

# MIKROBA ENDOFIT “SI PEMBUNUH” *Escherichia coli*

Febri Walpajri <sup>1)</sup>, Rohyani <sup>2)</sup>, Sari Umayah <sup>3)</sup>,

<sup>1)</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau  
Email: febriwalpajri@gmail.com

<sup>2)</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau  
Email: yani\_december@yahoo.com

<sup>3)</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau  
Email: sari\_umayah@yahoo.com

## Abstract

*Endophytic microbes are microscopic microorganisms (bacteria and fungi) that live in the tissues of plants, leaves, roots, fruits and stems. The parasite plants (Helixanthera sp.) on sapodilla (Manilkara zapota), cocoa (Theobroma cacao) and coffee (Coffea arabica) are medicinal plants. These plants have endophytic microbes that have antibacterial compounds as antibiotics. The purpose of this study was to get endophytic microbial isolates from parasite plants (Helixanthera sp.) on sapodilla, cocoa and coffee, and determine the antibacterial activity against Escherichia coli. Sampling was conducted in Kampar regency and Pekanbaru city. The parasite plants were collected from the field and their endophytic microbes were isolated using surface sterilization method and purified before being tested the activity against E. coli. The selected microbes were then characterized. The results obtained 30 endophytic bacterial isolates and 10 endophytic fungi that had activity against E. coli. Endophytic bacteria isolate which had the highest activity against E. coli was Bbs4 isolate from sapodilla parasites with 12,1 mm inhibition zone diameter and endophytic fungi isolate which had the highest activity against E. coli was Jbc2 isolate (genus Penicillium) from cocoa parasites with 12,1 mm inhibition zone diameter.*

**Keywords:** antibacterial, endophytic microbes, *Escherichia coli*, parasite plant

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia dikenal memiliki berbagai macam tanaman obat yaitu sebanyak 940 spesies digunakan sebagai bahan obat, dari sekian banyak jenis tanaman obat baru 20-22% yang dibudidayakan dan diketahui khasiatnya, dan sekitar 78% diperoleh dari

eksplorasi (pengambilan langsung) dari hutan (Masyhud 2010). Setiap tumbuhan memiliki metabolit sekunder sebagai antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit secara berkoloni. Dari 30.000 jenis tumbuhan yang ada di bumi memiliki satu atau lebih jenis bakteri dan jamur endofit yang berguna sebagai antibakteri dan antifungi (Strobel *et al.* 2003).

Salah satu contoh tanaman obat adalah benalu. Benalu merupakan tanaman perdu yang bersifat parasit pada tanaman budidaya yang memiliki banyak manfaat sebagai obat herbal yang dapat mengobati beberapa penyakit contohnya diare yang disebabkan oleh bakteri patogen *Escherichia coli*.

Pada saat sekarang ini banyak antibiotik baru yang didapat dari ekstrak tanaman herbal sebagai antimikroba hal ini karena penggunaan antibiotik kimiawi sangat mahal dan dapat merusak kesehatan manusia. Maka banyak dilakukan penelitian tentang antibiotik dari ekstrak tanaman herbal tetapi, penggunaan ekstrak dari tanaman herbal tidak efektif karena membutuhkan banyak jumlah bagian tanaman untuk diekstrak. Oleh karena itu, untuk efisiensi dalam menghasilkan antibiotik baru maka dilakukan isolasi dan seleksi mikroba endofit sebagai antimikroba dari tanaman benalu *Helixanthera sp.* dan menguji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat mikroba endofit (jamur dan bakteri) dari benalu (*Helixanthera sp.*) pada inang yang berbeda yaitu: sawo (*Manilkara zapota*), coklat (*Theobroma cacao*) dan kopi (*Coffea arabica*) dan menguji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

## 2. METODE

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2013 – April 2014. Sampel benalu diambil dari kota Pekanbaru dan Kab. Kampar Propinsi Riau. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, rak tabung reaksi, tabung reaksi, gunting, erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, tissue, mikropipet,

*aluminium foil*, kapas, kain kasa, *beaker glass*, kertas label, bunsen, plastik, kertas, *glass object*, jarum ose, mikroskop, autoklaf, oven, *laminar air flow*, *microwave*, timbangan, sprayer, dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan benalu sawo, coklat dan kopi, biakan *E. coli* (koleksi Fakultas Kedokteran Universitas Riau), kristal violet, iodine, etanol, safranin, alkohol 96%, kentang, dekstrosa,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , *yeast extract*, sukrosa, aquades, alkohol 70%, spiritus, *nutrient broth*, air, etanol 75%, natrium hipoklorit 5,3%, dan agar.

