5 fraksi, yang mana fraksi F3 dan F5 memiliki aktivitas antimikroba yang paling baik. Hasil pemurnian dengan KLT preparatif untuk F3 (F3-1, F3-2) dan F5 (F5-1, F5-2, F5-3, F5-4) dan uji antimikroba diperoleh bahwa fraksi F5-3 mempunyai aktivitas antimikroba spektrum luas.

*Kata kunci:* *Aquilaria malaccensis Lamk.*, kapang endofit, antimikroba.

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menduduki tempat teratas sebagai penyebab kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Namun pemilihan antibiotik yang makin beragam serta penggunaan antibiotik cenderung tidak rasional sehingga diiringi makin banyaknya bakteri yang resisten terhadap antibiotika. Banyaknya pemilihan antibiotika tidak menjamin bahan antibiotika dapat digunakan pada setiap infeksi. Walaupun masa jaya penemuan antibiotika telah berlalu, dimulai sejak tahun 1939 sampai 1959, tetapi penelitian di bidang ini bangkit kembali sejak tahun 1965 dengan penemuan antibiotika semisintetik seperti beta-laktam. Pada masa kini, bioteknologi

antibiotika diarahkan untuk menemukan antibiotika baru dengan mengeksploitasi dunia mikroba (Worang LR., 2003).

Mikroba endofit dapat berupa kapang atau bakteri dan di alam keduanya dapat ditemukan. Kapang endofit lebih banyak ditemukan, lebih kurang 2/3 dari jumlah mikroba endofit (Kumala S, Mangunwardoyo, Budiarti P., 2002). Kelompok mikroba endofit banyak yang mampu memproduksi senyawa antibiotik yang aktif melawan bakteri maupun fungi patogenik terhadap manusia, hewan dan tumbuhan. Salah satu penghasil antibiotika yang sedang banyak dibicarakan sekarang adalah kapang endofit. Penelitian Brunner dan Petrini yang melakukan seleksi pada lebih dari

80 kapang endofit menunjukkan bahwa 75% kapang endofit mampu menghasilkan antibiotika (Worang LR., 2003).

Tumbuhan yang memiliki sejarah yang terkait dengan beberapa penggunaan atau aplikasi spesifik, merupakan kandidat yang menjanjikan karena kegunaan tumbuhan tersebut dalam bidang medis lebih terkait dengan populasi mikroba endofitnya dibandingkan dengan karakteristik biokimia tumbuhan itu sendiri. Misalnya sejenis tumbuhan merambat yang ditemukan kelompok Montana State University di Northern Territory, Australia, yaitu *Kennedia nigriscans*, dipilih untuk diteliti karena getahnya dimanfaatkan sebagai obat hutan tradisional selama berabad-abad. Daerah tersebut juga telah dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel tumbuhan karena merupakan rumah dari sebuah peradaban tua dunia – suku Aborigin Australia. Tumbuhan merambat tersebut digunakan untuk merawat luka-luka dan infeksi. Ternyata, tumbuhan tersebut mengandung *Streptomyces* NRRL 30562, yang menghasilkan antibiotika peptida baru dengan spektrum luas yang dinamakan *Munumbicin*. Dapat diasumsikan bahwa proses penyembuhan yang terjadi, seperti yang ditemukan oleh masyarakat setempat kemungkinan besar difasilitasi oleh senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh satu atau lebih mikroba endofit yang hidup di jaringan tumbuhan, selain dari produk tumbuhan itu sendiri.

