

EKSPLORASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN NAMNAM (*Cynometra cauliflora* L.)

EXPLORATION OF ENDOPHITE BACTERIA FROM NAMNAM LEAF(*Cynometra cauliflora* L.)

Hamtni, Syarah Anliza, Ira Nuraeni

Poltekkes Kemenkes Banten

Korespondensi: hamtni.bio05@gmail.com

ABSTRACT

*Lately, the use of traditional medicine as an option for treatment is an alternative to many in demand because the traditional medicine proved relatively safe with correct use and precise indications and rarely Once cause side effects. To take bioactive compounds directly from the plant is required very much biomass or part of the soil, so as to streamline the way to obtain the bioactive compounds, then use specific endophytic microbes that Obtained from the inside of the plant that is expected to produce a number of bioactive compounds in need without having to extract from the soil. The study aims to isolate the endophytic bacteria from the Namnam leaf (*Cynometra cauliflora* L.). The method used in this study is to isolate and perform the purification of the endophyte bacteria from the Namnam leaf (*Cynometra cauliflora* L.), as well as identify with Gram staining. The results in the form of 19 isolates of endophytic bacteria have not too varied morphological characteristics, the shape and color of the average colony of cream and white milk with some there which are flat and there are jagged colonials and there are Rough surfaces and some are slippery. Then continued with Gram staining, the result of Gram staining obtained 18 isolates of bacteria is Gram negative and 1 isolate is positive Gram.*

Keywords: Endophyte Bacteria, Namnam Leaves (*Cynometra Cauliflora* L.), Exploration

ABSTRAK

Akhir-akhir ini kecenderungan dalam penggunaan obat tradisional sebagai pilihan untuk pengobatan menjadi alternatif yang banyak diminati karena obat tradisional terbukti relatif aman dengan cara penggunaan yang benar dan indikasi yang tepat serta jarang sekali menimbulkan efek samping. Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya, sehingga untuk mengefisiensikan cara mendapatkan senyawa bioaktif tersebut, maka di gunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang di butuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah mengisolasi dan melakukan pemurnian bakteri endofit dari daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.), serta melakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram. Hasil yang di dapat berupa 19 isolat bakteri endofit memiliki karakteristik morfologi yang tidak terlalu bervariasi, bentuk dan warna koloni rata-rata

berwarna krem dan putih susu dengan beberapa ada yang tepian koloninya rata dan ada yang bergerigi serta ada permukaan yang kasar dan ada yang licin. Hasil dari pewarnaan Gram didapatkan 18 isolat bakteri merupakan Gram negatif dan 1 isolat merupakan Gram positif.

Kata Kunci : Bakteri Endofit, Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.), Eksplorasi

PENDAHULUAN

Akhir-akhir ini kecenderungan dalam penggunaan obat tradisional sebagai pilihan untuk pengobatan menjadi alternatif yang banyak diminati karena obat tradisional terbukti relatif aman dengan cara penggunaan yang benar dan indikasi yang tepat serta jarang sekali menimbulkan efek samping (Nanik, 2006). Salah satu upaya tersebut adalah mengeksplor dan menemukan senyawa-senyawa antioksidan seperti beta karoten, astasantin, alkaloid, dan fenol pada tumbuhan.

Daun Namnam merupakan tanaman dari jenis keluarga Fabaceae dengan nama latin *Cynometra cauliflora*, memiliki daun majemuk dengan sepasang anak daun berbentuk lonjong dengan panjang antara 5 sampai 15 cm, berwarna putih atau merah jambu terang ketika masih muda dan berubah menjadi hijau tua mengkilat ketika tua, Namnam belum terlalu mendapat perhatian karena tidak tereksplorasi secara komersil dan untuk

pemanfaatannya belum diketahui lebih lanjut (Sumarlin, 2017). Menurut Aziz *et al.*, 2013 pada batang, kulit kayu, dan muda serta daun tua terkandung tannin, saponin dan flavonoid berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan pada *Cynometra cauliflora*

Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya, sehingga untuk mengefisiensikan cara mendapatkan senyawa bioaktif tersebut, maka di gunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang di butuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya (Simarmata *et al.* 2007).

Mikroba endofit merupakan organisme hidup berukuran mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tanaman, sebagian besar ditemukan pada jaringan interseluler jarang sekali yang ditemukan intraseluler dan di dalam

jaringan vaskular selama periode tertentu dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inangnya (Sessitsch *et al.* 2002).

