



Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

Isolasi, Karakterisasi dan Skrining Antimikrobia Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.)

Wildiani Wilson¹, Yekti Asih Purwestri², Langkah Sembiring³

¹Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

³Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Info Artikel

Diterima 31 Januari 2017
Direvisi 18 Mei 2017
Disetujui 31 Juli 2017
Tersedia Online 4 Agustus 2017

Keywords:

Purwoceng, Bakteri Endofit, Antimikrobia

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri, menganalisis keragaman karakter bakteri endofit dan mengetahui aktivitas antimikrobia dari bakteri endofit tanaman purwoceng. Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan metode irisan segmen akar sedangkan karakterisasi bakteri endofit dianalisis berdasarkan morfologis koloni, morfologi sel dan biokimiawi. Karakter morfologis koloni dapat dilihat melalui bentuk koloni, tepian, elevasi dan warna kolon sedangkan morfologi sel dilihat dari bentuk sel dan sifat Gram. Karakter biokimiawi dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat, katalase, hidrolisis pati, produksi H₂S, reduksi nitrat dan uji oksidase. Pengujian aktivitas antimikrobia bakteri endofit menggunakan metode blok agar. Sebanyak 69 koloni bakteri endofit berhasil diisolasi dan hanya 30 isolat berhasil dipurifikasi. Isolat yang diperoleh didominasi oleh bakteri Gram negatif (70%). Hasil pengamatan morfologis menunjukkan adanya variasi diantara 30 isolat yang diperoleh. Skrining aktivitas antimikrobia menunjukkan hanya isolat GP11 dan GP12 yang berpotensi menghambat *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat yang sama yaitu 1,72 cm. Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat ditemukan pada akar purwoceng yang menunjukkan keragaman dan memiliki potensi antimikrobia.

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati tinggi (*megabiodiversity*) berupa flora dan fauna.

Sejak lama telah diketahui bahwa tumbuhan dapat digunakan sebagai salah satu sumber obat. Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih

*Corresponding Author:

Wildiani Wilson

Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273.

E-mail: wildianiwilson@gmail.com

melakukan pengobatan tradisional dengan menggunakan obat yang berasal dari tumbuhan (Radji, 2005). Penggunaan tumbuhan sebagai bahan baku obat tidak hanya digunakan di Indonesia saja, tetapi juga di Malaysia, Singapura, Korea, Jepang serta negara lainnya (Simarmata *et al.*, 2007).

Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) merupakan tanaman endemik Indonesia yang telah diketahui berkhasiat obat yaitu sebagai aprodisiak (Nasihun, 2009), diuretik, tonik (Roostika *et al.*, 2007), antijamur, dan antibakteri. Penduduk di sekitar Pegunungan Dieng telah menggunakan tanaman ini sebagai campuran ramuan tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit dan gangguan kesehatan. Khasiat obat dari tanaman tidak terlepas dari kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan yang lainnya (Karuppusamy, 2009). Senyawa bioaktif tersebut dihasilkan oleh tanaman karena adanya interaksi antara tanaman dengan mikrobia endofit (Tan & Zou, 2001).

Mikrobia endofit merupakan mikrobia yang sebagian atau seluruh siklus hidupnya berada pada jaringan tanaman tetapi tidak memberikan efek negatif terhadap *host plant* (Zinniel *et al.*, 2002). Hampir semua jenis tanaman berinteraksi dengan mikrobia endofit karena dapat membantu peningkatan pertumbuhan tanaman (Khan & Doty, 2009), memberikan proteksi terhadap serangan mikrobia patogen (Melliawati *et al.*, 2006) dan membantu dalam penyerapan nutrisi. Mikrobia endofit mampu menghasilkan senyawa kimia yang sama dengan senyawa kimia tanaman inang. Oleh sebab itu, mikrobia endofit berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai alternatif senyawa obat yang baru.

Beberapa tahun terakhir, banyak penelitian yang melihat potensi mikrobia endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif dari berbagai tanaman obat. Namun masih banyak yang belum mengkaji mengenai mikrobia endofit dari tanaman purwoceng. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri, menganalisis

keragaman karakter bakteri endofit dan mengetahui aktivitas antimikrobia dari bakteri endofit tanaman purwoceng.

