



Potensi antimikroba aktinobakteri endofit daun sirih (*Piper betle* L)

Antimicrobial potency of endophytic actinobacteria from leaves of betel (Piper betle L)

Lenni Fitri^{1*},

¹Jurusan Biologi, FMIPA, UniversitasSyiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia 23111

INFO ARTIKEL

Diterima: Februari 2018

* email korespondensi:
lennifitri@unsyiah.ac.id

Kata kunci:
Daun sirih
Aktinobakteri
Antimikroba

Keywords:
Fruit flies
Watery roseapple
Guava
Starfruit

ABSTRAK

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup pada jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tanaman inangnya. Mikroba endofit diharapkan mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi aktinobakteri endofit dari daun tanaman sirih dan menguji aktivitasnya sebagai antimikroba. Isolasi aktinobakteri endofit menggunakan media agar *humid acid vitamin*. Keragaman morfologi aktinobakteri endofit diobservasi berdasarkan pengamatan langsung koloni aktinobakteri endofit yang ditumbuhkan pada media ISP2 dan observasi morfologi secara mikroskopis. Dari hasil isolasi ditemukan 16 isolat aktinobakteri endofit. Dari hasil uji terhadap bakteri didapatkan bahwa zona hambat paling besar didapatkan pada isolat DS 7 dan DS 13 (14 mm). Isolat DS 10 mampu menghambat *Fusarium oxysporum* dengan zona hambat yang terbentuk sekitar 32 mm.

ABSTRACT

Endophytic microbes are microbes that live on plant tissues without causing symptoms of disease toward host plants. Endophytic microbes are expected to produce the same secondary metabolites as their host plants. This study aimed to isolate endophytic actinobacteria from betel leaves and test its activity as an antimicrobial. Humid acid vitamin agar medium was used in isolating actinobacterial endophytes. Morphological diversity of endophytic actinobacteria was observed based on direct observation of endophytic actinobacterial colonies grown on ISP2 medium and microscopic observations. A total of 16 isolates of actinobacteria endofit were obtained. Based on the results, the highest inhibition zone were found in isolates DS 7 and DS 13 (14 mm). Isolate DS 10 was able to inhibit *Fusarium oxysporum* with inhibition zone formed around 32 mm.

1. Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan berbagai macam jenis tumbuhan yang bermanfaat sebagai tanaman obat tradisional. Penggunaan tanaman obat tradisional ini telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia secara turun-temurun. Hal ini karena bahan bakunya mudah diperoleh, harganya murah dan efek sampingnya relatif lebih ringan bila dibandingkan dengan penggunaan obat-obat kimia. Salah satu tanaman obat yang sering

digunakan oleh masyarakat adalah tanaman sirih (*Piper betle* L.).

Menurut Pradhan *et al.* (2013) sirih dapat digunakan sebagai antimikroba, obat asma, obat tetes mata, antidiabetes, antioksidan, obat konstipasi dan lainnya. Keseluruhan bagian dari tanaman sirih seperti akar, batang dan daun berpotensi untuk pengobatan, tetapi yang paling sering dimanfaatkan untuk pengobatan adalah bagian daun.

Menurut Suriawiria (2006) kandungan kimia yang terdapat pada daun sirih terdiri dari minyak atsiri, hidrosikavicol, kavicol, kavibetol, allylprokatekol, karvacrok, eugenol, p-cymene, cineole, caryofelen, kadimen estragol, terpenena, fenil propada, tanin, dan sebagainya. Karena kelengkapan kandungan zat atau senyawa kimia bermanfaat inilah, daun sirih memiliki manfaat yang sangat luas sebagai bahan obat.

Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Untuk mengefisienkan cara memperoleh bioaktif tersebut, maka digunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya.

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup pada jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tanaman inangnya. Salah satu mikroba tersebut adalah aktinobakteri. Aktinobakteri endofit yang diisolasi dari tanaman memiliki potensi pengembangan yang cukup besar. Meskipun endofit merupakan sumber produk alami bioaktif yang menghuni tanaman, namun penelitian tentang aktinobakteri masih relatif jarang dilakukan. Eksplorasi aktinobakteri endofit diharapkan dapat menghasilkan metabolit sekunder penting yang memiliki sifat yang mirip dengan yang dihasilkan oleh metabolit tanaman inangnya.