### Isolasi Mikroba Endofit

Isolasi mikroba endofit dilakukan dengan metode Tomita (2003). Tanaman benalu diambil dari lapangan dan kemudian sampel tanaman dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya dengan air mengalir. Kemudian bagian tanaman dipotong dengan ukuran 2x2 cm yaitu bagian daun dan bongkol benalu sedangkan bagian ranting dengan ukuran panjang 2 cm dan selanjutnya disterilisasi permukaan menggunakan larutan etanol 75% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit 5,3% selama 5 menit dan terakhir dibilas dengan etanol kembali selama 30 detik.

Setelah itu sampel dibilas dengan air steril beberapa kali dan kemudian *overlay* pada medium NA untuk bakteri endofit dan pada medium PDA untuk jamur endofit dengan cara membelah bagian tanaman dan meletakkan pada posisi tertelungkup. Cawan petri yang telah berisi sampel tanaman diinkubasi pada suhu ruang selama 2-4 hari.

Mikroba endofit yang tumbuh secara bertahap dimurnikan satu per satu (bentuk dan warna koloni yang berbeda) dengan cara memindahkan bakteri dan jamur endofit yang telah tumbuh pada medium NA dan PDA.

### Peremajaan Isolat Bakteri *Escherichia coli*

Isolat bakteri uji *E. coli* diremajakan dengan metode *streak plate* pada medium NA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

### Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli*

Suspensi bakteri *E. coli* dibuat dengan mengambil satu ose kultur murni bakteri lalu diinokulasi kedalam tabung reaksi yang telah

berisi 10 ml NB. Lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu ruang.

### Uji Aktivitas Mikroba Endofit

Pengujian aktivitas mikroba endofit menggunakan metode *agar disc*. Kultur murni *E. coli* yang berumur 18-24 jam diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri. Setelah itu sebanyak 10 ml *Nutrient Agar* (NA) dituangkan ke dalam cawan petri dengan metode *pour plate* lalu dibiarkan sampai dingin.

Kemudian diletakkan potongan agar biakan bakteri (48 jam) dan jamur (5 hari) masing-masing berdiameter 6 mm (Al-askar 2011) dengan posisi ditengah cawan petri lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari untuk bakteri dan 5 hari untuk jamur. Setelah itu diamati dan diukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

### Karakterisasi Mikroba Endofit

Karakterisasi bakteri endofit meliputi morfologi koloni (bentuk, elevasi, bentuk tepian, ukuran, permukaan dan warna) (Lay 1994) dan morfologi sel (bentuk sel dan Pewarnaan gram) (Hadioetomo 1993). Karakterisasi jamur endofit secara makroskopis dan mikroskopis. Makroskopis meliputi: diameter koloni, warna koloni, elevasi koloni, tepian koloni dan ada atau tidaknya tetes eksudat serta lingkaran konsentris. Mikroskopis meliputi: bentuk hifa, pigmentasi hifa dan spora (Gandjar 1999).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Jamur Endofit Benalu (*Helixanthera* sp.) dari Tanaman Sawo (*Manilkara zapota*), Coklat (*Theobroma cacao*) dan Kopi (*Coffea arabica*)

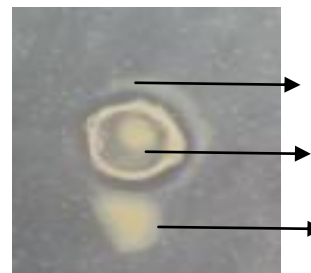
Isolasi jamur endofit dari benalu sawo, coklat dan kopi diperoleh total 27 isolat jamur (12 isolat berasal dari ranting benalu, 7 dari bongkol benalu dan 8 dari daun benalu). Setiap bagian benalu memiliki jumlah jamur endofit yang berbeda yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Elfina (2014) memperoleh 20 isolat fungi endofit dari kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.).

Tabel 2. Jumlah jamur endofit setiap bagian benalu sawo, coklat dan kopi

Bagian benalu	Benalu sawo	Benalu Coklat	Benalu kopi	Jumlah
Daun	3	2	3	8
Ranting	5	3	4	12
Bongkol	2	2	3	7
Jumlah	10	7	10	Total: 27

Menurut Petrini *et al.* (1992) bahwa kehadiran jenis jamur endofit dihubungkan dengan kondisi mikrohabitat tanaman inang dan kecocokan genotip antara tanaman inang dengan jamur endofit, sehingga akan berpengaruh terhadap perbedaan dalam komposisi koloni jamur endofit dan tingkat infeksi tanaman inang yang ditempati oleh jamur endofit pada lokasi yang sama.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri bakteri endofit isolat Bbs1 (benalu sawo) terhadap *E. coli*. (a) zona hambat (b) koloni isolat bakteri endofit (c) bakteri target *E. coli*.