Hutan hujan tropis merupakan ekosistem darat yang paling tinggi keanekaragaman hayatinya di bumi. Di Hutan hujan tropis terdapat kompetisi yang ketat dan tekanan seleksi alam yang sangat tinggi. Oleh karena itu hutan hujan tropis dianggap sebagai sumber berbagai struktur molekul baru dan senyawa-senyawa baru yang memiliki aktivitas biologis. Dari hasil

penelitian juga ditemukan bahwa mikroba endofit tropis menghasilkan lebih banyak produk alami yang aktif, selain itu juga ditemukan bahwa sangat banyak mikroba endofit tropis yang menghasilkan lebih banyak metabolit sekunder aktif dibandingkan dengan mikroba tropis yang bukan endofit. Data tersebut menunjukkan pentingnya peranan tumbuhan inang dalam mempengaruhi metabolisme umum mikroba endofit (Prasetyoputri A, Atmosukarto I., 2006).

Hutan hujan tropis merupakan ekosistem darat yang paling tinggi keanekaragaman hayatinya di bumi. Di Hutan hujan tropis terdapat kompetisi yang ketat dan tekanan seleksi alam yang sangat tinggi. Oleh karena itu hutan hujan tropis dianggap sebagai sumber berbagai struktur molekul baru dan senyawa-senyawa baru yang memiliki aktivitas biologis. Dari hasil penelitian juga ditemukan bahwa mikroba endofit tropis menghasilkan lebih banyak produk alami yang aktif, selain itu juga ditemukan bahwa sangat banyak mikroba endofit tropis yang menghasilkan lebih banyak metabolit sekunder aktif dibandingkan dengan mikroba tropis yang bukan endofit. Data tersebut menunjukkan pentingnya peranan tumbuhan inang dalam mempengaruhi metabolisme umum mikroba endofit (Prasetyoputri A, Atmosukarto I., 2006).

Indonesia sebagai salah satu negara tropis di wilayah Asia Tenggara, memiliki jenis pohon penghasil gaharu terbanyak, dan delapan spesies gaharu paling terkenal di antaranya *A. malaccensis*, *A. beccariana*, *A. cumingiana*, *A. filaria*, *A. hirta*, *A. microcarpa*, *Gonystylus hankenbergii*, *G. macrophyllus* dan *Gyrinops versteegii*. Indonesia juga merupakan eksportir terbesar dari ke delapan negara eksportir lainnya untuk diekspor ke China, India, Jepang, Korea, dan Amerika (Rasool dan Mohamed 2016).

*Aquilaria malaccensis* Lamk. merupakan jenis yang paling banyak dimanfaatkan. Indonesia memiliki pohon penghasil gaharu yang sangat beragam dari berbagai genus dan memiliki karakteristik khas pada masing-masing daerah berbeda. (Faizal A, et all., 2018) Gaharu (sering disebut sebagai *aloewood*, *eaglewood*, *agarwood*) dikenal karena memiliki aroma yang khas (*aromatic resin*) dan dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti parfum, pewangi ruangan, hio, obat, dan sebagainya. Sebagai obat yang salah satunya sebagai antimikroba, gaharu di Timur Tengah, Tibet dan Asia Timur konon sudah dikenal sejak abad VIII. Kandungan kimia yang terdapat di dalam tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk. adalah termasuk golongan seskuioterpen yaitu, agarospirol, jinkohol, jinkohol II,  $\alpha$ -agarofuran, 10-*epi*-gamma-eudesmol, jinkoh-eremol, okso-agarospirol, dan kusunol, dengan khasiat sebagai antiasmatik, antimikroba, afrodisiaka, sakit kuning, penenang, analgetik, reumatik, kanker, diare, ginjal, tumor paru-paru, tumor usus, daun serta buah gaharu diyakini masyarakat sebagai obat malaria (Susilo KA., 2003).

Penyebab timbulnya infeksi (yang menghasilkan gaharu) pada pohon penghasil gaharu, hingga saat ini masih terus diamati. Namun, para peneliti menduga bahwa ada 3 elemen penyebab proses infeksi pada pohon penghasil gaharu, yaitu infeksi karena fungi, perlukaan dan proses non-photology. Dalam grup yang pertama, Santoso (1996) menyatakan telah berhasil mengisolasi beberapa fungi dari pohon *Aquilaria spp.* yang terinfeksi yaitu: *Fusarium oxyporus*, *F. bulbigenium* dan *F. laseritium*. Pada kasus 2 dan 3 muncul hipotesis yang menyatakan bahwa perlukaan pohon dapat mendorong munculnya proses penyembuhan yang menghasilkan

gaharu. Tetapi hipotesis inipun masih memerlukan pembuktian.

