



## Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Dwi Endah Kusumawati<sup>1\*</sup>, Fachriyan Hasmi Pasaribu<sup>2</sup>, Maria Bintang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 16680, Indonesia*

<sup>2</sup>*Bagian Mikrobiologi Medik, Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 16680, Indonesia*

<sup>3</sup>*Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 16680, Indonesia*

Received: 3 February 2014; Accepted: 24 March 2014

Corresponding author: Dwi Endah Kusumawati, S.Si, Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Email: [endah.biokimia@yahoo.com](mailto:endah.biokimia@yahoo.com)

### ABSTRACT

*Coleus scutellarioides* [L.] Benth. known as medicinal plant which contains antidiarrhea and antimicrobial compounds. 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 antibacterial activity of endophytic bacteria from *Coleus scutellarioides* [L.] Benth. against two pathogenic bacteria i.e *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. A total of 22 isolates of endophytic bacteria were obtained from *Coleus scutellarioides* [L.] Benth. Based on antibacterial activity test, 13 isolates of endophytic bacteria were able to inhibit the growth of *E. coli* and 15 isolates were able to inhibit *S. aureus*, whereas endophytic bacteria which can inhibit both types of pathogens are 10 isolates.

**Keywords:** antibacterial, *Coleus scutellarioides* [L.] Benth., endophytic bacteria

### ABSTRAK

Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) merupakan tumbuhan obat yang mengandung senyawa antidiare dan antimikroba. Ekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman dinilai tidak efisien sebab memerlukan biomassa yang besar, sehingga cara yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit yang dapat memproduksi senyawa antibiotik, antikanker, antifungi, antivirus dan dapat berperan sebagai agen insektisidal. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana terhadap dua bakteri patogen, yaitu: *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebanyak 22 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman miana. Berdasarkan uji antibakteri sebanyak 13 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan 15 isolat mampu menghambat *S. aureus*, sedangkan bakteri endofit yang mampu menghambat kedua jenis patogen tersebut berjumlah 10 isolat.

**Kata kunci:** antibakteri, bakteri endofit, *Coleus scutellarioides* [L.] Benth.

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam, termasuk tumbuhan obat, salah satu yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah miana atau jawer kotok (*C. scutellarioides* [L.] Benth). Umumnya daun miana dalam bentuk segar (tumbukan, perasan, seduhan, dan rebusan)

digunakan untuk mengobati asma, bronchitis, batuk, melancarkan siklus menstruasi, menetralkan racun, penambah nafsu makan, mempercepat pematangan bisul, diare, dan cacingan (Winarto 2007). Air rebusan daun miana juga digunakan sebagai obat batuk, wasir, terlambat haid, dan kencing manis (Julianus *et al.* 2011).

Bagian dari tanaman miana yang biasa dimanfaatkan sebagai obat adalah daunnya. Hanya miana dengan daun berwarna merah kecoklatan atau kehitaman dengan tepian bergerigi yang dapat dimanfaatkan sebagai obat (Rahmawati *et al.* 2008). Daun miana mengandung minyak atsiri, fenol, tanin, lemak, dan fitosterol (Winarto 2007). Selain itu, daun miana mengandung alkaloid, flavonoid, dan polifenol yang bersifat antibakteri (Sundari & Winarno 1996).

Umumnya, pengambilan senyawa bioaktif dari suatu tanaman obat dapat dilakukan dengan mengekstrak bagian dari tanaman tersebut. Cara ini tentu tidak efektif, karena apabila tanaman obat tersebut terus-menerus diambil untuk diekstrak senyawa biaktifnya maka ketersediaan tanaman tersebut di lingkungan akan menurun. Cara efisien untuk memperoleh senyawa bioaktif tersebut adalah menggunakan mikroba endofit yang mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan, sehingga tidak harus mengekstrak senyawa bioaktif tersebut dari tanaman inangnya (Simarmata *et al.* 2007). Besar kemungkinan bakteri endofit yang menetap di tanaman tersebut memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa antibakteri yang sama seperti tanaman inangnya.

Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman diketahui dapat memacu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Kemampuan bakteri untuk melakukan penetrasi ke jaringan internal tanaman dapat disebabkan oleh adanya enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Eliza *et al.* 2007). Setelah melakukan penetrasi, bakteri endofit akan berkolonisasi sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi (Pal *et al.* 2012).