### Seleksi Bakteri Endofit terhadap *Escherichia coli* dengan Agar Disc

Empat puluh isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dan diremajakan pada medium *Nutrient Agar* (NA) kemudian diuji terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dengan metode *agar disc*.

Uji *agar disc* dilakukan untuk mengetahui aktivitas bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Tabel 3. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit terhadap *Escherichia coli* dengan *agar disc*

No	Kode isolat	Zona hambat (mm)	No	Kode isolat	Zona hambat (mm)
1	Bbs4	12,1	16	Bbk5	7,8
2	Bbc6	12,0	17	Bbc3	7,8
3	Bbs5	11,5	18	Bbk11	7,7
4	Bbs1	11,2	19	Bbc5	7,6
5	Bbs6	11,0	20	Bbs7	7,4
6	Bbc2	10,8	21	Bbk12	7,2
7	Bbc1	10,6	22	Bbs12	7,1
8	Bbs2	10,0	23	Bbk9	7,1
9	Bbk7	9,6	24	Bbk4	7,1
10	Bbk6	8,8	25	Bbs11	7,0
11	Bbs3	8,7	26	Bbc4	6,9
12	Bbk3	8,6	27	Bbk2	6,9
13	Bbk1	8,3	28	Bbs9	6,8
14	Bbk10	8,1	29	Bbk8	6,6
15	Bbs8	7,9	30	Bbs10	6,5

Keterangan: Bbs= bakteri benalu sawo, Bbc= bakteri benalu coklat dan Bbk= bakteri benalu kopi

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri diperoleh 30 isolat bakteri endofit yang menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*. Pada Gambar 1 terlihat adanya zona bening di sekeliling koloni yang mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri.

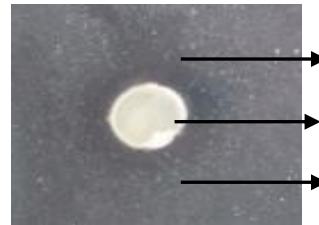
Hasil pengukuran zona hambat dari 30 isolat bakteri endofit dari benalu sawo, benalu coklat dan benalu kopi pada uji aktivitas terhadap *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 3. Kiasaran zona hambat yang terbentuk 6,5-12,1 mm. Isolat Bbs4 dari benalu sawo menunjukkan zona hambat tertinggi yaitu 12,1 mm.

Bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif (steroid) untuk menghambat pertumbuhan organisme lainnya seperti *E. coli* (Strobel 2007). Keunggulan lain bakteri endofit mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan (Klopper *et al.* 1992), serta dapat menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann 2001).

### Seleksi Jamur Endofit terhadap *Escherichia coli* Metode Agar Disc

Diperoleh 27 isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi dan diremajakan pada

medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA) dan kemudian dilakukan uji daya hambat terhadap bakteri patogen *E. coli* dengan metode *agar disc*. Adanya zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Gambar 2).



Gambar 2. Aktivitas antibakteri jamur endofit isolat Jbc3 (*Penicillium* sp.) terhadap *E. coli* (a) zona hambat (b) koloni isolat bakteri (c) bakteri target *E. coli*.

Hasil uji daya hambat jamur endofit diperoleh 10 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan kisaran zona hambat 6,1-12,1 mm (Tabel 4). Aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *E. coli* yaitu isolat Jbc2 (*Penicillium* sp.) dari benalu sawo dengan diameter zona hambat yaitu 12,1 mm dan zona hambat terendah yaitu isolat Jbk3 dari benalu kopi.

Tabel 4. Aktivitas antibakteri isolat jamur endofit terhadap *Escherichia coli* dengan metode *agar disc*

No	Kode isolat	Zona hambat (mm)
1	<i>Penicillium</i> sp. (Jbc2)	12,1
2	<i>Aspergillus</i> sp. (Jbs3)	11,3
3	<i>Aspergillus</i> sp (Jbs5)	9,5
4	<i>Aspergillus</i> sp. (Jbs2)	9,2
5	<i>Aspergillus</i> sp. (Jbs1)	9,1
6	<i>Paecilomyces</i> sp. (Jbc1)	8,8
7	<i>Aspergillus</i> sp. (Jbk1)	8,7
8	<i>Penicillium</i> sp. (Jbk2)	7,8
9	<i>Aspergillus</i> sp. (Jbs4)	7
10	Jbk3	6,1

Keterangan : Jbs= jamur benalu sawo, Jbc= Jamur benalu coklat dan jbk= Jamur benalu kopi

Menurut Cole dan Schweikert (2003), *Penicillium* dapat menghambat bakteri patogen dikarenakan *Penicillium* menghasilkan antibiotik penisilin yang dapat menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel bakteri.