## METODE PENELITIAN

Hasil isolasi kapang endofit dari ranting tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk. diperoleh 5 isolat kapang endofit dengan berbagai karakteristik morfologi kapang yang berbeda-beda. Masing-masing isolat kapang endofit, diremajakan dalam media PDA, dan diinkubasi pada suhu ruang (25 – 30 °C) selama 7 hari. Fermentasi kapang dilakukan di atas *shaker* dengan kecepatan 130 rpm selama 7 hari pada suhu kamar (25 – 30 °C) dengan menggunakan media PDY. Supernatan hasil fermentasi isolat kapang diekstraksi dengan etil asetat dengan perbandingan 1 : 1. Ekstrak dari supernatan dan biomassa dari masing-masing isolat kapang diuji antimikroba. Dalam penelitian ini uji antimikroba menggunakan teknik difusi agar dengan cara sumur. Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, dan bakteri uji Gram negatif *Escherichia coli*. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut tanpa ekstrak isolat kapang. Inkubasi pada suhu kamar (25 – 30 °C) selama 18 - 24 jam. Pengamatan dan pengukuran daerah hambatan/zona jernih disekitar sumur/lubang. Isolat kapang yang berpotensi, diremajakan dalam media PDA, diinkubasi pada suhu ruang (25 – 30 °C) selama 7 hari.

Hasil fermentasi isolat kapang yang berpotensi, disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 6 °C. Supernatan yang diperoleh diekstraksi dengan *n*-butanol, ekstraksi dilakukan 3 kali pengulangan. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan *vacuum rotavapor* pada suhu 40 °C, 80 rpm. Ekstrak *n*-butanol dari supernatan isolat kapang yang berpotensi selanjutnya akan difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Ekstrak *n*-butanol yang diperoleh

difraksinasi dengan kromatografi kolom, menggunakan fase diam silika gel (70 – 230 mesh), dan cairan eluen yang Cairan eluen secara berurutan yaitu, *n*-hexan - etil asetat = 10 : 1, 8 : 1, 6 : 1, 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1, kloroform, kloroform – metanol = 5 : 1, 1 : 1. Fraksi-fraksi yang diperoleh ditampung dalam botol masing-masing sebanyak 25 ml. Kemudian hasil fraksi-fraksi dari kromatografi kolom di KLT untuk menggabungkan fraksi-fraksi yang memiliki kesamaan. Masing-masing fraksi ditotolkan 20 µl pada lempeng KLT, fraksi yang menampakkan bercak yang sama digabung. Sehingga didapat beberapa fraksi yang lebih sederhana dan berbeda satu sama lain. Selanjutnya fraksi-fraksi yang diperoleh akan dilakukan uji antimikroba.

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom dilakukan uji antimikroba menggunakan teknik difusi agar dengan kertas cakram. Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, dan bakteri uji Gram negatif *Escherichia coli*. Inkubasi pada suhu 35 – 37 °C selama 18 - 24 jam. Kemudian suspensi mikroba uji diukur kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc Farland. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut *n*-butanol tanpa ekstrak dan sebagai kontrol positif digunakan kertas cakram kloramfenikol 30 µg steril. Inkubasi pada suhu kamar (25 – 30 °C) selama 18 - 24 jam. Hasil yang diperoleh dalam uji antimikroba ini selanjutnya akan digunakan sebagai acuan untuk melakukan KLT preparatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi supernatan dan biomassa hasil fermentasi isolat kapang menghasilkan 10 ekstrak *n*-butanol terdiri dari 5 ekstrak *n*-butanol yang berasal dari supernatan dan 5 ekstrak *n*-butanol yang berasal dari biomassa. Hasil ekstraksi juga menghasilkan 10 ekstrak etil asetat terdiri dari 5 ekstrak

etil asetat yang berasal dari supernatan dan dari 5 ekstrak etil asetat yang berasal dari biomassa.

Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak hasil fermentasi kapang endofit dari tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk. dapat dilihat pada tabel berikut:

Hasil uji aktivitas antimikroba pada ekstrak etil asetat maupun *n*-butanol dari supernatan dan biomassa hasil bioproduksi isolat kapang endofit, hampir semuanya memiliki aktifitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dapat dilihat dengan terbentuknya zona jernih pada sekitar kertas cakram. Kepekaan yang paling besar dimiliki oleh ekstrak *n*-butanol yang berasal dari supernatan isolat kapang endofit AM-EK3 sebesar 3,10 cm. Hanya ekstrak etil asetat dari biomassa isolat kapang AM-EK4 dan ekstrak *n*-butanol dari biomassa isolat kapang AM-EK5 yang tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji aktivitas antimikroba pada ekstrak etil asetat maupun *n*-butanol dari supernatan dan biomassa hasil bioproduksi isolat kapang endofit terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*, menunjukkan bahwa aktivitas antimikrobanya kurang aktif dibandingkan dengan pengujian terhadap mikroba uji Gram positif *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dapat dilihat dari kurang jernihnya zona hambatan yang terbentuk. Hanya 3 ekstrak isolat kapang endofit yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*, yaitu isolat kapang AM-EK1, AM-EK3, dan AM-EK5. Kepekaan yang paling besar dimiliki oleh ekstrak *n*-butanol yang berasal dari supernatan isolat kapang endofit AM-EK3 sebesar 1,55 cm. Hasil uji aktivitas antimikroba, menunjukkan bahwa ekstrak *n*-butanol yang berasal dari supernatan isolat kapang endofit AM-

EK3 memiliki kepekaan yang paling besar terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil uji antimikroba tersebut, selanjutnya isolat kapang endofit AM-EK3 difraksinasi secara kromatografi kolom yang dapat dilihat pada tabel 2.

Sebanyak 0,45 gram ekstrak *n*-butanol isolat kapang AM-EK3 difraksinasi secara kromatografi kolom dengan cairan eluasi *n*-hexan – etil asetat dengan perbandingan 10 : 1, 8 : 1, 6 : 1, 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1, kloroform, dan kloroform – metanol dengan perbandingan 5 : 1, 1 : 1, dan diperoleh 68 fraksi. Masing-masing fraksi tersebut disederhanakan dengan pemeriksaan secara kromatografi lapis tipis, dan sebagai blangko digunakan ekstrak *n*-butanol dari media fermentasi PDY. Kromatogram yang memiliki pola bercak yang sama digabung, sehingga diperoleh 5 fraksi yang lebih sederhana. Bercak dari kelima fraksi tersebut berbeda dengan bercak yang dihasilkan oleh blangko seperti pada Gambar 2 dan gambar 3.

Hasil kromatogram (gambar 2 dan gambar 3) menunjukkan bahwa blanko berupa media PDY hanya menghasilkan 1 bercak berpendar pada pengamatan dengan sinar UV 366 nm sebelum disemprot dan setelah disemprot terlihat bercak berwarna coklat yang diamati pada sinar biasa. Sedangkan untuk fraksi hasil kromatografi kolom pada pengamatan sinar UV 366 nm sebelum disemprot untuk fraksi F1 tampak 2 bercak berpendar, fraksi F2 tampak 2 bercak berpendar, fraksi F3 tampak 1 bercak berpendar, fraksi F4 tidak tampak adanya bercak berpendar, dan fraksi F5 tampak 2 bercak berpendar. Pada pengamatan sinar biasa setelah disemprot dengan penampak bercak, untuk fraksi F1 tampak 3 bercak (warna coklat, ungu pekat, dan ungu kemerahan), fraksi F2 tampak 4 bercak

(warna coklat, ungu kemerahan, ungu pekat, dan coklat muda), fraksi F3 tampak 4 bercak (warna coklat dan coklat muda), fraksi F4 tampak 3 bercak (warna coklat dan coklat muda tampak memudar), fraksi F5 tampak 6 bercak (warna coklat, coklat muda, ungu kemerahan dan ungu pekat).

