

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROTEIN KAPANG *Xylaria psidii* KT30 TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Bacillus subtilis*

[Antibacterial Activity of Protein Fungus *Xylaria psidii* KT30 on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*]

Aris Munandar<sup>1,2)</sup>, A. Zaenal Mustopa<sup>3)</sup>, Kustiariyah Tarman<sup>2)\*</sup> dan Tati Nurhayati<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Cilegon

<sup>2)</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>3)</sup>Laboratorium Protein Rekombinan, Vaksin, dan Sistem Pengantaran Terarah, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bioteknologi, Bogor

Diterima 01 Agustus 2013 / Disetujui 15 September 2014

### ABSTRACT

A previous research shows that extracellular protein of an algicolous fungus *Xylaria psidii* KT30 inhibited *Bacillus pumilus*, *Listeria* sp., *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas* sp. with an average clear zone diameter of 7 mm. To enhance the potential antibacterial activity of the extra cellular protein of *Xylaria psidii* KT30, this present research demonstrated fungal growth optimization and purification of its secreted extra cellular protein. The fungal growth optimization was performed by addition of various NaCl concentration and cultivation time. The protein was precipitated using saturated ammonium sulphate (60-90%), purified through gel chromatography filtration using Sephadex G-50, and eluted with 30% methanol. The active fraction possessing antibacterial activity was then determined resulting supernatant, pellet, and protein fraction. The optimum fungal growth obtained after 15 days of cultivation using fresh water. The highest protein yield was 1.67%, resulted over 90% saturation. Fractions 11 and 12 were the most active against *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* with clear zone diameters of 8 mm. Three bands of those fractions were detected through SDS-PAGE analysis, revealing proteins with molecular weights of 23.42, 20.09, and 14.33 kDa.

**Keywords:** antibacterial, marine fungi, protein purification, *Xylaria psidii*

### ABSTRAK

Protein ekstra seluler kapang *Xylaria psidii* KT30 telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan rata-rata zona hambatan yang masih rendah yaitu sebesar 7 mm terhadap *Bacillus pumilus*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., dan *Listeria* sp. Oleh karena itu, untuk meningkatkan potensi aktivitas antibakteri dari protein ekstra seluler ini maka perlu dilakukan optimasi pertumbuhan kapang *Xylaria psidii* KT30 dan purifikasi protein yang dihasilkannya. Optimasi pertumbuhan dilakukan dengan kombinasi perlakuan variasi penambahan NaCl dengan berbagai konsentrasi dan waktu panen. Pengendapan protein dilakukan menggunakan amonium sulfat dengan saturasi 60-90%, dan purifikasi dilakukan dengan kromatografi filtrasi gel pada Sephadex G-50 sebagai fase diam dan fase geraknya adalah metanol 30%. Supernatan, pelet, fraksi protein kapang *Xylaria psidii* KT30 diujikan kemampuan antibakterinya. Pertumbuhan kapang *Xylaria psidii* KT30 paling optimum pada perlakuan tanpa NaCl dengan waktu panen hari ke-15. Bobot pelet protein paling tinggi terdapat pada saturasi amonium sulfat 90%, yaitu sebesar 1.67 g/100 mL. Fraksi 11 dan 12 merupakan fraksi aktif yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* sebesar 8 mm. Fraksi 11-12 memiliki tiga pita pada analisis SDS-PAGE dengan perkiraan bobot molekul 23.42, 20.09, dan 14.33 kDa.

**Kata kunci:** antibakteri, kapang laut, pemurnian protein, *Xylaria psidii*

### PENDAHULUAN

Kapang dapat ditemukan pada aneka substrat, baik lingkungan darat, perairan, maupun udara. Salah satu lingkungan yang sering ditemukan adanya kapang adalah laut. Kapang laut dapat bersifat obligat yaitu kapang yang tumbuh dan bersporulasi hanya di lingkungan laut dan estuari, dan fakultatif yaitu kapang dari lingkungan air tawar atau darat yang mampu tumbuh dan bersporulasi di laut. Kapang laut yang bersimbion dengan biota laut seperti spons, ascidia, rumput laut, dan pohon mangrove disebut sebagai kapang endofit.

Kapang endofit dari lingkungan laut yang berhasil diisolasi dari rumput laut merah *Kappaphycus alvarezii*, salah satunya adalah *Xylaria psidii* KT30 (Tarman, 2011).

