

Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Endofitik dari Tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) sebagai Penghasil Antibiotika

Isolation, Characterization And Potential Of Endophytic Bacterium From Zodia Plant (*Evodia Suaveolens* Scheff) As An Antibiotic Production

Melisa Ainil Fajri^{*)}, Anthoni Agustien dan Periadnadi

Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Andalas, Padang, 25163

^{*)}Koresponden : melisa_biologi@yahoo.com

Abstract

Endophytic bacterium are important to produce antibiotic. We have experimentally studied zodia plant (*Evodia suaveolens* Scheff) in attempting to isolate and characterize the bacterium. We have also examined potentiality of each isolate to produce antibiotic. We obtained three a isolate of endophytic bacterium that produce antibiotic compounds. Among three isolates, two could form high inhibition zone. MZS-01 formed 10.4 mm inhibition zone against *Eschericia coli*, while MZS-03 formed 6.96 mm inhibition zone against *Staphylococcus aureus*. We described the isolates MZS-01 and MZS-03 based on macroscopis and microscopis characteristic of colony culture.

Keywords: zodia plant, antibiotic, endophytic bacterium, inhibition zones.

Pendahuluan

Beberapa tahun terakhir penggalian sumber daya mikroba yang terdapat didalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian. Mikroba tersebut mulai dipelajari untuk berbagai tujuan (Clay, 1988). Hal ini menunjukkan bahwa adanya kemampuan suatu tumbuhan atau tanaman baik dari batang, daun, akar yang menghasilkan zat antimikroba yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme penyebab penyakit, namun penyediaannya masih dengan cara tradisional dan hanya skala kecil sehingga banyak masyarakat lain yang tidak mengetahui tentang potensi tanaman-tanaman tertentu yang sebenarnya dapat digunakan sebagai obat. Saat ini telah diketahui pula bahwa hubungan antara mikroba endofitik dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba yang memiliki berbagai jenis bioaktif (Strobel *et al.*, 1996; Cacabuono dan Pomilio, 1997; Rizzo *et al.*, 1997).

Keberadaan bakteri endofit yang terdapat pada tumbuhan tidak akan merugikan tumbuhan tersebut. Bakteri endofit bisa menjadi salah satu penyebab

suatu tanaman menjadi lebih resisten terhadap serangan jamur atau bakteri yang lain. Karena itu bakteri endofit mulai digunakan pada tanaman pangan untuk meningkatkan produktivitas. Mengetahui jenis bakteri endofit sangat diperlukan sehingga dapat lebih mempelajari jenis bakteri endofit sangat diperlukan sehingga dapat lebih jauh mempelajari jenis interaksi yang terjadi antara bakteri dan jaringan tanaman.

Sumber daya mikroba yang terdapat dalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian yang dikenal dengan sebutan mikroba endofitik. Berbagai jenis tanaman terutama tanaman obat, yang dapat digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofitik. Hal ini merupakan salah satu alternatif pengendalian non kimiawi yang terus dikembangkan dalam beberapa periode terakhir. Salah satunya tanaman yang memiliki mikroba endofitik yaitu daun zodia. Menurut Kardinan (2004), daun zodia dapat menyembuh sakit kepala, disentri dan pembunuh sel kanker. Oleh karena itu tanaman zodia ini dapat berfungsi sebagai antibiotika.

Menurut Kardinan (2007), kandungan kimia yang terdapat pada

Evodia suaveolens Scheff yaitu minyak atsiri yang mengandung bahan aktif (komponen utama) evodiamine dan rutaecarpine. Uraian senyawa kimia yang terdapat pada daun zodia seperti alkaloid, glikosida, saponin, steroida, tanin dan flavonoid. Senyawa ini dapat digunakan sebagai obat tradisional, antara lain tonik untuk menambah stamina tubuh, sementara rebusan kulit batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria. Menurut Ajizah (2004), minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membrane dan dinding sel.

Metoda Penelitian

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen, data disajikan dalam bentuk deskriptif. Dengan beberapa tahapan isolasi, potensi dan karakterisasi bakteri penghasil antibiotika dari tanaman zodia.