Hasil fraksinasi kromatografi kolom selanjutnya dilakukan uji antimikroba dilakukan dengan menggunakan teknik difusi agar dengan menggunakan cakram steril. Hasil uji aktivitas antimikroba fraksi hasil fraksinasi kromatografi kolom dapat dilihat pada tabel berikut.

Dari data hasil uji antimikroba tersebut dapat terlihat bahwa hampir semua fraksi hasil fraksinasi kolom ekstrak *n*-butanol dari supernatan isolat kapang endofit AM-EK3, memiliki aktivitas terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*. Kepekaan yang paling besar dimiliki oleh fraksi F3 ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar kertas cakram 1,10 cm. Fraksi F5 juga memperlihatkan zona hambatan dengan diameter yang sama dengan F3 yaitu sebesar 1,10 cm, tetapi kurang terlihat jernih, hingga dapat dikatakan bahwa fraksi F5 memiliki kepekaan terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*, tetapi kurang aktif. Hanya satu fraksi yaitu fraksi F1 yang tidak memiliki aktivitas hambatan terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.

Sedangkan untuk hasil uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, hanya 2 fraksi yaitu fraksi F3 dan F5 yang memiliki kepekaan terhadap bakteri tersebut. Fraksi F5 memperlihatkan kepekaan dengan diameter hambatan lebih besar yaitu 1,20 cm, dengan ditandai dengan adanya zona jernih disekitar cakram. Sedangkan fraksi F3 memiliki kepekaan dengan diameter hambatan yang lebih kecil yaitu 0,90 cm dan zona hambatan

yang terlihat tidak begitu jernih, sehingga dapat dikatakan fraksi F3 memiliki aktivitas terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, tetapi kurang aktif.

Dari hasil uji antimikroba terhadap 5 fraksi (F1, F2, F3, F4, F5) diperoleh bahwa 2 fraksi yaitu F3 dan F5 yang memperlihatkan daya hambat yang paling baik. Kemudian fraksi-fraksi tersebut dilakukan KLT preparatif untuk mendapatkan seyawa yang lebih murni. Hasil KLT preparatif dapat dilihat pada gambar dibawah ini:

KLT preparatif dilakukan dengan menggunakan eluen untuk fraksi F3 yaitu *n*-heksan – etil asetat (2 : 1), dan untuk fraksi F5 digunakan eluen kloroform – metanol = 5 : 1. Hasil KLT preparatif fraksi F3 didapatkan 2 fraksi yang paling jelas tampak bercaknya yaitu fraksi F3-1 dan F3-2. Untuk fraksi F5 didapat 4 fraksi yang tampak jelas dan dengan jarak bercak yang cukup jelas berbeda yaitu fraksi F5-1, F5-2, F5-3, F5-4.

Berikut ini tabel hasil KLT preparatif fraksi F3-1, F3-2, F5-1, F5-2, F5-3, F5-4, dengan kisaran bobot hasil kromatogram 0,0011 – 0,0016 gram.

Bobot terbesar dimiliki oleh fraksi F3-2 dengan bercak berwarna ungu.