Aktinobakteri merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang bersifat anaerobik atau fakultatif yang mempunyai miselia bercabang yang menyerupai cendawan berfilamen. Aktinobakteri menghasilkan berbagai produk senyawa bioaktif (Holt, 1994). Aktinobakteri merupakan sumber utama dari antimikroba, agen biokontrol terhadap cendawan patogen, penghasil enzim dan antitumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi aktinobakteri endofit dari daun tanaman sirih dan menguji aktivitasnya sebagai antimikroba.

2. Metodologi Penelitian

Isolasi Aktinobakteri Endofit

Sampel yang digunakan adalah bagian daun dari tanaman sirih. Daun sirih tersebut dicuci dengan akuades steril dan dilakukan sterilisasi permukaan. Sampel tanaman direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan hipoklorit 1% selama 5 menit, lalu alkohol 70% selama 1 menit, dan terakhir dibilas dengan akuades steril. Sampel tanaman yang telah steril kemudian dihaluskan dengan mortar. Sebanyak 1 µl suspensi sampel diinokulasikan pada media agar *Humic acid Vitamin B* (HV). Biakan kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Koloni aktinobakteri yang tumbuh kemudian diamati dan dimurnikan pada media ISP2 untuk selanjutnya dipurifikasi.

Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi isolat dilakukan dengan mengamati pertumbuhannya pada media ISP-2. Pengamatan makroskopis meliputi pertumbuhan koloni, warna miselium aerial, warna miselium substrat dan

keberadaan pigmen terlarut. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX21F51) pada perbesaran 100 x.

Uji Antibakteri

Penapisan dilakukan dengan teknik uji antagonis. Biakan mikroba target ditambahkan media NA, kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri, dan dibiarkan mengering selama 5-10 menit. Selanjutnya dengan menggunakan *cork bore*, isolat aktinobakteri diletakkan di atas permukaan media tersebut. Masing-masing isolat dibuat duplo. Biakan bakteri uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat (zona bening) yang terbentuk. Besarnya potensi antibakteri dari isolat aktinobakteri dapat diamati melalui besarnya zona hambat yang terbentuk.

Uji Antifungi

Uji antifungi koloni aktinobakteri terhadap *Sclerotium* sp. dan *Fusarium* sp. dilakukan dengan cara menggoreskan aktinobakteri pada media PDA dan kemudian diinkubasi pada suhu ruang. Setelah 7 hari, koloni cendawan uji sebesar pelubang gabus diletakkan pada tengah media PDA. Biakan tersebut kemudian diinkubasi lagi pada suhu ruang selama 7 hari. Penghambatan pertumbuhan dilihat dari arah pertumbuhan dan jarak cendawan uji terhadap isolat aktinobakteri.

3. Hasil Dan Pembahasan

Isolasi Aktinobakteri

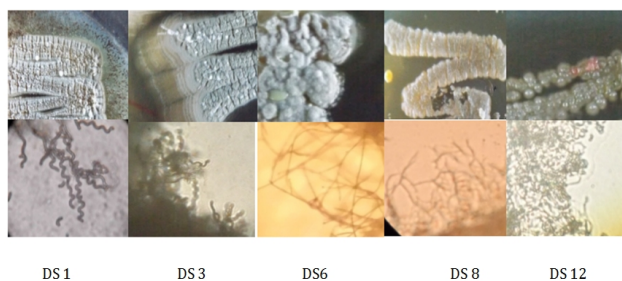
Isolasi aktinobakteri dilakukan pada media agar HV. Media ini biasanya disuplementasi dengan berbagai macam antibiotik seperti asam nalidiksik untuk menekan pertumbuhan bakteri Gram negatif dan sikloheksamida untuk menekan pertumbuhan cendawan. Hasil isolasi aktinobakteri pada media agar HV menunjukkan bahwa koloni aktinobakteri mampu tumbuh pada media tersebut. Dari hasil isolasi ditemukan 16 koloni aktinobakteri yang kemudian dimurnikan kembali pada media ISP2 untuk dilakukan pengamatan terhadap morfologi koloni (Tabel 1). Koloni aktinobakteri yang berhasil dipurifikasi pada media ISP2 memiliki keragaman morfologi yang tinggi, hal ini terlihat dari bentuk dan warna aktinobakteri yang bermacam-macam. Aktinobakteri dapat dibedakan dari bakteri lain dengan mudah dengan melihat bentuk koloninya di medium padat. Koloni aktinobakteri tampak keras seperti tumbuh akar di dalam media agar (Gambar 1), berbeda dengan bakteri lain yang koloninya lunak di atas media agar.