Kapang *X. psidii* KT30 merupakan kapang yang diisolasi dari rumput laut *K. alvarezii* BRKA-1 dari Desa Labuange, Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan. Kapang *X. psidii* KT30 menghasilkan pigmen berwarna merah pada media malt ekstrak dan hagem, intensitas warna pada media malt ekstrak lebih tinggi dibandingkan pada media Hagem (Tarman, 2011). Ekstrak etil asetat dari kapang *X. psidii* KT30 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan bakteri patogen pada ikan seperti *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, dan *Yersinia ruckeri* (Tarman et al. 2011).

\*Penulis Korespondensi;  
Email: kustya@gmail.com

Menurut Tarman *et al.* (2012), protein ekstraseluler dari kapang *X. psidii* KT30 juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus pumilus*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*, dan *Listeria sp.* Hasil tersebut menunjukkan adanya potensi protein dari Kapang *X. psidii* KT30 sebagai antibakteri, namun aktivitasnya masih rendah yaitu zona hambatan sebesar 7 mm. Oleh karena itu, perlu dilakukan peningkatan aktivitas mulai dari tahap awal yaitu optimasi pertumbuhan dan purifikasi protein. Optimasi pertumbuhan dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum pertumbuhan kapang *X. psidii* KT30. Kondisi tersebut ditunjukkan oleh biomassa dan aktivitas antibakteri kapang *X. psidii* KT30. Purifikasi dilakukan untuk meningkatkan kemurnian protein yang bertindak komponen aktif sehingga dapat meningkatkan aktivitas antibakterinya.

Purifikasi protein merupakan tahap yang harus dilakukan untuk mempelajari sifat dan fungsi protein yang berhubungan dengan sisi aktifnya yang memiliki aktivitas antibakteri. Protein dapat dipisahkan dari molekul lainnya berdasarkan ukuran, kelarutan, muatan dan afinitas ikatannya (Winarno, 2008). Protein memiliki beberapa keunggulan diantaranya dapat diterima baik oleh tubuh, efek sampingnya relatif sedikit, dan dapat dikloning gennya sehingga dapat diproduksi secara besar-besaran (Anand *et al.* 2012; Arifudin, 2001). Tahap awal pemurnian protein kapang *X. psidii* KT30 dilakukan melalui pengendapan dengan amonium sulfat. Proses pemurnian selanjutnya dilakukan melalui kromatografi filtrasi gel sehingga diperoleh fraksi protein dengan aktivitas yang lebih tinggi.

Protein memiliki aktivitas biologis sehingga dapat dijadikan sumber bahan obat alami. Kapang *Penicillium sp.* dilaporkan bersifat bakteristatik terhadap *E. coli*, *Bacillus sp.*, *S. aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Selim *et al.* 2012). Tujuan penelitian ini adalah menentukan pertumbuhan optimum dan aktivitas antibakteri kapang *X. psidii* KT30 terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*, rendemen protein dan fraksi paling aktif, serta menentukan bobot molekul proteinnya.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat kapang *X. psidii* KT30 (Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor), *E. coli* NBRC 14237, *B. subtilis* BTCC 2530.

### Optimasi pertumbuhan kapang *X. psidii* KT30

Kapang *X. psidii* KT30 dikultur pada 50 mL media *Potato Dextrose Broth* (PDB) pH 7.4 dan diinkubasi pada pengocok orbital dengan kecepatan 120 rpm dan suhu ruang (Ilyas *et al.* 2009). Optimasi pertumbuhan dilakukan dengan kombinasi perlakuan konsentrasi NaCl dan waktu panen. Konsentrasi NaCl yang digunakan pada media kultur adalah 0, 1, dan 3%, sedangkan panen dilakukan setiap 3 hari selama 21 hari (hari ke-3, 6, 9, 12, 15, 18, dan 21). Biomassa dan supernatan kapang *X. psidii* KT30 dipisahkan menggunakan kertas saring. Sebanyak 1 mL supernatan diambil dari dalam tabung dan diujikan aktivitas antibakterinya dengan metode difusi agar

(Aboaba *et al.* 2011). Bobot biomassa ditimbang setelah pengeringan dengan oven (Frolaibo SAS, Lyon, Prancis) pada suhu 60°C selama 24 jam (Handajani dan Purwoko, 2008). Bobot biomassa dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Bobot biomassa} = (\text{bobot biomassa} + \text{bobot kertas saring}) - \text{bobot kertas saring}$$

### Pengendapan protein kapang *X. psidii* KT30

Pengendapan dilakukan berdasarkan metode Onsori *et al.* (2005) dengan saturasi 60, 70, 80, dan 90% pada setiap 100 mL supernatan kapang *X. psidii* KT30. Amonium sulfat ditambahkan secara perlahan ke dalam supernatan pada kondisi diaduk dengan stirer bar hingga larut sempurna dan supernatan diendapkan selama semalam pada suhu 4°C. Supernatan disentrifugasi (Hermle Z326K, Gosheim, Jerman) pada 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Pelet yang diperoleh dilarutkan dengan bufer Tris-HCl 10 mM pH 7.4 dengan perbandingan 1:1. Pelet protein dan supernatan kapang *X. psidii* KT30 diujikan aktivitas antibakterinya menurut metode Aboaba *et al.* (2011).

