

Uji Daya Hambat Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hamtini¹*, Syarah Anliza¹, Shufiyani¹, Ira Nuraeni¹ Rachmi Afriani²

¹Politeknik Kesehatan Kemenkes Banten

²Prodi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Kapuas Sintang, Kalimantan Barat

*E-mail: hamtini@poltekkesbanten.ac.id

Abstrak

Penggunaan obat tradisional sebagai pilihan untuk pengobatan menjadi alternatif yang diminati karena obat tradisional terbukti relatif aman dengan cara penggunaan yang benar dan indikasi yang tepat serta jarang sekali menimbulkan efek samping. Salah satu upaya tersebut adalah mengeksplor dan menemukan senyawa antioksidan seperti beta karoten, astasantin, alkaloid, dan fenol pada tumbuhan. Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya, sehingga untuk mengefisiensikan cara mendapatkan senyawa 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. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui kemampuan isolat endofit daun namnam memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Desain dalam penelitian adalah deskriptif menggunakan uji laboratorium, yaitu uji daya hambat terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dibuat maka dapat di simpulkan bahwa hasil isolasi bakteri endofit dari daun tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) terdapat 18 bakteri Gram Negatif dan 1 bakteri Gram positif. Setelah dilakukan uji daya hambat di dapatkan bakteri endofit dengan kode 2.01 DN₃ dan 1.1 DN memiliki aktivitas tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia.coli*, sebesar 5.67 mm dan 5.33 mm di kategorikan ke dalam sedang. Sedangkan terdapat beberapa isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas tertinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 10.1 DN, 1.2 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 2.1 DN berturut-turut yaitu 5.33 mm, 7.33 mm, 7 mm, 5 mm, 5.33 mm juga di kategorikan ke dalam sedang.

Kata kunci: Bakteri Endofit; Uji antibakteri; Daun Namnam

Abstract

The use of traditional medicine as an option for treatment is an alternative that is of interest because traditional medicine is proven to be relatively safe with the correct use and the right indication and rarely causes side effects. One such effort is to explore and discover antioxidant compounds such as beta carotene, astasantin, alkaloids, and phenols in plants. To take bioactive compounds directly from the plant requires a lot of biomass or parts of the plant, so to make the method of obtaining these bioactive compounds more efficient, specific endophytic microbes are used which are obtained from the inside of the plant which are expected to be able to produce the number of bioactive compounds needed without having to extract from the plant. The aim of the study was to determine the ability of the endophytic isolates of Namnam leaves to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The design in this study was descriptive using laboratory tests, namely the inhibition test against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Based on the results and discussion that has been made, it can be concluded that the results of isolating endophytic bacteria from the leaves of the Namnam plant (*Cynometra cauliflora* L.) contained 18 Gram Negative bacteria and 1 Gram positive bacteria. After the inhibition test was carried out, it was found that endophytic bacteria with codes 2.01 DN₃ and 1.1 DN had the highest activity that could inhibit the growth of *Escherichia. coli*, 5.67 mm and 5.33 mm which were categorized into medium. While there are some isolates of endophytic bacteria that have the highest activity to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria, namely 10.1 DN, 1.2 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 2.1 DN respectively, namely 5.33 mm, 7.33 mm, 7 mm, 5 mm, 5.33 mm as well categorized into moderate.

Keywords: Endophytic Bacteria; antibacterial test; Namnam leaves

PENDAHULUAN

Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan masalah global yang sedang dihadapi baik pada negara berkembang maupun negara maju. Penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan adanya resistensi antibiotik. Oleh karena itu, dibutuhkan beberapa tindakan untuk mengurangi masalah ini. Beberapa upaya yang telah dilakukan antara lain mengontrol penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian tentang mekanisme resistensi secara genetik dan penemuan obat baru baik sintetik maupun yang berasal dari alam.

Hal inilah yang menjadi salah satu faktor bagi masyarakat untuk menggunakan bahan alam atau obat tradisional sebagai alternatif pengobatan. Salah satu upaya tersebut adalah mengeksplor dan menemukan senyawa-senyawa antioksidan seperti beta karoten, astasantin, alkaloid, dan fenol pada tumbuhan. Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya, sehingga untuk mengefisiensikan cara mendapatkan senyawa bioaktif tersebut, maka di gunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang di butuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya (Simarmata *et al.* 2007).