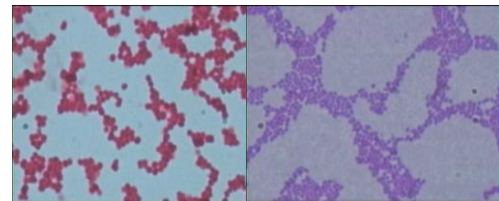
Jauhari (2010) memperoleh 3 isolat fungi endofit TIU2B, TIU1A dan TIU2A dari tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), cocor bebek (*Kalanchoe pinata*) dan gambir (*Uncaria gambir*) yang memiliki aktivitas

zona hambat terhadap *E. coli* masing-masing sebesar 7,04 mm, 7,02 mm dan 6,84 mm.

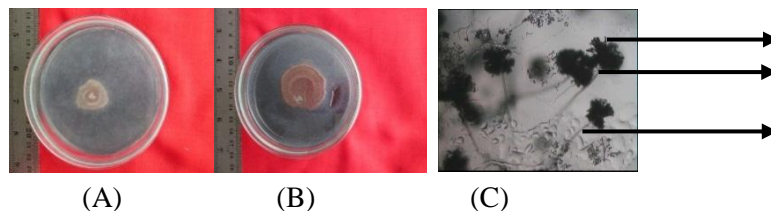
kokus Pewarnaan bakteri endofit dapat dilihat pada Gambar 3.

**Karakter Bakteri Endofit**

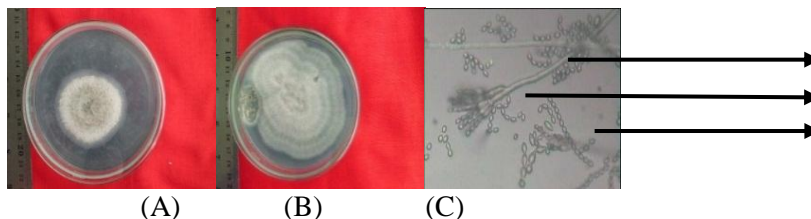
Diperoleh 30 isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri uji *E. coli* dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis berdasarkan Lay (1994). Hasil dari karakterisasi 30 isolat bakteri endofit berdasarkan pewarnaan gram terdapat 14 isolat bakteri endofit yang termasuk ke dalam bakteri gram negatif dan terdapat 16 isolat bakteri endofit yang termasuk bakteri gram positif. Berdasarkan bentuk sel bakteri endofit yang diperoleh terdiri dari bentuk



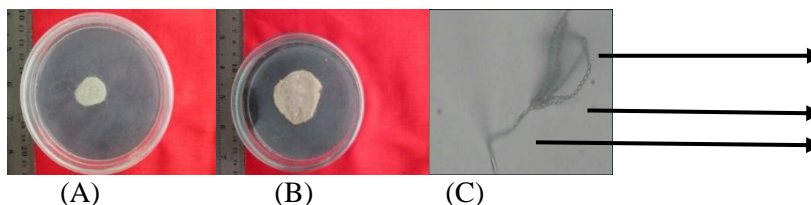
Gambar 3. Pewarnaan gram bakteri endofit perbesaran 1000x (a) bakteri gram negatif (Bbs1) (b) bakteri gram positif (Bbc5).



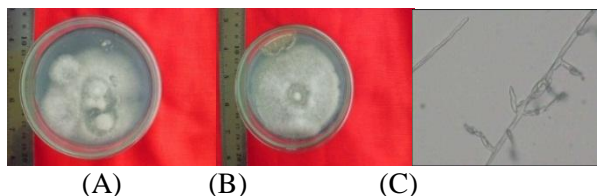
Gambar 4. Makroskopis dan mikroskopis jamur endofit *Aspergillus* sp. (Jbs3) (A) koloni yang ditumbuhkan pada medium PDA (B) koloni pada medium CYA umur 7 hari (C) karakter mikroskopis pada perbesaran 400x (a) konidia (b) vesikel (c) konidiofor.



