

Original Research Paper

Antibacterial Test of Endophytic Fungi of Red Ginger Rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) Against *Bacillus cereus***A. A. Ngurah Nara Kusuma^{1*}, Sarkono¹, Ernin Hidayati¹, Faturrahman¹, Bambang Fajar Suryadi¹, Made Raningsih²**¹Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;²Program Sarjana Farmasi, STIKES Buleleng, Bali, Indonesia;**Article History**Received : July 17th, 2024Revised : July 30th, 2024Accepted : August 22th, 2024

*Corresponding Author:

A. A. Ngurah Nara Kusuma,
Program Studi Biologi Fakultas
MIPA Universitas Mataram,
Mataram, Nusa Tenggara Barat,
Indonesia;

Email:

agungnara@unram.ac.id

Abstract: Busy activities make people prefer to consume ready-to-eat food which sometimes does not guarantee the level of cleanliness, so that cases of food poisoning often occur. *Bacillus cereus* is a bacteria that causes food poisoning which is usually found in rice. To overcome this problem, research was carried out to find new sources of medicine from endophytic fungi, namely fungi that live in plant tissue. The addition of clinical drugs derived from fungi has attracted interest in the discovery of new secondary metabolites derived from endophytic fungi. This research aims to (1) obtain endophytic fungal isolates isolated from red ginger rhizomes, (2) obtain endophytic fungal isolates that are antibacterial against *Bacillus cereus*. The method used is a laboratory experiment by randomizing and repeating the samples. The results showed that four isolates of endophytic fungi were successfully isolated from red ginger rhizomes with varying inhibitory abilities between isolates. The highest percentage of inhibitory power based on the in vitro dual culture assay was a cream colored isolate of $100 \pm 0.0\%$.

Keywords: Antibacterial, *Bacillus cereus*, endophytic fungi, red ginger (*Zingiber officinale* Rosc).

Pendahuluan

Penyakit yang disebabkan oleh makanan merupakan salah satu penyebab penting kesakitan dan kematian yang memengaruhi pembangunan socio-ekonomi negara. Di Cina epidemiologi *Bacillus cereus* dalam food borne disease terdata 7892 kasus selama rentang 2010-2020 (Duan *et al.*, 2023). Dikutip dari VOI terdapat kasus keracunan makanan pada 34 warga Desa Ubung Lombok Tengah pada Tahun 2022 yang dilarikan ke Puskesmas karena keracunan nasi bungkus. Berdasarkan kasus tersebut hal ini dipengaruhi oleh pola hidup masyarakat yang lebih cenderung mengkonsumsi makanan siap saji.

Prevalensi penyakit infeksi akibat bakteri masih tinggi di Indonesia, dengan lebih dari 200 penyakit yang ditularkan melalui makanan, termasuk diare. Keracunan makanan masih menjadi masalah prioritas dalam penanganan kesehatan masyarakat, dengan banyak kasus yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti

Bacillus cereus. Berdasarkan penelitian dalam sepuluh tahun terakhir, insidensi penyakit bawaan makanan terus meningkat di banyak negara berkembang, termasuk Indonesia. Faktor-faktor yang berkontribusi terhadap tingginya angka ini meliputi praktik kebersihan yang buruk, pengolahan makanan yang tidak tepat, serta kurangnya kesadaran dan edukasi masyarakat mengenai keamanan pangan. Strategi pengendalian dan pencegahan yang efektif sangat dibutuhkan untuk mengurangi dampak dari penyakit-penyakit ini, seperti peningkatan standar kebersihan dan pengawasan ketat terhadap rantai distribusi makanan.

Infeksi ini mendorong pencarian obat baru, dan salah satu sumber yang menarik adalah fungi endofit, yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit. Senyawa aktif dari fungi endofit telah menunjukkan potensi sebagai obat-obatan baru. Jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc) dikenal luas sebagai rempah-rempah dan obat herbal, dan jamur endofit yang hidup di dalamnya memiliki potensi

besar untuk menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif. Penelitian yang telah dilakukan oleh Purbaya *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari rimpang jahe merah memiliki pengaruh yang lebih kuat dan potensi lebih besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dibandingkan dengan Gram negatif.

