

Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tumbuhan Nyawai (*Ficus variegata* Blume)

Antibacterial Activity of Endophytic Bacteria from Ficus variegata Blume

Shinta Leonita^{1*}, Maria Bintang², Fachriyan Hasmi Pasaribu³

¹Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Institut Teknologi Indonesia
Jl Raya Puspipetk, Serpong, Kota Tangerang Selatan, Provinsi Banten 15320

²Departemen Biokimia, IPB

³Badan Mikrobiologi Medik, Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

Abstrak

Bakteri endofit menjadi salah satu alternatif penghasil senyawa antibakteri. Tumbuhan Nyawai (*Ficus variegata* Blume) merupakan tumbuhan obat yang mengandung senyawa antibakteri. Ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan dinilai tidak efisien sebab memerlukan biomassa yang besar, sehingga cara yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tumbuhan Nyawai terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Sebanyak 29 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tumbuhan nyawai. Berdasarkan uji antibakteri sebanyak 5 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *E. Coli*, 6 isolat mampu menghambat *S. aureus*, 4 isolat mampu menghambat *B. subtilis* dan 4 isolat mampu menghambat *P. Aeruginosa*.

Kata Kunci : antibakteri, bakteri endofit, *Ficus variegata* Blume

Abstract

Endophytic bacteria are of alternative of antibacteri compound producers. *Ficus variegata* Blume known as medicinal plant which contains antibacterial. Extraction of bioactive compound from plants is not efficient because it needs a large biomass, therefore the one of appropriate ways is using endophytic bacteria. The purpose of this research was to isolate and test of antibacteri activity of endophytic bacteria from *Ficus variegata* Blume against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*. A total of 29 isolates of endophytic bacteria were obtained from *Ficus variegata* Blume. Based on antibacteri activity test 5 isolates of endophytic bacteria were able to inhibit the growth of *E. coli*, 6 isolates were able to inhibit *S. aureus*, 4 isolates were able to inhibit the growth of *B. subtilis* and 4 isolates were able to inhibit the growth of *P. aeruginosa*.

Keyword : antibacterial, endophytic bacteria, *Ficus variegata* Blume

*Penulis Korespondensi. Telp: +62 81297210557

Alamat E-mail : shinta.leonita@iti.ac.id (Shinta Leonita)

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi dan memiliki kawasan hutan hujan tropis yang luas.

Penggunaan tumbuhan sebagai sumber obat meningkat seiring dengan meningkatnya resistensi bakteri terhadap infeksi berbagai jenis obat. Banyak spesies tumbuhan hutan yang

berpotensi sebagai tumbuhan obat tetapi belum dimanfaatkan secara optimal, salah satu diantaranya adalah Nyawai (*Ficus variegata* Blume).

Khasiat obat dari tumbuhan Nyawai tidak terlepas dari kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan Nyawai diduga erat kaitannya dengan keberadaan bakteri endofit dalam tumbuhan tersebut. Menurut Radji (2005) bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan senyawa yang ada pada tanaman inangnya [1]. Kemampuan bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif tersebut merupakan potensi yang dapat dikembangkan terutama pada jenis tumbuhan obat yang langka. Oleh karena itu, tidak perlu menebang tumbuhan aslinya untuk diambil simplisia yang membutuhkan waktu dan proses yang lebih rumit jika dibandingkan dengan mengekstrak senyawa bioaktif dari bakteri [2] [3].

Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit diketahui berpotensi untuk dikembangkan berbagai bidang baik kesehatan, pertanian, lingkungan maupun industri. Bakteri endofit telah diisolasi dari berbagai jenis tumbuhan termasuk pohon-pohonan (cemara dan pinus), tanaman makanan ternak (alfafa, bulir gandum, bunga cengkeh), sayur-sayuran (wortel, lobak, tomat, ubi jalar, selada, dan kedelai), buah-buahan (pisang, nanas, jeruk), bulir tanaman biji-bijian (jagung padi, gandum, dan tanaman hasil panen lainnya (kopi dan tebu) [4]. Penelusuran dan penyeleksian bakteri endofit khususnya asal tumbuhan obat sebagai alternatif sumber antibakteri baru menjadi suatu hal yang penting untuk diteliti.

