

# ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI ANTIMIKROBA BAKTERI ENDOFIT ASAL TUMBUHAN JOHAR (*Cassia siamea* Lamk.)

## (Isolation, Characterization and Antimicrobial Test of Endophytic Bacteria From Yellow Cassia Plant (*Cassia siamea* Lamk.))

Risa Nursanty<sup>1</sup> dan Suhartono<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Syiah Kuala  
Jl. Syekh Abdur Rauf No. 3 Darussalam, Banda Aceh 23111

Telpon: +62 0651-742821, fax: +62 0651-7552291,

E-mail: nursanty01@yahoo.co.id

### Abstrak

Bakteri endofit menjadi salah satu alternatif penghasil senyawa antimikroba. Keberadaannya pada tumbuhan berkhasiat obat salah satunya tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) memungkinkannya memproduksi senyawa bioaktif seperti yang terkandung oleh tumbuhan inangnya. Hal tersebut mendorong perlunya mengisolasi, dan mengkarakterisasi bakteri endofit asal tumbuhan johar. Metode yang dilakukan meliputi proses sterilisasi sampel, isolasi bakteri endofit, dan karakterisasi morfologi serta fisiologi bakteri endofit. Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari hasil isolasi tanaman Johar adalah sebanyak tujuh isolat. Isolat DC 2, DC 3 dan BC 3 memiliki kemampuan antibakteri dengan diameter zona hambat masing-masing 5 mm, 8,5 mm dan 11,5 mm.

**Kata kunci:** endofit, *Cassia siamea* Lamk, antimikroba

### Abstract

Endophytic bacteria are of alternative of antimicrobial compound producers. Their existence in the medicinal plants of johar (*Cassia Siamea* Lamk.) enables to produce bioactive compounds similar to those contained by the host plants. It is necessary to isolate and characterize endophytic bacteria from johar. Methods consisted of samples sterilization, endophytic bacterial isolation, and characterization of the morphology and physiology of Endophytic bacteria. a total of seven isolates of endophytic bacterial isolates were obtained from the isolation of plant Johar. Isolates DC 2, DC 3 and BC 3 had antibacterial capabilities with inhibitory zone diameters of 5 mm, 8.5 mm and 11.5 mm respectively.

**Key words:** endophytes, *Cassia siamea* Lamk, antimicrobials

### PENDAHULUAN

Senyawa antimikroba tidak hanya dapat dihasilkan oleh tumbuhan maupun hewan, akan tetapi dapat juga berasal dari mikroba. Salah satu yang berpotensi tersebut adalah bakteri endofit. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan vascular tumbuhan tanpa menyebabkan efek negatif. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Barbara and Christine, 2006). Penelusuran dan penyeleksian bakteri endofit khususnya asal tumbuhan obat sebagai alternatif sumber antimikrobal baru menjadi

suatu hal yang penting untuk diteliti. Mengingat perbedaan antara tumbuhan yang satu dengan tumbuhan lainnya terlebih fisiologi tumbuhan tinggi akan berbeda jika berada di lingkungan yang berbeda, maka hal tersebut akan menyebabkan keanekaragaman bakteri endofit menjadi sangat tinggi.

Tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) atau disebut *Cie Brek* dalam bahasa Aceh merupakan famili Caesalpiniaceae. Tumbuhan johar selama ini banyak dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat untuk mengobati penyakit gatal-gatal, kudis, dan malaria. Tumbuhan johar mengandung senyawa kimia *cassiadimine* (Heyne, 1987).

### METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) yang berasal dari Aceh Besar. uji

yang digunakan adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Biologi, IPB Bogor. Untuk *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.

**Metode Penelitian**

*Sterilisasi sampel*

Organ akar, batang, dan daun dari masing-masing tanaman johan dipotong lebih kurang 1 cm. Potongan organ tersebut selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Setiap potongan akar, batang dan daun kemudian disterilisasi dengan etanol 75% selama lebih kurang 3 menit serta Na hipoklorit (Bayclin 3,25%) selama lebih kurang 20 menit dan kembali disterilkan dengan etanol 75%.