Setelah mendapatkan hasil KLT preparatif, selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikroba terhadap fraksi F3-1, F3-2, F5-1, F5-2, F5-3, F5-4 yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Hasil uji antimikroba terhadap hasil KLT preparatif yang berasal dari fraksi F3 dan F5 menunjukkan bahwa, semua fraksi (F3-1, F3-, F5-1, F5-2, F5-3, F5-4) memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas, yaitu terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* maupun Gram negatif *Escherichia coli*. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya zona jernih di semua fraksi dengan kisaran diameter 1,00 – 1,20 cm terhadap *Escherichia coli* dan 1,99 – 1,15 cm terhadap *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat pada gambar 6 dan gambar 7.

Kepekaan yang paling besar dimiliki oleh fraksi F5-3, ditandai dengan terbentuknya zona jernih dengan diameter 1,20 cm terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan terbentuknya zona jernih dengan diameter 1,15 cm terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*.



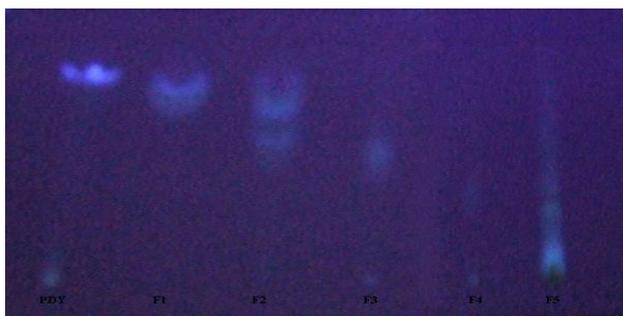
**Gambar 1 *Aquilaria malaccensis* Lamk.**

**Tabel 1.**  
**Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak hasil fermentasi kapang endofit dari tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk.**

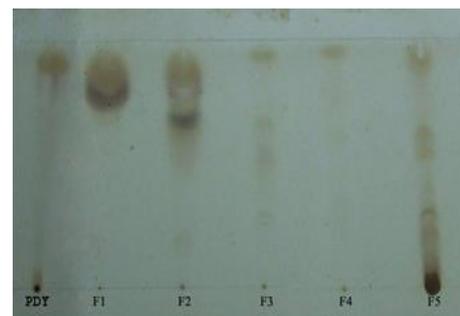
Kode Isolat	Asal Ekstrak	Zona Hambat (diameter dalam cm)			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
		etil asetat	<i>n</i> -butanol	etil asetat	<i>n</i> -butanol
AM-EK1	Biomassa	-	1,35	2,55	2,95
	Supernatan	1,30	1,40	2,25	2,40
AM-EK2	Biomassa	-	-	1,95	2,20
	Supernatan	-	-	1,75	1,80
AM-EK3	Biomassa	-	1,45	2,10	2,75
	Supernatan	1,40	<b>1,55</b>	2,75	<b>3,10</b>
AM-EK4	Biomassa	-	-	-	2,70
	Supernatan	-	-	2,40	2,90
AM-EK5	Biomassa	1,40	-	1,80	-
	Supernatan	1,35	1,45	1,45	2,65
Blangko		1,20	1,30	1,30	1,55

**Tabel 2.**  
**Hasil fraksinasi kolom ekstrak *n*-butanol isolat kapang endofit dari tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk. dengan kode isolat AM-EK3**

Fraksi	Nomor Botol	Bobot (gr)	Bentuk	Warna
F1	1 - 3	0,0413	Ekstrak kental	Kuning kehijauan
F2	4 - 13	0,0436	Ekstrak kental	Hijau kekuningan
F3	14 - 51	0,0392	Ekstrak kental	Kuning muda
F4	52 - 56	0,0283	Ekstrak kental	Krem muda
F5	57 - 68	0,0541	Ekstrak kental	Coklat pekat



**Gambar 2.** Kromatogram hasil fraksinasi kromatografi kolom sebelum disemprot penampak bercak dengan pengamatan pada sinar UV 366 nm



