

Isolation and Activity Test of Antimicrobial Endophytic Bacteria from Leaf Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Irdawati¹Linda Advinda¹ Fitri Angraini¹

1. Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Hamka Kampus Air Tawar Padang 25131
Email: fitri_anggraini10@yahoo.com

ABSTRACT

Endophytic bacteria are microorganisms that exist in the system of plant tissues such as leaves, twigs, roots and they can form colonies without causing damage to the plant. The endophytic bacteria may produce secondary metabolites in accordance. One potential medicinal plant has endophytic bacteria are plant greeting (*Syzygium polyanthum* Wight). Part of the plant Salam particularly frequently used is part of the leaf, which serves as an antibacterial and antifungal. Because the leaves contain compounds bay leaf tannins, flavonoids and essential oils. The purpose of this research was to find of to obtain isolates of endophytic bacteria and determine the antimicrobial activity of bay leaf (*Syzygium polyanthum* Wight). This research is descriptive that has done on January - February 2015 of Microbiology Laboratory at Biology Departement FMIPA, UNP. The parameters observed in the determination of isolates is a form colonies, colonies edge, elevation colonies, colony color, and Gram staining of leaves (*Syzygium polyanthum* Wight). The antimicrobial activity was observed with the formation zone of inhibition around the paper disc. Obtained were 11 isolates of endophytic bacteria from leaves, 5 isolates of endophytic bacteria have the ability to produce antimicrobial. Isolates had the highest antimicrobial activity that isolates DSA 1-1 with a 6.42 mm diameter inhibition zone.

Keywords: antimicrobial, endophytic bacteria, bay leaf.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Bacon dan Hinton, 2006). Bakteri endofit bersifat tidak patogen bagi inangnya, memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder (Simarmata dkk, 2007). Metabolit sekunder termasuk antimikroba yang dapat diproduksi oleh mikroorganisme endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan vaskuler tanaman (Bills dan polyshook, 2000). Bakteri endofit yang hidup di jaringan tanaman dapat bersifat obligat atau fakultatif dalam mengklonisasi inangnya dan pada satu tanaman inang

umumnya terdiri dari beberapa genus dan spesies.

Bhore(2010), mengemukakan bahwa bakteri endofit yang mengklonisasi jaringan tanaman memperoleh nutrisi dan perlindungan dari tanaman inangnya. Bakteri endofit ini ditemukan diberbagai jaringan tanaman diantaranya biji, buah, batang, umbi, akar, dan daun, tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman (Zinniel,2002). Bakteri endofit ini hidup saling menguntungkan, dalam hal ini bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan patogen sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif selama hidupnya (Tanaka,1999).

Bakteri endofit mempunyai arti ekonomis karena menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Hal ini karena bakteri endofit adalah organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar (Prihatiningtiyas dan Wahyuningsih, 2011). Beberapa senyawa bioaktif baru yang mampu dihasilkan oleh bakteri endofit diantaranya berfungsi sebagai antitumor, antiinflamasi, antioksidan dan lain-lain. Oleh karena itu, isolasi bakteri endofit yang dapat memproduksi metabolit sekunder dari tanaman inangnya merupakan peluang besar dimasa mendatang sehingga Indonesia dapat meminimalisir import antibiotik yang mencapai Rp 81,6 sampai Rp 122,4 miliar per tahun (Purwanto, 2008)

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi dan kawasan hutan hujan tropis yang luas sehingga merupakan satu kelebihan dalam pencarian sumber-sumber bioaktif. Menurut Radji (2005), menyatakan bahwa sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai antimikroba dan bahan obat adalah metabolit sekunder. Menurut Strobel dan Daisy (2003), senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jaringan tumbuhan yang tumbuh di hutan tropis memiliki aktivitas biologi yang tinggi.

Salah satu tanaman obat yang berpotensi memiliki bakteri endofit adalah tanaman salam. Bagian dari tanaman salam terutama yang sering digunakan adalah bagian daun, disamping sebagai alat rempah untuk masak, daun salam juga berfungsi sebagai antibakteri maupun antijamur (Yusuf, 2010). Karena daun salam memiliki kandungan senyawa tanin, flavonoid dan minyak atsiri 0,05% yang terdiri dari eugenol dan sitral (Winarto, 2004). Tanin bersifat antimikroba karena dapat mengerutkan membran sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel. Flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai antiinflamasi, antivirus,

antioksidan, antibakteri, menguatkan sistem kekebalan tubuh, dan merangsang pembentukan sel T11 (Robinson, 1995).