Isolasi Bakteri Endofitik Pada Daun Zodia

Isolasi bakteri endofitik pada daun zodia yang telah dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm selanjutnya disterilisasi kemudian ditanam di dalam media NA dengan bagian memposisikan tulang daun mengenai medium kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Mikroba yang tumbuh pada media NA dipindahkan dan digores ke cawan petri satu persatu. Dengan adanya koloni tunggal yang terbentuk kemudian mikroba dipindahkan ke biakan miring (Tomita, 2003).

Produksi Antibiotika

Produksi antibiotika dengan komposisi air rendaman jagung, sukrosa, CaCO₃, FeSO₄, MgCl₂, ZnSO₄, dan aquadest sebanyak 50 ml dan dimasukan ke dalam erlenmeyer kemudian disterilisasi. Biakan bakteri yang telah diremajakan diinokulasikan sebanyak 1-2 ose pada medium produksi antibiotika dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Media produksi antibiotika disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit dan supernatan yang diperoleh diuji potensi antibiotikanya (Haryanto *et al.*, 1999).

Pengujian Antibiotika

Pengujian antibiotika dari masing-masing bakteri dilakukan menggunakan metode kertas cakram (Madigan *et al.*, 2000).

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Pengamatan makroskopis isolat bakteri endofitik dengan mengamati warna koloni, bentuk koloni, pinggiran koloni dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi pengamatan terhadap reaksi pada bentuk sel pewarnaan gram, pewarnaan endospora dan motilitas sel.

Pengamatan Faktor Abiotik Isolat Bakteri Penghasil Antibiotik

Pengamatan faktor abiotik meliputi pengamatan terhadap salinitas, suhu dan pH yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri penghasil antibiotika.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Endofitik Penghasil Senyawa Antibiotika

Hasil isolasi bakteri endofitik pada daun zodia didapatkan tiga isolat bakteri endofitik memiliki bentuk koloni yang berbeda dan dilakukan pengujian uji antibiotika yang dimana dari tiga isolat bakteri endofitik yang didapat, hanya 2 isolat bakteri endofitik yang mampu menghasilkan senyawa antibiotika yang mempunyai kemampuan untuk membentuk zona hambat terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Uji Antibiotika

Bakteri endofitik yang diisolasi dari daun zodia dan kemudian diuji aktivitas antibiotika maka diperoleh 3 isolat bakteri endofitik yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan dari bakteri. Hal ini ditandai dengan isolate MZS-01 terbentuknya zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *E.coli* memperlihatkan aktivitas antibiotika tertinggi dengan diameter zona hambat yang terbentuk 10,40 mm sedangkan pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* isolat MZS-03 membentuk diameter zona hambat sebesar 6,96 mm.

Tabel 1. Karakteristik Isolat Bakteri Endofitik pada Daun Zodia

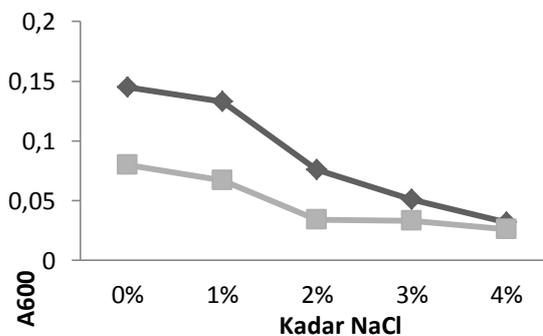
Karakteristik	Kode Isolat	
	MZS-01	MZS-03
Makroskopis		
Warna Koloni	Putih	Putih
Bentuk Koloni	Sirkuler	Sirkuler
Pinggiran Koloni	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>
Permukaan Koloni	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>
Mikroskopis (Bentuk Sel)	Batang	Batang
Pewarnaan Gram	Positif	Positif
Pewarnaan Endospora	Positif	Positif
Motilitas Sel	<i>Motil</i>	<i>Motil</i>
Faktor Abiotik		
Salinitas	1 %	1 %
Suhu	30 °C	30 °C
pH	7	7
Potensi Antibiotik	Zona Hambat tertinggi <i>E. coli</i>	Zona Hambat tertinggi <i>S. aureus</i>