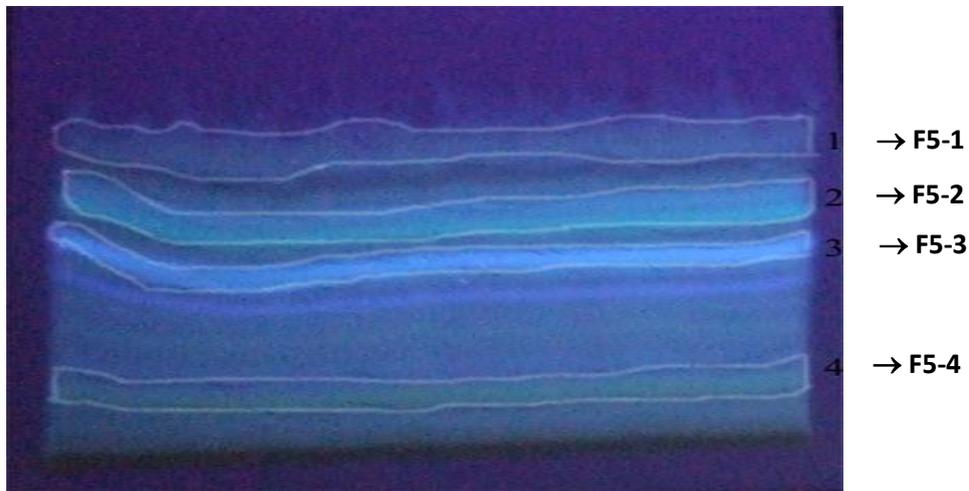
**Gambar 3.** Kromatogram hasil fraksinasi kromatografi kolom setelah disemprot Serum sulfat-asam sulfat (2:1) dengan pengamatan pada sinar biasa

**Tabel 3.**

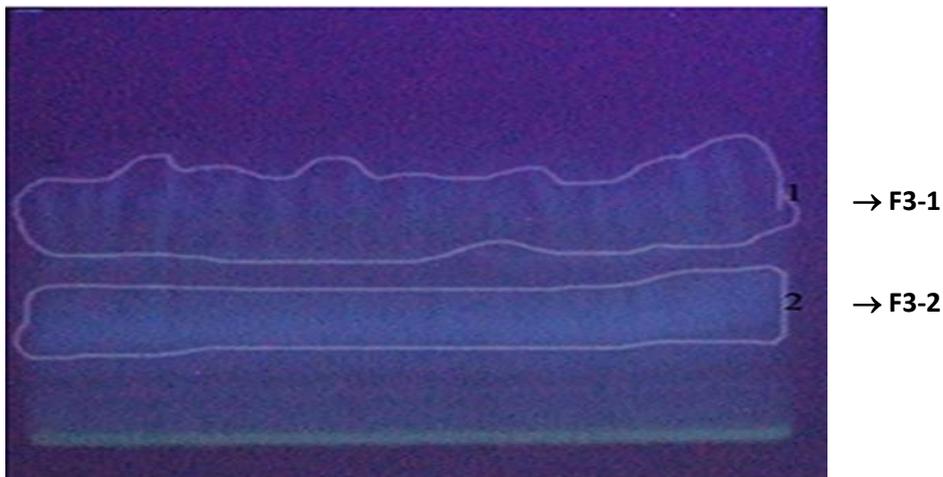
**Hasil uji aktivitas antimikroba fraksi hasil fraksinasi kromatografi kolom**

Kode Fraksi	Zona Hambat (diameter dalam cm)	
	<i>Esherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
F1	-	-
F2	1,00	-
F3	1,10	0,90
F4	1,00	-
F5	1,10	1,20
B-	0,70	0,75
B+	2,50	2,50

Keterangan: Diameter cakram = 0,6 cm, B- = Pelarut *n*-butanol, B+ = Cakram kloramfenikol 30 µg