Berdasarkan penelitian yang di telah dilakukan oleh Jatiningrum, 2015 telah terdapat 17 isolat bakteri endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) dari tiga daerah yaitu Garut, Cianjur, Sukabumi yang menunjukkan aktivitas terhadap patogen. Sebanyak 564 strain bakteri endofit berhasil di isolasi dari tanaman tomat adalah *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* spp (Munif *et al.* 2012). Menurut Hidayatun *et al.* 2011 analisis sekuensing untuk identifikasi isolat bakteri endofitik dan filosfer pada tanaman padi di dapatkan memiliki identitas yang dekat dengan *Staphylococcus* dan *Serratia* masing 5 isolat, *Bacillus* 4 isolat, *Microbacteria* 3 isolat, *Pseudomonas* 2 isolat dan *Klebsiella*, *Acidovorax*, *Burkholderiaceae*, *Agrobacterium* dan *Shewanella* masing 1 isolat.

Bakteri endofit tanaman hutan Indonesia mempunyai prospek dalam menghasilkan senyawa aktif yang berguna untuk memproteksi serangan mikrobia patogen tanaman (Melliawati, *et al.* 2006). Isolasi bakteri endofit pada tanaman *Morinda citrifolia* ditemukan

tiga bakteri endofit Gram positif dan dua Gram negatif yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. subtilis* dan *Candida albicans* (Kumala 2007).

METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Banten. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2018. Isolasi bakteri Endofit. Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) segar di cuci menggunakan air mengalir lalu di potong-potong sekitar 3 cm. Potongan daun Namnam tersebut disterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam air steril setelah itu dimasukkan ke dalam etanol 96% selama 30 detik. Potongan daun Namnam tersebut kemudian di rendam dalam cairan NaOCL selama 5 menit lalu di basuh kembali dengan air steril. Daun Namnam yang telah disterilisasi dikering udarkan lalu di iris tipis. Irisan-Irisan daun Namnam tersebut di tanam ke dalam cawan petri yang telah berisikan media TSA secara horizontal (irisan daun ditidurkan). Setiap tahapan di lakukan secara steril di dalam laminar dan dekat api. Satu cawan petri diisi dengan 5 iris daun

Namnam. Setelah itu di inkubasi pada suhu 28⁰C selama 2 hari (Jatiningrum 2015 & Desriani 2013).

Pemurnian bakteri Endofit. Bakteri yang tumbuh dari sampel tanaman pada media TSA dimurnikan dengan cara digores menggunakan ose ke media TSA yang baru yang kemudian di inkubasi pada suhu 28⁰C untuk mendapatkan koloni tunggal. Setelah di dapatkan koloni tunggal bakteri kemudian di simpan di agar miring yang kemudian di simpan di lemari pendingin.

Identifikasi isolat-isolat endofit. Isolat-isolat yang di dapat hasil isolasi bakteri endofit daun tanaman namnam di inokulasikan ke media agar miring untuk kemudian di ambil 1 ose untuk di lakukan pewarnaan Gram.

Data hasil penelitian ini disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

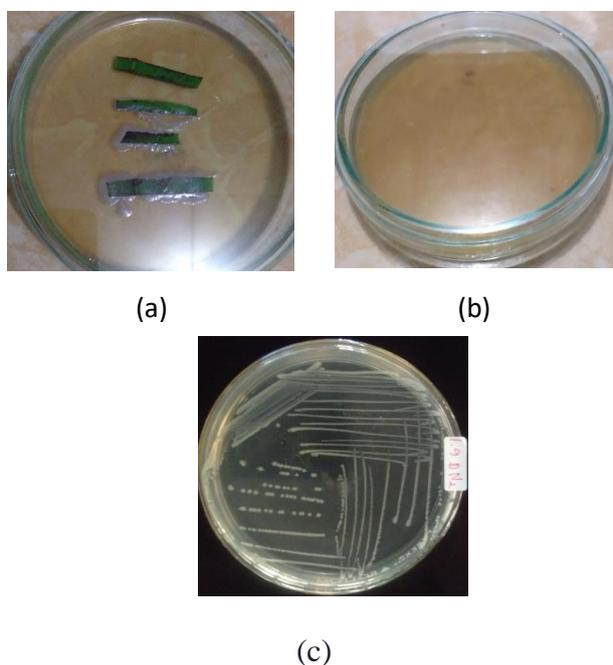
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai eksplorasi bakteri endofit pada daun tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) di temukan 19 isolat bakteri endofit. Data hasil dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri Endofit dari daun Tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.)

