

Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit Dari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap Bakteri Patogen

Andi Dian Astriani^{1*}, Endah Dwijayanti²

¹ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia

² Program Studi S1 Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: andidianastriani.dty@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Buah merah adalah salah satu khas buah yang tumbuh di daerah Papua yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang potensial namun belum banyak diteliti. Maka penelitian bertujuan untuk mengisolasi mikroba endofit dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dan menentukan aktivitas terhadap mikroba patogen. Penelitian ini dimulai dengan isolasi mikroba endofit dari tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) menggunakan medium Nutrient Broth dan Potato Dekstrosa Broth untuk mendapatkan bakteri dan jamur endofit, setelah diisolasi dan dimurnikan, mikroba murni diinokulasikan dalam medium agar miring. Untuk memaksimalkan metabolit sekunder, masing-masing mikroba difermentasikan selama 14 hari. Supernatan hasil fermentasi diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji dengan metode difusi agar. Mikroba uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyposa*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*. Mikroba endofit yang positif menghambat bakteri patogen difermentasi untuk memaksimalkan produksi metabolit sekundernya. Mikroba endofit yang memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen dikarakterisasi secara makroskopik dan mikroskopik. Dari hasil penelitian, dihasilkan 4 mikroba endofit, 2 berupa kapang, dan 2 mikroba dari bakteri. Dari hasil penelitian, bakteri N2, dapat menghambat bakteri *E.coli*, *S. mutans*, *S. aureus*, *S. thyposa*. Pewarnaan gram, menunjukkan N2 adalah bakteri gram negatif. Jadi dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit N2 dari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.), memiliki senyawa bioaktif yang dapat menghambat mikroba patogen.

Kata Kunci:

Mikroba endofit, buah merah, antibakteri

Diterima:
19-04-2022

Disetujui:
16-05-2022

Online:
25-05-2022

ABSTRACT

Endophyte microbes can produce bioactive compounds that can be used as medicinal raw materials. Red fruit is one of the typical fruits that grow in the Papua area that has a potential bioactive compound content but has not been widely studied. So the study aimed to isolate endophyte microbes from red fruits

(*Pandanus conoideus* Lam.) and determine activity against pathogenic microbes. The study began with the isolation of endophytic microbes from red fruit plants (*Pandanus conoideus* Lam.) using medium Nutrient Broth and Potato Dextrose Broth to obtain endophyte bacteria and fungi, once isolated and purified, pure microbes are inoculated in a medium to tilt. To maximize secondary metabolites, each microbe is fermented for 14 days. Supernatan fermentation results are tested antibacterial activity against test bacteria by the method of diffusion agar. The test microbes used are *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyposa*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*. Positive endophyte microbes inhibit fermented pathogenic bacteria to maximize the production of their secondary metabolites Mikroba endophyte which has the ability to inhibit pathogenic bacteria characterized macroscopically and microscopically. From the results of the study, 4 endophyte microbes were produced, 2 in the form of molds, and 2 microbes from bacteria. From the results of the study, bakery N2, can inhibit the bacteria *E.coli*, *S. mutans*, *S. aureus*, *S. thyposa*. Gram staining, indicating N2 is gram negative bacteria. So it can be concluded that the N2 endophyte bacteria of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.), have bioactive compounds that can inhibit pathogenic microbes.

Copyright © 2022 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Endophytic microbes, red fruit, antibacterial

Received:
2022 -04-19

Accepted:
2022 -05-16

Online:
2022 -05-25

1. Pendahuluan

Kasus resistensi antibiotik akhir-akhir ini bermunculan dengan pesat seiring dengan meningkatnya penggunaan antibiotik sebagai obat untuk mengobati penyakit menular. Situasi ini mendorong semakin pentingnya upaya untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru yang mudah dibudidayakan dengan biaya murah dan tersedia terus menerus dalam jumlah banyak [13]. Upaya untuk menemukan antibiotik baru telah dibuat dalam bidang sintesis kimia dan biosintesis yang direkayasa [2].

