

## Isolasi dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari daun cendana (*Santalum album* linn.)

Maya Listya<sup>1</sup>, Desi Sagita<sup>2</sup>, Nur Antriana<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi<sup>1</sup>Program

<sup>3</sup>Studi Keperawatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi

antreemik12@gmail.com

### Abstrak

**Latar Belakang:** Bakteri endofit merupakan bakteri yang dapat hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan bahaya dan memiliki senyawa aktif yang sama seperti tanaman inangnya. Bakteri endofit terdapat hampir pada 300.000 jenis tanaman yang ada di bumi. Bakteri endofit dapat diperoleh dengan cara diisolasi dari tanaman yang permukaannya telah disterilkan atau pun dapat diekstrak untuk mendapatkan bakteri yang hidup didalam jaringan tanaman. Cendana (*Santalum album* Linn.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Ekstrak daun cendana telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini mendorong perlu dilakukannya isolasi bakteri endofit dari daun Cendana (*Santalum album* Linn.) yang diharapkan memberi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode yang meliputi sterilisasi sampel, isolasi bakteri endofit, pemurnian isolat bakteri endofit, karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia serta uji aktivitas antibakteri. Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi yaitu metode *Kirby Bauer*. **Hasil:** Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari daun cendana adalah sebanyak 5 isolat yang diberi kode D6I3, D3I1, 1.1 (1'5'1'), 1.2 (2'10'2), dan 2.2 (2'10'2). Berdasarkan uji aktivitas antibakteri, 5 isolat bakteri endofit dari daun Cendana tidak memberikan daya hambat yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening.

**Kesimpulan:** Ini menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri dari 5 isolat tersebut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Kata Kunci :** Antibakteri, bakteri endofit, daun cendana, *santalum album*.

### Abstract

**Background:** Endophytic bacteria is a bacteria that can live inside plant tissues without causing harm and have the same active compound as the host plant. The endophytic bacteria found nearly 300.000 species of plants on the earth. The endophytic bacteria can be obtained by isolated from a plant that its surface has been sterilized or could be extracted to get the bacteria that live inside plant tissues. Sandalwood (*Santalum album* Linn.) is one of the medicinal plants. Extract of Sandalwood leaves has been reported have antibacterial activity. This prompted need to do isolation of endophytic bacteria from Sandalwood leaves (*Santalum album* Linn.) was expected to provide antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Method:** This research used method includes sterilization of samples, isolation of endophytic bacteria, purification of endophytic bacteria isolates, characterization macroscopic, microscopic and biochemical tests and antibacterial activity test. Antibacterial testing using the diffusion method was the method of Kirby Bauer.

**Results:** Endophytic bacteria isolates were obtained from the leaves of sandalwood was as much as 5 isolates coded D6I3, D3I1, 1.1 (1'5'1'), 1.2 (2'10'2), and 2.2 (2'10'2). Based on the antibacterial activity test, five isolates of endophytic bacteria from Sandalwood leaves did not give inhibition which indicated by the formation of a clear zone.

**Conclusion:** This indicates the absence of antibacterial activity of five isolates of the bacterium *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Key words :** Antibacterial, endophytic bacteria, Sandalwood Leaf, *Santalum album*.

### PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan bakteri yang dapat diperoleh dengan cara diisolasi dari tanaman yang permukaannya telah

disterilkan ataupun dapat diekstrak untuk mendapatkan bakteri yang hidup didalam jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat bertahan hidup pada periode tertentu

tanpa menimbulkan bahaya pada tanaman <sup>(1)</sup>. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti tumbuhan inangnya, sehingga bakteri ini cocok sebagai agensia pengendalian hayati <sup>(2)</sup>.

