



Skrining dan Identifikasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Langsung (*Lansium domesticum*) dan Jaloh (*Salix tetrasperma*)

Risa Nursanty^{1*}

¹Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk Syech Abdurrauf No. 7 Darussalam, Banda Aceh 23111

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden
email: risa_nursanty@usk.ac.id

Kata kunci: Isolasi
Bakteri endofit
Lansium domesticum
Salix tetrasperma

Keywords: Isolation
Endophytic bacteria
Lansium domesticum
Salix tetrasperma

ABSTRAK

Bakteri endofit dapat menjadi salah satu sumber bahan aktif yang berpotensi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit asal tanaman langsung (*Lansium domesticum*) dan jaloh (*Salix tetrasperma*). Penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Hasil isolasi mendapatkan 14 isolat dimana 4 isolat memiliki aktivitas antimikroba. Isolat yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba memiliki karakter bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni yang berbeda. Adapun bentuk sel dan sifat Gram yang dominan adalah batang dan Gram positif. Hasil uji biokimia dua isolat yang berpotensi menunjukkan adanya perbedaan aktivitas. Ini memperlihatkan bahwa masing-masing isolat memiliki enzim-enzim yang berbeda. Tanaman berkhasiat obat memiliki potensi sebagai sumber penemuan bakteri endofit baru yang memiliki aktivitas antimikroba.

ABSTRACT

Endophytic bacteria can be a source of active ingredients that have potential as antimicrobials. This research aims to isolate and identify endophytic bacteria from langsung (*Lansium domesticum*) and Indian willow (*Salix tetrasperma*) plants. This research uses a descriptive method. The isolation results showed 14 isolates, of which 4 had antimicrobial activity. Isolates that have the potential to have antimicrobial activity have different characteristics in terms of shape, edges, elevation, and colony color. The dominant cell shape and Gram characteristics are rods and Gram-positive. The results of biochemical tests for two potential isolates showed differences in activity. This shows that each isolate has different enzymes. Medicinal plants have potential as a source for the discovery of new endophytic bacteria that have antimicrobial activity.

1. PENDAHULUAN

Pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antimikroba baru masih menjadi kajian yang diminati para peneliti. Salah satu potensi sumber antimikroba berasal dari mikroba endofit. Mikroba endofit yang hidup bersimbiosis dengan tanaman obat dapat menjadi salah satu sumber penghasil antimikroba. Ini dimungkinkan karena kemampuannya untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan yang dikandung oleh tanaman inangnya (Strobel dan Daisy, 2003). Upaya ini lebih efisien karena tidak memerlukan lahan yang luas untuk penanaman tanaman sehingga dapat menekan biaya produksi. Aceh yang dikelilingi beranekaragam tanaman khususnya yang berkhasiat obat sangat potensial memiliki bakteri-bakteri endofit. Beberapa penelitian menunjukkan bakteri endofit berpotensi sebagai antimikrob seperti yang dilaporkan oleh Azevedo et al, (2000), Kumala dan Siswanto (2007), dan Simanjuntak et al, (2002).

Tanaman langsung (*Lansium domesticum*) selain dikenal sebagai tanaman penghasil buah juga memiliki khasiat obat. Sebagian masyarakat Aceh meminum air rebusan daun langsung untuk mengobati penyakit malaria (Susanti, 2008). Tanaman langsung berbentuk pohon dengan tinggi mencapai 15-20 m, diameter 35-40 cm, dapat tumbuh pada ketinggian mencapai 1.200 meter dibawah permukaan laut. Bijinya mengandung alkaloid, digunakan untuk mengobati cacingan, dan menurunkan demam. Kulit batang dan kulit buahnya mengandung asam lansium. Air rebusan kulit batang dapat mengobati penyakit disentri (Heyne, 1987).

Daun tanaman Jaloh (*Salix tetrasperma*) oleh sebagian masyarakat di Aceh digunakan untuk mengobati malaria, tonik setelah bersalin (Sangat, et al., 2000) dan sebagai antipiretik (Sugito et al., 2007). Tanaman ini berbentuk pohon memiliki daun berbentuk lanset atau oval-lanset. Di India rebusan batangnya digunakan sebagai antipiretik (Sarita, 2020).