Rimpang jahe-jahean mengandung senyawa antimikroba seperti fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri dalam ekstrak jahe yang termasuk dalam golongan senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba (Nursal *et al.*, 2006). Sementara itu, Sahlan *et al.*, (2023) menjelaskan hubungan erat antara jamur endofit dan tanaman inangnya melibatkan transfer materi genetik, yang memungkinkan jamur endofit untuk memproduksi senyawa aktif yang sama dengan yang dihasilkan oleh inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat fungi endofit dari rimpang jahe merah yang memiliki sifat antibakteri terhadap *Bacillus cereus*. Isolat tersebut kemudian diuji dengan metode dual culture terhadap *Bacillus cereus*.

Bahan dan Metode

Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Isolasi fungi endofit dari rimpang jahe merah dilakukan dengan metode *surface sterilization*. Isolat fungi endofit kemudian diuji dengan metode *dual culture assay* terhadap *Bacillus cereus*.

Tahapan isolasi

Langkah isolasi dimulai dengan mencuci daun menggunakan air mengalir, lalu merendamnya dalam larutan deterjen. Selanjutnya, eksplan direndam dalam larutan hipoklorit 1% (bayclin) selama 1 menit, diikuti dengan perendaman dalam alkohol 96% selama 30 detik, kemudian dibilas tiga kali dengan aquades steril. Bagian rimpang dipotong menggunakan cutter steril, kemudian eksplan tersebut ditanam pada media PDA steril yang telah ditambahkan antibiotik 100 mg/L, dan diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu ruangan.

Uji antagonisme fungi endofit terhadap *Bacillus cereus* dilakukan dengan metode *dual culture assay* (Inayati *et al.*, 2020). Koloni *Bacillus cereus* pada media NA yang telah berumur dua hari dibuat bulatan dengan *cork*

borer berdiameter 5 mm dan dipindahkan ke cawan petri yang telah berisi media PDA pada jarak 3 cm dari pinggir (Colombo *et al.*, 2019). Pada saat yang bersamaan, koloni fungi endofit (umur 7 hari) diletakkan pada jarak 3 cm dari *Bacillus cereus* kemudian biakan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Fernando *et al.*, 2020). Kontrol pada uji *in vitro* ini adalah medium yang hanya diinokulasi dengan *Bacillus cereus*.

Analisis data

Pengamatan dan perhitungan dilakukan dengan menghitung jari-jari pertumbuhan koloni *Bacillus cereus* pada perlakuan. Perlakuan tiap antagonis diulang sebanyak 5 kali untuk mendapatkan data representatif. Pengamatan dari hari pertama setelah inokulasi hingga hari ke tujuh (Fernando *et al.*, 2020). Menurut Hadi *et al.*, (2022), tingkat penghambatan pertumbuhan *Bacillus cereus* oleh fungi endofit dihitung berdasarkan rumus pada persamaan 1.

$$I = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

I : persentase hambatan

R1 : jari-jari koloni *Bacillus cereus* yang menjauhi koloni endofit

R2 : jari-jari koloni *Bacillus cereus* yang mendekati koloni endofit

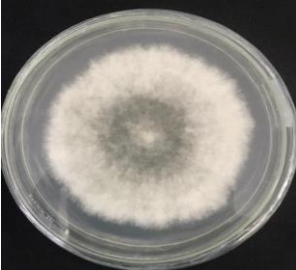
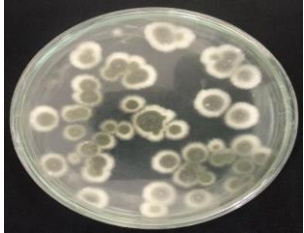
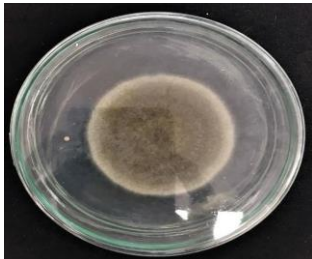