Senyawa bioaktif bakteri endofit bermanfaat sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, dan immunosupresif serta berpotensi sebagai pemacu hormon pertumbuhan tanaman <sup>(3)</sup>. Eksplorasi bakteri endofit telah banyak dikaji oleh peneliti sebelumnya. Namun, eksplorasi bakteri endofit dari daun Cendana (*Santalum album* Linn.) masih belum dilakukan. Pengujian ekstrak alkohol Cendana sebagai antibakteri telah dilakukan dan menunjukkan hasil yang positif terhadap *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan terbentuknya zona hambat bakteri <sup>(4)</sup>. Ekstrak daun cendana telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* <sup>(5)</sup>. Sebelumnya jamur endofit telah berhasil diisolasi dari akar Cendana (*Santalum album* Linn.) dengan inangnya *Kuhnia rosmarinifolia* <sup>(6)</sup>.

Penelitian kali ini bertujuan untuk mengeksplorasi isolat bakteri endofit yang diisolasi dari daun Cendana (*Santalum album* Linn.), melihat adanya kemampuan antibakteri isolat bakteri endofit terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini sangat menguntungkan karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya sehingga dapat menghemat waktu produksi dan senyawa antibakteri yang diperoleh lebih besar jumlahnya tanpa menggunakan lahan yang luas. Hal ini diharapkan dapat menjadi salah satu solusi sebagai antibiotik dalam menangani berbagai penyakit infeksi yang banyak berkembang di masyarakat.

## METODE

### Sterilisasi Sampel

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi STIKES HI Jambi, sedangkan sampel daun tanaman Cendana (*Santalum album* Linn.) diambil dari lahan perkebunan warga di Desa Meranti, kec. Renah Pamenang, kab. Merangin, Bangko.

Sampel daun cendana (*Santalum album* Linn.) terlebih dahulu dicuci menggunakan air mengalir, selanjutnya disterilasi permukaannya yaitu dengan direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam natrium hipoklorit (NaOCl) 1% selama 5 menit, dan setelah itu direndam kembali dalam alkohol 70% selama 1 menit. Selanjutnya, dibilas sebanyak 3 kali dengan aquades steril <sup>(7)</sup>.

### Isolasi Bakteri Endofit

Sampel yang telah disterilkan diletakkan pada media *Nutrient Agar*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C. Koloni bakteri endofit yang muncul pada media isolasi kemudian dilakukan pemurnian. Pemurnian dilakukan dengan menginokulasikan isolat pada media NA baru dan diinkubasi selama beberapa hari pada suhu 30°C. Uji kontrol negatif dilakukan menggunakan air *aqua destilata* sisa hasil rendaman terakhir ketika proses sterilisasi permukaan selesai sebanyak 0,1 mL dengan cara menyebarkan ke atas media untuk membuktikan bahwa koloni bakteri endofit yang tumbuh hanya berasal dari dalam jaringan daun cendana <sup>(7)</sup>.

### Karakterisasi Makroskopis

Bakteri hasil isolasi dilakukan karakterisasi secara makroskopis pada media NA. Karakterisasi secara makroskopis dapat diketahui dari warna, bentuk (bulat, seperti akar, atau tidak beraturan), tepian (mulus, lobatus, bergelombang, bergerigi, dan filamentus) dan elevasi dari koloni (datar, naik, cembung, dan umbonatus) <sup>(8)</sup>.

### Karakterisasi Mikroskopis

Karakterisasi mikroskopis yang dilakukan berupa pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan isolat bakteri endofit telah tunggal dan termasuk bakteri Gram negatif atau Gram positif.

### Uji Biokimia

Uji biokimia yang dilakukan untuk mengkarakterisasi isolat bakteri endofit meliputi uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji katalase, uji *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP), Uji sitrat, dan uji Indol.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit terhadap pertumbuhan bakteri uji Gram negatif (*E. coli*) dan bakteri Gram positif (*S. aureus*) dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram (*Kirby Bauer*). Satu ose bakteri patogen yang berasal dari stok agar miring diambil kemudian ditumbuhkan di dalam 10 mL media NB steril. Selanjutnya di inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 100 µL kultur bakteri patogen yang berasal dari media NB cair dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian tuang media NA yang bersuhu 35-40°C sebanyak ±25 mL ke dalam cawan petri lalu didinginkan. Isolat bakteri endofit yang akan diuji diletakkan ke kertas cakram pada media yang telah mengandung bakteri patogen menggunakan pipet mikro sebanyak 10 µL, dan dilakukan tiga kali pengulangan. Kultur diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening

yang terbentuk disekitar isolat bakteri endofit. Zona bening menunjukkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan media yang disuspensikan dengan bakteri uji tanpa sampel merupakan kontrol negatif. Isolat yang mampu membentuk zona bening dikatakan potensial<sup>(7,9)</sup>.