*Isolasi Bakteri Endofit*

Potongan akar dan batang diletakkan di media NA yang mengandung nistatin 100 mg/l. Untuk organ daun terlebih dahulu digerus dan ditambahkan garam fisiologis untuk mempermudah pengambilan ekstrak. Selanjutnya sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam cawan. Inkubasi dilakukan selama seminggu pada suhu 30 °C. Koloni bakteri endofit yang muncul pada media isolasi kemudian dilakukan pemurnian. Pemurnian dilakukan dengan menginokulasikan isolat pada media NA baru dan diinkubasi selama beberapa hari pada suhu 30 °C.

*Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi*

Karakterisasi morfologis dilakukan dengan mengamati warna koloni, S bentuk sel dan pewarnaan Gram. Selanjutnya isolat bakteri endofit yang menghasilkan zona hambat yang terluas dikarakterisasi fisiologinya menggunakan perangkat MICROBACT™ Gram – Negative Identification System 24E (OXOID).

*Uji Antimikroba*

Uji antimikroba isolat bakteri endofit terhadap pertumbuhan bakteri target (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) dilakukan dengan menggunakan media NA. Sedangkan terhadap cendawan target (*Candida albicans*) dilakukan dengan menggunakan media PDA. Isolat bakteri endofit kemudian dipindahkan ke masing-masing media yang mengandung bakteri dan cendawan target. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar isolat bakteri endofit. Isolat yang menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri dan juga cendawan target selanjutnya dikoleksi dan dikarakterisasi lebih lanjut.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sebanyak tujuh isolat bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari tumbuhan johan. Pada Tabel 1 di bawah ini terlihat ketujuh isolat diperoleh dari organ daun dan batang. Sebanyak 4 isolat berasal dari sampel daun (DC) dan sisanya 3 isolat berasal dari sampel batang (BC). Karakterisasi morfologi yang meliputi warna koloni, bentuk sel dan sifat Gram dari ketujuh isolat tersebut selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengujian antimikroba dilakukan terhadap lima mikroba target yang mewakili kelompok bakteri gram positif, gram negatif dan cendawan. Menurut Prescott *et al.* (2002), adanya penghambatan isolat endofit terhadap pertumbuhan mikroba target terlihat dari terbentuknya zona hambatan disekeliling koloni isolat endofit. Hasil uji antimikroba selengkapnya terdapat pada Tabel 2 di bawah ini.

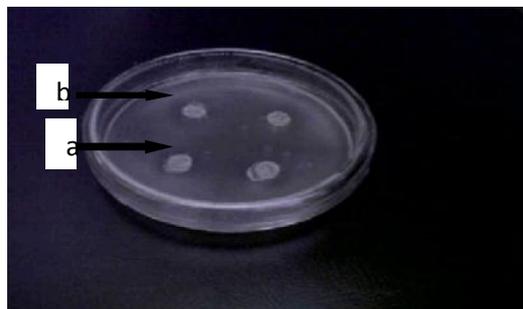
Tabel 1. Hasil isolasi dan karakterisasi morfologi

No	Kode Isolat	Sampel	Warna Koloni	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram
1	DC 1	Daun	Putih	Bulat	Positif
2	DC 2	Daun	Putih	Batang	Positif
3	DC 3	Daun	Cream	Batang	Positif
4	DC 4	Daun	Putih	Batang	Negatif
5	BC 1	Batang	Putih	Batang	Positif
6	BC 2	Batang	Putih	Batang	Positif
7	BC 3	Batang	Cream	Bulat	Positif

Tabel 2. Hasil uji antimikroba isolat bakteri endofit terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*

No	Kode Isolat	Zona Hambatan (mm)				
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
1	DC 1	-	-	-	-	-
2	DC 2	5	-	-	-	-
3	DC 3	8,5	-	-	-	-
4	DC 4	-	-	-	-	-
5	BC 1	-	-	-	-	-
6	BC 2	-	-	-	-	-
7	BC 3	11,5	-	-	-	-

Keterangan: -: tidak membentuk zona hambat



Gambar 1. Zona hambat yang dihasilkan oleh isolat endofit BC 3 (a). Isolat endofit, (b). Zona hambat

Pada Tabel 2 terlihat isolat endofit hanya mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Isolat yang memiliki kemampuan penghambatan tersebut hanya tiga isolat yaitu: DC 2, DC 3 dan BC 3 masing-masing sebesar 5 mm, 8,5 mm dan 11,5 mm. Pada Gambar 1 berikut terlihat zona hambat yang dihasilkan oleh isolat BC 3.