### Uji aktivitas antibakteri (Aboaba *et al.* 2011)

Bakteri yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah *B. subtilis* dan *E. coli*. Bakteri yang ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) (Difco) (*beef extract* 0.3 g, pepton 1 g, NaCl 0.5 g dalam 100 mL akuades) diencerkan dengan menggunakan standar McFarland 2 (Laboratorium Protein Rekombinan, Vaksin, dan Sistem Pengantaran Terarah, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIP) Bioteknologi) ( $6 \times 10^8$  CFU/mL) dan diukur pada spektrofotometer (GE Healthcare, Genequant, New Jersey, Amerika Serikat) (600 nm). Bakteri yang sudah disesuaikan dengan standar McFarland ditambahkan sebanyak 3 mL ke dalam 17 mL *Nutrient Agar* (NA) (*beef extract* 0.3 g, pepton 1 g, NaCl 0.5 g, bacto agar (Difco) 2 g dalam 100 mL akuades), dan didiamkan hingga padat. Kertas cakram (diameter 6 mm) yang sudah ditambahkan 20  $\mu$ L sampel protein dimasukkan dalam media NA. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama  $\pm 24$  jam, kemudian diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan diukur pada setiap cakram kertas. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif.

### Kromatografi filtrasi gel protein kapang *X. psidii* KT30 (Wachirathiancai *et al.* 2004)

Kolom yang digunakan dalam kromatografi filtrasi gel adalah Sephadex G-50 (Ge Healthcare, New Jersey, Amerika Serikat) sebagai fase diam dan fase gerak adalah metanol (Merck) 30%. Kolom yang digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan akuades steril. Fraksi yang dihasilkan ditampung dalam *tube* masing-masing sebanyak 1 mL dan bufer yang digunakan adalah Tris-HCl pH 7.4. Fraksi sampel diuji antibakteri berdasarkan metode Aboaba *et al.* (2011) untuk menentukan fraksi aktifnya.

### Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Sampel dimasukkan dengan volume 10  $\mu$ L, lalu diatur kondisi *running* sesuai dengan tipe gel, SDS-PAGE dimulai

pada 30 V dan dipertahankan tegangan hingga sampel setelah melewati *stacking* gel. Setelah selesai *running* gel, gel dikeluarkan dengan hati-hati untuk dilakukan pewarnaan gel. Pewarnaan gel dilakukan dengan metode *silver staining* menggunakan kit.

Konsentrasi gel pemisah (*separating*) yang digunakan adalah 16%. Sampel yang digunakan untuk analisis bobot molekul adalah pelet protein dan fraksi aktif hasil pemurnian. Marka (penanda) yang digunakan adalah standar protein berwarna ganda (*Bio-rad*, California, Amerika Serikat) dengan rentang 10-250 kDa. Sampel dimasukkan dengan volume 10  $\mu$ L, lalu alat dijalankan sesuai dengan tipe gel, SDS-PAGE (ATTO, Tokyo, Jepang) dimulai pada 30 V dan tegangan dipertahankan hingga sampel sampai pada ujung gel. Setelah selesai dijalankan, gel dikeluarkan dengan hati-hati untuk dilakukan pewarnaan gel pada tahap selanjutnya. Pewarnaan gel dilakukan dengan metode pewarnaan perak nitrat menggunakan kit (Thermo, Wisconsin, Amerika Serikat) (Todorov *et al.* 2007).

#### Analisis data

Rancangan yang digunakan untuk optimasi pertumbuhan adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan 3 kali ulangan. Perlakuan terdiri atas 2 faktor percobaan yaitu konsentrasi NaCl dengan taraf 0, 1, dan 3 dan waktu panen dengan taraf 3, 6, 9, 12, 15, 18, dan 21 hari. Rancangan untuk optimasi pengendapan adalah RAL sederhana dengan 3 kali ulangan (Mattjik dan Sumertawijaya, 2002).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