Beberapa bakteri endofit mampu menghasilkan produk antimikroba antara lain bakteri endofit *Bacillus polymixa* hasil isolasi dari tanaman anuma (*Artemisia annua*) dapat berpotensi sebagai antimalaria (Simanjatak dkk, 2004). Nursulustaranty (2014), bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri dari isolasi daun tanaman binahong yaitu bakteri *Staphylococcus*, *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Bakteri endofit yang berpotensi sebagai enzim xilanase dari isolasi tanaman dahlia adalah bakteri *Pseudomonas stutzeri*, *Actinobacter antratus* dan *Pseudomonas cepacia* (Marlinda dkk, 2009).

Nursanty (2012), didapatkan 3 isolat bakteri endofit dari daun tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk) yang memiliki aktifitas antimikroba. Simarmata, dkk (2007), juga sudah berhasil mendapatkan 38 isolat bakteri endofit dari umbi tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) yang memiliki potensi aktivitas antimikroba. Menurut Desriani, dkk (2014), pada daun dan akar tanaman binahong terdapat 16 isolat bakteri endofit yang memiliki antibakteri. Penelitian Djamaan, dkk (2012), dari daun tanaman surian (*Toona sureni*) didapatkan 6 isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai antimikroba. Izzah (2011), pada penelitiannya mendapatkan 7 isolat bakteri endofit dari daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang mempunyai daya antimikroba.

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti telah melakukan penelitian tentang "Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

II. METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif dengan mengisolasi dan menguji aktivitas antimikroba bakteri endofit dari daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari sampai bulan Februari 2015 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNP.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah autoklaf, inkubator, lampu spiritus, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi dan rak, *beaker glass*, mikropipet, pinset, pengaris, neraca analitik, hand case, jarum inokulan, spatula, driil glass, kompor listrik, pipet tetes, handspray, kamera digital, alat tulis, buku tulis, kamera digital, *sentrifuge*, *vortex*, jangka sorong, botol semprot, kaca objek dan kaca penutup.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Salam, medium NA, biakan *Escherichia coli* yang berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK), alkohol 70 %, kertas cakram, kain kasa, kertas label, plastik wrap, aluminium foil, tissue, aquades, air redaman jagung 3%, sukrosa 3% , CaCO_3 0,5%, FeSO_4 0,1% , MgCl_2 0,2%, ZnSO_4 0,01%, H_2SO_4 1%, BaCl 21, % NaCl 0,85% dan set pewarnaan Gram.

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua yang telah dicuci dan dikeringkan dengan menggunakan kertas dan dimasukkan kedalam plastik kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inci*) selama 15 menit. Untuk alat tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan zat kimia berupa alkohol 70%.

b. Pembuatan Medium *Nutrien Agar (NA)*

Media NA ditimbang sebanyak 20 g dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 1000 mL, kemudian tambahkan Aquades sampai volume 1000 mL. Medium dipanaskan sampai mendidih dan setelah dingin ditutup rapat dengan menggunakan kapas dibalut

dengan aluminium foil kemudian sterilisasi dalam autoklaf pada temperature 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit (Alcamo, 1998).

c. Pembuatan Medium Produksi Antimikroba

Medium produksi antibiotik dibuat dengan komposisi air rendaman jagung 3%, sukrosa 3%, CaCO_3 0,5%, FeSO_4 0,1%, MgCl_2 0,2%, ZnSO_4 0,01% dan akuades steril sebanyak 50 mL pada *erlemeyer* 150 mL. medium disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Pengambilan Sampel Daun Salam

Sampel daun Salam diperoleh di jalan Walet, Air Tawar Barat. Memetik daun salam sebanyak 3 helai daun teratas dari pucuk daun tanpa adanya kerusakan 1 tangkai. Sampel daun sirsak di bersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya dengan air mengalir selama 10 menit, selanjutnya di permukaan dengan menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian cuci dengan akuades steril, Natrium hipoklorit (*backlin*) selama 5 menit, alkohol kembali selama 30 detik dan terakhir dicuci kembali dengan akuades steril. Daun yang telah dibersihkan selanjutnya dipotong dengan menggunakan gunting dengan ukuran 2cm x 2cm. (Tomita, 2003).

b. Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi dilakukan dengan cara menuangkan medium NA yang telah dicuci ke dalam cawan petri steril. Setelah medium padat, daun Salam yang sudah dipotong lebih kurang 2x2 cm. Cawan petri yang telah mengandung sampel tanaman di inkubasi selama 2-3 hari, bakteri yang tumbuh secara bertahap dimurnikan satu per satu (Nursanty dan Suhartono, 2012).

c. Perbanyak dan Pembuatan Suspensi Bakteri *S. aureus*

Bakteri *E.coli* berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) diremajakan

pada medium NA di dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Sebanyak 1 ose biakan bakteri *E. coli* diambil dari medium NA, kemudian disuspensikan ke dalam NaCl 0,85 % sama dengan standar larutan McFarland's (3×10^8 sel /ml) dengan skala 0,5. Standar kekeruhan McFarland's dibuat dengan cara 0,5 mL larutan BaCl 21% ditambah dengan 9,5 mL H₂SO₄ 1% (Noverita dan Ernawati, 2009).

d. Pewarnaan Gram

Prosedur pewarnaan Gram yaitu dengan membuat apusan dari masing-masing isolat bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi. Akuades steril ditetaskan dibagian tengah kaca objek sebanyak satu tetes. Biakan bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose dan dicampurkan dengan akuades steril yang ada pada kaca objek. Biakan tersebut disebar dan dibuat campuran yang tipis dan merata pada suatu area dengan diameter sekitar 1 cm. Apusan dibiarkan kering di udara selanjutnya difiksasi dengan cara melewatkan 2-3 kali diatas nyala lampu spritus (Hadioetomo, 1993).

Apusan digenangi dengan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir menggunakan botol pijit. Apusan digenangi kembali dengan lugol dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya apusan dicuci dengan air mengalir. Apusan dilunturkan dengan menggunakan etil alkohol 95% setetes demi setetes hingga Kristal violet tidak ada lagi yang mengalir dari apusan, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya apusan diwarnai dengan pewarna safranin selama 45 detik kemudian dicuci dengan air mengalir. Langkah terakhir prosedur pewarnaan Gram adalah apusan dikeringkan dengan kertas saring. Setelah tahap tersebut selesai, apusan diamati dibawah mikroskop (Hadioetomo, 1993)

e. Produksi Antimikroba

Biakan bakteri endofit yang diremajakan diinokulasikan sebanyak 1-2 ose pada medium produksi antimikroba. Inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Larutan tersebut disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh diuji potensi antimikrobanya (Haryanto dan Dedi, 1999).

f. Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode kertas cakram. Disediakan medium NA pada cawan petri. Setelah medium membeku, pada cawan petri diinokulasikan 0,1 ml suspensi *E. coli*, kemudian diratakan dengan drill glass. Kertas cakram Whatman No.42 dicelupkan kedalam supernatan, kering anginkan dan diletakkan diatas medium NA. Lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Diameter hambatan yang terbentuk diukur dengan bantuan jangka sorong (Madigan *et al.*, 2000).

g. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan adalah pengamatan morfologi (makroskopis) dan mikroskopis koloni bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi bakteri endofit. Pengamatan morfologi meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri, serta pengamatan uji aktivitas antimikroba pada isolat bakteri endofit dengan mengukur zona bening. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram (Nursanty dan Suhartono, 2012).

E. Teknik Analisis Data

Analisis data penelitian ini adalah data deskriptif yaitu mengisolasi dan menguji aktifitas antimikroba bakteri endofit pada daun Salam.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri Endofit pada Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Hasil isolat bakteri endofit dari daun salam ditemukan 11 isolat yang menunjukkan karakteristik morfologi yang berbeda-beda, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan makroskopis isolat bakteri endofit dari daun salam

N O	Isolat	Bentuk koloni	Tepian koloni	Elevasi koloni	Warna koloni
1	DSA 1-1	Bundar	Tak beraturan	Timbul	Krem
2	DSA 1-2	Bundar	Tak beraturan	Datar	Krem
3	DSA 1-3	Rizoid	Bercabang	Datar	Krem
4	DSA 1-4	Tak beraturan	Berlekuk	Timbul	Krem
5	DSA 1-5	Bundar	Licin	Datar	Krem
6	DSA 2-1	Bundar dengan tepian kerang	Tak beraturan	Timbul	Krem
7	DSA 2-2	Bundar	Berlekuk	Datar	Putih
8	DSA 2-3	Bundar	Tak bertaturan	Timbul	Krem
9	DSA 2-4	Bundar	Licin	Timbul	Krem
10	DSA 2-5	Bundar, tepian kerang	Berlekuk	Datar	Krem
11	DSA 3-1	Bundar	Tak beraturan	Datar	Krem