Identifikasi koloni aktinobakteri juga dilakukan dengan mengamati morfologi rantai sporanya secara mikroskopis (Kudo, 1997). Karakteristik mikroskopis ini secara jelas tampak pada isolat-isolat aktinobakteri yang memiliki morfologi rantai spora berbentuk spiral yang berbeda-beda dan ada yang tidak memiliki spiral (Gambar 1). Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa hifa aktinobakteri yang didapat bervariasi. Hifa

yang didapat kan berbentuk *open spiral*, *straight* dan *biverticilate*.

Tabel 1. Keragaman isolat aktinobakteri endofit daun sirih

Isolat	Warna Miselium aerial	Warna Miselium substrat	Warna Pigmen Terlarut	Karakteristik
DS 1	Putih Keabuan	Coklat Tua	Kuning	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 2	Putih Kehijauan	Coklat Muda	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 3	Putih Keabuan	Krem	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 4	Putih	Putih	-	<i>Convact</i> , tidak berlendir
DS 5	Putih abu	Kuning	Kuning	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 6	Putih kekuningan	Coklat Muda	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 7	Krem	Krem	-	Rata, tidak berlendir
DS 8	Krem	Coklat Muda	-	Rata, tidak berlendir
DS 9	Krem	Peach	-	Rata, tidak berlendir
DS 10	Putih	Coklat Tua	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 11	Krem		-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 12	Bening	Bening	-	<i>Convact</i> , tidak berlendir
DS 13	Putih abu	Coklat Tua	-	Rata, tidak berlendir
DS 14	Putih	Putih	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir
DS 15	Putih	Coklat Muda	Kuning	<i>Convact</i> , tidak berlendir
DS 16	Putih abu	Krem	-	<i>Irregular</i> , tidak berlendir



Gambar 1. Morfologi koloni dan hifa aktinobakteri endofit pada tanaman sirih berumur 10 hari di media ISP-2 (perbesaran 100x)

Kemampuan aktinobakteri endofit daun sirih sebagai antimikroba

Aktinobakteri yang didapatkan pada penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan pengaruh yang berbeda terhadap masing-masing mikroba uji. Zona hambat paling besar didapatkan pada isolat DS 7 dan DS 13 (14 mm) (Gambar 2). Respon daya hambat aktinobakteri terhadap bakteri uji dikategorikan lemah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Greenwood (1995) bahwa diameter zona hambat ≤ 10 mm dikatakan tidak menghambat pertumbuhan mikroba uji (T), diameter 11-15 mm dikategorikan lemah (L), diameter 16-20 mm dikategorikan sedang (S) dan diameter >20 mm dikategorikan kuat (K). Hasil pengamatan terhadap zona hambat bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 3. 2 di bawah ini.

Tabel 2. Diameter zona hambat isolat aktinobakteri asal daun sirih terhadap bakteri uji

Kode Isolat	<i>Bacillus subtilis</i> (mm)	<i>Escherichia coli</i> (mm)
DS 4	11	-
DS 5	13	-
DS 7	14	11
DS 8	13	13
DS 9	13	12
DS 10	12	12
DS 11	12	11
DS 12	13	13
DS 13	14	13