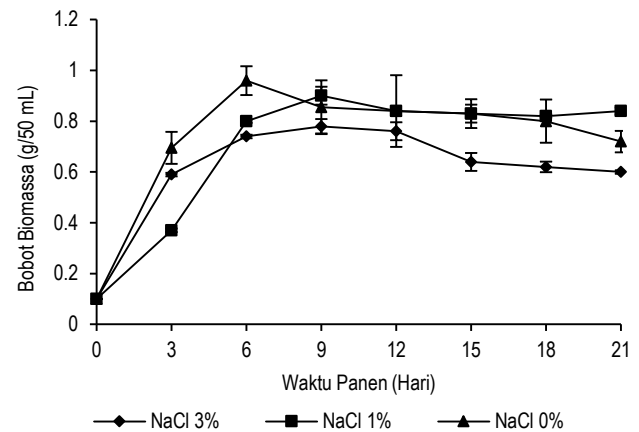
### Kurva pertumbuhan dan aktivitas antibakteri kapang *X. psidii* KT30

Kapang *X. psidii* KT30 merupakan kapang yang berhasil diisolasi dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Kapang tersebut pertama kali berhasil diisolasi dari buah jambu (*Psidium guajava*). Protein kapang *X. psidii* KT30 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus pumilus*, *Listeria* sp., *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas* sp. dengan zona hambat 7 mm. Oleh karena itu, aktivitasnya harus ditingkatkan mulai dari optimasi pertumbuhan hingga pemurniannya.

Optimasi pertumbuhan kapang *X. psidii* KT30 dilakukan dengan tingkat salinitas yang berbeda, dimana media ditambahkan NaCl. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kondisi pertumbuhan kapang *X. psidii* KT30 yang diisolasi dari *Kappaphycus alvarezii*. Konsentrasi NaCl (salinitas) ditentukan berdasarkan salinitas rata-rata perairan Indonesia yaitu 3%. Gambar 1 menunjukkan bahwa kapang *X. psidii* KT30 pada tiap perlakuan mengalami fase eksponensial sampai hari ke-6. Perlakuan NaCl 0% memiliki bobot biomassa paling tinggi yaitu 0.96 g/50 mL. Bobot biomassa pada waktu panen selanjutnya relatif sama karena sudah mengalami fase stasioner.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi NaCl dan waktu panen berpengaruh nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap bobot biomassa kapang *X. psidii* KT30. Hal ini diduga karena *X. psidii* merupakan kapang terestrial yang pertama kali

diisolasi dari buah jambu (*Psidium guajava*) (Rodgers *et al.* 1992). Oleh karena itu, kapang *X. psidii* KT30 pada perlakuan tanpa NaCl dapat tumbuh lebih baik. Menurut Chasanah *et al.* (2012), beberapa kapang terestrial dapat beradaptasi dengan lingkungan laut dan optimal pada konsentrasi 4% NaCl. Biomassa kapang *X. psidii* KT30 pada salinitas yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Biomassa kapang *X. psidii* KT30 pada berbagai tingkat salinitas (Pertumbuhan dilakukan pada suhu 25°C dan pH 7.4). (Konsentrasi supernatan 114.31  $\mu$ g/disc, kloramfenikol 30  $\mu$ g/kertas cakram)

Kondisi lingkungan secara signifikan mempengaruhi karakteristik kultur kapang yang meliputi bobot biomassa, diameter koloni, jumlah spora, dan warna (Zain *et al.* 2009). Habitat laut memiliki peran yang kuat dalam adaptasi kapang terhadap konsentrasi garam. Kapang laut ada yang bersifat fakultatif, dapat tumbuh pada garam dengan konsentrasi rendah dan karena pengaruh lingkungan, ada yang terbawa ke laut sehingga bersifat halotoleran setelah beradaptasi (Jingjing *et al.* 2011).

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh organisme dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Metabolit sekunder yang telah diisolasi dan dikarakterisasi dari kapang genus *Xylaria* adalah sitokalsin, fitotoksin, siloketal, amanitin, lakton, xanthones, sesquiterpene, dan turunan aromatik (Song *et al.* 2012). Metabolit sekunder tersebut terdapat pada supernatan kapang, maka supernatan kapang *X. psidii* KT30 yang dihasilkan diuji aktivitas antibakterinya. Konsentrasi supernatan yang digunakan untuk uji antibakteri adalah 114.31  $\mu$ g/kertas cakram. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 30  $\mu$ g/kertas cakram.