Rijai (2013) telah melaporkan bahwa buah Nyawai merupakan sumber antibakteri yang sangat potensial karena memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri yang berperan penting menimbulkan penyakit pada masyarakat. Aktivitas tersebut berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung dalam buah nyawai yaitu senyawa alkaloid dan saponin. Daun Nyawai diketahui memiliki kandungan fenol yang tinggi [5]. Kandungan senyawa tersebut kemungkinan besar memiliki aktivitas antibakteri yang juga dihasilkan oleh bakteri endofit yang hidup di dalam tumbuhan Nyawai.

Banyak penelitian yang telah dilaporkan mengenai potensi bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif dari berbagai tanaman obat. Selama ini belum pernah dilaporkan adanya bakteri endofit dari tumbuhan Nyawai. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mencakup isolasi bakteri endofit dari tumbuhan Nyawai dan menguji aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit tersebut

terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Teori Dasar

Tumbuhan Nyawai (*Ficus variegata* Blume) merupakan salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang termasuk dalam keluarga *Moraceae*. Penyebarannya meliputi seluruh Asia Tenggara, India, Jepang, Cina, Taiwan, Australia, Kepulauan Pasifik [6]. Nama lain Nyawai adalah kundang, gondang (Jawa, Bali); kondang (Sunda), ara, arah, aro, barai silai uding, haru kucing (Sumatera); hara, lua, nyawi, nyawai (Kalimantan), aga, andara himontaha, bunta, rolly (Sulawesi); akau, andeiyeve, gondal, sesem, kabato (Maluku); ganalang, kanjilu (Sumba) [7]. Tumbuhan Nyawai termasuk jenis pioner yang membutuhkan cahaya (*intolerant*) dan memiliki pertumbuhan cepat (*fast growing*). Tumbuhan ini dapat mencapai 25 meter dan mulai berbuah setelah umur 3 tahun. Buah tumbuh bergerombol pada batang atau cabang. Buah muda berwarna hijau, kemudian menjadi kuning dan setelah matang berwarna merah. Tipe buah termasuk buah periuk (*Schiconium*) dan berbentuk bulat [8] [9].

Tumbuhan Nyawai merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang sejak lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat untuk berbagai keperluan seperti daunnya dimanfaatkan sebagai sayur, getah buah dan air rebusan buah Nyawai juga digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai obat disentri. Buah nyawai telah dilaporkan memiliki efek farmakologis diantaranya antikanker, antioksidan, dan antibakteri. Ekstrak buah Nyawai memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri yang berperan penting untuk menimbulkan penyakit pada masyarakat. Aktivitas tersebut berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung dalam buah Nyawai [10].

Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan sekelompok mikroorganisme yang tumbuh di dalam jaringan tumbuhan dan tidak menjadi parasit terhadap tumbuhan inangnya, dan telah terbukti bahwa mikroorganisme ini kaya akan sumber produk bioaktif alami. Kemampuan bakteri endofit menghasilkan metabolit sekunder diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit. Secara teori, mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi. Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini,

masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit [1].

Beberapa hasil penelitian bakteri endofit yang diisolasi dari tumbuhan mampu memberikan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan senyawa-senyawa antibakteri baru. *Pseudomonas* dan *Bacillus* adalah genus bakteri endofit yang paling sering ditemui dan mampu menghasilkan senyawa bioaktif, salah satunya berpotensi sebagai senyawa antibakteri. *Pseudomonas sp.* yang diisolasi dari umbi tanaman dahlia mampu menghambat bakteri patogen [11], serta *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari mulberry menunjukkan aktivitas antimikroba [12].

3. Metodologi

Sterilisasi sampel

Sampel berupa bagian dari tumbuhan nyawai seperti akar napas, batang, daun, dan buah. Sterilisasi sampel dilakukan dengan metode Kusumawati (2014) yang dimodifikasi. Sampel dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dipotong masing-masing sekitar 1-3 cm. Setiap potongan sampel tersebut kemudian disterilisasi dengan etanol 96% selama kurang lebih 1 menit, dilanjutkan ke dalam Na-hipoklorit 5,25% selama 5 menit dan kembali dibilas lagi ke dalam etanol 96% sebanyak tiga kali [3].