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti yang terkandung di dalam tumbuhan inangnya. Kemampuan menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka untuk pengembangan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman tersebut [1].

Pemanfaatan mikroba yang tumbuh dalam jaringan tanaman atau dikenal dengan istilah mikroba endofit sebagai sumber bahan baku obat akan lebih efektif dibandingkan penggunaan ekstrak tanaman tentunya membutuhkan banyak tanaman sehingga lebih banyak membutuhkan biaya untuk bibit dan lahan. Perawatannya juga memakan waktu yang sangat lama selain itu memiliki faktor resiko hasil yang kurang baik akibat faktor cuaca, intensitas cahaya, tanah yang kurang bernutrisi dan lain-lain [9].

Salah satu keanekaragaman yang perlu dieksplorasi kandungan bioaktifnya adalah Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.). Tanaman ini adalah tanaman endemik yang tumbuh di pulau Papua. Tanaman buah merah termasuk tanaman keluarga pandan-pandan. Dalam perkembangannya, buah merah yang tumbuh di pedalaman Papua itu menjadi sangat terkenal di masyarakat karena khasiatnya sebagai obat beragam penyakit berbahaya seperti diabetes melitus, jantung koroner, hipertensi, kanker bahkan HIV/AIDS. Menurut hasil analisa yang dilakukan Institut Pertanian Bogor (IPB), buah merah ternyata memiliki kandungan karotenoid dan tokoferol dalam kadar yang tinggi.

Buah merah adalah salah satu khas buah yang tumbuh di daerah Papua yang memiliki kandungan senyawa bioaktif namun belum banyak diteliti. maka penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk mengisolasi mikroba endofit dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dan menentukan aktivitas antibakterinya terhadap beberapa bakteri patogen.

2. Metode

Isolasi bakteri endofit

Isolasi mikroba endofit diawali dengan membersihkan sampel buah dengan cara mencucinya dengan air mengalir. Kemudian bagian tanaman dipotong dengan ukuran 2x2 cm dan selanjutnya disterilisasi permukaan menggunakan larutan etanol 70% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit 4% 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 selama 1-2 hari suhu 37°C dan pada medium PDA suhu 25°C-27°C selama 5-7 hari untuk jamur endofit dengan cara membelah bagian tanaman dan meletakkan pada posisi tertelungkup. Mikroba yang diperoleh di purifikasi pada cawan petri dan medium miring.

Fermentasi mikroba endofit

Mikroba yang terseleksi dilakukan fermentasi cair dengan menggunakan medium NB sebanyak 10 ml selama 2 hari untuk bakteri dan medium PDB 200 ml selama 21 hari untuk kapang dengan kecepatan shaker 170 rpm. Biomassa sel dipanen dengan menggunakan sentrifus 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan dari hasil sentrifus digunakan untuk uji aktivitas antibakteri [7].

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebanyak 20 µL larutan uji (supernatan dari hasil fermentasi bakteri dan kapang endofit) diresapkan pada *paper disk* steril, kemudian diletakkan pada permukaan media MHA padat yang telah diinokulasi bakteri uji (*Escherichia coli*, *Salmonella thyposa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*). Aktivitas antibakteri dinyatakan sebagai diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh supernatan hasil fermentasi mikroba endofit [11].

Karakterisasi mikroba endofit

Karakterisasi terhadap isolat mikroba dilakukan terhadap isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan. Pengamat dilakukan secara makroskopik, berupa bentuk koloni, warna dan permukaan, sedangkan secara mikroskopiknya meliputi bentuk sel dan pewarnaan gram [5].

3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi mikroba endofit dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.). Tabel 1 menunjukkan 4 isolat yang diperoleh, 2 isolat kapang (PDA1, PDA2) yang ditumbuhkan pada medium PDA dan 2 isolat bakteri (NA1, NA2) yang ditumbuhkan pada medium NA.