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian

Penelitian ini berhasil mendapatkan empat isolat fungi endofit dari rimpang jahe merah, dengan isolat berwarna krim memiliki daya hambat tertinggi terhadap *Bacillus cereus*. Isolat tersebut menunjukkan persentase hambatan sebesar $100 \pm 0,0\%$. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan potensi senyawa antimikroba dari jahe merah dan fungi endofit yang terkait dengannya.

Hasil penelitian menunjukkan semua fungi endofit yang berhasil diisolasi dari Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc) dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dengan persentase hambatan bervariasi tertera pada Tabel 2. Isolat cream (F1) memiliki daya hambat terbesar secara visual dibandingkan ketiga fungi endofit lainnya dengan persentase hambatan sebesar $100 \pm 0,0\%$. Sebaliknya, isolat berwarna hijau (F2) yang memberikan persentase hambatan terkecil sebesar $29 \pm 9,89\%$.

Tabel 1. Isolat Fungi Endofit dari Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc)

No	Nama Isolat	Karakteristik
1	Isolat Cream (F1) 	Isolat pertama yang berhasil diisolasi pada penelitian ini memiliki koloni berwarna putih dengan pigmentasi berwarna cream. Bentuk permukaan fungi ini timbul, pertumbuhannya menyebar, dan memiliki tekstur halus. Isolat ini memiliki laju pertumbuhan yang cepat dalam hari ketujuh sudah memenuhi seluruh cawan petri.
2	Isolat Hijau (F2) 	Memiliki koloni berwarna putih kemudian menjadi hijau dengan pigmentasi berwarna hijau. Bentuk permukaan fungi ini timbul, pertumbuhannya menyebar, dan memiliki tekstur halus. Isolat ini memiliki pola koloni yang menyebar acak dalam koloni- koloni yang membentuk bulat kecil dalam jumlah banyak pada hari ketujuh
3	Isolat Hitam (F3) 	Memiliki koloni berwarna abu-abu kehitaman dengan pigmentasi berwarna hitam. Bentuk permukaan fungi ini timbul, pertumbuhannya menyebar, dan memiliki tekstur halus. Pada hari ketujuh isolat ini tidak menunjukkan pertumbuhan yang maksimal atau memenuhi cawan petri.
4	Isolat Putih (F4) 	Memiliki koloni berwarna putih dengan pigmentasi berwarna putih. Bentuk permukaan fungi ini timbul, pertumbuhannya menyebar, dan memiliki tekstur halus. Pada hari ketujuh isolat ini tidak menunjukkan pertumbuhan yang maksimal atau memenuhi cawan petri.

Tabel 2. Persentase Hambatan oleh Fungi Endofit terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dalam Uji *In Vitro* Dual Culture Assay

Fungi Endofit	% Hambatan
Isolat cream (F1)	100± 0,0
Isolat hijau (F2)	29± 9,89
Isolat hitam (F3)	75± 3,01
Isolat putih (F4)	71± 16,24

**Nilai-nilai pada tabel ± standar deviasi merupakan rata-rata dari lima kali ulangan

Pembahasan

Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa fungi endofit yang diisolasi dari rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc) memiliki potensi daya antibakteri terhadap *Bacillus*

cereus, seperti yang terlihat dari tingkat persentase daya hambat yang dihasilkan. Jahe merah telah dikenal sebagai tanaman herbal yang memiliki beragam manfaat kesehatan, termasuk sebagai antimikroba. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam jahe merah diduga berasal dari interaksi dengan fungi endofit yang hidup bersimbiosis dengan tanaman tersebut (Iper *et al.* 2023). Rimpang jahe merah kaya akan senyawa antimikroba seperti fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri, yang secara efektif dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Mailiza *et al.* 2023).