Tanaman langsung dan jaloh selama ini banyak dimanfaatkan sebagai obat. Hasil kajian beberapa peneliti juga memperlihatkan adanya potensi antibakteri dari tanaman langsung dan jaloh seperti yang dilaporkan oleh. Hal ini mendasari untuk dilakukannya isolasi dan identifikasi bakteri endofit yang berasal dari tanaman langsung dan jaloh.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Isolasi dan karakterisasi morfologi serta uji fisiologibakteri endofit dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, FMIPA. Adapun identifikasi molekuler dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Biologi IPB, Bogor.

Adapun parameter yang diamati pada seleksi isolat yang berpotensi antimikrob adalah ada tidaknya zona bening. Sedangkan karakterisasi morfologis meliputi bentuk dan warna koloni, serta pewarnaan Gram. Parameter lainnya adalah ada tidaknya terjadi reaksi-reaksi saat uji fisiologis menggunakan kit MicroBact. Sedangkan parameter untuk identifikasi molekuler yaitu melihat hubungan kekerabatan isolat terpilih dengan bakteri lainnya.

Organ akar, batang, dan daun dari masing-masing tanaman *L. domesticum* dan *S. tetrasperma* dipotong lebih kurang 1 cm panjangnya. Potongan organ tersebut selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir selama 10 menit. Setiap potongan akar, batang dan daun kemudian di sterilisasi dengan cara mencelupkannya ke dalam alkohol 70% selama lebih kurang 1-3 menit. Selanjutnya dimasukkan ke dalam Na hipoklorit (Bayclin 3,25%) selama lebih kurang 5 - 15 menit dan kembali dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama lebih kurang 1 menit.

Metoda isolasi dilakukan dengan dua cara yakni dengan memotong dan menghaluskan sampel. Sampel yang dipotong adalah akar dan batang sedangkan daun dihaluskan. Akar dan batang yang telah steril dipotong melintang kemudian masing-masing diletakkan di media NA yang mengandung nistatin 100 mg/l. Organ daun yang telah steril terlebih dahulu dihaluskan menggunakan mortar. Untuk mempermudah penghalusan dapat ditambahkan garam fisiologis untuk mempermudah pengambilan ekstrak daun tanaman. Selanjutnya diambil sebanyak 0,2 ml dan disebarakan secara merata di media NA yang mengandung nistatin 100 mg/l. Tahap selanjutnya adalah masing-masing sampel diinkubasi selama lebih kurang seminggu pada suhu ruang. Koloni bakteri endofit yang telah teramati pada media NA kemudian dimurnikan. Isolat yang akan dimurnikan digoreskan pada media NA dan diinkubasi selama beberapa hari pada suhu ruang.

Bakteri dan cendawan yang digunakan pada uji antagonis adalah *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Bakteri yang akan digunakan pada uji antagonis terlebih dahulu ditumbuhkan pada media NA sedangkan *C. albicans* ditumbuhkan pada media PDA.

Uji antagonis isolat bakteri endofit terhadap pertumbuhan bakteri target dilakukan dengan menggunakan media NA. Sedangkan terhadap *Candida* target dilakukan dengan menggunakan media PDA. Isolat bakteri terpilih kemudian dipindahkan ke masing-masing media yang telah tumbuh bakteri dan *Candida* target. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar isolat bakteri endofit

terpilih. Isolat yang menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri dan juga cendawan target selanjutnya dikoleksi dan dikarakterisasi fisiologi. Masing-masing isolat yang memperlihatkan adanya aktivitas antimikrobial kemudian diamati ciri-ciri koloni yang meliputi bentuk, dan warna koloni. Kemudian dilanjutkan ke pewarnaan Gram.

Isolat-isolat bakteri endofit 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.