Aktivitas antibakteri dari kapang *X. psidii* KT30 tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa NaCl (0%) dan waktu panen 15 hari dengan diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 8.33 mm (*E. coli*) dan 7.33 mm (*B. subtilis*). Pada perlakuan NaCl 3%, aktivitas antibakteri paling tinggi terdapat pada waktu panen 9 hari dengan diameter zona hambat sebesar 7.67 mm pada *E. coli* dan 8.00 mm pada *B. subtilis*. Aktivitas antibakteri pada perlakuan NaCl 1% dan waktu panen 9 hari memiliki diameter zona hambat tertinggi sebesar 7 mm pada *E. coli* dan tidak ada aktivitas pada *B. subtilis*. Hasil tersebut sesuai dengan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat kapang *X. psidii*

KT30 yang dilaporkan Tarman *et al.* (2011). Aktivitas antibakteri tertinggi dari ekstrak etil asetat terhadap *E. coli* terdapat pada kultur air tawar (NaCl 0%). Aktivitas ekstrak etil asetat tertinggi dari kapang *X. psidii* KT30 terhadap bakteri *B. subtilis* terdapat pada kultur air laut (NaCl 3%).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan kapang, biasanya dipanen setelah memasuki fase stasioner (Samuel *et al.* 2011). Pada saat fase tersebut, metabolit sekunder dihasilkan sebagai pertahanan diri. Kapang *X. psidii* KT30 yang dikultur dengan NaCl 0% memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada waktu panen hari ke-15, dimana pertumbuhannya telah mengalami fase stasioner. Sedangkan menurut Miao *et al.* (2006), tingkat salinitas kapang berada pada batas toleransi dari inangnya, konsentrasi NaCl diluar toleransi dapat meningkatkan efek stres pada kapang tersebut. Efek stres tersebut biasanya diikuti dengan produksi metabolit sekunder sebagai pertahanan diri. Oleh karena itu, kapang *X. psidii* KT30 dengan perlakuan NaCl 3% memiliki aktivitas tertinggi pada waktu panen hari ke-9.

### Hasil pengendapan protein kapang *X. psidii* KT30

Rendemen pelet protein tertinggi dihasilkan pada saturasi amonium sulfat 90% yaitu sebesar 1.67 g (1.67%). Rendemen pelet protein kapang *X. psidii* KT30 pada saturasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa perbedaan saturasi amonium sulfat tidak berpengaruh nyata ( $p>0.05$ ) terhadap rendemen pelet protein kapang *X. psidii* KT30. Menurut Tarman *et al.* (2012), protein ekstra-seluler kapang *X. psidii* KT30 yang diperoleh jumlahnya sedikit tapi protein paling stabil setelah diendapkan dengan amonium sulfat. Menurut Wang (2006), kelarutan protein tergantung pada konsentrasi amonium sulfat dalam larutan. Konsentrasi amonium sulfat tidak boleh menurun dalam larutan agar protein dapat mengendap, maka harus dilakukan pengadukan selama proses pengendapan berlangsung.

Tabel 1. Rendemen pelet protein kapang *X. psidii* KT30 pada saturasi berbeda

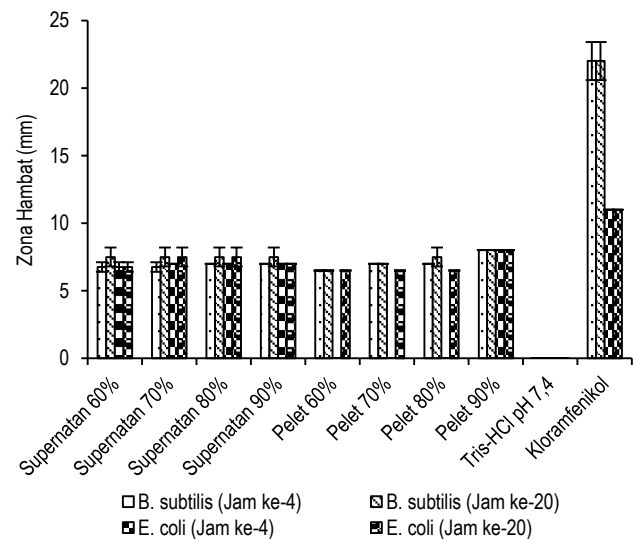
Saturasi Ammonium Sulfat	Bobot Pelet Protein (g)	Rendemen Pelet
60%	1.63±0.02 <sup>a</sup>	1.63%
70%	1.55±0.08 <sup>a</sup>	1.55%
80%	1.59±0.13 <sup>a</sup>	1.59%
90%	1.67±0.07 <sup>a</sup>	1.67%

Keterangan: Volume supernatan untuk pengendapan adalah 100 mL nilai a menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p>0.05$ )

Pelet protein dan supernatan kapang *X. psidii* KT30 diuji antibakteri. Konsentrasi pelet protein adalah 180.25 µg/kertas cakram, dan kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg/kertas cakram. Gambar 2 menunjukkan aktivitas antibakteri pelet protein dan supernatan kapang *X. psidii* KT30 pada saturasi yang berbeda. Pelet protein hasil pengendapan amonium sulfat 90% memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan diameter zona hambat 8 mm terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*. Diameter zona hambat yang dihasilkan dapat bertahan hingga jam ke-20, hal tersebut menunjukkan bahwa pelet 90% bersifat bakteriosidal.