Mikroba endofit merupakan organisme hidup berukuran mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tanaman, sebagian besar ditemukan pada jaringan interseluler jarang sekali yang ditemukan intraseluler dan didalam jaringan vaskular selama periode tertentu dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inangnya (Sessitsch *et al.* 2002).

Menurut Hidayatun *et al.* 2011 beberapa bakteri endofit telah diketahui bermanfaat bagi tumbuhan yang ditumpanginya melalui sebuah interaksi berupa hubungan saling ketergantungan yang

bersifat mutualisme (Hidayatun *et al.* 2011). Berdasarkan penelitian yang di telah dilakukan oleh Jatiningrum, 2015 telah terdapat 17 isolat bakteri endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) dari tiga daerah yaitu Garut, Cianjur, Sukabumi yang menunjukkan aktivitas terhadap patogen. Berdasarkan hasil penelitian Munif *et al.* 2012, sebanyak 564 strain bakteri endofit berhasil di isolasi dari tanaman tomat dari daerah Jawa Barat, dimana genus bakteri endofit paling banyak ditemukan adalah *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* spp.

Bakteri endofit tanaman hutan Indonesia mempunyai prospek dalam menghasilkan senyawa aktif yang berguna untuk memproteksi serangan mikroba patogen tanaman (Melliawati, *et al.* 2006). Isolasi bakteri endofit pada tanaman *Morinda citrifolia* ditemukan tiga bakteri endofit Gram positif dan dua Gram negatif yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. subtilis* dan *Candida albicans* (Kumala 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian tentang potensi isolat-isolat endofit yang di isolasi pada daun tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) yang dapat berperan sebagai antibakteri sehingga di harapkan pada akhirnya di peroleh informasi bakteri endofit yang dapat berpotensi sebagai antimikroba.

METODE

Desain dalam penelitian ini adalah secara deskriptif dengan menggunakan uji laboratorium. Sampel yang digunakan isolat-isolat bakteri Endofit dari daun tanaman Namnam. Tahapan dalam pengumpulan data terdiri dari identifikasi isolat endofit dengan pewarnaan Gram, kemudian penyiapan bakteri bakteri patogennya yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Alat dan bahan

Bio Safety Cabinet (Biobase), Inkubator (Memmert), autoklaf (Hirayama), Oven (Memmert), Neraca analitik (Metler Toledo), Densitometer (DEN I Biosan), Hotplate, tip kuning, tip biru, Cawan petri, Erlenmeyer, *Trypticase soy Broth*, TSA (*Trypticase soy agar*) (HIMEDIA), TSB (*Trypticase soy*), (HIMEDIA) MHA (*Muller Hinton Agar*) (HIMEDIA). Fungi patogen (*Candida albicans*) Alkohol 96%, Alkohol 70%, Aquades, Reagan Pewarnaan Gram, NaCl fisiologis, spiritus, alkohol 70%,.

Prosedur kerja

Peremajaan Bakteri

Diambil 1 ose koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ose di inokulasikan ke media TSA di inkubasi 24 jam 37°C. Bakteri endofit di inokulasikan ke media TSB inkubasi 24 jam 37°C.

Penyiapan Sampel Uji

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* di inokulasikan ke NaCl 0.9% dan di masukkan ke dalam alat Mc Farland dan di dapatkan 0.5 Mc Farland.

Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* 0.5 Mc Farland di ambil 0.1 ml kemudian di sebar ke media MHA secara merata. Bakteri endofit di ambil dan di teteskan di cakram kosong, setelah itu cakram tersebut di inokulasikan ke media MHA. Di inkubasi selama 24 jam 37°C, kemudian aktivitas antibakteri di tetapkan dengan mengukur diameter zona hambat dengan menggunakan penggaris/jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antibakteri tersebut dapat dihitung melalui zona bening yang berbentuk disekitar biakan cakram. Data hasil dapat di lihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri

isolat bakteri Endofit dari daun Tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) terhadap bakteri *E.coli*

Kode Isolat	Rerata Zona Bening <i>E.coli</i>	diameter (mm)	Kontrol	
			(mm)	+
1.9 DN ₂		3.33		
3.1 DN		1.67		
10.1 DN		4.33		
10.1 DN ₅		2.67		
7.1 DN		2.33		
4.1 DN		2.33		
9.1 DN		3		
1.2 DN ₂		3.33		
2.0 DN ₃		1.67		
1.3 DN ₂		3.33	19	0
1.8 DN ₂		4.33		
5.1 DN		4		
2.01 DN ₃		5.67		
8.1 DN		4.33		
11.1 ₅ DN		-		
1.6 DN ₂		3		
1.1 DN		5.33		
2.1 DN		2.33		
1.5 DN ₂		3.33		