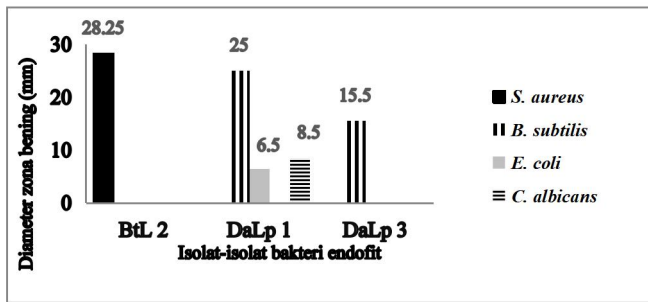
3. HASIL

Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari hasil isolasi tanaman langsung dan jaloh ada sebanyak 14 isolat (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri ebdofit yang berasal dari tanaman langsung dan Jaloh

No	Tanaman	Kode Isolat	Organ Tanaman
1.	Langsat	BtL 1	Batang
		BtL 2	Batang
		DaLp 1	Daun
		DaLp 2	Daun
		DaLp 3	Daun
		DaLp 4	Daun
		DaLg 1	Daun
		DaLg 2	Daun
3.	Jaloh	A-ja1	Akar
		A-ja2	Akar
		B-ja	Batang
		D-ja1	Daun
		D-ja2	Daun
		D-ja3	Daun

Tahapan selanjutnya ke-14 isolat tersebut kemudian diuji antagonis. Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 1. memperlihatkan hanya ada 5 isolat yang memperlihatkan potensi antimikroba..



Gambar 1. Hasil uji antagonis isolat-isolat bakteri endofit terhadap mikroba target

Isolat-isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai antimikroba selanjutnya dikarakterisasi morfologi. Hasil karakterisasi sangat beragam (Tabel 2). Masing-masing isolat memiliki bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni yang berbeda. Sedangkan bentuk sel dan sifat gram yang dominan adalah batang dan Gram positif.

Tabel 2. Karakterisasi morfologi isolat BtL2, DaLp1, dan DaLp3

No	Kode Isolat	Asal Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	BtL2	Batang	Bundar	Timbul	Berombak	Krem	Batang	Positif
2.	DaLp1	Daun	Bundar	Licin	Cembung	Kuning	Batang	Negatif
3.	DaLp3	Daun	Bundar dengan tepian timbul	Licin	Timbul	Putih	Bulat	Positif

Isolat BtL2 memiliki diameter zona hambat lebih besar dibanding dua isolat lainnya. Adapun isolat DaLp1 memiliki kemampuan menghambat lebih dari satu mikroba uji. Hal ini menyebabkan ke-2 isolat dikarakterisasi selanjutnya menggunakan kit MICROBACT™ GNB 24E (OXOID). Hasil uji memperlihatkan aktivitas biokimia yang berbeda-beda dari ke-2 isolat (Tabel 3).

Tabel 3. Ciri-ciri fisiologis isolat BtL2 dan DaLp1,

Ciri-ciri	BtL2	DaLp1
Oksidase	+	+
Nitrat	-	+
Lysin	+	+
Ornitin	-	-
H ₂ S	-	-
Glukosa	+	+
Manitol	-	-
Xilosa	-	-
ONPG	-	-
Indol	+	-
Urease	+	+
VP	+	+
Sitrat	+	+
TDA	-	-
Gelatin	-	-
Malonat	-	-
Inositol	-	-
Sorbitol	-	-
Rhamnosa	-	-
Sukrosa	-	-
Laktosa	+	-
Arabinosa	+	-
Adonitol	-	-
Rafinosa	-	-
Salisin	-	-
Arginin	+	+