Malik *et al.* (2008) menyatakan protein bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri biasanya diisolasi pada fase eksponensial akhir atau stasioner. Protein bioaktif yang dilepas-

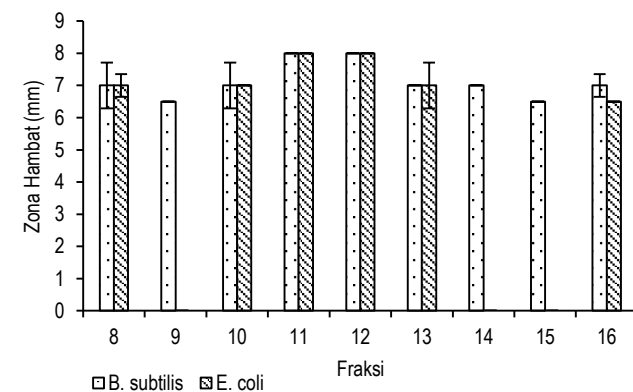
kan ke lingkungan secara perlahan dan terus menerus dapat mencegah kolonisasi ruang yang berdekatan dengan pesaing. Mikroorganisme laut yang menghasilkan protein antibiotik dapat berkontribusi untuk proses inaktivasi alami mikroorganisme pada lingkungan laut. Hal tersebut telah dilaporkan oleh Barja *et al.* (1989) bahwa *Alteromonas* spp. yang diisolasi dari air laut dapat menghambat mikroorganisme laut seperti *staphylococcus epidermis*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio harveyi*, *Enterobacter aerogenes* dengan kisaran zona hambat 10-20 mm.



Gambar 2. Aktivitas antibakteri pelet protein dan supernatan kapang *X. psidii* KT30 pada berbagai tingkat saturasi (Konsentrasi pelet 180.25 µg/kertas cakram, kloramfenikol 30 µg/kertas cakram)

### Fraksi aktif protein *X. psidii* KT30

Fraksi yang dihasilkan pada kromatografi filtrasi gel diuji aktivitas antibakterinya. Aktivitas antibakteri fraksi protein kapang *X. psidii* KT30 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas antibakteri fraksi protein kapang *X. psidii* KT30 terhadap bakteri, *B. subtilis* dan *E. coli* (Konsentrasi fraksi protein 12.08 µg/kertas cakram)

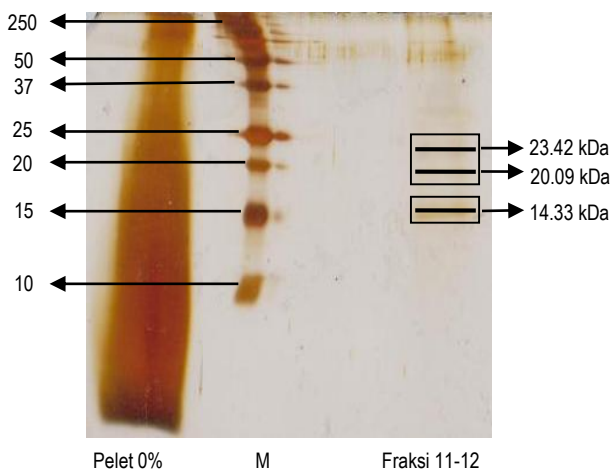
Fraksi 1-7 dan 17-25 tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*. Aktivitas antibakteri dari fraksi protein kapang KT30 terhadap bakteri *B. subtilis*

dihasilkan pada fraksi 8-16. Hasil tersebut menunjukkan adanya puncak utama pada fraksi 11 dan 12 yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 8 mm. Aktivitas antibakteri dari fraksi protein kapang KT30 terhadap *E. coli* terdapat pada fraksi 8, 10-13, dan 16. Gambar 3 menunjukkan adanya dua puncak utama pada fraksi 11-12 yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 8 mm. Secara keseluruhan, fraksi 11-12 memiliki senyawa protein yang paling aktif dengan aktivitas antibakteri tertinggi di-bandingkan dengan fraksi aktif yang lainnya.

Penelitian Huang *et al.* (2006) menunjukkan bahwa protein dari kepiting bakau (*Scylla serrata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Micrococcus leuteus*. Minn *et al.* (1998) juga melaporkan bahwa protein antibakteri katak raksasa (*Rana catesbiana*) dari hasil pemurnian memiliki aktivitas terhadap *B. subtilis*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia* sp., *Streptococcus mutans*, dan *Streptococcus typhimurium*.