**Gambar 5. Kromatogram KLT preparatif , Fraksi F5 Pada sinar UV 366 nm**



**Gambar 4. Kromatogram KLT preparatif , Fraksi F3 Pada sinar UV 366 nm**

**Tabel 4.**  
**Hasil KLT preparatif untuk fraksi kolom F3 dan F5**

Fraksi	Warna bercak pada UV 366 nm	Bobot (gr)
F3-1	Ungu	0,0011
F3-2	Ungu	0,0016
F5-1	Ungu	0,0015
F5-2	Hijau muda	0,0013
F5-3	Biru muda	0,0012
F5-4	Kuning muda	0,0013

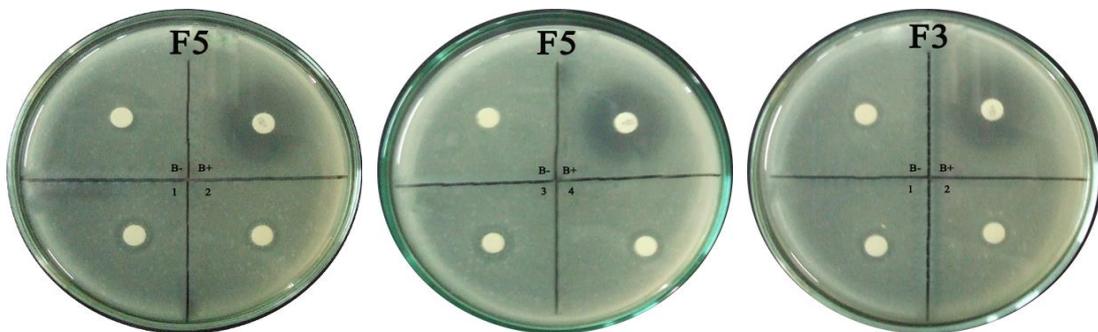
**Tabel 5.**  
**Hasil uji aktivitas antimikroba fraksi hasil KLT preparatif**  
Zona Hambat (diameter dalam cm)

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
F3-1	1,00	1,00
F3-2	1,00	0,80
F5-1	1,00	1,05
F5-2	1,10	0,95
F5-3	<b>1,20</b>	<b>1,15</b>
F5-4	1,00	0,90
B-	0,7	0,75
B+	2,50	2,50

Keterangan: Diameter cakram = 0,6 cm, B- = Pelarut *n*-butanol, B+ = Cakram kloramfenikol 30 µg



**Gambar 6 Hasil uji antimikroba terhadap bakteri uji *Escherichia coli***



**Gambar 7 Hasil uji antimikroba terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus***

## KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak *n*-butanol isolat kapang endofit dari tanaman *Aquilaria malaccensis* Lamk. dengan kode isolat AM-EK3 dalam fraksi F5-3 hasil KLT preparatif memiliki aktivitas terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* maupun Gram negatif *Escherichia coli* ditandai oleh terbentuknya zona jernih dengan diameter 1,20 cm terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan terbentuknya zona jernih dengan diameter 1,15 cm terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*.

Perlu dilakukan optimasi terhadap semua parameter dalam fermentasi kapang endofit, untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki daya antimikroba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Worang LR. (2003). Fungi Endofit Sebagai Penghasil Antibiotika. Makalah Individu. Pengantar Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor.
- Kumala S, Manguwardoyo, Budiarti P. (2002). Fermentasi Diam dan Goyang Isolat Kapang Endofit Dari *Bruchea javanica* L. Merr Dan Uji Aktivitas Antimikroba. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. Vol.3. No.2. 12 – 5.
- Prasetyoputri A, Atmosukarto I. (2006). Mikroba Endofit Sumber Molekul Acuan Baru yang Berpotensi. Majalah Populer Bioteknologi Biotrends. Vol.1.No.2.13-5.
- Faizal A, et all. (2018). Bioprospek Mikroba Hutan Tropis Indonesia. IPB Press.
- Susilo KA. (2003). Sudah Gaharu Super Pula. Pustaka Sinar Harapan. 1 – 16.