Gambar 5. Makroskopis dan mikroskopis jamur endofit *Penicillium* sp. (Jbk2) (A) koloni yang ditumbuhkan pada medium PDA umur 7 hari (B) pada medium CYA (C) karakter mikroskopis pada perbesaran 400x (a) konidiofor (b) fialid (c) konidia.



Gambar 6. Makroskopis dan mikroskopis jamur endofit *Paecilomyces* sp. (Jbc1) (A) koloni yang ditumbuhkan pada medium PDA umur 7 hari (B) pada medium CYA (C) karakter mikroskopis pada perbesaran 400x (a) konidia (b) fialid (c) konidiofor.



Gambar 7. Makroskopis dan mikroskopis jamur endofit Jbk3 (A) koloni yang ditumbuhkan pada medium PDA umur 7 hari (B) pada medium PDA (C) mikroskopis isolat Jbk3.

### Karakter Fungi Endofit

Sebanyak 10 isolat jamur endofit yang memiliki aktivitas antibakteri dikarakterisasi sampai tingkat genus dengan melihat makroskopis dan mikroskopis berdasarkan Gandjar *et al.* (1999).

Hasil karakterisasi dari 10 isolat jamur endofit yang memiliki aktivitas antimikroba diperoleh 6 isolat dari genus *Aspergillus*, 2 isolat dari *Penicillium*, 1 isolat dari *Paecilomyces* dan 1 isolat belum diketahui genusnya yaitu isolat Jbk3 yang dilihat pada gambar dibawah ini.

### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan, diperoleh 40 isolat bakteri endofit dari benalu sawo, coklat dan kopi. Pada uji daya hambat terhadap *E. coli* diperoleh 30 isolat bakteri endofit yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap *E. coli*. Zona hambat tertinggi yaitu isolat Bbs4 dengan diameter zona hambat 12,1 mm. Hasil isolasi jamur endofit diperoleh 27 isolat dari benalu sawo, coklat dan kopi. Pada uji zona hambat terhadap *E. coli* diperoleh 10 isolat jamur endofit yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap *E. coli*. Zona hambat yang tertinggi yaitu isolat Jbk3 dengan diameter zona hambat 12,1 mm.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIKTI melalui Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian (PKM-P) tahun anggaran 2014.

### 5. REFERENSI

Al-askar, A.A, Abdul, K.W.M, Rashay, Y.M. 2011. In vitro antifungal activity of *Streptomyces spororaveus* RDS 28 againsts some phytopathogenic fungi. *African Journal of Agricultural Research* 6 (12): 2835-2842.

Cole, R.J, Schweikert, M.A. 2003. *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*. Academic. Press Elseiver Science. California.

Djamaan, A. 2012. Isolasi bakteri endofit dari

tumbuhan Surian(*Toona sureni* Blume Merr.) yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. ISSN 1412-2855 Vol.8,No.1.

Elfina, D. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *skripsi*. FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

Gandjar, I, Samsan, R.A, Tweelver, M.K, Oetari, A, Santoso, I. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Hadioetomo, R.S. 1933. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Penerbit Gramedia. Jakarta.

Hallmann, J. 2001. Plant Interaction with Endophytic Bacteria. in: Jeger, M.J, Spence, N.J. editor. *Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations*. CAB International.

Jauhari, H.T. 2010. Seleksi dan Identifikasi Kapang Endofit Penghasil Antimikroba Penghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen. *skripsi*. FST UIN Syarif Hidatattullah, Jakarta.

Kloepper, J.,W, Kabana R.R, Mcinroy, J,A, Young, R.W. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistis to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and foliar diseases. *Australasian Plant Pathol*. 28(1):21-26.

Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. PT.Grafindo Persada. Jakarta.

Masyhud. 2010. *Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia (TOI)*. Badan Litbang Kesehatan. Jakarta.

Petrini, O, Sieber, T.N, Toti, L, Viret, O. 1992. Ecology metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*. 1:185-196.

Simarmata, R, Lekatompessy, H. Sukiman. 2007. Isolasi mikroba endofit dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura*

- procumbens*) dan analisis Potensinya sebagai antimikroba. Berk. Penel. *Hayati*, 13: P. 85-90.
- Strobel, G, Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67: 491–502.
- Strobel, S.A, Strobel, G.A. 2007. Plant Endophytes as a Platform for Discovery-Based Undergraduate Science Education. *Nature Chemical Biology* Volume 3.
- Tomita, F. 2003. Endophytes in Southeast Asian and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity*. 14: 187-204
- Wulandari, H, Zakiatulyaqin, Supriyanto. 2012. Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar beludru (*Septobasidium* sp.). *J. Perkebunan & Lahan Tropika*, Vol. 2, No. 2.