Hasil isolasi diperoleh bakteri endofitik yang membentuk diameter zona hambat tertinggi pada bakteri uji dengan isolate MZS-01 dan MZS-02 yang kemudian dikarakterisasi. Dua isolat ini memiliki kemampuan zona hambat tertinggi dipilih untuk dikarakteristik. Isolat MZS-01 dan MZS-03 memiliki ciri morfologi makroskopis warna koloni putih susu, bentuk koloni sirkuler, pinggiran entire, permukaan flat. Isolat MZS-01 dan MZS-03 merupakan bakteri bersifat Gram positif dimana bakteri Gram positif relatif sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif yang lebih kompleks (Pelczar and Chan, 1988). Isolat bakteri MZS-01 dan MZS-03 membentuk endospora. Hanya sekelompok kecil bakteri yang memiliki endospora hal ini disebabkan karena endospora merupakan bentuk ketahanan, endospora biasanya ada pada bakteri berbentuk sel batang dan Gram positif (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Motilitas merupakan karakteristik fisiologi biokimia yang digunakan untuk mengetahui pergerakan sel. Bakteri endofitik yang diisolasi dari tanaman zodia dengan kode isolat MZS-01 dan MZS-03 diketahui motil. Menurut Pelczar dan Chan (1986) menyatakan bahwa pengujian pada motilitas bakteri dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan sel, yang dimungkinkan oleh adanya flagel. Isolat MZS-01 dan MZS-03 kemungkinan mempunyai flagel untuk bergerak.

Faktor Abiotik Isolat Bakteri Penghasil Antibiotik

Faktor Abiotik juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada salinitas bahwa nilai absorbansi bakteri ketika ditumbuhkan pada media dengan kandungan NaCl 0% lebih tinggi dari nilai OD pada kandungan NaCl 1%, 2%, 3% dan 4%, dalam arti isolat bakteri endofitik jumlah sel optimal tumbuh dan berkembang pada kadar NaCl 1% ditandai dengan lebih keruhnya media pada saat pengamatan.

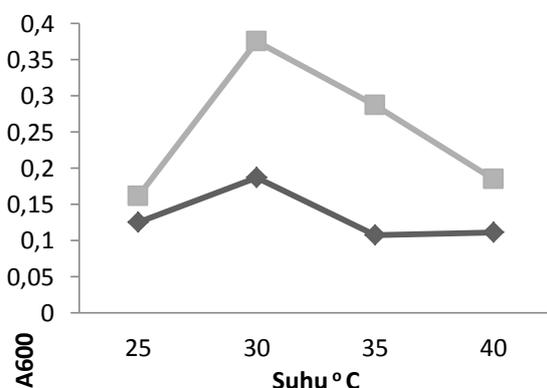


Gambar 1. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada variasi kadar NaCl

◆ Isolat MZS 01 ■ Isolat MZS 03

Pada suhu pertumbuhan optimum terlihat isolat bakteri endofitik dengan nilai absorbansi tertinggi dihasilkan oleh bakteri endofitik pada saat ditumbuhkan pada suhu 30°C dan pada suhu ini merupakan suhu optimal dari pertumbuhan bakteri dan peningkatan jumlah sel didalam media dan bakteri optimal dalam menghasilkan antibiotika serta menghasilkan senyawa

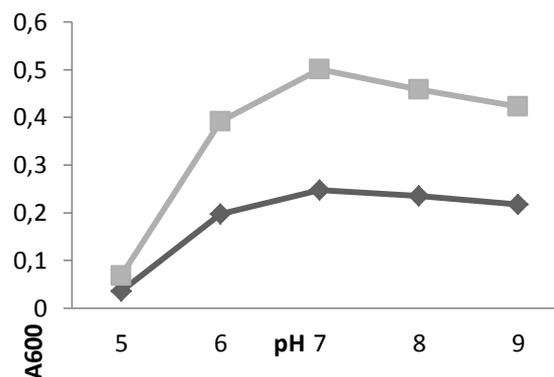
metabolit sekunder lainnya. Pada saat bakteri ini ditumbuhkan pada suhu 35°C-40°C bakteri mengalami penurunan hal ini disebabkan karena ketidakmampuan sel bakteri bertahan hidup pada kisaran suhu tersebut. Perbedaan suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada media. Isolat bakteri endofitik ini tergolong pada kelompok bakteri mesofilik. Mikroorganisme mesofilik merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang hidup pada kisaran suhu 25° C sampai 40° C dan dengan kisaran suhu optimum 25 °C sampai 37° C (Black, 2005).