Bahan dan Metode

1. Isolasi Bakteri Endofit

Lima belas tanaman purwoceng yang sehat diambil dari tiga lokasi berbeda yaitu Gunung Putri, Ranupani dan Dataran tinggi Dieng. Seluruh tanaman dibersihkan dengan air untuk menghilangkan tanah kemudian bagian akar dipotong sepanjang ± 12 cm lalu dipotong lagi menjadi enam bagian dengan ukuran 2 cm. Selanjutnya akar direndam dengan etanol 70 % selama 3 menit, dicuci dengan larutan *Sodium hypochlorite* 5,25 % selama 5 menit, kemudian dibilas dengan etanol 70 % selama 30 detik dan terakhir dibilas lima kali dengan akuades steril. Sebanyak 1 ml air bilasan terakhir diinokulasikan pada medium steril *Trypticase Soy Agar* (TSA, Merck) dan inkubasi selama 5 hari pada suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Apabila terdapat koloni bakteri pada medium TSA maka sterilisasi diulangi kembali sampai benar-benar bersih. Akar tanaman yang permukaannya telah steril diiris menggunakan *scalpel*, kemudian irisan akar tersebut diletakkan secara terbalik pada medium TSA steril secara aseptis. Medium yang terdapat irisan akar diinkubasi selama 5 hari pada suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Koloni bakteri endofit yang tumbuh dipindahkan ke agar miring, dipurifikasi dan disimpan untuk uji selanjutnya (Marquez-Santacruz *et al.*, 2010).

2. Karakterisasi morfologis dan biokimiawi

Isolat bakteri endofit dikarakterisasi morfologis meliputi morfologi koloni dan sel. Morfologi koloni yang diamati adalah bentuk koloni, elevasi, tepian, konsistensi dan warna sedangkan untuk morfologi sel yang diamati adalah bentuk sel dan sifat Gram. Karakter biokimiawi dilakukan dengan pengujian katalase, hidrolisa pati, reduksi nitrat, oksidase, fermentasi karbohidrat, motilitas, hidrolisis gelatin dan

sifat aerob/anaerob (Hadioetomo, 1985; Fardiaz, 1989; Panchal & Ingle, 2011).

3. Uji Aktivitas Antimikrobia

Bakteri *Escherichia coli* (IFO 3301) dan *Staphylococcus aureus* (IFO 13276) digunakan sebagai bakteri target. Bakteri uji diinokulasikan ke dalam 10 ml *Trypticase Soy Broth* (TSB) lalu diinkubasi selama 24 jam, kemudian suspensi bakteri uji diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabungreaksi berisi larutan ringer dan dibuat serial pengenceran sampai 10^{-2} . Sebanyak 100 μ l aliquot dari suspensi bakteri uji diambil dan dimasukkan ke dalam petri yang terdapat media TSA steril padat, disebar menggunakan *dryglasky* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Proseduryang sama dilakukan untuk bakteri target. Selanjutnya, masing-masing petri dari bakteri uji dan target dilubangi, lalu potongan agar dari bakteri uji di letakkan pada bekas lubang bakteri target dan diinkubasi selama 24 jam. Aktivitas antimikrobia dari bakteri uji ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih disekeliling potongan agar tersebut.

Hasil

1. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari akar tanaman purwoceng yang berasal dari Ranupani, Gunung Putri dan Dataran tinggi Dieng (Gambar 1). Hasil isolasi dari 106 segmen akar purwoceng berhasil mendapatkan 69 isolat bakteri endofit, kemudian dipurifikasi dan diperoleh 30 isolat endofit murni (Tabel 1).



Gambar 1. Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Purwoceng. (a) Ranupani, (b) Gunung Putri dan (c) DataranTinggi Dieng.

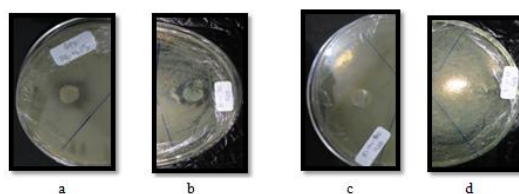
Tabel 1. Isolasi Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Purwoceng

	Lokasi	Jumlah irisan yang ditumbuhi koloni bakteri	Isolat yang berhasil dipurifikasi
1	Ranupani (RP)	3	3
		3	2
		2	2
		6	1
2	Gunung Putri (GP)	7	3
		6	1
		8	1
		6	4
3	Dataran tinggi Dieng (DG)	5	5
		7	2
		8	3
		8	3

Hasil berbagai pengujian biokimiawi juga menunjukkan hasil bervariasi sehingga dapat dikatakan bakteri endofit dari akar purwoceng beragam (Tabel 2).

2. Skrening Isolat Bakteri Endofit dalam Aktivitas Mikrobia

Tiga puluh isolat yang berhasil diisolasi dilakukan skrening aktivitas antimikrobia. Hasil uji ini, hanya 2 isolat yang memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *S. aureus* yaitu isolat GP11 dan GP12. Kemampuan antimikrobia tersebut ditandai adanya zona jernih di sekitar isolat bakteri endofit dengan ukuran diameter zona masing-masing isolat yaitu 1,72 cm (Gambar 2).