Keterangan:

DSA :Daun salam

Menurut Hadioetomo (1993) hasil isolasi koloni bakteri dapat dibedakan dari bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri. Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari daun Salam memiliki morfologi yang bervariasi. Perbedaan pada tiap koloni yang dihasilkan sesuai dengan pernyataan Haniah (2008) yang menyatakan, karena mikroba ini tumbuh di dalam jaringan tanaman, dimana tanaman yang satu tentunya berbeda dengan tanaman yang lainnya, maka tempat hidup mikroba juga sangat unik sifatnya sesuai dengan kondisi yang dibutuhkan dari masing-masing mikroba.

Hasil isolasi dari daun salam didapatkan 11 isolat bakteri endofit. Penelitian Simarmata, dkk (2007), juga sudah berhasil mendapatkan 38 isolat bakteri endofit dari umbi tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*). Nursanty dan Suhartono (2012), pada penelitiannya didapatkan 7 isolat bakteri endofit dari daun dan batang tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk) yang memiliki aktivitas antimikroba. Begitu juga Desriani, dkk (2014), pada daun, batang dan akar tanaman binahong (*Anredera cordifolia* Ten) terdapat 37 isolat bakteri endofit.

Pada penelitian ini didapatkan isolat lebih sedikit dibandingkan isolat

dari obat sambung nyawa yang didapatkan 38 isolat (Simarmata dkk, 2007). Hal ini sesuai dengan Bhore dan Sathisha (2010) yang menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah. Pada beberapa kasus, tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama. Pada beberapa tanaman terdapat bakteri endofit yang spesifik dan khas menghuni tanaman tersebut.

Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman. Bakteri menembus jaringan tanaman di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka (Clay,1988). Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman tanpa merusak jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang sudah bersih atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam (Zinniel, 2002).

Mekanisme kolonisasi bakteri endofit dalam tumbuhan inang, pada umumnya bakteri endofit berasal dari lingkungan sekitar tumbuhan baik dari rizosfer atau dari filosfer (Ryan *et al.*, 2008). Bakteri endofit dapat berkolonisasi di dalam jaringan hidup tumbuhan melalui akar, batang, daun, bunga, buah dan benih (Njoloma *et al.*, 2005). Kolonisasi bakteri endofit melalui akar terjadi karena akar tumbuhan melepaskan eksudatnya, lateral, dan eksudat tersebut bersifat sebagai kemoatraktan bagi bakteri yang berada disekitar tanaman tersebut, sehingga bakteri awalnya berkoloni pada permukaan akar (Compant *et al.*, 2010).

Bakteri yang awalnya menempel pada permukaan akar akan melakukan penetrasi melalui luka yang ada di akar, atau melalui rongga yang terdapat pada pangkal akar lateral, ataupun dengan mendegradasi dinding sel akar menggunakan enzim endoglukanase dan endopoligalakturonase (Schmidt *et al.*, 2011). Bakteri endofit yang terdapat pada organ lain tumbuhan umumnya berasal dari akar yang menyebar melalui jaringan *xylem*. Selain itu bakteri tersebut dapat berasal dari daerah aerial yang menempel pada permukaan organ dan melakukan penetrasi melalui luka, ruang intraseluler dan mekanisme kerja enzim. Penetrasi pada daun dapat melalui stomata (Compant *et al.*, 2010).

Hasil penelitian isolat bakteri endofit dari daun Salam diperoleh 9 isolat yang tergolong bakteri Gram positif dengan bentuk sel vegetatif basil, isolat DSA 1-2 tergolong bakteri Gram negative berbentuk basil dan isolat 1-4 tergolong Gram positif dengan bentuk sel vegetatif kokus. Izza (2011) mendapatkan bakteri genus *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Enterobacter* yang berasal dari tanaman mahkota dewa. Hal yang sama juga Menurut Hadioetomo (1993) hasil isolasi koloni bakteri dapat dibedakan dari bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri. Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari daun Salam memiliki morfologi yang bervariasi. Perbedaan pada tiap koloni yang dihasilkan sesuai dengan pernyataan Haniah (2008) yang menyatakan, karena mikroba ini tumbuh di dalam jaringan tanaman, dimana tanaman yang satu tentunya berbeda dengan tanaman yang lainnya, maka tempat hidup mikroba juga sangat unik sifatnya sesuai dengan kondisi yang dibutuhkan dari masing-masing mikroba.