Hubungan simbiotik yang erat antara fungi endofit dan tanaman inangnya memungkinkan

transfer materi genetik antara keduanya. Hal ini memungkinkan fungi endofit untuk menghasilkan senyawa aktif yang serupa dengan senyawa yang terdapat dalam tanaman inangnya (Anwar *et al.* 2023). Dalam penelitian ini, persentase hambatan tertinggi terhadap *Bacillus cereus* terdeteksi pada isolate fungi endofit berwarna cream, menunjukkan kemungkinan adanya senyawa aktif yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Jamur endofit dikenal karena kemampuannya untuk memproduksi berbagai senyawa metabolit sekunder, termasuk alkaloid, peptida, steroid, terpenoid, fenol, kuinon, flavonoid, fenilpropanoid, senyawa alifatik, dan peptide. Senyawa-senyawa ini memiliki potensi aplikasi dalam bidang kesehatan, termasuk sebagai antimikroba, antioksidan, antikanker, dan antimalaria (Rahmawati *et al.*, 2019).

Mekanisme jamur endofit dalam mengendalikan patogen seperti *Bacillus cereus* melibatkan interaksi langsung dengan patogen serta produksi senyawa bioaktif. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh jamur endofit dapat merusak komponen dinding sel bakteri, mengganggu membran sitoplasma, menghambat sintesis protein, dan mengganggu proses metabolisme bakteri (Candrawati *et al.*, 2021). Oleh karena itu, senyawa-senyawa yang berasal dari fungi endofit, seperti yang diduga dalam penelitian ini, dapat menyebabkan gangguan pada komponen penyusun dinding sel *Bacillus cereus*, yang menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, sebagaimana tercermin dari persentase daya hambat yang diamati.

Mekanisme kontrol patogen oleh fungi endofit juga melibatkan kompetisi nutrisi, selain interaksi langsung dan produksi senyawa bioaktif. Fungi endofit dapat bersaing dengan patogen seperti *Bacillus cereus* untuk mendapatkan sumber daya yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mereka sendiri. Dengan menggunakan sumber daya yang sama, fungi endofit dapat mengurangi ketersediaan nutrisi yang diperlukan oleh patogen, sehingga menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen tersebut (Susanna *et al.*, 2024). Selain itu, beberapa fungi endofit juga diketahui mampu menghasilkan enzim hidrolitik yang dapat mencerna komponen seluler patogen, seperti polisakarida dan protein. Proses pencernaan ini dapat menyebabkan kerusakan pada struktur sel bakteri dan mengganggu fungsinya secara keseluruhan. Dengan demikian, enzim-enzim ini

dapat berkontribusi pada mekanisme pengendalian patogen oleh fungi endofit.

Peran fungi endofit dalam meningkatkan sistem pertahanan tanaman inangnya juga dapat mempengaruhi kemampuan tanaman untuk melawan infeksi bakteri patogen. Fungi endofit dapat merangsang respons imun tanaman, seperti peningkatan produksi fitohormon atau aktivasi jalur sinyal pertahanan tanaman, yang pada gilirannya dapat memperkuat ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (Vega-Portalatino *et al.*, 2023).

Pengungkapan mekanisme yang terlibat dalam interaksi antara fungi endofit dan patogen seperti *Bacillus cereus* penting untuk memahami dinamika ekologi mikroba di lingkungan tanah dalam konteks ini. Selain itu, pengungkapan mekanisme tersebut juga memiliki implikasi praktis dalam pengembangan strategi pengendalian penyakit tanaman yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Dengan memahami mekanisme ini lebih dalam, kita dapat mengembangkan pendekatan yang lebih efektif dan berkelanjutan untuk mengelola penyakit tanaman tanpa bergantung pada agen kimia sintetis yang berpotensi merugikan lingkungan dan kesehatan manusia.