Beberapa genus bakteri endofit tertentu diketahui mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik, senyawa antikanker, antifungi, antivirus, dan dapat berperan sebagai agen insektisidal, contohnya: *Streptomyces* NRRL 30562 yang mampu menghasilkan antibiotik seperti munumbisin (Castillo *et al.* 2002), *Taxomyces andreanae* yang mampu menghasilkan taxol sebagai senyawa antikanker (Strobel *et al.* 1993) dan *Kandelia candel* yang mampu memproduksi asam

$\rho$ -Aminoacetophenonic sebagai antimikroba (Guan *et al.* 2005).

Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri endofit dari tanaman miana dan menguji aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit tersebut terhadap dua bakteri patogen (*E. coli* dan *S. aureus*).

## 2. BAHAN DAN METODE

### Isolasi bakteri endofit

Sampel (akar, batang dan daun miana) dalam kondisi segar dicuci dengan air mengalir hingga bersih lalu dipotong dengan ukuran 1-3 cm, kemudian dilakukan proses sterilisasi permukaan. Potongan sampel direndam etanol 70% selama 1 menit. Setelah itu, cairan perendam dibuang dan diganti dengan Natrium hipoklorit 5.25% lalu didiamkan selama 5 menit. Cairan perendam dibuang kembali dan sampel dibilas dengan etanol 70% sebanyak tiga kali. Sampel yang telah steril dicacah secara steril lalu ditanam pada media NA (*Nutrient Agar*) yang telah ditambahkan nistatin (0.01 % b/v) dan diinkubasi di ruang gelap pada suhu ruang dan diamati hingga terdapat koloni yang tumbuh. Pemurnian dilakukan dengan memindahkan koloni yang tumbuh ke cawan Petri yang berisi NA. Setelah diperoleh biakan murni, bakteri endofit disimpan dalam agar miring NA (modifikasi Desriani *et al.* 2013).

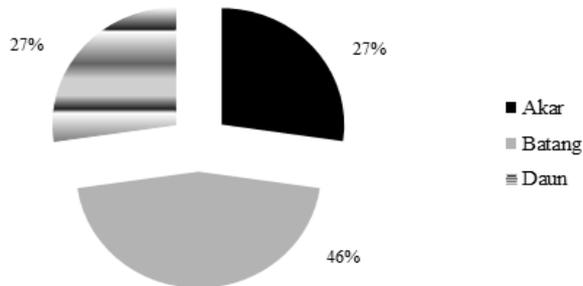
### Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri Endofit terhadap Patogen

Satu ose bakteri patogen diregenerasikan ke dalam 5 mL media NB (*Nutrient Broth*) dan bakteri endofit yang berasal dari stok agar miring diinokulasikan ke media NA baru, kemudian diinkubasi pada suhu 28 – 30 °C selama 24 jam. Sebanyak 0.4 mL kultur bakteri patogen ditambahkan ke 80 mL NA cair yang bersuhu  $\pm$  40 °C, dikocok, kemudian dituang ke dalam cawan Petri sebanyak  $\pm$  20 mL. Isolat bakteri endofit diinokulasikan ke media yang telah mengandung patogen dengan menggunakan ose, diinkubasi pada suhu ruang selama 1-2 hari dan diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong (Simarmata *et al.* 2007).

### 3. HASIL

#### Isolat bakteri endofit

Sebanyak 22 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman miana, yaitu: 6 isolat dari tanaman miana, yaitu: 6 isolat dari akar (AM), 6 isolat dari daun (DM) dan 10 isolat dari batang (BM) dengan sebaran seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Presentasi bakteri endofit yang diisolasi dari miana.

#### Aktivitas Antibakteri dari Isolat Bakteri Endofit terhadap Patogen

Penapisan isolat bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen

dilakukan menggunakan metode cawan tuang. Hasil uji antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri endofit (Gambar 2). Isolat bakteri endofit yang mampu menghasilkan zona bening disajikan pada Tabel 1 dan diameter zona bening yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Hasil uji antibakteri isolat bakteri endofit (Kode 12 = Isolat DM6) terhadap *Staphylococcus aureus*.