Dalam menemukan antibiotik yang sesuai terhadap patogen yang semakin berkembang, diperlukan pendekatan baru dalam memanen antibiotik dari suatu mikroorganisme. Salah satu pendekatan baru yang dapat dilakukan adalah dengan mengisolasi mikroorganisme dari lingkungan ekstrim atau lingkungan yang belum banyak studi mengenainya (Moncheva *et al.*, 2002). Hal ini akan memungkinkan penemuan senyawa baru yang dapat berguna dalam proses biomedis (Yucel & Yamak, 2010), seiring dengan perkembangan mikroba patogen yang semakin resisten terhadap antibiotik (Thangapandian *et al.*, 2011). Resistensi patogen terhadap antibiotik disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan tidak sesuai dosis yang dianjurkan. Kumar *et al.* (2010) menjelaskan mengenai alasan memilih aktinobakteri sebagai sumber antibiotik. Alasan tersebut adalah aktinobakteri mampu menghasilkan senyawa bioaktif penting yang berhasil digunakan dalam berbagai bidang. Aktinobakteri juga menghasilkan 80% dari total antibiotik yang digunakan di dunia.



Gambar 2. Zona bening yang dihasilkan isolat aktinobakteri daun sirih terhadap bakteri uji

Pengujian sifat antagonis terhadap cendawan dilakukan dengan metode oposisi langsung. Pertumbuhan dan aktivitas penghambatan merupakan salah satu parameter penting untuk mengevaluasi kinerja suatu mikroorganisme dalam kultur.



Gambar 3. Zona bening yang dihasilkan isolat aktinobakteri daun sirih terhadap cendawan uji

Secara umum, isolat yang diujikan tidak memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan cendawan uji (Gambar 3). Hanya Isolat DS 10 yang mampu menghambat *Fusarium oxysporum* dengan zona hambat yang terbentuk sekitar 32 mm. Respon daya hambat ini dapat dikategorikan kuat. Jayasinghe dan Parkinson (2008) melaporkan bahwa aktinobakteri memiliki kemampuan bervariasi dalam menghambat cendawan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa dari hasil isolasi ditemukan 16 isolat aktinobakteri endofit. Hasil pengujian terhadap bakteri didapatkan bahwa zona hambat paling besar didapatkan pada isolat DS 7 dan DS 13 (14 mm). Respon daya hambat aktinobakteri terhadap bakteri uji dikategorikan lemah. Isolat DS 10 mampu menghambat *Fusarium oxysporum* dengan zona hambat yang terbentuk sekitar 32 mm. Respon daya hambat ini dapat dikategorikan kuat.

5. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Jurusan Biologi Unsyiah yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan kegiatan penelitian serta semua pihak yang telah membantu kesuksesan penelitian ini.

6. Daftar Pustaka

- Greenwood, D. 1995. Antibiotics, Susceptibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemotherapy. USA:Mc. Graw Hill Company. P. 47.
- Holt. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed ke-9. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Jayasinghe BATD & Parkinson D. 2008. Actinomycetes as Antagonists of Litter Decomposer Fungi. *Applied Soil Ecology*. 38 : 109-118
- Kudo T. 1997. Family *Streptomycetaceae*. In : Miyadoh S (ed). *Atlas of Actinomyces*. The Society for Actinomyces Japan.
- Kumar N, Singh RK, Mishra SK, Singh AK, Pachouri UC. 2010. Isolation and screening of soil Actinomyces as source of antibiotics active against bacteria. *International Journal of Microbiology Research* 2 (2): 12-16.
- Moncheva P, Tishkov S, Dimitrova N, Chipeva V, Antonova-Nikolova S, Bogatzevska N. 2002. Characteristics of Soil Actinomyces from Antarctica. *Journal of Culture Collections* 3: 3-14.
- Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P. 2013. Golden Heart of the Nature: *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6):147-167
- Suriawiria, U. 2006. Obat Berguna Sepanjang Masa. <http://www.pikiranrakyat.co.cetak/2006/012006/26>.
- Thangapandian V, Philip Ruban AC, Prabhu D, Lingakumar K. 2011. Isolation and Characterization of Antibiotics Producing Actinomyces from Soil samples of Senbagadaruvi in Western Ghats. *Bioresearch Bulletin* 4: 254-259.
- Yucel S, Yamak M. 2010. Selection of *Streptomyces* Isolates from Turkish Karstic Caves Against Antibiotic Resistant Microorganisms. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 23(1): 1-6.