Hasil penelitian lain

Hasil penelitian oleh Prasetyo *et al.*, (2019) yang mengisolasi fungi endofit dari rimpang jahe merah. Didapatkan dua isolat fungi yang mirip dengan *Mucor* sp. dan *Trichoderma* sp.. Hasil uji fitokimia menunjukkan kedua isolat tersebut mengandung flavonoid. Selain itu Handayani *et al.* (2023) mendapatkan 10 isolat fungi endofit dari daun, batang, dan rimpang jahe. Satu isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *S.aureus* dan *E.coli*. isolat tersebut diidentifikasi secara molekuler menyatakan bahwa isolat tersebut adalah *Aspergillus terreus*. Isolat fungi endofit rimpang jahe merah oleh Sari *et al.* (2020) mendapatkan 3 isolat dari 10 total isolat mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan zona hambat mencapai 4-11,3 mm. Tiga isolat tersebut dilanjutkan untuk diekstraksi dan senyawa bioaktifnya yaitu terpenoid dan antioksidan. Berdasarkan penelitian yang sudah pernah dilakukan tersebut, bahwa nantinya isolat fungi endofit rimpang jahe merah dapat dijadikan sebagai kandidat antimikroba.

Kesimpulan

Terdapat empat isolat fungi endofit yang berhasil diisolasi dari rimpang jahe merah, dengan isolat berwarna cream (F1) memiliki daya hambat tertinggi terhadap *Bacillus cereus*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis sampaikan rasa terima kasih yang kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian artikel ini. Terima kasih kepada tim peneliti atas dukungannya yang tak ternilai sepanjang penelitian ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Tim Laboratorium Biologi Lanjut FMIPA UNRAM atas fasilitas dan dukungan yang diberikan selama proses penelitian.

Referensi

- Anwar, W., Amin, H., Khan, H. A. A., Akhter, A., Bashir, U., Anjum, T., Zohaib, K. A. (2023). Chitinase of trichoderma longibrachiatum for control of aphis gossypii in cotton plants. *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*, 13(1), 13181. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-023-39965-y>
- Candrawati, E., Rupaedah, B., Sumpono, S., & Sundaryono, A. (2021). Analysis antifungal compounds produced by endophytic bacteria from oil plant using bioautography. *Journal of Physics: Conference Series*, 1731(1) doi:<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1731/1/012091>
- Colombo, E. M., Pizzatti, C., Kunova, A., Gardana, C., Saracchi, M., Cortesi, P., & Pasquali, M. (2019). Evaluation of in-vitro methods to select effective streptomycetes against toxigenic fusaria. *PeerJ*, doi:<https://doi.org/10.7717/peerj.6905>
- Duan, S., Yul, Y., Guo, Y., Lu, D., Ning L., Liu, Z., Liang, J., Jiang, Y., Wang, S., Fu, P., Epidemiological Evaluation of Bacillus cereus-Induced Foodborne Outbreaks — China, 2010–2020. *China CDC Weekly*. Vol. 5. No. 33
- Fernando, K., Reddy, P., Hettiarachchige, I. K., Spangenberg, G. C., Rochfort, S. J., & Guthridge, K. M. (2020). Novel antifungal activity of lolium-associated epichloë endophytes. *Microorganisms*, 8(6), 955. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganism8060955>
- Icer, M. A., M.Sc., & Tek, Nilüfer Acar, M.Sc., PhD. (2023). Effects of red pepper, ginger, and turmeric on energy metabolism: Review of current knowledge. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 29(3), 81-87. Retrieved from <https://www.proquest.com/scholarly-journals/effects-red-pepper-ginger-turmeric-on-energy/docview/2955852037/se-2>
- Hadi, S. K., Narulita, E., Murdiyah, S. 2022. Antagonism Potentials of Endophytic Fungi from Lemongrass (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) on *Escherichia coli*. *Jurnal ILMU DASAR*, Vol. 23 No. 1, Januari 2022 : 49-54
- Handayani, D., Sari, C.H., Juliati, E., Artasastra, M. h.A. 2023. Endophytic fungus isolated from *Zingiber officinale* Linn. var. rubrum as a source of antimicrobial compounds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 13(9).
- Inayati, A., Sulistyowati, L., Luqman, Q. A., & Yusnawan, E. (2020). Mycoparasitic activity of indigenous trichoderma virens strains against mungbean soil borne pathogen rhizoctonia solani: Hyperparasite and hydrolytic enzyme production. *Agrivita*, 42(2), 229-242. doi:<https://doi.org/10.17503/agrivita.v0i0.2514>
- Mailiza, F., Arma, U., Hijriani, Z., Busman, & Bakar, A. (2023). Effect of ginger (*zingiber officinale*) rhizome in inhibiting growth oral candida (scoping review). *Journal of International Dental and Medical Research*, 16(3), 1309-1316. Retrieved from <https://www.proquest.com/scholarly-journals/effect-ginger-zingiber-officinale-rhizome/docview/2876940129/se-2>
- Nursal, Sri W, & Wilda S. (2006). Bioaktifitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis*, 2(2), 64.
- Prasetyo, A., Sidharta, B.R., Hartini, Y.S., Mursyanti, S. 2019. Toxicity of Bioactive Copound From Endophytic Fungi Isolated From red Ginger (*Zingiber officinale* var. rubrum) Utilizing Brine Shrimp Lethality Assay. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(1).