Hasil isolasi dari daun salam didapatkan 11 isolat bakteri endofit. Penelitian Simarmata, dkk (2007), juga sudah berhasil mendapatkan 38 isolat bakteri endofit dari umbi tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*). Nursanty dan Suhartono (2012), pada penelitiannya didapatkan 7 isolat bakteri endofit dari daun dan batang tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk) yang memiliki aktivitas antimikroba. Begitu juga Desriani, dkk (2014), pada daun, batang dan akar tanaman binahong (*Anredera cordifolia* Ten) terdapat 37 isolat bakteri endofit.

Pada penelitian ini didapatkan isolat lebih sedikit dibandingkan isolat dari obat sambung nyawa yang didapatkan 38 isolat (Simarmata dkk, 2007). Hal ini sesuai dengan Bhore dan Sathisha (2010) yang menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah.

Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman. Bakteri menembus jaringan tanaman di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka (Clay, 1988). Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman tanpa merusak jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang sudah bersih atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam (Zinniel, 2002).

Mekanisme kolonisasi bakteri endofit dalam tumbuhan inang, pada umumnya bakteri endofit berasal dari lingkungan sekitar tumbuhan baik dari rhizofeora atau dari filosfer (Ryan *et al.*, 2008). Bakteri endofit dapat

berkolonisasi di dalam jaringan hidup tumbuhan melalui akar, batang, daun, bunga, buah dan benih (Njoloma *et al.*, 2005). Kolonisasi bakteri endofit melalui akar terjadi karena akar tumbuhan melepaskan eksudatnya, lateral, dan eksudat tersebut bersifat sebagai kemoatraktan bagi bakteri yang berada disekitar tanaman tersebut, sehingga bakteri awalnya berkoloni pada permukaan akar (Compant *et al.*, 2010).

Bakteri yang awalnya menempel pada permukaan akar akan melakukan penetrasi melalui luka yang ada di akar, atau melalui rongga yang terdapat pada pangkal akar lateral, ataupun dengan mendegradasi dinding sel akar menggunakan enzim endoglukanase dan endopoligalakturonase (Schmidt *et al.*, 2011). Bakteri endofit yang terdapat pada organ lain tumbuhan umumnya berasal dari akar yang menyebar melalui jaringan *xylem*. Selain itu bakteri tersebut dapat berasal dari daerah aerial yang menempel pada permukaan organ dan melakukan penetrasi melalui luka, ruang intraseluler dan mekanisme kerja enzim. Penetrasi pada daun dapat melalui stomata (Compant *et al.*, 2010).

Hasil penelitian isolat bakteri endofit dari daun Salam diperoleh 9 isolat yang tergolong bakteri Gram positif dengan bentuk sel vegetatif basil, isolat DSA 1-2 tergolong bakteri Gram negative berbentuk basil dan isolat 1-4 tergolong Gram positif dengan bentuk sel vegetatif kokus. Izza (2011) mendapatkan bakteri genus *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Enterobacter* yang berasal dari tanaman Mahkota Dewa. Hal yang sama juga didapatkan Nursanty (2012) pada penelitiannya dari tanaman johar memperoleh 6 isolat bakteri Gram positif dan 1 isolat

bakteri Gram negatif dengan bentuk sel basil.

B. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Daun Salam

Isolasi bakteri endofit pada daun Salam diperoleh 5 isolat bakteri endofit penghasil antimikroba yang membentuk zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat isolat bakteri endofit dari daun salam

NO	Isolat	Zona Hambat (mm)
1	DSA 1-1	6,42
2	DSA 1-2	5,43
3	DSA 1-3	5,34
4	DSA 1-4	5,22
5	DSA 1-5	-
7	DSA 2-1	-
8	DSA 2-2	-
9	DSA 2-3	-
10	DSA 2-4	5,24
11	DSA 3-1	-

Hasil pengamatan pada Tabel 1, terlihat bahwa 5 isolat yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba, karena mempunyai kemampuan daya hambat terhadap *E.coli*. Senyawa yang terdapat di dalam daun Salam mempunyai potensi sebagai antimikroba. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah hambat disekitar koloni bakteri uji. Adanya daerah zona hambat di sekeliling bakteri menandakan adanya kemampuan isolat bakteri endofitik menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Menurut Prescott *et al.* (2002), adanya penghambatan isolat endofit terhadap pertumbuhan mikroba target terlihat dari terbentuknya zona hambat di sekeliling koloni isolat endofit.