Keterangan: + = hasil positif

- = hasil negatif dengan pereaksi uj

4. PEMBAHASAN

Isolat-isolat tersebut diperoleh dari bagian organ akar, batang dan daun masing-masing sebanyak dua, tiga dan sembilan isolat (Tabel 1). Pada Gambar 1 terlihat hasil uji antagonis masing-masing isolat bakteri endofit terhadap pertumbuhan mikroba target. Ada tiga isolat yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba target yaitu BtL2, DaLp1, dan DaLp3. Isolat BtL2 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Isolat DaLp1 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, *E. coli* dan *C. albicans*. Sedangkan isolat DaLp3 hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*. Hasil uji antagonis memperlihatkan masing-masing isolat endofit tersebut memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan mikroba target. Kemungkinan ini terkait senyawa bioaktif yang dikandung oleh masing-masing tanaman. Karena tanaman yang berbeda akan memiliki senyawa bioaktif yang berbeda. Hasil penelitian yang dilaporkan Utami et al, (2008) memperlihatkan bahwa dari 33 isolat bakteri endofit yang berasal dari tanaman *Bruguiera gymnorrhiza* hanya 7 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan 6 isolat yang mampu menghambat *E. coli*. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan⁸, kelima isolat bakteri endofit asal tanaman mengkudu mampu menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* dan *C. albicans*.

Isolat-isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai antimikroba selanjutnya dikarakterisasi morfologi. Hasil karakterisasi morfologi masing-masing isolat sangat beragam. Masing-masing isolat memiliki bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni yang berbeda. Sedangkan untuk bentuk sel dan sifat gram yang dominan adalah batang dan gram positif. Karakterisasi selengkapnya terdapat pada Tabel 3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa masing-masing isolat akan memiliki karakter morfologi yang berbeda walaupun diperoleh dari tanaman yang sama. Ini diperlihatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak et al, (2002) dimana tiga dari lima isolat bakteri endofit tanaman mengkudu memiliki sifat gram negatif.

Perbedaan aktivitas biokimia tersebut memperlihatkan bahwa masing-masing isolat memiliki enzim yang berbeda. Menurut pendapat Madigan et al, (2003) untuk mempelajari aktivitas enzimatik baik ekstraseluler dan intraseluler dapat diketahui dari kemampuannya mendegradasi substrat-substrat tertentu. Hal ini dijelaskan oleh Sunatmo (2009) bahwa 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.

5. KESIMPULAN

Adapun simpulan dari penelitian ini adalah terdapat sebanyak 5 isolat dari 14 isolat bakteri endofit asal tanaman langsung dan jaloh memiliki potensi sebagai antimikroba. Isolat DaLp1 memiliki aktivitas antimikroba yang berspektrum luas

6. DAFTAR PUSTAKA

- Azevedo J. L., W. Maccheroni, J. O. Pereira, W. Luiz de Araujo. 2000. Endophytic microorganism a review on insect control and recent advances on tropical plants. *J. of Biotech* 3 (1): 223-227.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan.
- Kumala S., E. B. Siswanto. 2007. Isolation and Screening of Endophytic Microbes from *Morinda citrifolia* and their Ability to Produce Anti-Microbial Substances. *Microbiology Indonesia* 1(3): 145-148.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, and J. Parker. 2003. *Brock Biology of Microorganism*, 10th ed. New Jersey: Prentice Hall.
- Sangat H. M., E. A. M. Zuhud, E. K. Damayanti. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Sarita H. 2020. *Indian Willow*. www.flowersofindia.com. Diakses tanggal 9 Maret 2022.
- Simanjuntak P., T. Parwati, Bustanussalam, T. K. Prana, S. Wibowo, H. Shibuya. 2002. Isolasi dan Kultivasi Mikrob Endofit Penghasil Senyawa Alkaloid Kinkona dari *Cinchona* spp. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 7(2):27-30.
- Strobel G. A., B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67: 491-502.
- Sugito W. M., D. A. Astuti, E. Handayani, Chairul. 2007. Morfometrik ususan performa ayam broiler yang diberi cekaman panas dan ekstrak n-Heksana kulit batang jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *Media Peternakan* 30(3):198-206.
- Sunatmo I. A. 2009. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Jakarta: Ardy Agency.
- Susanti, C. 2008. Penggunaa Tumbuhan Obat Malaria dan Filariasis Oleh Masyarakat di Kabupaten Pidie. *Skripsi*. Unsyiah, Banda Aceh.
- Utami U., Soemarno, Sumarno, Y. Risjani. 2008. Aktivitas Anti Bakteri Endofit Tanaman Mangrove Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Perikanan* 2(1): 42-48.