

IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT ASAL TANAMAN BELIMBING WULUH

Endophytic Bacteria Identification from Bilimbi Plant

Risa Nursanty dan Iqbar

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

e-mail: nursanty01@yahoo.co.id

Abstrak

Isolat bakteri endofit DB₂ dan BUB₂ hasil isolasi dari tanaman belimbing wuluh memiliki kemampuan antijamur terhadap *Candida albicans*. Isolat DB₂ memiliki kemampuan menghambat yang lebih luas dibandingkan dengan isolat BUB₂. Hasil karakterisasi fisiologi menggunakan MICROBACT™ GNB 24E (OXOID) menunjukkan kedua isolat memiliki karakterisasi fisiologi yang berbeda. Hasil analisis gen 16S rRNA menunjukkan isolat DB₂ memiliki kemiripan sebesar 99% dengan *Pseudomonas montelli*.

Kata kunci: identifikasi, isolat, bakteri endofit, belimbing wuluh

Abstract

The endophytic isolate from the *Avherrhoa bilimbi* plant which have antifungiability are DB₂ and BUB₂. Both endophytic isolates have the ability to inhibit the growth of the *Candida albicans*. However, isolate DB₂ has a broader inhibitory ability compared with isolate BUB₂. Physiological characterization used MICROBACT™ GNB 24E (OXOID) showed that both of these isolate have different physiological characterization. 16S rRNA gene analyze from DB₂ isolate show that isolate have similarity with *Pseudomonas montelli* (99%).

Keywords: identification, isolate, endophytic bacteria, bilimbi

PENDAHULUAN

Usaha pencarian sumber antibiotik baru saat ini terus dilakukan, diantaranya dari mikroorganisme. Menurut Guo *et al.*, (2008) mikroorganisme selain dikenal sebagai penyebab penyakit bagi manusia dan hewan juga berpotensi menghasilkan antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Salah satunya adalah bakteri endofit yang hidup pada jaringan tanaman obat. Menurut Strobel *et al.* (2003) dan Guo *et al.*, (2008), mikroba endofit baik bakteri dan cendawan endofit yang diisolasi dari organ tanaman memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya bahkan dalam jumlah yang lebih besar. Selain itu juga upaya ini lebih efisien dalam memproduksi senyawa bioaktif karena tidak membutuhkan tanaman dalam jumlah besar sehingga dapat menjaga kelestarian tanaman obat.

Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) khususnya organ daun, buah dan bunganya sering digunakan masyarakat untuk mengobati hipertensi, batuk, dan demam (Orwa *et al.* 2009). Tanaman belimbing wuluh besar kemungkinan memiliki bakteri endofit yang

tumbuh secara simbiosis didalam jaringannya. Isolat yang diperoleh selanjutnya perlu untuk diidentifikasi lebih lanjut sehingga akan mempermudah pencarian dan pengklasifikasiannya. Ini penting untuk memudahkan pengembangan dan pelestariannya.. Menurut Madigan *et al.*, (2003), aktivitas fisiologi memiliki arti penting dalam taksonomi. Aktivitas enzimatik berperan dalam proses bioenergetika, biosintesis dan biodegradasi. Berdasarkan hal tersebut maka sangat menarik untuk dilakukannya identifikasi terhadap isolat bakteri endofit yang berasal dari tanaman belimbing wuluh. Isolat endofit yang diidentifikasi adalah isolat yang memiliki kemampuan antimikroba.

METODE

Bahan yang digunakan untuk karakterisasi fisiologi adalah MICROBACT™ GNB 24E (OXOID). Identifikasi molekuler dilakukan di Lab. Mikrobiologi jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor. Isolat bakteri endofit DB₂ dan BUB₂ berasal dari koleksi pribadi.

Karakterisasi Fisiologi. Isolat-isolat bakteri endofit asal tanaman belimbing wuluh

yang berpotensi sebagai antimikrob selanjutnya dikarakterisasi fisiologinya. Karakterisasi fisiologi dilakukan menggunakan MICROBACT™ GNB 24E (OXOID). Terlebih dahulu isolat bakteri ditumbuhkan selama 24 jam. Sebanyak ± 3 jarum inokulasi isolat bakteri dimasukkan ke dalam 7 ml larutan garam fisiologi. Kultur bakteri tersebut kemudian dihomogenkan. Selanjutnya sebanyak 200 μ l kultur bakteri dimasukkan ke dalam masing-masing sumur MICROBACT. Prosedur selanjutnya mengikuti petunjuk teknis yang terdapat pada manual MICROBACT.

Identifikasi Molekuler. Identifikasi molekuler hanya dilakukan pada salah satu isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan antimikrob yang berspektrum luas. Kemampuan ini terlihat dari kemampuannya menghambat pertumbuhan baik bakteri maupun cendawan patogen yang digunakan pada uji antimikrob sebelumnya. Selanjutnya isolat tersebut akan diidentifikasi secara molekuler di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, IPB Bogor. Tahapan identifikasi molekuler meliputi isolasi DNA, Polymerase Chain Reaction (PCR) DNA, sekuensing dan analisis data sekuensing. Isolasi DNA genom isolat-isolat terpilih hasil isolasi di ekstrak menggunakan metode yang dipaparkan oleh Sambrook *et al.*, (1989). DNA genom hasil isolasi digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA. Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan dengan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan kit *Ready To Go PCR Beads* (Pharmacia-Biothec) dan primer spesifik 16S rRNA untuk prokariot, yaitu 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCA AGTC) dan 1387r (5'-GGGCGGWTGTAC AAGGC) (Marchesi *et al.* 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri endofit DB₂ dan BUB₂ asal tanaman belimbing wuluh memiliki kemampuan antimikroba terhadap *Candida albicans*. Isolat tersebut selanjutnya di karakterisasi fisiologinya menggunakan MICROBACT (24E) (OXOID). Hasil karakterisasi selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Karakterisasi fisiologis isolat DB₂ dan BUB₂