Antimikroba diproduksi melalui jalur sintesis khusus yang digolongkan

sebagai metabolisme sekunder yang dihasilkan dalam jalur metabolisme dan enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, dimana daerah hambat yang terbentuk akibat difusi senyawa antimikroba keluar dari cakram yang mengandung supernatan ke dalam agar pada media dan mengakibatkan terbentuknya cincin hambatan pada pertumbuhan bakteri uji (Schlegel dan Schmidt, 1994). Diameter daya hambat menunjukkan kepekaan bakteri uji, semakin besar daya hambat terhadap bakteri maka antibakteri tersebut mempunyai aktivitas yang semakin baik (gambar 1).



Gambar 1. Diameter zona hambat terbesar pada isolat DSA 1-1.

Terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan tiap isolat bakteri endofit. Hasil tersebut juga menandakan bahwa kemungkinan besar senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut memiliki

spektrum yang luas (Kusumawati,dkk, 2014). Beberapa isolat bakteri endofit tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pada kedudukan bakteri patogen yang diujikan. Bakteri endofit tersebut kemungkinan mampu menghasilkan senyawa antibakteri namun dalam jumlah yang sangat sedikit atau menghasilkan senyawa aktif lain yang belum diketahui (Son dan Cheah, 2002).

Jenis metabolit sekunder pada daun salam yaitu flavonoid. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek antimikroba, antiinflamasi, merangsang pembentukan kolagen, melindungi pembuluh darah, antioksidan dan antikarsinogenik (Sabir, 2003). Flavonoid juga sebagai antibakterial dapat menekan bakteri yang menkontaminasi luka sehingga infeksi dapat dihindarkan (Dharmayanti dan Sulistyowati, 2000).

Pelezar (1988) menyatakan bahwa sebagai antibakteri, flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan pembekuan protein yang akhirnya akan terjadi gangguan metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri. Jika metabolisme bakteri terganggu maka kebutuhan energi tidak tercukupi sehingga mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri.

Isolat bakteri endofit yang dihasilkan dari daun Salam menunjukkan adanya aktivitas antimikroba. Jenis metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat sama dengan jenis metabolit

sekunder yang dihasilkan oleh daun Salam. Daun Salam ini dapat digunakan sebagai tanaman obat, yang biasa digunakan sebagai obat infeksi. Karena mengandung antimikroba yang bersumber dari bakteri endofit. Tanaman ini juga memiliki senyawa antimikroba berupa senyawa metabolit sekunder yang berasal dari jaringan daun Salam sendiri. Kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder (Radji, 2005).

IV. PENUTUP

A. Kesimpulan

Hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut

1. Didapatkan 11 isolat bakteri endofit dari isolasi daun salam, 10 isolat termasuk Gram positif, bentuk sel vegetatif basil dan kokus, dan 1 isolat Gram negatif dengan bentuk basil.
2. Dihasilkan 5 isolat bakteri endofit yang mempunyai aktivitas antimikroba, dan isolat DSA 1-1 mempunyai kemampuan tinggi dalam menghambat bakteri uji dengan zona hambat 6,42 mm

C. Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut uji biokimia sehingga dapat diketahui spesies bakteri endofit dari daun salam (*Syzygium polyanthum* WIGHT) serta jenis senyawa antimikroba yang dihasilkan dari bakteri endofit ini.