Berdasarkan Tabel 2. Dapat dilihat bahwa terdapat 19 bakteri endofit yaitu 1.9 DN₂, 3.1 DN, 10.1 DN, 10.1 DN₅, 7.1 DN, 4.1 DN, 9.1 DN, 1.2 DN₂, 1.3 DN₂, 2.0 DN₃, 1.8 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 8.1 DN, 11.1₅ DN, 1.6 DN₂, 1.1 DN, 2.1 DN, 1.5 DN² yang digunakan untuk melihat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Bakteri-bakteri endofit yang digunakan di isolasi dari daun tanaman Namnam.

Data menunjukkan bahwa isolat dengan kode 2.01 DN3 dan 1.1 DN memiliki aktivitas paling besar dengan rata-rata 5.67 mm dan 5.33 mm untuk bakteri pathogen *E.coli* dan termasuk kategori sedang. Sedangkan 16 isolat bakteri endofit yang lain 1.9 DN₂, 3.1 DN, 10.1 DN, 10.1 DN₅, 7.1 DN, 4.1 DN, 9.1 DN, 1.2 DN₂, 1.3 DN₂, 2.0 DN₃, 1.8 DN₂, 5.1 DN, 8.1 DN, 1.6 DN₂, 2.1 DN, 1.5 DN² yang diujikan menunjukkan aktivitas yang termasuk ke dalam kategori lemah dengan rata-rata diameter nya yaitu 4.33 mm-1,67 mm. Kontrol positif yang di gunakan dalam penelitian ini adalah antibiotic

klorampenicol dengan diameter 19 mm dan kontrol negatif berupa NaCl yang di gunakan berdiameter 0 mm.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri Endofit dari daun Tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kode Isolat	Rerata diameter Zona Bening (mm)	Kontrol	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	+
1.9 DN ₂	1		
3.1 DN	3.33		
10.1 DN	5.33		
10.1 DN ₅	4.67		
7.1 DN	2.67		
4.1 DN	3.67		
9.1 DN	1.33		
1.2 DN ₂	7.33		
2.0 DN ₃	2		
1.3 DN ₂	3x	16	0
1.8 DN ₂	4.33		
5.1 DN	7		
2.01 DN ₃	5		
8.1 DN	1.67		
11.15 DN	-		
1.6 DN ₂	4.33		
1.1 DN	4		
2.1 DN	5.33		
1.5 DN ₂	1		

Sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* zona hambat yang paling besar yaitu dengan kode 10.1 DN, 1.2 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 2.1 DN berturut-turut yaitu 5.33 mm, 7.33 mm, 7 mm, 5 mm, 5.33 mm. Untuk 14 isolat endofit yang lain nya yaitu 1.9 DN₂, 3.1 DN, 10.1 DN₅, 7.1 DN, 4.1 DN, 9.1 DN, 1.3 DN₂, 1.8 DN₂, 2.01 DN₃, 8.1 DN, 11.15 DN, 1.6 DN₂, 1.1 DN, 1.5 DN₂ termasuk ke dalam kategori lemah dengan rata-rata diameter nya berkisar antara 4.67 mm-1 mm. Isolat 11.15 DN tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dan *Staphylococcus aureus*. Zona bening yang terbentuk hasil dari uji daya hambat dapat di lihat pada Lampiran 6 dan 7. Kontrol positif yang di gunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol dengan diameter 19 mm dan kontrol negatif

berupa NaCl yang digunakan berdiameter 0 mm.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan eksplorasi bakteri endofit dari daun Namnam, selanjutnya isolat-isolat yang di dapat di identifikasi dengan pewarnaan Gram. Hasil dari pewarnaan Gram di dapat 18 isolat merupakan Gram negatif dan 1 isolat merupakan bakteri Gram positif. Pewarnaan Gram dilakukan untuk identifikasi awal untuk pengelompokan jenis bakteri berdasarkan dinding sel nya. Uji aktivitas antibakteri di lakukan terhadap dua jenis bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* yang termasuk ke dalam bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* termasuk bakteri Gram negatif. Penggunaan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif bertujuan untuk mengetahui sprektrum dari isolat-isolat bakteri endofit yang di dapatkan.