#### Bobot molekul protein KT30

Bobot molekul protein kapang *X. psidii* KT30 dapat dilihat pada Gambar 4. Berdasarkan hasil SDS-PAGE, fraksi 11-12 menunjukkan adanya 3 pita protein yang dengan bobot molekul pada pita ke-1 23.42 kDa, pita ke-2 20.09 kDa, dan pita ke-3 14.33 kDa. Secara keseluruhan, hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa sampel yang diperoleh masih harus dimurnikan. Hal tersebut dapat terlihat dari sampel protein dari hasil pengendapan yang menunjukkan masih banyaknya beberapa senyawa protein dari pita yang dihasilkan, sedangkan protein hasil pemurnian (fraksi 11-12) menunjukkan tingkat kemurnian lebih tinggi yang dapat dilihat dari pita yang dihasilkan.



Gambar 4. Bobot molekul protein yang diisolasi dari kapang *X. psidii* KT30

Bobot molekul protein yang dihasilkan pada setiap organisme sangat bervariasi, misalnya protein yang dihasilkan kapang *Cordyceps militaris* (CMP) memiliki bobot molekul 12 kDa pada gel 15% (Park *et al.* 2009). Kapang *Clitocybe sinopica* memiliki bobot molekul 44 kDa dari hasil pemurnian dengan kromatografi filtrasi gel menggunakan kolom Superdex 75. Fraksi protein tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap

*Pseudomonas batatae*, *Erwinia herbicola*, *E. coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Zheng *et al.* 2010).

## KESIMPULAN

Pertumbuhan kapang *X. psidii* KT30 paling optimum terdapat pada perlakuan tanpa NaCl (0%) dengan waktu panen hari ke-15. Konsentrasi ammonium sulfat 90% merupakan konsentrasi terbaik untuk pengendapan protein dan memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Protein kapang *X. psidii* KT30 memiliki aktivitas yang sama setelah pemurnian. Fraksi protein 11 dan 12 dari kapang *X. psidii* KT30 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*. Tiga pita protein yang dominan terdapat pada fraksi 11-12 dengan bobot molekul 23.42, 20.09, dan 14.33 kDa.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi RI melalui program Insentif Riset SINas 2012 yang telah mendanai penelitian ini (RD-2012-718).

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboaba OO, Ezeh AR, Anabuikie CL. 2011. Antimicrobial activities of some Nigerian spices on some pathogens. *Agric Biol J N Am* 2: 1187-1193. DOI: 10.5251/abjna.2011.2.8.1187.1193.
- Anand TP, Chellaram C, Kuberan G, Archana H. 2012. Bioactive peptides from marine sources-a review. *Indian J Innov Dev* 1: 61-64.
- Arifudin, Patong R, Ahmad A. 2001. Penelusuran protein bioaktif dalam makroalga sebagai bahan antibakteri dan antijamur. *Mar Chim Acta* 2: 11-18.
- Chasanah E, Pratitis A, Mangunwardoyo W. 2012. Identification and cultivation of MFW 23-08 isolated from marine sponges for bioactive compound production. *Squalen* 7: 59-66.
- Handajani NS, Purwoko T. 2008. Aktivitas ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus* spp. penghasil aflatoksin dan *Fusarium moniliforme*. *Biodiversitas* 9: 161-164. DOI: 10.13057/biodiv/d090301.
- Huang WS, Wang KJ, Yang M, Cai JJ, Li SJ, Wang GZ. 2006. Purification and part characterization of a novel antibacterial protein scygonadin, isolated from the seminal plasma of mud crab, *Scylla serrata* (Forskål, 1775). *J Exp Mar Biol Ecol* 339: 37-42. DOI: 10.1016/j.jembe.2006.06.029.
- Jingjing H, Chunhua L, Xiaoming Q, Yaojian H, Zhonghui Z, Yuemao S. 2011. Effect of salinity on the growth, biology activity and secondary metabolites of some marine fungi. *Acta Oceanol Sin* 30: 118-123. DOI: 10.1007/s13131-011-0126-3.
- Ilyas M, Kanti A, Jamal Y, Hertina, Agusta A. 2009. Biodiversity of endophytic fungi associated with *Uncaria gambier* Roxb.