Tabel 1. Hasil Pemurnian Isolat

No	Kode Mikroba	Keterangan
1	PDA1	Kapang 1
2	PDA2	Kapang 2
3	NA1	Bakteri 1
4	NA2	Bakteri 2

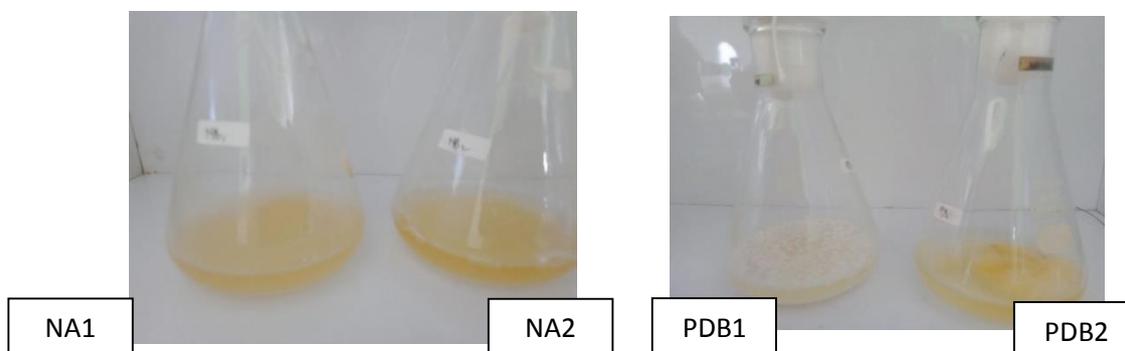
Selama pengamatan dilakukan proses purifikasi dengan memindahkan setiap isolat ke media yang baru berdasarkan persamaan bentuk koloni, warna hingga diperoleh isolat mikroba endofit yang murni seperti pada gambar 1, dengan masing-masing kode isolate PDA1, PDA2, NA1, NA2.



Gambar 1. Isolat murni mikroba endofit

Isolat yang telah diperoleh difermentasi pada medium Nutrient Broth dan Potato Dekstrosa Broth. Fermentasi dilakukan selama 7x24 jam dan dikocok dengan shaker kecepatan 200 rpm. Keterbatasan nutrisi dan akumulasi produk toksik menyebabkan pertumbuhan mikroba melambat atau terhenti sama sekali serta jumlah populasi sel relative primer ke metabolisme sekunder, dan produk metabolitnya disebut metabolit sekunder yang bersifat sangat khas dan tidak esensial untuk pertumbuhan serta penting artinya bagi fermentasi komersial [12].

Dengan memperhatikan fase pertumbuhan mikroba dan medium yang digunakan, kondisi fermentasi dapat dikendalikan untuk meningkatkan produk yang diinginkan. Produk metabolisme primer dapat ditingkatkan dengan menggunakan kondisi fermentasi yang memperpendek fase eksponensial dan memperpanjang fase stasioner ataupun mengurangi laju pertumbuhan mikroba dalam fase eksponensial dapat mempercepat produk metabolisme sekunder [12].