Berdasarkan Tabel 1. Dapat di lihat bahwa isolat bakteri endofit dari daun tanaman Namnam dengan kode 2.01 DN₃ dan 1.1 DN memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* paling tinggi yaitu 5.67 mm dan 5.33 mm, sedangkan isolat bakteri dengan kode 10.1 DN, 1.2 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 2.1 DN berturut-turut yaitu 5.33 mm, 7.33 mm, 7 mm, 5 mm, 5.33 mm memiliki daya hambat paling tinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Tabel 2). Menurut ketentuan kekuatan antibakteri yang di kemukakan oleh David Scout, kategori lemah di golongkan jika diameter zona yang terbentuk ≤ 5 mm, kategori sedang pada kisaran 5-10 mm, dan kategori kuat jika diameter zona bening yang terbentuk ≥ 10 mm (Lathifah 2008). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dari daun tanaman Namnam memiliki metabolit sekunder sebagai antibakteri, ini dapat di sebabkan karena bakteri endofit memiliki metabolit sekunder yang sama dengan tanamannya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan

yang telah dibuat maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi bakteri endofit dari daun tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) terdapat 18 bakteri Gram Negatif dan 1 bakteri Gram positif. Setelah dilakukan uji daya hambat di dapatkan bakteri endofit dengan kode 2.01 DN₃ dan 1.1 DN memiliki aktivitas tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*, sebesar 5.67 mm dan 5.33 mm di kategorikan ke dalam sedang. Sedangkan terdapat beberapa isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas tertinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 10.1 DN, 1.2 DN₂, 5.1 DN, 2.01 DN₃, 2.1 DN berturut-turut yaitu 5.33 mm, 7.33 mm, 7 mm, 5 mm, 5.33 mm juga di kategorikan ke dalam sedang.

DAFTAR RUJUKAN

- Aziz AFA, Iqbal M. 2013. Antioxidant activity and phytochemical composition of *Cynometra cauliflora*. *J Exp Integr Med.* 3(4): 337-341.
- Bacon CW, Hinton DM. 2006. Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. Di dalam: Gnanamanickam SS, editor. *Plant-Associated Bacteria*. Netherland: Springer.
- Hidayatun N, Susilowati DN, Mulya K. 2011. Identifikasi 26 Isolat Bakteri Endofitik dan Filosfer Padi dengan Analisis Sekuens 16s rDNA. *Berita Biologi* 10(4).
- Jatiningrum I. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun Sirsak (*Annona mucicata* L.) Penghasil Senyawa Antibakteri [Skripsi]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Kumala S, 2007. Isolation and screening of endophytic microbes from *Morinda citrifolia* and their ability to produce anti microbial substances. *J Microbiol Ind* 1(3): 145-148.
- Munif A, Hallmann J, Sikora R. 2012. Isolation of Endophytic Bacteria from Tomato and Their Biocontrol Activities Against Fungal Diseases. *Microbiology Indonesia*. 6(4): 148-156.
- Melliawati R, Widyaningrum DN, Djohan AP, Sukiman H. 2006. Pengakajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman. *Jurnal Biodiversitas*. 7(3): 221-224.
- Parida I. 2016. Isolasi, seleksi, dan Identifikasi bakteri endofit sebagai agens penginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri. [Tesis]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Primanita M. 2015. Analisis Metagenomik Aktinomiset Eendofit pada Tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) berdasarkan Gen 16S rRNA
- Purwanto U.M.S, Pasaribu F.H. 2015. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *J. Curr. Biochem.* 1(1);51-57.
- Radji M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Review Artikel*. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2(3): 113-126.
- Sessitsch A, Reiter B, Pfeifer U, Wilhelm E. 2002. Cultivation independent population analysis of endophytics in tree potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes specific PCR of 16S RRNA genes. *FEMS Microbiol Ecol* 39: 23-32.
- Sumarlin LO. 2017. Studi Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Namnam (*Cynometra cauliflora*) Secara in vitro dan in vivo pada Tikus *Sprague Dawlay* [Disertasi]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai antimikroba. *J Berk Penel Hayati*. 13.
- Zufkilfli L, Jekti D.S.D, Mahrus, Lestari, Rami D.A.C. 2016. Isolasi Bakteri Endofit dari Sea Grass yang tumbuh di kawasan Pantai Lombok dan potensinya Sebagai Sumber Antimikroba terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis.* 16(2);1411-9587.