- (*Rubiaceae*) from west Sumatra. *Biodiversitas* 10: 23-28. DOI: 10.13057/biodiv/d100105.
- Malik H, Sur B, Singhar N, Bihari V. 2008. Antimicrobial protein from *Streptomyces fulvissimus* inhibitory to metichilin resistant *Staphylococcus aureus*. *Indian J Experimen Biol* 46: 254-257.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2002. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. IPB Press, Bogor.
- Miao L, Kwong TFN, Qian PY. 2006. Effect of culture conditions on mycelia growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium* c.f. *saccharicola*. *Appl Micribiol Biot* 72: 1063-1073. DOI: 10.1007/s00253-006-0376-8.
- Minn I, Kim HS, Kim SC. 1998. Antimicrobial peptides derived from pepsinogens in the stomach of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biochim Biophys Acta - Molecular Basis of Disease* 1407: 31-39. DOI: 10.1016/S0925-4439(98)00023-4.
- Onsori H, Zamani MR, Motallebi M, Zarghami N. 2005. Identification of over producer strain of endo- $\beta$ -1,4-glucanase in *Aspergillus* Species: characterization of crude carboxymethyl cellulase. *Afr J Biotechnol* 4: 26-30.
- Park BT, Na KH, Jung EC, Park JW, Kim HH. 2009. Antifungal and anticancer activities of a protein from the mushroom *Cordyceps militaris*. *Korean J Physiol Pharmacol* 13: 49-54. DOI: 10.4196/kjpp.2009.13.1.49.
- Rodgers JD, Ju YM. 1992. *Hypoxylon rectangulosporum* sp. Nov., *Xylaria psidii* sp. Nov., and comments on taxa of *Podosordaria* and *Stromatoneurospora*. *Mycologia* 84: 166-172.
- Samuel P, Prince L, Prabakaran P. 2011. Antibacterial activity of marine derived fungi collected from south east coast of Tamilnadu, India. *J Microbiol Biotechnol Res* 1: 86-94.
- Selim KA, El-beih AA, Abdel-rahman TM, El-diwany AI. 2012. Biology of endophytic fungi. *Curr Res Env Appl Mycol* 2: 31-82. DOI: 10.5943/cream/2/1/3.
- Song Y, Wang J, Huang H, Ma L, Wang J, Gu Y, Liu L, Lin Y. 2012. Four eremophilane sesquiterpenes from mangrove endhophytic fungus *Xylaria* sp. BL.321. *Mar Drugs* 10: 340-348. DOI: 10.3390/md10020340.
- Tarman K. 2011. Biological and Chemical Investigations of Indonesian Marine-derived Fungi and Their Secondary Metabolites [Disertasi]. Greifswald: Ernst-Moritz-Arndt University Greifswald.
- Tarman K, Lindequist U, Wende K, Porzel A, Arnold N, Wessjohan LA. 2011. Isolation of a new natural product and cytotoxic and antimicrobial activities of extracts from fungi of Indonesian marine habits. *Mar Drugs* 9: 294-306. DOI: 10.3390/md9030294.
- Tarman K, Mustopa AZ, Safithri M. 2012. Antibacterial and Cytotoxic Activities of An Algicolous *Xylaria psidii* KT30. Di dalam: Setyahadi S, Amar A, Nikmatullah A, Malik A, Hermansyah H, Gozan M, Sahlan M, Ernawati NML, Sauriasari R, Pinontoan R, Pardal S, Subandi, Depamede S, Mangunwardoyo W, Hadisaputra W, Sudiyani Y, editor. The 5<sup>th</sup> Indonesia Biotechnology Conference an International Forum; 2012 Jul 4-7; Mataram, Indonesia. Mataram (ID): Indonesian Biotechnology Consortium. p. 938-945.
- Todorov SD, Nyati H, Meincken M, Dicks LMT. 2007. Partial characterization of bacteriocin AMA-K isolated from naturally fermented milk from Zimbabwe. *Food Control* 18: 456-464. DOI: 10.1016/j.foodcont.2006.03.003.
- Zain ME, Razak AA, El-Sheikh HH, Soliman HG, Khalil AM. 2009. Influence of growth medium on diagnostic characters of *aspergillus* and *penicillium* species. *Afr J Microbiol Res* 3: 280-286.
- Zheng S, Liu Q, Zhang G, Wang H, Ng TB. 2010. Purification and characterization of an antibacterial protein from deried fruiting bodies of the wild mushroom *Clitocybe sinopica*. *Acta Biochim Pol* 57: 43-48.
- Wachirathiancai S, Bhumiratana A, Udomsopagit S. 2004. Isolation, purification, and characterization of l-glutamate oxidase from *Streptomyces* sp. 18G. *J Biotechnol* 7: 274-281. DOI: 10.2225/vol7-issue3-fulltext-14.
- Wang S. 2006. Enzyme purification by salt (ammonium sulphate) precipitation. <http://www.glue.umd.edu.htm> [30 Agustus 2013].
- Winarno FG. 2008. Kimia Pangan dan Gizi. M-Brio Press, Bogor.