Kode Isolat	Karakteristik
1.9 DN ₂	Putih susu, tepian licin, permukaan licin, cembung
3.1 DN	Putih susu, tepian bergerigi, permukaan cembung
10.1 DN	Putih, koloni besar, tepian licin, permukaan cembung (ada bulatan kecil ditengah)
10.1 DN ₅	Putih susu, koloni kecil, tepian licin, permukaan cembung
7.1 DN	Putih susu, koloni sedang, tepian bergerigi, permukaan datar
4.1 DN	Putih susu, koloni besar, tepian bergerigi, permukaan cembung
9.1 DN	Putih susu, tepian licin, permukaan cembung, koloni kecil
1.2 DN ₂	Putih susu, tepian bergerigi, permukaan cembung, koloni sedang
2.0 DN ₃	Krem, tepian licin, permukaan cembung, koloni sedang
1.3 DN ₂	Putih susu, tepian licin, permukaan cembung, koloni kecil
1.8 DN ₂	Putih susu, tepian licin, koloni kecil, permukaan cembung
5.1 DN	Putih susu, permukaan cembung, koloni kecil, tepian bergerigi
2.01 DN ₃	Krem, koloni besar, tepian licin, permukaan da
8.1 DN	Putih susu, koloni kecil, tepian licin, permukaan cembung
11.1 ₅ DN	Krem, tepian licin, ada bulatan kecil ditengah, koloni kecil
1.6 DN ₂	Putih susu, koloni besar, tepian bergerigi, permukaan datar
1.1 DN	Putih susu, koloni sedang, tepian bergerigi, permukaan cembung
2.1 DN	Putih susu, tepian bergerigi, koloni sedang, permukaan cembung
1.5 DN ₂	Putih susu, tepian bergerigi, koloni sedang, permukaan cembung

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat bahwa hasil isolasi bakteri endofit ditemukan 19 isolat bakteri, dengan karakteristik morfologi yang tidak terlalu bervariasi, bentuk dan warna koloni rata-rata berwarna krem dan putih susu dengan beberapa ada yang tepian koloninya rata dan ada yang bergerigi serta ada permukaan yang kasar dan ada yang licin Gambar 1 (c). Uji kontrol negatif yang di lakukan terhadap air rendaman terakhir yang disebarkan pada media agar menunjukkan bahwa tidak ada mikrob yang tumbuh, hasil ini menguatkan bahwa hanya bakteri endofit yang tumbuh (Gambar 1 (b)).



Gambar 1. (a) Bakteri Endofit yang tumbuh di daun (2x24 jam) (b) Kontrol Negatif, (c) Bakteri Endofit kode 1.9 DN₂

Tahapan selanjutnya di lakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram Tabel 2. Setelah dilakukan pewarnaan Gram di dapatkan 18 isolat bakteri merupakan bakteri Gram negatif dan 1 bakteri merupakan bakterti Gram positif. Pewarnaan Gram di lakukan sebagai identifikasi awal, untuk pengelompokan bakteri berdasarkan kelompok Gram positif dan Gram negatif.

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Isolat-isolat bakteri endofit

Kode spesies	Gram (+)/(-)
1.9 DN ₂	Negatif
3.1 DN	Negatif
10.1 DN	Negatif
10.1 DN ₅	Negatif
7.1 DN	Negatif
4.1 DN	Negatif
9.1 DN	Negatif
1.2 DN ₂	Negatif
2.0 DN ₃	Negatif
1.3 DN ₂	Negatif
1.8 DN ₂	Negatif
5.1 DN	Positif
2.01 DN ₃	Negatif
8.1 DN	Negatif
11.1 ₅ DN	Negatif
1.6 DN ₂	Negatif
1.1 DN	Negatif
2.1 DN	Negatif
1.5 DN ₂	Negatif

Indonesia yang dikenal sebagai salah satu dari 7 negara yang keanekaragaman hayatinya terbesar kedua setelah Brazil, tentu sangat

potensial dalam mengembangkan obat herbal yang berbasis pada tanaman obat kita sendiri (Radji, 2005). Sehingga penelitian mengenai mikroba endofit di perlukan untuk lebih mengeksplorasi secara komersial sehingga ke depan dapat dimanfaatkan dalam dunia pengobatan untuk mencegah berbagai macam penyakit.

Bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman dalam melawan patogen, sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Simarmata *et al.* 2007). Mikroorganisme yang berada dalam jaringan tanaman memiliki peranan dalam mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, serta pertahanan tanaman (Parida, 2016).