Perbedaan kemampuan penghambatan yang dihasilkan oleh ketujuh isolat endofit tersebut dimungkinkan karena perbedaan struktur sel yang dimiliki oleh masing-masing mikroba target. Selain itu kemungkinan isolat

Isolat DC 3 dan BC 3 yang memiliki zona hambat luas selanjutnya dikarakterisasi secara fisiologi. Karakterisasi fisiologi kedua isolat bakteri endofit dilakukan menggunakan MICROBACTTM Gram – Negative Identification System 24E (OXOID). Hasil karakterisasi selengkapnya tersaji pada Tabel 3.

endofit yang berasal dari tanaman johar memiliki spektrum penghambatan yang sempit. Penghambatan yang ditunjukkan oleh isolat endofit johar hanya bersifat sebagai antibakteri.

Isolat-isolat endofit tanaman johar yang tidak menunjukkan kemampuan antimikroba kemungkinan memiliki potensi lain. Beberapa hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri endofit selain bersifat sebagai antimikroba dapat juga menghasilkan enzim xilanase (Kumala *et al.* 2006) dan enzim kitinase (Harni *et al.* 2007).

## SIMPULAN

Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari daun dan batang tanaman Johar masing-masing sebanyak empat dan tiga isolat. Tujuh isolat endofit memiliki warna koloni, bentuk sel dan sifat Gram yang berbeda. Tiga isolat endofit asal tanaman Johar memiliki kemampuan antibakteri yaitu DC 2, DC 3 dan BC 3. Isolat DC 2, DC 3 dan

BC 3 memiliki luas zona hambat masing-masing sebesar 5 mm, 8,5 mm dan 11,5 mm. Isolat DC 3 dan BC 3 memiliki kemampuan fisiologis yang berbeda antara satu sama lainnya.

Tabel 3. Ciri-ciri fisiologis isolat DC3 dan BC3

Ciri-ciri	DC3	BC3
Oksidase	+	+
Nitrat	-	-
Lysin	+	+
Ornitrin	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-
Glukosa	-	+
Manitol	-	-
Xilosa	-	-
ONPG	+	+
Indol	-	-
Urease	+	+
VP	+	+
Sitrat	-	-
TDA	-	-
Gelatin	-	-
Malonat	-	-
Inositol	-	-
Sorbitol	-	-
Rhamnosa	-	-
Sukrosa	-	-
Laktosa	-	-
Arabinosa	-	-
Adonitol	-	-
Rafinosa	-	-

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

#### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada I-MHERE Batch II yang telah mendanai penelitian ini melalui *Reseach Grant* 2011 dan juga Darliana yang membantu pada penelitian sehingga akhirnya penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Barbara J. E. S., and Christine J. C. B. 2006. What are Endophytes. In *Microbial Root Endophytes* (Eds: Thomas N. Sieber). Springer-Verlag, Berlin.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Prescott, L. M., J. P. Harley, and D. A. Klein. 2002. *Microbiology* 5<sup>th</sup> ed. Mc Graw-Hill. America.
- Kumala, S., Mangunwardoyo, W., dan Detrian, D. 2006. Uji aktivitas enzim xilanase ekstrakseluler dan intraseluler bakteri endofit tanaman Brucea javanica L.) Merr. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4(2): 1693-1831.
- Harni, R., Munif, A., Supraman, dan Mustika, I. 2007. Potensi bakteri endofit pengendali nematoda peluca akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada nilam. *Jurnal of Bioscience* 14(1):1978-3019.