Gambar 2. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada suhu yang berbeda.

◆ Isolat MZS 01 ■ Isolat MZS 03

Sedangkan pada pH pertumbuhan optimal isolat bakteri endofitik dapat hidup pada kisaran pH 5-9 dengan pH optimal pertumbuhan sel bakteri pada pH 7 yang merupakan pH netral. Isolat ini memiliki kemampuan untuk hidup pada suasana asam, etral dan basa. pH 7 ini merupakan pH optimum dimana bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik yang dikenal dengan bakteri neutrofil. Menurut Brock dan Brock (1978) Bakteri yang mampu hidup toleran pada pH lebih dari 7 maka bakteri tersebut disebut bakteri *alcalophiles* dan *acidhophiles* bakteri ini merupakan bakteri yang dapat hidup pada pH dibawah pH netral.



Gambar 3. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada pH berbeda.

◆ Isolat MZS 01 ■ Isolat MZS 03

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang isolasi, karakterisasi dan potensi bakteri endofitik dari tanaman zodia sebagai antibiotika, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Diperoleh 2 isolat bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika pada daun zodia yang memiliki diameter daerah halo tertinggi. Pada bakteri uji *Escherichia coli* dengan isolat MZS-01 memperlihatkan aktivitas antibiotika tertinggi dengan diameter daerah halo yang terbentuk 10,4 mm sedangkan pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* isolat MZS-03 membentuk diameter daerah halo sebesar 6,96 mm.
2. Isolat bakteri endofitik pada daun zodia memiliki karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis yang sama.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. phil. Nat. Nurmiati, Dr. Fuji Astuti Febria dan Dr. Zozy Aneloi Noli atas bantuan dan masukan dalam kesempurnaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*, 1, 1, 3-28.
- Brock, T.D, and K.M. Brock. 1978. *Basic Mikrobiologi with Applications*. Second edition. Prentice-hall., Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Cacabuono, A.C. and A.B. Pomilio. 1997. Alkaloids from endophyte-infected *Festua argentina*. *Journal of Ethnopharmacology* 57:1-9.
- Clay, K. 1988. Fungal endophytes of grasses and a defensive mutualism between plants dan fungi. *Ecology* 69: 10-16.
- Haryanto, M. Singgih dan D. Kustaryono. 1999. Pengaruh monosakarida dan penggunaan sumber karbon lokal pada pembentukan eritromisin pada fermentasi *Streptomyces erythreus*. *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (3): 149-155.
- Kardinan, A. 2004. *Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasinya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kardinan, A. 2007. *Tanaman Pengusir Dan Pembasmi Nyamuk*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Madigan, M.T., J.M Martinko dan J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms*. 9th Ed. Prentice Hall International, Inc., New Jersey.
- Pelczar, M. J dan E.C. S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi* 1. : Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pelczar, M. J dan E.C. S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rizzo, I., E. Varsavky, M. Haiduhososki, and H. Frade, 1997. Macrocyclic trichothecene in *Baccharis coridifolia* plants and endophytes and *Baccharis artemisioides* plants. *Toxicon* 35: 753-757.
- Schlegel H.G. dan Schmidt K. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi ke enam*. Alih Bahasa: Baskoro T. UGM-Press: Yogyakarta
- Strobel, G.A., W.M. Hess., E.J. Ford, R.S. Sidhu, and X. Yang. 1996. Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *Journal of IndustryMicrobiology* 17: 417-423.
- Tomita, F. 2003. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity* 14: 187-204.