Sebanyak 15 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* sedangkan 13 isolat bakteri endofit mampu menghambat *E. coli*. Isolat bakteri endofit yang mampu menghambat

Tabel 1. Hasil pengamatan uji antibakteri dari bakteri endofit tanaman miana

No	Kode Isolat	Uji antibakteri	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	AM1	+	+
2	AM2	+	+
3	AM3	+	+
4	AM4	+	-
5	AM5	+	-
6	AM6	+	+
7	DM1	+	+
8	DM2	+	+
9	DM3	+	+
10	DM4	+	+
11	DM5	-	-
12	DM6	+	+
13	BM1	-	+
14	BM2A	-	-
15	BM2B	+	-
16	BM3	-	-
17	BM4	-	+
18	BM5	-	+
19	BM6	+	-
20	BM7	+	-
21	BM8	-	-
22	BM9	+	-

Keterangan:

+ = terbentuk zona bening

- = tidak terbentuk zona bening

Tabel 2. Diameter zona bening isolat bakteri endofit miana terhadap bakteri patogen

No	Kode Isolat	Diameter zona bening (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	AM1	2	1
2	AM2	2	3
3	AM3	2	2
4	AM4	7	-
5	AM5	6	-
6	AM6	2	1
7	DM1	2	2
8	DM2	7	1
9	DM3	4	2
10	DM4	4.5	1
11	DM5	-	-
12	DM6	5.5	1
13	BM1	-	3.3
14	BM2A	-	-
15	BM2B	5	-
16	BM3	-	-
17	BM4	-	1
18	BM5	-	2
19	BM6	1.5	-
20	BM7	5	-
21	BM8	-	-
22	BM9	4.5	2

kedua jenis patogen tersebut berjumlah 10 isolat (AM1, AM2, AM3, AM6, DM1, DM2, DM3, DM4, DM6 dan BM9).

#### 4. PEMBAHASAN

Pemanfaatan bakteri endofit dari tanaman obat merupakan cara baru untuk mendapatkan senyawa antibakteri tanpa harus mengekstraksi secara langsung dari tanaman obat tersebut. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme simbiotik yang hidup di dalam jaringan tanaman dan tidak menimbulkan efek negatif pada tanaman inangnya (Mano & Morisaki 2008). Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman dapat memicu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Selain itu, senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit diketahui berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang medis, pertanian, dan industri (Ryan *et al.* 2007).

Pemilihan tanaman miana sebagai sumber bakteri endofit yang akan diisolasi dikarenakan tanaman ini telah diketahui mengandung zat antibakteri (Sundari dan Winarno 1996). Total

bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman miana berjumlah 22 isolat (6 isolat dari akar, 6 isolat dari daun, dan 10 isolat dari batang). Hal ini sesuai dengan pernyataan Tarabily *et al.* (2003) yaitu bakteri endofit dapat diisolasi dari akar, batang, daun, permukaan benih, dan biji yang steril. Secara umum, bakteri endofit banyak terdapat di akar dan semakin menurun jumlahnya pada batang dan daun (Lamb *et al.* 1996), namun terkadang jumlah bakteri endofit lebih banyak di batang daripada di akar. Bakteri endofit yang diperoleh lebih banyak pada bagian batang daripada akar. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya aliran produk fotosintesis yang berasal dari daun ke seluruh bagian tanaman melalui floem, sehingga dapat dimanfaatkan oleh bakteri endofit sebagai sumber nutrisi (Koomnok *et al.* 2007).

Bakteri endofit hasil isolasi tersebut kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen yang digunakan. *S. aureus* merupakan bakteri patogen penyebab bisul bernanah, radang selaput otak, dan racun pada makanan, sedangkan *E. coli* dapat menyebabkan diare yang ringan sampai sedang, bahkan dapat berakibat fatal

(Buchanan dan Gibbons 1974). Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 13 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan 15 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan bakteri endofit yang mampu menghambat kedua jenis patogen tersebut berjumlah 10 isolat. Terbentuknya zona bening 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 tiap isolat bakteri endofit. Hasil tersebut juga menandakan bahwa kemungkinan besar senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut memiliki spektrum yang luas.