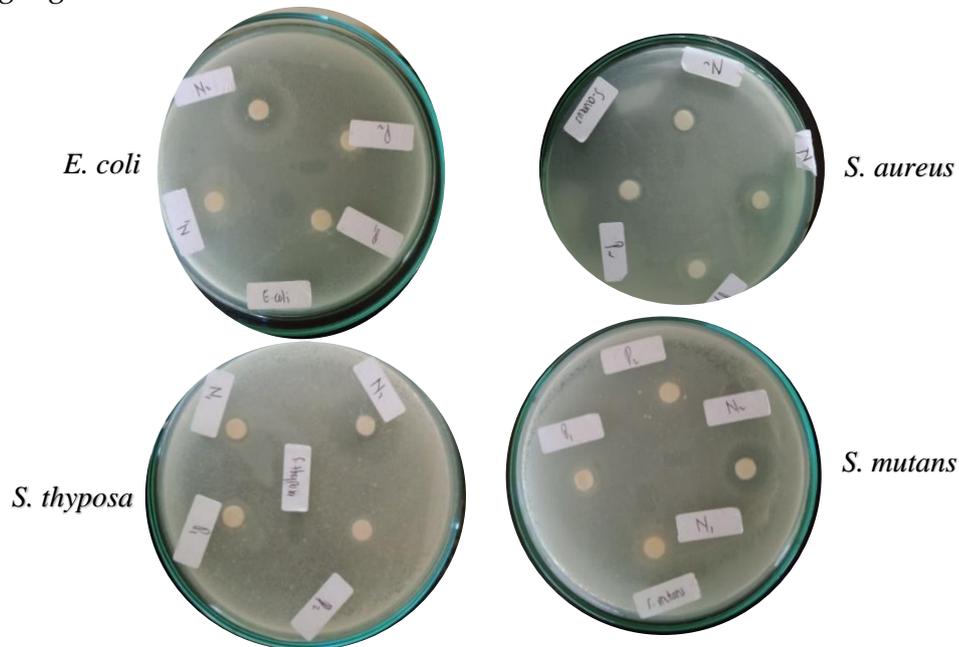


Gambar 2. Fermentasi isolat

Metode fermentasi yang digunakan adalah sistem *batch*. Sistem ini merupakan sistem yang paling sederhana dan sering digunakan untuk mendapatkan produk sel atau metabolitnya. Fermentasi sistem *batch* adalah sistem tertutup, artinya semua nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme selama pertumbuhan dan pembentukan produk berada di dalam satu fermentor. Jadi tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil selama fermentasi berlangsung. Keuntungan sistem ini adalah mudah, sederhana, dan kecil kemungkinan adanya kontaminasi [8].

Bakteri uji *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyposa*, *Streptococcus mutans*. Bakteri-bakteri tersebut umumnya adalah bakteri yang dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi. Bakteri -bakteri tersebut digunakan berdasarkan sifat patogenikanya. Infeksi *Salmonella thyposa* penyebab penyakit tifus. Infeksi *Eschericia coli* dikenal sebagai penyebab penyakit gastrointestinal mulai dari diare sampai disentri. Infeksi *Stapylococcus aureus* umumnya pada pernafasan dan kulit. Infeksi *Streptococcus mutans* merupakan contributor pada kerusakan gigi. Zona bening menunjukkan kemampuan menghambat bakteri uji [14].

Hasil fermentasi kemudian diuji aktivitas penghambatannya dengan metode difusi agar gambar 3.



Gambar 3. Uji Daya Hambat

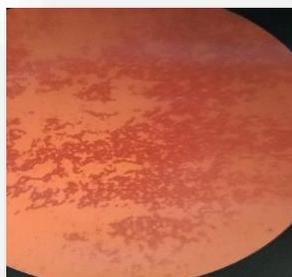
Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Hambatan
Diameter hambatan (mm)

Isolat	Diameter hambatan (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. thyposa</i>	<i>S. mutans</i>
PDA1	0	0	0	0
PDA2	0	0	0	0
NA1	0	0	0	0
NA2	14,89	9,89	18,73	16,15

Berdasarkan hasil pada tabel 2, metabolit sekunder isolat kapang tidak menghambat, sedangkan senyawa bioaktif isolat bakteri NA2 dapat menghambat *S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans* dan *S. thyposa* dengan masing-masing diameter 9,89 mm, 14,89 mm, 16,89 mm, 18,73 mm. Hal ini menunjukkan kemampuan isolat bakteri NA2 kuat menghambat *S. mutans*, *S. thyposa*, *E. coli* diameter >10 mm, dan daya hambat yang sedang terhadap *S. aureus*.