Gambar 2. Uji aktivitas antimikrobia isolat bakteri endofit dari akar tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molck.). (a) isolat GP11, (b) isolat GP12 terhadap *S. aureus* (c) isolat GP11, (d) isolat GP12 terhadap *E. coli*.

Tabel 2. Karakterisasi Biokimiawi Isolat Bakteri Endofit Akar Tanaman Purwoceng dari Lokasi Pengambilan Sampel Ranupani, Gunung Putri dan Dataran Tinggi Dieng.

Karakter	RP1	RP2	RP4	RP5	RP6	RP8	RP9	RP10	RP12	RP13	GP1	GP2	GP7	GP8	GP9
penggunaan karbohidrat:															
glukosa	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+
sukrosa	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
laktosa	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
produksi gas	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
katalase	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
hidrolisis gelatin	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
reduksi nitrat	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
oksidase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
hidrolisis pati	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
produksi H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
kebutuhan O ₂	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
motility	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+

Keterangan: Terjadi reaksi: +; tidak terjadi reaksi: -

Kebutuhan O₂: +++++ (aerobik), +++ (mikroaerofilik), ++ (anaerob fakultatif), + (anaerobik)

Tabel 2. Karakterisasi Biokimiawi Isolat Bakteri Endofit Akar Tanaman Purwoceng dari Lokasi Pengambilan Sampel Ranupani, Gunung Putri dan Dataran Tinggi Dieng (Lanjutan)

Karakter	GP11	GP12	GP14	DG1	DG2	DG3	DG6	DG7	DG9	DG13	DG14	DG15	DG17	DG18	DG20
penggunaan karbohidrat:															
glukosa	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
sukrosa	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
laktosa	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
produksi gas	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
hidrolisis gelatin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
reduksi nitrat	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
oksidase	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
hidrolisis pati	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+
produksi H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kebutuhan O ₂	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++
motility	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+

Keterangan: Terjadi reaksi: +; tidak terjadi reaksi: -

Kebutuhan O₂: +++++ (aerobik), +++ (mikroaerofilik), ++ (anaerob fakultatif), + (anaerobik)

Diskusi

Tiga puluh isolat murni bakteri endofit menunjukkan morfologi koloni (tepi koloni, elevasi koloni dan warna) yang bervariasi. Hasil pengamatan morfologi sel menunjukkan sebanyak 9 isolat (30%) bersifat Gram positif yang terdiri dari 8 isolat sel basil dan 1 isolat selkokus serta 21 isolat lainnya (70%) bersifat Gram negatif basil. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dari akar purwoceng didominasi oleh Gram negatif basil. Berbagai penelitian menemukan bakteri endofit didominasi oleh

bakteri kelompok *Proteobacteri* yang merupakan kelompok bakteri Gram negatif (Surette *et al.*, 2003; Vega *et al.*, 2005; Mano *et al.*, 2007; Seo *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2011). Pengujian biokimiawi juga menunjukkan hasil yang beragam diantara 30 isolat bakteri endofit. Perbedaan karakter dari 30 isolat tersebut dipengaruhi oleh tanaman inangnya. Faktor-faktor fisiologis yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman akan mempengaruhi komunitas bakteri endofit seperti struktur tanah, umur tanaman, kondisi lingkungan dan waktu pengambilan sampel

(Mano *et al.*, 2007; Helander *et al.*, 2007). Isolat bakteri endofit akar tanaman purwoceng hanya memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *S.aureus*. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Nursanti dan Suhartono (2012) yang memperoleh aktivitas antimikrobia isolat bakteri endofit tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.) yang hanya menghambat pertumbuhan *S. aureus* saja dari 5 mikroba target antara lain *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Isolat-isolat endofit dari akar tanaman purwoceng yang tidak menunjukkan potensi antimikrobia kemungkinan memiliki senyawa potensial lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikroba endofit dapat menghasilkan zat antioksidan (Jayanti *et al.*, 2011), hormon IAA (Patel *et al.*, 2012), antitumor (Chen *et al.*, 2013) dan antifungal (Pereira de melo *et al.*, 2009). Penelitian ini menunjukkan adanya keragaman karakter bakteri endofit dari akar tanaman purwoceng yang memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *S. aureus*.

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada tanaman purwoceng terdapat bakteri endofit yang beragam dan potensial sebagai antimikrobia. Akan tetapi, penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk mendapatkan hasil yang lebih bermanfaat untuk kehidupan yaitu perlu dilakukan karakterisasi molekular dengan sekuensing untuk isolat GP11 dan GP 12 dan dilakukan eksplorasi metabolit sekunder isolat bakteri endofit yang diperoleh untuk mengetahui potensi lainnya.