Isolasi bakteri endofit

Sampel yang telah disterilisasi lalu ditanam pada media isolasi *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung nistatin (0.01% b/v) kemudian diinkubasi di ruang gelap dan diamati sampai adanya pertumbuhan koloni. Pemurnian koloni bakteri dilakukan dengan memindahkan 1 ose koloni ke dalam cawan Petri yang berisi media NA. Setelah diperoleh biakan murni, bakteri endofit dipindahkan ke agar miring NA [3].

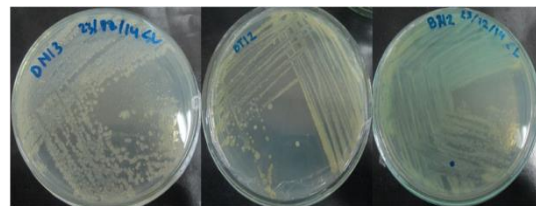
Aktivitas Antibakteri dari isolat bakteri endofit

Peremajaan isolat bakteri endofit dan bakteri uji (*E.coli*, *S.aureus*, *B. subtilis*, dan *P.aeruginosa*) dilakukan dengan menginokulasi masing-masing bakteri ke dalam media NA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28-30°C. Koloni bakteri uji yang tumbuh dipindahkan ke dalam 5 ml media *Nutrient Broth* (NB) kemudian diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 24 jam. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menambahkan masing-masing 0,4 ml kultur bakteri uji ke dalam 80 ml media NA, kemudian dituang ke dalam cawan Petri steril sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat. Isolat bakteri endofit diinokulasikan dengan ose ke dalam media NA yang telah berisi bakteri uji. Cawan tersebut

diinkubasi selama 24-48 jam. Zona hambat diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar isolat bakteri endofit. Isolat bakteri endofit yang positif menunjukkan zona hambat terhadap semua patogen merupakan isolat potensial [13].

4. Hasil dan Pembahasan

Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan tumbuhan Nyawai melalui sterilisasi permukaan. Hallman *et al* (1997) mendefinisikan bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman yang dapat diisolasi melalui sterilisasi permukaan jaringan [14]. Jumlah bakteri endofit di dalam tanaman tidak dapat ditentukan secara pasti, namun bakteri ini dapat dideteksi dengan mengisolasi pada media agar. Bakteri endofit pada penelitian ini berhasil diisolasi dari jaringan tumbuhan Nyawai seperti akar napas, batang, daun, dan buah. Sebanyak 29 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari beberapa bagian tumbuhan nyawai. Bagian daun (DN) memiliki jumlah isolat bakteri endofit terbanyak yaitu sebanyak 10 isolat, kemudian diikuti akar napas (AR) dan batang (BT) masing-masing sebanyak 8 isolat, dan terakhir adalah bagian buah (BH) sebanyak 3 isolat.



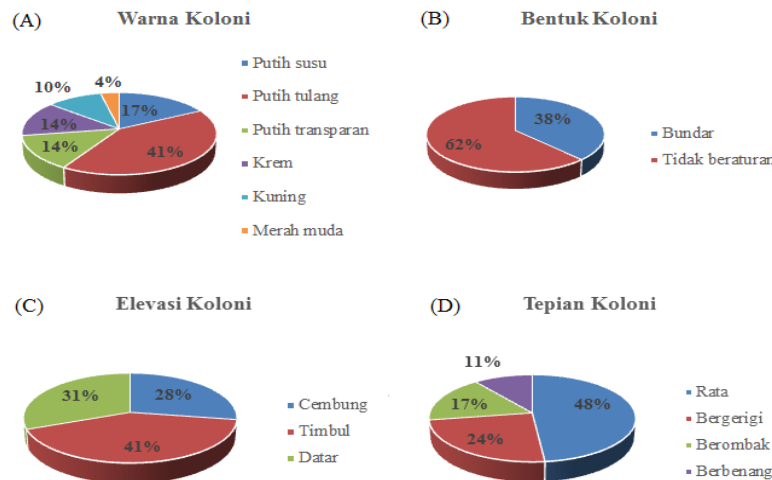
Gambar 1. Isolat bakteri endofit dari Nyawai

Jumlah bakteri endofit tumbuhan Nyawai lebih banyak terdapat pada bagian daun. Jalur masuk bakteri endofit umumnya melalui akar, namun demikian, bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti daun (melalui stomata), bunga, batang ranting, dan kotiledon dapat juga sebagai jalur masuk bakteri endofit. Bakteri endofit juga bisa memasuki tanaman pada saat tanaman mengalami luka yang disebabkan oleh faktor biotik dan faktor abiotik [15]. Penelitian ini juga di peroleh bakteri endofit pada akar nafas dan buah. Hal ini membuktikan bahwa bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jaringan tanaman seperti akar, daun, batang, dan buah.