Berdasarkan hasil penelitian Rahmawati (2008), ekstrak aseton daun miana dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, dan *S. enteritidis*. Selain itu, ekstrak etanol daun miana pada konsentrasi 10% dan 20% memiliki daya antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, dan *S. paratyphosa* (Kumala & Desi 2009). Besar kemungkinan bakteri endofit yang menetap di tanaman miana memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa antibakteri yang sama seperti tanaman inangnya. Senyawa antibakteri dari ekstrak aseton daun miana diketahui mengandung derivat asam ftalat sebesar 67.368% (Rahmawati 2008).

Beberapa isolat bakteri endofit tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pada kedua 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 & Cheah 2002). Isolat yang didapatkan belum diketahui secara pasti spesiesnya. Hal ini dikarenakan tujuan utama penelitian adalah mendapatkan isolat bakteri endofit yang berpotensi menghambat pertumbuhan kedua bakteri patogen (*E. coli* dan *S. aureus*). Isolat potensial tersebut akan diidentifikasi lebih lanjut terkait spesies dan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan. Diharapkan pada penelitian selanjutnya, senyawa antimikroba tersebut dapat diidentifikasi dan dimanfaatkan sebagai sumber antimikroba yang baru.

## 5. SIMPULAN

Sebanyak 22 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman miana. Berdasarkan hasil penelitian, isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* sebanyak 13 isolat dan 15 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan bakteri endofit yang mampu menghambat kedua jenis patogen tersebut berjumlah 10 isolat.

## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Buchanan RE, Gibbons NE. 1974. *Bergey's Manual of Determination Bacteriology* 8<sup>th</sup> ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
- Castillo *et al.* 2002. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigriscans*. *Microbiology* 148:2675–2685.
- Desriani *et al.* 2013. Potential Endophytic Bacteria for Increasing Paddy Var Rojolele Productivity. *IJASEIT* 3(1):76-78.
- Eliza, Munif A, Djatnika I, Widodo. 2007. Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. *J Hort.* 17:150-160.
- Guan SH, Sattler I, Lin WH, Guo DA & Grabley S (2005) p-Aminoacetophenonic acids produced by a mangrove endophyte: *Streptomyces griseus* subspecies. *J Nat Prod* 68: 1198–1200.
- Julianus *et al.* 2011. *Tumbuhan Obat Tradisional di Sulawesi Utara*. Ed ke-2. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Koomnok C, Teaumroong N, Rerkasem B, Lumyong S. 2007. Diazotroph endophytic bacteria in cultivated and wild rice in Thailand. *Science Asia* 33: 429-435.
- Kumala S & Desi. 2009. Aktivitas antibakteri ekstrak daun iler (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap beberapa bakteri gram (+) dan bakteri gram (-). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 7(1):12-14.
- Lamb TG, Tonkyn DW, Kluepfel DA. 1996. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can. J. Microbiol.* 42:1112–1120.
- Mano H & H Morisaki. 2008. Minireview: Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes and Environments* 23: 109-117.
- Pal A, Chattopadhyay A, Paul AK. 2012. Diversity and Antimicrobial Spectrum of Endophytic

- Bacteria Isolated from *Peaderi foetida* L. *Int J Curr Pharm Res.* 4:123-127.
- Rahmawati F. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. 2008. Minireview: Bacterial endophytes: recent development and application. *FEMS Microbiol Lett* 278: 1-9.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk Penel Hayati* 13 : 85-90.
- Strobel GA, Stierle A, Stierle D, Hess WM. 1993. *Taxomyces andreanae* a proposed new taxon for a bulbilliferous hyphomycete associated with Pacific yew *Mycotaxon.* 47:71–78.
- Sundari D & Winarno MW. 1996. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat diare di Indonesia. *Cermin dunia kedokteran* 109: 25-32
- Son R & Cheah YK. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medical Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences* 9(2): 23–33.
- Tarabily K, Nassar AH, Sivasithamparam K. 2003. Promotion of Plant Growth By An Auxin-Producing Isolate Of The Yeast *Williopsis Saturnus* Endophytic in Maize Roots. *The Sixth UAE Universty Research Conference:* 60-69.
- Winarto WP. 2007. *Tanaman Obat Indonesia untuk Pengobatan Herba.* Ed ke-1. Jakarta: Karyasari Herba Media.