REFERENSI

Alcamo, I. 1998. Laboratory Fundamentals of Microbiology

- Addison Wesley Publishing.
Company, Inc. Canada.
- Bacon, C.W., and .M.Hinton.
2006. Bacterial Endophytes The
Endophytic Niche Its Occupt,
And its Utility. Dalam: Gnana-
manichka SS, editor. Plant
Associated Bacteria. Netherland
:Springer.
- Bhore, S.J., and G.Sathisha. 2010.
Screening of Endophytic
Colonizing Bacteria of
Cyrokinin Like Compounds :
Crude Colonizing Bacterial
Unsuitable in Cucumer
Cotyledon Bioassay. *World. J.
Agric. Sci. Vol. 6 (4) :345-352*
- Bills, G. F., and J.D.
Polyshook. 2000. Recorvery of
Endophytic Fungi from
Chamaehyparis Tyoides
Sydowia. *Journal Microbiology.
Vol. 8 (44): 1-12.*
- Budiyanto, A.K. 2002. *Microbiologi
Terapan*. Malang:
Universitas Muhamadiyah
Malang.
- Clay, K. 1988. Fungal Endophytes of
Grasses and Defensive
Mutualisme Between Plants
and Fungi.
Journal Ecology. Vol. 69:10-16
- Compant, S., C.Christophe.,
S. Angela. 2010. Plant Growth-
Promoting Bactria In The
Rhizo and Endosphere of
Plant: Their Role, Colonization,
Mechanisms Involved and
Prospect for Utilization. *Soil
Biologi and Biochemistry: Elsiver.
Vol. 42:669-678.*
- Desriani, U. M. P., B. Maria, R.
Akhmad,
dan L. Puspita. 2014. Isolasi dan
Karakterisasi Bakteri Endofit dari
Tanaman Binahong dan
Katepeng China. *Jurnal
Kesehatan
Andalas. Vol. 3(2): 90-91.*
- Dharmayanti, S.E. 200. *Efektifitas
Pemberian Propolis Lebah
Dan Royal Jelly Pada Abses
Yang disebabkan
Staphylococcus aureus.*
Pusat Penelitian Bogor : LIPI.
- Djamaan, A., A. Anthoni, dan Y.
Desma. 2012. Isolasi Bakteri
Endofit Dari Tumbuhan
Surian (*Toona sureni*) Yang
Berpotensi Sebagai Antimikroba.
Jurnal Bahan Alam Indonesia.
ISSN 1412-2855. *Vol. 8 (1): 37-
38.*
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi
Dasar dalam Praktek*. Jakarta:
Gramedia.
- Haniah, M. 2008. Isolasi Jamur
Endofit dari Daun Sirih
(*Piper battle* L.) sebagai
Antimikroba Terhadap
Escherichia coli,
Staphylococcus aureus dan
Candida Albican. *Skripsi.*
Malang. Universitas Islam
Negeri Malang.
- Haryanto, M.S. dan K. Dedi. 1999.
Pengaruh Monosakarida
Dan Penggunaan Sumber
Karbon Lokal
Pada Pembentukan Eritromosi
Pada Fermentasi
Streptomyces erythreus. *Majalah
Farmasi Indonesia. Vol. 10 (3):
149-155.*
- Izza, I. 2011. Isolasi, Karakteristik
dan Identifikasi Bakteri Endofit
Dari Tanaman Mahkota
Dewa (*Phaleria macrocarpa*)
Yang Berpotensi Sebagai
Antimikroba. *Skripsi.*