Keragaman bakteri endofit dapat diketahui dengan melakukan karakterisasi morfologi bakteri endofit yang telah diisolasi. Pengamatan morfologi yang dilakukan meliputi warna, bentuk, elevasi, dan tepian koloni bakteri endofit. Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa 29 isolat bakteri endofit memiliki karakteristik yang berbeda. Berdasarkan

karakteristik morfologi sebagian besar isolat bakteri endofit berwarna putih tulang (41%), bentuk tidak beraturan (62%), dan elevasi timbul (41%), tepian rata (48%). Jumlah bakteri endofit

yang berhasil diisoalsi berdasarkan pengamatan morfologi bakteri tersebut dapat dilihat berdasarkan presentase seperti pada Gambar 2.

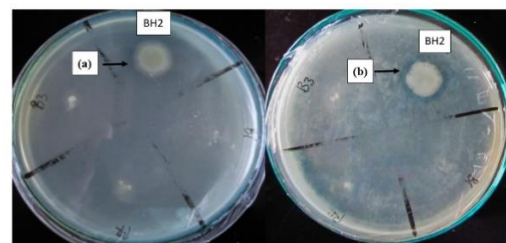


Gambar 2. Persentase pengamatan morfologi koloni bakteri endofit dari tumbuhan Nyawai

Bakteri endofit hasil isolasi tersebut kemudian diuji aktivitas antibakterinya pada *E.coli*, *S.aureus*, *B. subtilis*, dan *P. Aeruginosa*. Rijai (2013) melaporkan bahwa ekstrak buah nyawai memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri yang berperan penting untuk menimbulkan penyakit pada masyarakat yaitu *E.coli*, *S.aureus*, *B. subtilis*, dan *P. Aeruginosa* [10]. Hasil penapisan pada Tabel 1 menunjukkan dari 29 isolat bakteri endofit hanya 7 isolat bakteri yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu isolat DN11, DN12, DN13, DN14, DN15, BT12, dan BH2. Sebanyak 5 isolat mampu menghambat pertumbuhan *E.coli*, 6 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, 4 isolat menghambat *B. subtilis*, dan 4 isolat mampu menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*. Zona bening yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit disajikan pada Gambar 3. Kusumawati *et al.* 2014 menyatakan terbentuknya zona bening pada isolat bakteri endofit menandakan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri. Perbedaan diameter zona bening yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan setiap isolat bakteri endofit [3].

Berdasarkan penelitian Rijai (2013), ekstrak fraksi n-butanol buah Nyawai menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa buah Nyawai sangat baik sebagai sumber antibakteri yang sangat

potensial. Karena buah Nyawai menghasilkan senyawa yang bersifat antibakteri, maka diduga bakteri endofit yang hidup dalam tumbuhan tersebut juga berpotensi menghasilkan senyawa yang bersifat antibakteri.



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk pada aktivitas antibakteri isolat BH2 terhadap *Escherichia coli* (a) dan *Bacillus subtilis* (b)

Berdasarkan penelitian Rijai (2013), ekstrak fraksi n-butanol buah Nyawai menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa buah Nyawai sangat baik sebagai sumber antibakteri yang sangat potensial. Karena buah Nyawai menghasilkan senyawa yang bersifat antibakteri, maka diduga bakteri endofit yang hidup dalam tumbuhan tersebut juga berpotensi menghasilkan senyawa yang bersifat antibakteri.