Ucapan Terimakasih

Harto Widodo, M. Biotech selaku Ketua Peneliti yang memberikan kesempatan penulis untuk melakukan penelitian, mendapatkan fasilitas dan kebutuhan penelitian.

Referensi

Chen, Yi-Tao., Yuan, Q, Shan, Le-Tian., Lin, Mei-Ai., Cheng, Dong-Qing.& Li, Chang-Yu. 2013. Antitumor activity of

bacterial exopolysaccharides from the endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* sp. isolated from *Ophiopogon japonicus*. *Oncology Letters*.**5**: 1787-1792.

Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.

Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Pangan dalam Praktek, Teknik dan Prosedur dengan Laboratorium*. Gramedia. Jakarta.

Helander, M., Ahlholm, J., Sieber, T.N., Hinneri, S. & Saikkonen, K. 2007. Fragmented environment affects birch leaf endophytes. *New Phytologist*.**175**: 547-553.

Jayanthi, G., Kamalraj, S., Karthikeyan, K. & Muthumary, J. 2011. Antimicrobial and antioxidant activity of the endophytic fungus *Phomopsis* sp. GJJM07 isolated from *Mesua ferrea*. *Int J. Curr. Sci.* **1**: 85-90.

Karuppusamy, S. 2009. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. *Journal of medicinal Plants Research*. **3**(13): 1222-1239.

Khan, Z. & Doty, S.L. 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant Soil*. Doi 10.1007/s11104-009-9908-1.

Mano, H., Tanaka, F., Nakamura, C., Kaba, H. & Morisaki, H. 2007. Culturable endophytic bacterial flora of the maturing leaves and roots of Rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a paddy field. *Microbes Environmental*.**22**(2): 175-185.

Marquez-Santacruz, H.A., Hernandez-Leon, R., Orozco-mosqueda, M.C., Velazquez-Sepulveda, I. & Santoyo, G. 2010. Diversity of bacterial endophytes in roots of Mexican husk tomato plants (*Physalis ixocarpa*) and their detection in the

- rhizosphere. *Genetics and molecular Research*. **9**(4): 2372-2380.
- Melliawati, R., Widyaningrum, D.N., Djohan, A.C. & Sukiman, H. 2006. Pengkajian bakteri endofit penghasil senyawa bioaktif untuk proteksi tanaman. *Biodiversitas*. **7**(3): 221-224.
- Nasihun, F. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck.) terhadap peningkatan indikator vitalitas pria. Studi eksperimental pada tikus jantan *Sparague dawley*. *Sains medika*. **1**(1): 53-62.
- Nursanty, R. & Suhartono. 2012. Isolasi, karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit asal tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. **4**(1): 7-10.
- Panchal, H. & Ingle, S. 2011. Isolation and characterization of endophytes from root of medicinal plant *Chlorophytum borivilianum* (Safed musli). *Journal of Advances in Developmental Research*. **2**(2): 205-209.
- Patel, H.A., Patel, R.K., Khristi, S.M., Parikh, K. & Rajendran, G. 2012. Isolation and characterization of bacterial endophytes from *Lycopersicon esculentum* plant and their plant growth promoting characteristics. *Nepal Journal of Biotechnology*. **2**(1): 37-52.
- Pereira, P., Ibanez, F., Rosenblueth, M., Etcheverry, M. & Martinez-Romero, E. 2011. Analysis of bacterial diversity associated with the roots of Maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. *International Scholarly Research Network*. doi: 10.5402/2011/938546.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **2**(3): 113-126.
- Roostika, I., Darwati, I. & Megia, R. 2007. Kriopreservasi tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molck.) dengan teknik vitrifikasi. *Berita Biologi*. **8**(6): 423-431.
- Seo, W.T., Lim, W.J., Kim, E.J., Yun, H.D., Lee, Y.H. & Cho, K.M. 2010. Endophytic bacterial diversity in the Young Radish and their antimicrobial activity against pathogens. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **53**(4): 493-503.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S. & Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk. Penel. Hayati*. **13**: 85-90.
- Surette M.A., Sturz A.V., Lada R.R. & Nowak J. 2003. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. sativus): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant and Soil*. **253**: 381-390.
- Tan R.X. & Zou, W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod. Rep.* **18**: 448-459.
- Vega, F.E., Pava-Ripoll, M, Posada, F & Bayer, J.S. 2005. Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. *Journal Basic Microbiology*. **45**(5): 371-380.
- Zinniel D.K., Lambrecht, P. & Harris B.N., Feng, Z., Kuczarski, D., Higley, P., Ishimaru, C.A., Arunakumari, A., Barletta, R.G. & Vidaver, A.K. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl Environmental Microbiol.* **68**: 2198-2208.