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat bahwa total bakteri endofit yang berhasil di isolasi dari daun tanaman Namnam adalah sebanyak 19 isolat hasil dari purifikasi. Hasil pemurnian 19 isolat bakteri menunjukkan bahwa ke 19 isolat tersebut memiliki karakteristik morfologi yang tidak terlalu bervariasi, bentuk dan warna koloni rata-rata berwarna krem dan putih susu dengan beberapa ada yang tepian koloninya rata

dan ada yang bergerigi serta ada permukaan yang kasar dan ada yang licin. Menurut Bacon & Hinton 2006 jumlah bakteri endofit di dalam tanaman tidak dapat ditentukan secara pasti, namun bakteri ini dapat dideteksi dengan mengisolasi pada media agar.

Populasi bakteri endofit dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti, sifat tanah, bahan organik dalam tanah, teknik budidaya, pemupukan, dan aplikasi pestisida (Parida, 2016). Selain itu juga studi mengenai keragaman bakteri dalam dua dekade terakhir mengungkapkan bahwa lebih dari 99% bakteri yang ada di alam tidak dapat dikulturkan di laboratorium dengan menggunakan metode kultur standar (Primanita, 2015). Setelah di lakukan proses isolasi sehingga didapatkan koloni tunggal, identifikasi awal di lakukan dengan uji perwarnaan Gram, uji ini untuk membedakan kelompok bakteri Gram positif dan kelompok bakteri Gram negatif. Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat bahwa dari 19 isolat yang berhasil 18 isolat merupakan bakteri Gram negatif dan 1 isolat bakteri merupakan bakteri Gram positif.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dibuat maka dapat disimpulkan

bahwa hasil isolasi bakteri endofit dari daun tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) mendapatkan sebanyak 19 isolat bakteri endofit. Hasil pemurnian 19 isolat bakteri menunjukkan bahwa ke 19 isolat tersebut memiliki karakteristik morfologi yang tidak terlalu bervariasi, bentuk dan warna koloni rata-rata berwarna krem dan putih susu dengan beberapa ada yang tepian koloninya rata dan ada yang bergerigi serta ada permukaan yang kasar dan ada yang licin.

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz AFA, Iqbal M. 2013. Antioxidant activity and phytochemical composition of *Cynometra cauliflora*. *J Exp Integr Med*. 3(4): 337-341.
- Bacon CW, Hinton DM. 2006. Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. Di dalam: Gnanamanickam SS, editor. *Plant-Associated Bacteria*. Netherland: Springer.
- Desriani, Kusumawati DW, Rivai A, Hasanah N, Amrinola W, Triratna L, Sukma A. 2013. Potential Endophytic Bacteria for Increasing Paddy var Rojolele Productivity. *Int. J. on Adv. Sci., Eng. And Information Tech*. 3 (1): 76-78.
- Hidayatun N, Susilowati DN, Mulya K. 2011. Identifikasi 26 Isolat Bakteri Endofitik dan Filosfer Padi dengan Analisis Sekuens 16s rDNA. *Berita Biologi* 10(4).
- Jatiningrum I. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun Sirsak (*Annona mucicata* L.) Penghasil Senyawa Antibakteri [Skripsi]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Kumala S, 2007. Isolation and screening of endophytic microbes from *Morinda citrifolia* and their ability to produce anti microbial substances. *J Microbiol Ind* 1(3): 145-148.
- Munif A, Hallmann J, Sikora R. 2012. Isolation of Endophytic Bacteria from Tomato and Their Biocontrol Activities Against Fungal Diseases. *Microbiology Indonesia*. 6(4): 148-156.
- Melliawati R, Widyaningrum DN, Djohan AP, Sukiman H. 2006. Pengakajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman. *Jurnal Biodiversitas*. 7(3): 221-224.
- Nanik Fauziah. 2006. Isolasi dan Uji Aktifitas Inhibitor Xantin Oxidase Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang *Saccopetalum Horsfieldii* Benn. Library@lib.unair.ac.id.
- Parida I. 2016. Isolasi, seleksi, dan Identifikasi bakteri endofit sebagai agens penginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri. [Tesis]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Primanita M. 2015. Analisis Metagenomik Aktinomiset Eendofit pada Tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) berdasarkan Gen 16S rRNA
- Radji M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam

- Pengembangan Obat Herbal.
Review Artikel. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2(3): 113-126.
- Sessitsch A, Reiter B, Pfeifer U, Wilhelm E. 2002. Cultivation independent population analysis of endophytes in tree potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol Ecol* 39: 23-32.
- Sumarlin LO. 2017. Studi Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Namnam (*Cynometra cauliflora*) Secara in vitro dan in vivo pada Tikus *Sprague Dawley* [Disertasi]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai antimikroba. *J Berk Penel Hayati*. 13.