### HASIL

Pada penelitian ini, sebanyak lima isolat diisolasi dari tanaman daun cendana (*Santalum album* Linn.). Kemudian kelima isolat dikarakterisasi secara mikroskopis, makroskopis dan pengamatan uji biokimia. Karakterisasi mikroskopis dilakukan pengamatan pewarnaan Gram yang menunjukkan bahwa kelima isolat merupakan bakteri Gram negatif (Tabel 1). Setelah itu, dilakukan pengamatan secara makroskopis meliputi warna dari isolat bakteri endofit, bentuk, sifat permukaan, tepian dan elevasinya (Tabel 2). Hasil pengamatan uji biokimia isolat bakteri endofit seperti yang tertera pada tabel 3.

Tabel 1. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofit Daun Cendana

Isolat	Bentuk	Gram
D6I3	Basil pendek	Negatif
D3I1	Kokus	Negatif
1.1 (1'5'1)	Basil pendek	Negatif
1.2 (2'10'2)	Kokus	Negatif
2.2 (2'10'2)	Kokus	Negatif

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Makroskopis Isolat Bakteri Endofit Daun Cendana

Isolat	Pengamatan				
	Warna	Bentuk	Sifat Permukaan	Tepian	Elevasi
D6I3	Putih kekuningan	Tak beraturan	Halus mengkilap	Filamentus	Umbonatus
D3I1	Putih	Tak beraturan	Halus mengkilap	Bergelombang	Cembung
1.1 (1'5'1)	Putih	Sirkuler	Halus mengkilap	Bergelombang	Cembung
1.2 (2'10'2)	Putih	Tak beraturan	Halus mengkilap	Lobatus	Cembung
2.2 (2'10'2)	Putih	Tak beraturan	Halus mengkilap	Bergelombang	Naik

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Cendana

Uji Karakterisasi	Isolat				
	1.1 (1'5'1)	1.2 (2'10'2)	2.2 (2'10'2)	D613	D311
TSIA	k/k	k/a	k/a	k/k	k/k
Katalase	+	+	+	+	+
MR	+	+	+	+	+
VP	-	+	+	-	-
SCA	+	+	+	+	+
SIM					
Sulfit	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Motil	+	+	+	+	+

Ket:

TSIA

k/a = memfermentasi laktosa dan/atau sukrosa

k/k = memfermentasi glukosa

Katalase (+) = terbentuknya gelembung (menghasilkan enzim katalase)

MR (+) = warna medium berubah menjadi merah (bakteri tersebut merupakan peragi asam campuran)

VP (+) = terbentuk warna merah pada media (terjadi pembentukan 2,3-butanadiol)

SCA (+) = warna media berubah dari hijau menjadi biru (menggunkan sitrat sebagai sumber karbon)

SIM

sulfit (-) = tidak ada warna hitam pada media (tidak mereduksi sulfur)

indol (-) = tidak terbentuk lapisan/ cincin berwarna merah (tidak membentuk indol)

motil (+) = timbul kekeruhan (ada pergerakan)

Isolat bakteri endofit dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri patogen, yaitu bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif dan *E. coli* dipilih mewakili bakteri Gram negatif, bakteri tersebut merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia akan tetapi menjadi patogen apabila mencapai jaringan diluar saluran

pencernaan. Pengujian aktivitas 5 isolat bakteri endofit terhadap kedua bakteri tersebut tidak menunjukkan adanya zona bening yang menandakan isolat bakteri endofit dari daun Cendana tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Cendana

Isolat	Uji Aktivitas Antibakteri	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
D613	Negatif (-)	Negatif (-)
D311	Negatif (-)	Negatif (-)
1.1 (1'5'1)	Negatif (-)	Negatif (-)
1.2 (2'10'2)	Negatif (-)	Negatif (-)
2.2 (2'10'2)	Negatif (-)	Negatif (-)

## PEMBAHASAN

Sebanyak lima isolat berhasil diisolasi dari tanaman daun cendana. Kelima isolat selanjutnya dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis serta pengamatan uji biokimia.

Karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram yang menunjukkan kelima isolat merupakan bakteri Gram negatif. Isolat bakteri endofit dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri patogen, yaitu bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *S. aureus* merupakan

bakteri Gram positif dan *E. coli* dipilih mewakili bakteri Gram negatif, bakteri tersebut merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia akan tetapi menjadi patogen apabila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan.

Pengujian aktivitas 5 isolat bakteri endofit terhadap kedua bakteri tersebut tidak menunjukkan adanya zona bening yang menandakan isolat bakteri endofit dari daun Cendana tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Isolat bakteri endofit pada pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan di penelitian ini, mungkin mempunyai kandungan senyawa aktif namun dalam jumlah yang lebih kecil atau mungkin juga mengandung senyawa aktif potensial yang lain, sehingga tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri<sup>(10)</sup>. Berbeda dengan isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.), isolat tersebut memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

Diameter zona bening yang paling besar yaitu 7 mm dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan 3,3 mm dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*<sup>(11)</sup>. Sedangkan hasil penelitian dari Nursanty dan Suhartono (2012), 3 dari 7 isolat bakteri endofit asal tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) hanya mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dari 5 pengujian terhadap 4 bakteri dan 1 cendawan. Desriani *et al.*, (2014) juga melaporkan bahwa isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman binahong dan ketepeng cina memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *S. aureus*. Pemilihan pengambilan sampel berupa daun pada tanaman cendana juga memungkinkan tidak terlihatnya aktivitas antibakteri pada isolat bakteri endofit yang diperoleh dari daun dikarenakan pada bagian daun tanaman cendana memiliki sekitar 4 %

Kandungan minyak atsiri yang memiliki peranan sebagai antibakteri. Berbeda pada bagian kayu dari akar cendana yang merupakan bagian paling tinggi kandungan minyak atsirinya yaitu sebanyak 10%, sedangkan bagian batangnya mengandung 4-8% minyak atsiri. Diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat

mengisolasi bakteri endofit yang diperoleh dari bagian tanaman cendana lainnya.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi dan uji aktivitas antibakteri isolat endofit dari daun Cendana (*Santalum album* Linn.) dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit dari daun Cendana tidak dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;278(1):1–9.
2. Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chem Biol.* 2012;19(7):792–8.
3. Saylendra A, Firnia D. Bacillus sp. dan Pseudomonas sp. asal endofit akar jagung (*Zea mays* L.) yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. *J Ilmu Pertan dan Perikan.* 2013;2(1):19–27.
4. Chaudhary S, Negi A, Dahiya V. The Study of in vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants in Chamoli Garhwal Region. *Pharmacogn J.* 2010;2(12):481–5.
5. Nursanty R, Suhartono. Isolasi, karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit asal tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.). *J Ilm Pendidik Biol.* 2012;4(1):7–10.
6. Sun S, Chen X, Guo S. Analysis of endophytic fungi in roots of *Santalum album* Linn. and its host plant *Kuhnia rosmarinifolia* Vent. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2014;15(2):109–15.
7. Sari WE. Aktivitas antihipertensi aktinomiset endofit asal tanaman pegagan dan belimbing wuluh. [Skripsi]. Bogor; 2011.
8. Cappuccino J, Sherman N. Manual laboratorium mikrobiologi. Jakarta: EGC; 2014.
9. Desriani, Safira UM, Bintang M, Rivai A, Lisdiyanti P. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman binahong dan ketepeng china. *J Kesehat Andalas.* 2014;3(2):89–93.
10. Radu S, Kqueen CY. Preliminary

- screening of endophytic fungi from medicinal plants in malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malays J Med Sci.* 2002;9(2):23–33.
11. Kusumawati D, Pasaribu F, Bintang M. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Curr Biochem.* 2014;1(1):45–50.