Karakter Fisiologi	DB ₂	BUB ₂
Oksidase	+	+
Nitrat	-	+
Lysin	+	+
Ornitrin	-	-
H ₂ S	-	-

Glukosa	+	+
Manitol	-	-
Xilosa	-	-
ONPG	-	+
Indol	-	-
Urease	+	+
Voges Proskauer (VP)	-	+
Sitrat	+	-
Tryptophan Deaminase (TDA)	-	-
Gelatin	-	-
Malonat	-	+
Inositol	-	+
Sorbitol	-	+
Rhamnosa	-	+
Sukrosa	-	+
Laktosa	-	-
Arabinosa	-	+
Adonitol	-	-
Rafinosa	-	-
Salisin	-	+
Arginin	+	-

Keterangan: + = hasil positif dan - = hasil negatif dengan pereaksi uji

Pada Tabel 1 terlihat bahwa antara kedua isolat memiliki karakter fisiologi yang berbeda. Isolat DB₂ tidak mampu mereduksi nitrat, menghidrolisis substrat o-nitrophenyl- β -d-galactopyranoside (ONPG) dan negatif dengan uji Voges-Proskauer (VP). Namun mampu menghidrolisis sitrat dan mendegradasi arginin. Sementara isolat BUB₂ mampu memfermentasi karbohidrat seperti inositol, sorbitol, rhamnosa, sukrosa, arabinosa dan salisin. Tetapi kedua isolat juga memiliki karakter fisiologi yang sama yakni memiliki aktivitas enzim oksidase, dapat mendegradasi lisin, memfermentasi glukosa, dan mendegradasi urea. Kedua isolat yang sama-sama oksidase positif menunjukkan keduanya bersifat aerob. Memiliki enzim lisin dekarboksilase dan enzim urease serta mampu memfermentasi glukosa.

Perbedaan karakter fisiologi yang dimiliki oleh kedua isolat tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki enzim-enzim yang berbeda satu sama lainnya. Menurut Madigan *et al.*, (2003), untuk mempelajari aktivitas enzimatik baik ekstraseluler dan intraseluler dapat diketahui dari kemampuannya mendegradasi substrat-substrat tertentu. Menurut Sunatmo (2009), enzim ekstraseluler merupakan enzim hidrolitik yang mereduksi makromolekul menjadi molekul berukuran kecil sehingga dapat ditranspor dan diasimilasi oleh sel. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan menghidrolisis lipid, kasein, gelatin dan pati. Untuk enzim intraseluler berperan dalam sintesis komponen protoplasma dan produksi energi. Kemampuan enzim intraseluler dapat dilihat dari uji oksidase, uji reduksi nitrat, uji urease, fermentasi karbohidrat, uji V-P, dan pemanfaatan sitrat.

Hasil pengujian karakterisasi fisiologi dapat secara umum mengidentifikasi bahwa kedua isolat bukan merupakan golongan kelompok bakteri filum Proteobacteria. Hal ini didukung Madigan *et al.*, (2003) bahwa Proteobacteria merupakan kelompok bakteri yang bersifat gram negatif. Untuk menyakinkan hal tersebut maka diperlukan identifikasi secara molekuler. Identifikasi molekuler hanya dilakukan terhadap isolat endofit DB₂ karena kemampuan antijamurnya terhadap *Candida albicans* lebih luas dibandingkan isolat BUB₂. Hasil analisis 16S rRNA menunjukkan isolat DB₂ kemiripan dengan bakteri *Pseudomonas montelli* (99%).

SIMPULAN

Adapun simpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah isolat DB₂ dan BUB₂ memiliki kemampuan oksidase positif, memiliki enzim lisin dekarboksilase dan enzim urease serta mampu memfermentasi glukosa. Isolat DB₂ berdasarkan analisis gen 16S rRNA memiliki kemiripan dengan bakteri *Pseudomonas montelli* (99%).

SARAN

Pada penelitian lanjutan perlu dilakukan pengujian terhadap senyawa bioaktif yang dimiliki oleh isolat DB₂ dan BUB₂.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada

1. Universitas Syiah Kuala yang telah memberikan bantuan dana melalui Penelitian Dosen Muda Tahun Anggaran

2011(Nomor kontrak: 2159/H11/LK-PNBP/2011).

2. Trislawati yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Guo B., Y. Wang, X. Sun, and K. Tang, 2008. Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review. *Applied Biochemistry and Microbiology* 44(2): 136-142.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, and J. Parker. 2003. *Brock Biology of Microorganism*, 10th ed., Prentice Hall, New Jersey.
- Marchesi J. R., T. Sato, A. J. Weightman, T. A. Martin, J. C. Fry, S. J. Hiom, and W. G. Wade. 1998. Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers that Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 64:795-799.
- Orwa, C., A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, and A. Simons. 2009. *Agroforestry Database: a Tree Reference and Selection*. www.worldagroforestry.org/af/treedb/. Diakses Tanggal 1 Januari 2011.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Lab Pr. New York.
- Strobel G. A. and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67:491-502.
- Sunatmo I. A. 2009. Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium. Ardy Agency. Jakarta.