Bakteri endofit yang menetap di tumbuhan Nyawai kemungkinan besar memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa antibakteri yang sama seperti tumbuhan induknya. Diharapkan isolat bakteri endofit yang

potensial tersebut akan diidentifikasi lebih lanjut terkait spesies dan jenis senyawa antibakteri yang

dihasilkan, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai alternatif sumber antibakteri baru.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji antibakteri dari bakteri endofit tumbuhan Nyawai

| KodeIsolat | Bakteri Uji | | | |
|------------|--------------------|------------------|----------------|---------------------|
| | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>P.aeruginosa</i> |
| AR11 | - | - | - | - |
| AR12 | - | - | - | - |
| AR13 | - | - | - | - |
| AR21 | - | - | - | - |
| AR22 | - | - | - | - |
| AR31 | - | - | - | - |
| AR32 | - | - | - | - |
| AR33 | - | - | - | - |
| BT11 | - | - | - | - |
| BT12 | + | - | + | + |
| BT13 | - | - | - | - |
| BT14 | - | - | - | - |
| BT15 | - | - | - | - |
| BT16 | - | - | - | - |
| BT21 | - | - | - | - |
| BT22 | - | - | - | - |
| DN11 | + | + | - | - |
| DN12 | - | ++ | ++ | - |
| DN13 | + | ++ | - | + |
| DN14 | - | + | ++ | - |
| DN15 | - | + | ++ | + |
| DN21 | - | - | - | - |
| DN22 | - | - | - | - |
| DN23 | - | - | - | - |
| DN24 | - | - | - | - |
| DN3 | - | - | - | - |
| BH1 | - | - | - | - |
| BH2 | +++ | +++ | + | ++ |
| BH3 | - | - | - | - |

Keterangan: tidak menghambat (-), menghambat (+) < 2 mm, (++) < 5 mm, (+++) > 10 mm

5. Kesimpulan

Sebanyak 29 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tumbuhan nyawai. Berdasarkan hasil penelitian, isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *E.coli*, sebanyak 5 isolat, 6 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, 4 isolat menghambat *B. subtilis*, dan 4 isolat mampu menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*.

Daftar Pustaka

- [1] Radji M. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3: 113-126. 2005.
- [2] Desriani, P, Ukhradia MS, Maria B, Akhmad R, Puspita L. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Ketepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(2): 89-93. 2014.
- [3] Kusuma DE, Fachriyan HP, Maria B. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Current Biochemistry* 1(1): 45-50. 2014.
- [4] Goryluk A, Burlaga HR, Blaszczyk M. Isolation and Characterization of Bacterial

- Endophytes of *Chelidonium Majus* L. Polish. *Journal of Microbiology* 58: 355-361. 2009.
- [5] Lushaini S, Muhamad AW, Puji A. Kandungan total fenol, aktivitas antioksidan dan sitotoksik daun kedelai (*Ficus variegata* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4(2):1-5. 2015.
- [6] Zhekun Z, Gilbert MG. Moraceae. *Flora of China*. 5:21-73. 2003.
- [7] Sumarni, G, MMuslich, N Hadjib, Krisdianto, D Malik, SSuprapti, EBasri, GPari, MI Iskandar, RMSiagian. *Sifat dan Kegunaan Kayu: 15 Jenis Andalan Setempat Jawa Barat*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan. Bogor. 2009.
- [8] Haryjanto L, Prastyono. Pendugaan parameter genetik semai Nyawai (*Ficus variegata* Blume) asal pulau Lombok. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*. 3(1): 37-45. 2014.
- [9] Sudhakar, JV, GVS Murthy. *Ficus variegata* (Moraceae), a new record for Peninsular India. *Rheedea* 22 (1): 62-65. 2012.
- [10] Rijai, L. Potensi tumbuhan libo (*Ficus variegata* Blume) sebagai sumber bahan farmasi potensial. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2(3):166-179. 2013.
- [11] Elita A, Sarryono S, Cristine J. Penentuan waktu optimum produksi antimikroba dan uji fitokimia ekstrak kasar fermentasi bakteri endofit *Pseudomonas* sp. dari tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). *Journal Indonesian Chemia Acta*. 3(2): 56-62. 2008.
- [12] Qiang-Ying W, Jun-Qiang J, Guang-Xiu T, Zhong-Zheng G. Isolation and characterization of an antimicrobial endophytic bacterium ME-2 from mulberry twig in China. *African Journal of Microbiology Research*. 6: 6462-6467. 2012.
- [13] Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berkala Penelitian Hayati*. 13:85-90. 2007.
- [14] Hallman J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, Kloepper JW. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43:895-914. 1997.
- [15] Siddiqui IA, Shaukat SS. Endophytic bacteria: prospects and opportunities for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Nematolmedit*. 31: 111-120. 2003.