- Purbaya, Sari, et al. "Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Extract of Red Ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe Var. Sunti) Against Bacteria of *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli*." *Jurnal Kartika Kimia*, vol. 1, no. 1, 2018, pp. 29-34, doi:10.26874/jkk.v1i1.12.
- Rahmawati, S. I., Izzati, F. N., Hapsari, Y., Septiana, E., Rachman, F., Bustanussalam, & Simanjuntak, P. (2019). Endophytic microbes and antioxidant activities of secondary metabolites from mangroves *avicennia marina* and *xylocarpus granatum*. *IOP Conference Series.Earth and Environmental Science*, 278(1) doi:<https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012065>
- Sahlan, F. K., Rusicha, F. A., & Darmawan, A. A. (2023). Isolation and antagonistic test of fungi associated with pummelo citrus against *botryodiplodia theobromae* in vitro. *IOP Conference Series.Earth and Environmental Science*, 1230(1), 012110. doi:<https://doi.org/10.1088/1755-1315/1230/1/012110>
- Sari, M., Sukarno, N., Batubara, I., Rohani C. B. D. BR Ginting. (2020). Potensi Cendawan Endofit Asal Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) untuk Mengendalikan Cendawan Patogen *Candida albicans* In Vitro. *Jurnal Sumber Daya Hayati*, 6(2).
- Susanna, S., Sayuthi, M., & Salsabila, L. (2024). Test antagonism of several trichoderma species in suppressing the growth of *alternaria* sp. in vitro. *IOP Conference Series.Earth and Environmental Science*, 1297(1), 012066. doi:<https://doi.org/10.1088/1755-1315/1297/1/012066>
- Vega-Portalatino, E., Rosales-Cuentas, M., Valdiviezo-Marcelo, J., Arana-Torres, N., Espinoza- Espinoza, L., Moreno-Quispe, L., & Cornelio-Santiago, H. (2023). Antimicrobial and production of hydrolytic enzymes potentials of bacteria and fungi associated with macroalgae and their applications: A review. *Frontiers in Marine Science*, doi:<https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1174569>
- VOI. (2022). 34 Warga Lombok Tengah Keracunan Nasi Bungkus, Dinkes Cek Penyebabnya. Diakses melalui link : <https://voi.id/berita/175668/34-warga-lombok-tengah-keracunan-nasi-bungkus-dinkes-cek-penyebabnya>