Pada pengujian antimikroba terdapat faktor yang mempengaruhi zona hambat yaitu kemampuan difusi zat aktifnya. Kemampuan berdifusi dipengaruhi oleh waktu predifusi (preinkubasi), suhu inkubasi, ketebalan lempeng, populasi mikroorganisme, konsentrasi kritis zat aktif dan komposisi medium.

Isolat NA2 (bakteri) yang memiliki daya hambat diidentifikasi dengan pewarnaan gram. Pada pewarnaan gram, terdapat dua jenis bakteri yaitu gram positif dan negatif. Selain digunakan untuk pengujian gram, pewarnaan gram juga digunakan untuk pengamatan morfologi sel bakteri. Dalam penelitian ini hanya digunakan metode pewarnaan gram untuk identifikasi, kelebihanannya merupakan metode yang paling sederhana dan murah untuk diagnosis cepat bakteri [9].



Gambar 4. Pewarnaan gram Isolat NA2

Hasil pengujian menunjukkan isolat NA2 merupakan bakteri gram negatif. Bakteri gram negative berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alcohol sehingga mengambil warna merah safranin. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi [9].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian di atas, dapat disimpulkan isolat bakteri NA2 dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) memiliki senyawa bioaktif yang dapat menghambat bakteri) bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *S. mutans*, *S. thyposa*.

Referensi

- [1] Arini. 2015. Isolasi, seleksi dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit dari Daun Tanaman *Garcinia benthami* Pierre Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Eschericia coli*, *Shigella dysentriae*, dan *Salmonella typhimurium*. Skripsi. Prodi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah.
- [2] Baskaran, R. Vijaykumar, R. 2011. Enrichment method for the isolation of bioactive *Actinomycetes* from mangrove sediments of Andaman Islands, India. Mal. J. Microbiol 7(1) : 26-32
- [3] Budi, I Made, & Paimin FR. 2005. *Buah Merah*. Jakarta: Penebar Swadaya, Jakarta.

- [4] Burhamzah R., Djide N., Rante H. 2016. Isolation and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from marine sediment of galesong coast, indonesia. *Asian jr. of microbial. Biotech. Env. Sc.* Vol 18, no (1) : 2016 : 31-34.
- [5] Djamaan, A., Agustien, A., & Yuni, D. (2012). Isolasi Bakteri Endofit dari Tumbuhan Surian (*Toona sureni blome. M*) yang berpotensi sebagai anti bakteri. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8, (1), 37-40.
- [6] Gunawan, Sulistia Gan. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI.
- [7] Kumala, Shirly, Fransisca Shanny, dan Priyo Wahyudi. 2006. Uji Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (*Cassia fistula L.*). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 3(2): 97-102.
- [8] McNeil, B. and Harvey. 2008. *Practical Fermentation Technology*. John Wiley & Son Ltd., England.
- [9] Nagata K, Mino H. 2010. Usefulness and limit of Gram staining smear examination. *Rinsho Buori*. 58(5) : 490-7
- [10] Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- [11] Prihatiningtias, W. 2005. Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) sebagai Senyawa Antimikroba. *Tesis Sekolah Pascasarjana UGM Yogyakarta*.
- [12] Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 (3): 113-126.
- [13] Radji, Maksum. 2011. Isolation of fungal endophytes from *Garcinia mangostana* and their antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology*. 10 (1): 103 – 107.
- [14] Strobel, G and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. *Microbiology and Moleculer Biology Review*. 67:p.491-502.
- [15] Sunaryanto, R. Marwoto, B., Irawadi, 2009. Isolasi, purifikasi, idenfitikasi, dan optimasi medium fermentasi antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut. *Disertasi Program Pascasarjana IPB Bogor*.
- [16] Zinniel. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Enviromental Microbiology*. 68 (2002), p. 2198-2208.