- Yogyakarta : Universitas Islam
Kalijaga.
- Kusumawati, D.E., H.P., Fachiyah.,
dan B. Maria. 2014. Aktivitas
Antibakteri Isolat Bakteri
Endofit Tanaman Miana
(*Coleus scutellarioides* L.)
Terhadap *Staphylococcus*
aureus dan *Escherichia coli*.
Jurnal Current Biochemistry.
Vol. 1 (1): 45 – 50.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko dan
J.Parkir. 2000. *Biologi*
Microorganisme. 9th Ed.
Prentice Hall Internasional,
Inc.,New Jersey.
- Marlinda, S., S. Devi, dan Saryono.
2009. Seleksi Sembilan Belas
Bakteri Endofit Dari Umbi
Tanaman Dahlia (*Dahlia*
varabilis) Penghasil Enzim
Selulase. *Jurnal Biokimia*
Binawidya. Vol.56 (4): 1-3.
- Neu, C.H., 1992. The crisis in
antibiotic resistance. *Science*,
Vol.257(1064):10-15.
- Njoloma, J., K. Tanaka, T. Shimizu,
T.Nishiguchi, M.Zakria, R.
Akashi, M.Oota, and S. Akao.
2005. Infection and
Colonization of Aseptically
Microsparged Sugarcane
Seedlings by Nitrogen Fixing
Endophytic Bacterium,
Herbaspirillum sp. B5019FPI.
Biol. Fertil. Soils. Vol. 43:
137-147.
- Noverita, D.F, dan S. Ernawati. 2009.
Isolasi Dan Uji Aktivitas
Antibakteri Jamur Endofit
Dari Daun Dan Rimpang
Zingiber officinale Val. *Jurnal*
Farmasi Indonesia. Vol.4
(4):171-176.
- Nursanty, R. dan Suhartono. 2012.
Isolasi Karakterisasi Dan Uji
Antimikroba Bakteri Endofit
Asal Tumbuhan Johar (*Cassia*
Siamensis Lamk.). *Jurnal Ilmiah*
Pendidikan Biologi, Biologi
Edukasi. Vol.4(1): 7-10.
- Pelczar, M.J dan E.S.C.
Chan.1998. *Dasar Dasar*
Mikrobiologi. New York. McGraw-
Hill Book Company. Inc.
Diterjemahkan oleh
R.S.Hadioetomo, T.Imas.S.S.Tj
itros mo dan
S.L.Angka. Jakarta: UI-Press.
- Pezzuto, J. 1996. Taxol Production in
Plant Cell Culture Comes
of Age. *Natur Biotechnol*,
Vol.14 (4) :71 – 79. Prescott, L.M,
J.P. Harley, and D. A Klein.
2002. *Microbiology* 5th
ed. America :Mc. Graw
Hill.
- Prihatiningtyas, W. dan M.S.H.
Wahyuningsi. 2011. Prospek
Mikroba Endofit Sebagai
Sumber Bioaktif. Artikel
<http://mot.farmasi.ugm.ac.id/artikel>
155 prospek mikroba-
endofit sebagai sumber
senyawa bioaktif.html, diakses
19 juni 2011, pukul 17.00.
- Purwanto, R. 2008. Peranan
Mikroorganisme Endofit Sebagai
Penghasil Antibiotik.
Artikel. ([http://www.kabar](http://www.kabarindonesia.com)
[indonesia.com](http://www.kabarindonesia.com)). diakses 13
Agustus 2010, pukul 13.10 wib.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi
dan Mikroba Endofit Dalam
Pengembangan Obat
Herbal. *Majalah Ilmu*
Kefarmasian. Vol.2 (3):113-126.
- Ryan, R.P., K. Germaine, A. Ryan,
D.J. Barka, D.N, 2008.
Bacterial Endophyte : Recent

- Development and Applications. *FEMS Microbial. Lett.* Vol. 4 (278): 1-9.
- Sardjoko. 1991. *Kimia dan Biologi Antibiotik. Buku Monograf PAU Bioteknologi.* Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sari, W.E.R., Masrina dan V.P. Budiman. 2009. Antibiotik Dan Mikroba Endofit Tanaman JaurKotak :Alternatif Solusi Permasalahan Resistensi Bakteri di Indonesia. *Karya Ilmiah.* IPB
- Schlegel, H.G dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum.* Bandung: Universitas Gadjah Mada.
- Schmidt, M.A., E.M.Souza, V. Baura, R. Wassem, M.G. Yates, F.O. Pedrosa, and R.A.Monteiro. 2011. Evidence for the Endophytic Colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean Root) by the diazotrophic *Herbaspirillum seropedicae*. *Braz. J. Med. Biological Res.* Vol. 44(3): 182-183.
- Simanjuntak. P, Bustanussalam, Otovina D.M, Rahayuningsih M, Said.E.G. 2004. Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman *Artemisia annua*. *Majalah Farmasi Indonesia.* Vol. 15(2): 68- 74.
- Simarmata, R, S. Lekatompessy, dan H.Sukimah. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gymnura procumbens*) dan Analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk Penel Hayati.* Vol. 3 (13) : 85-90.
- Son R, and Y.K. Cheah. 2002. Preliminary screening of endophytic fungi from medical plants in Malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malaysian. Journal of Medical Sciences.* Vol. 9 (2): 23-33.
- Strobel, G.A., and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbial and Mol. Biology Rev.* Vol. 67(4): 63-68.
- Tanaka, M. 1999. Isolation Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido, Japan and Java Indonesia. *Microles and Environment.* 14(4) :237-241.
- Tomita, F. 2003. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity.* Vol. 14: 187-204.
- Volk, W.A dan M. F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar.* Jilid1, edisi .Jakarta: Erlangga
- Winarto, W.P. 2004. *Mememanfaatkan Bumbu Dapur untuk Mengatasi Aneka Penyakit.* Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Yusuf, S. 2010. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang Kayu Api-api Betina (*Avicennia Marina Neesh*). *Jurnal Penelitian Sains* 13 (2).