

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROBA ENDOFIT PADA  
TANGKAI DAUN TANAMAN TOJANG (*Colocasia esculenta*)  
DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus epidermidis***



**ARTIKEL SKRIPSI**

**Diajukan untuk Memenuhi Persyaratan dalam Menyelesaikan  
Program Sarjana (S1) Pendidikan Biologi**

**Oleh**

**ROSITA WATI  
NIM E1A013044**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MATARAM  
2018**



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS MATARAM

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI

Jl. Majapahit No. 62 Tlp. (0370) 623873 Fax. 634918 Mataram 83125

---

**PERSETUJUAN ARTIKEL**

Artikel berjudul: “**Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Endofit Pada Tangkai Daun Tanaman Tojang (*Colocasia esculenta*) dan Aktivitas Antibakterinya Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*” yang disusun oleh:**

Nama : Rosita Wati

NIM : E1A013044

Prog. Studi : Pendidikan Biologi

Telah disetujui tanggal:

Pembimbing I,

(Drs. Lalu Zulkifli, M.Si., Ph.D.)

NIP.19690113 199303 1 001

Pembimbing II,

Dra. Dewa Ayu Citra Rasmi, M. Si.

NIP.19660419 199203 2 011

**ISOLASI dan KARAKTERISASI MIKROBA ENDOFIT TUMBUHAN TOJANG  
(*Colocasia esculenta* (L.) Schoot)) dan UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA  
TERHADAP *Escherichia coli* dan  
*Staphylococcus epidermidis***

<sup>1)</sup>Rosita Wati, <sup>2)</sup>Lalu Zulkifli, <sup>3)</sup>Dewa Ayu Citra Rasmi  
Program Study Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram  
Email: [rsitaw123@gmail.com](mailto:rsitaw123@gmail.com)

**Abstract**

Tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) is a perennial herb used by some people as a medicinal ingredient for skin diseases and diarrhea. This plant can be used as an antibacterial drug because it contains secondary metabolite compounds such as alkaloids, tannins and flavonoids. The objectives of this study was to determine the potency of endophytic bacteria isolated from Tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) in inhibiting the growth of clinical isolate bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*). The stages of this research were : (1) Isolation of endophytic bacteria from tojang taken at Masbagik East Lombok, (2) Antimicrobial assay using Agar Diffusion Methods, (3) Biochemical characterization of the isolates. The medium used for the isolation of endophytic bacteria was Nutrient Agar (NA). Nine isolates of endophytic bacteria were obtained. An antimicrobial assay was then performed using agar diffusion method, and Greenwood's category was used in the determination of inhibition power. Endophytic bacteria isolates that have the ability to inhibit the growth of microbial tests were then tested for their biochemical characteristics, the morphology of colony and cells. The results of antimicrobial activity assay showed that TD1C2, TD2B and TD2D endophytic bacterial isolates strongly inhibited (inhibition zone of more than 20 mm) *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis* growth. Two isolates TD2C and TD2D1 did not show any activity (inhibition zone less than 10 mm). These finding show that those (TD1C2, TD2B and TD2D) isolates of endophytic bacteria isolated from Tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) could be used as an alternative source of antimicrobial compounds against pathogenic bacteria.

Keywords: Endophytic Bacteria, (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot), Agar diffusion method, Inhibitory zone.

**Abstrak**

Tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) merupakan herba perennial yang digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai bahan obat untuk penyakit kulit dan diare. Tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, tanin dan flavonoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi daya hambat isolat bakteri endofit dari tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) terhadap pertumbuhan bakteri isolat klinik (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*). Tahapan dalam penelitian ini adalah: (1) isolasi mikroba endofit dari tumbuhan tojang yang diambil dari Masbagik Lombok Timur, (2) uji antimikroba dengan metode difusi agar, (3) karakterisasi biokimia termasuk indentifikasi morfologi koloni dan morfologi sel. Media yang digunakan untuk isolasi bakteri endofit adalah Nutrient Agar (NA). Terhadap isolat yang diperoleh, selanjutnya dilakukan uji antimikroba dengan menggunakan metode difusi agar, dan penentuan kekuatan daya hambat mengacu pada kategori dari Greenwood. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan menghambat mikroba uji dilakukan uji biokimia, termasuk identifikasi morfologi koloni dan morfologi sel. Hasil uji aktivitas antimikroba menunjukkan 3 isolat bakteri endofit TD1C2, TD2B, TD2D termasuk dalam kategori

aktivitas antibakteri yang kuat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis* (diameter zona hambat >20mm). Sedangkan 2 isolat bakteri endofit (TD2C dan TD2D1) memiliki diameter zona hambat <10mm sehingga dikategorikan tidak beraktivitas. Temuan ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri dari tumbuhan tojang (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) dapat digunakan sebagai alternatif sumber senyawa antimikroba.

Kata kunci: Bakteri Endofit, *Colocasia esculenta* (L.) Schoot), uji antimikroba, zona hambat.

## PENDAHULUAN

Banyak tanaman yang digunakan untuk bahan baku obat karena tanaman tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang beraneka ragam, sehingga mempunyai potensi besar untuk digunakan dan dikembangkan menjadi obat untuk berbagai penyakit (Pratiwi, 2015). Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional didasari oleh pengalaman turun temurun dari masyarakat. Penggunaan obat tradisional, dinilai lebih aman dari pada pengobatan modern. Ini disebabkan karena obat tradisional mempunyai efek samping yang relatif lebih kecil (Wehantouw *et al.*, 2011).

Dalimartha (2006), mengatakan bahwa salah satu tanaman berhasiat yang digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti radang, kulit bernanah, bisul, berak darah, tersiram air panas, gatal-gatal, diare, pembalut luka baru dan sebagai alternatif obat luka yaitu tanaman talas (*Colocasia esculenta* [L]). Berdasarkan hasil penelitian Wijaya *et al.* (2014), diketahui bahwa ekstrak batang *C. esculenta* dapat berpotensi sebagai alternatif obat luka sayatan, sehingga dilakukan uji fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak tangkai daun talas mengandung saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan terpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Mawarsari (2015) menemukan bahwa krim ekstrak umbi *C. esculenta* menunjukkan efek penurunan luas luka bakar dan peningkatan presentase penyembuhan luka bakar.

Tanaman obat menghasilkan metabolit sekunder tertentu yang memiliki sifat sebagai zat penyembuh. Produksi

metabolit sekunder tersebut diduga akibat adanya interaksi antara tanaman inang dan bakteri endofit (Purwanto, 2013). Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Bhore dan Sathisha, 2010). Zinniel *et al.* (2002), mengemukakan bahwa umumnya bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar, tetapi bagian tanaman yang terpapar udara langsung juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Bakteri endofit yang telah masuk ke dalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman.

Kajian tentang manfaat bakteri endofit telah banyak dilakukan yaitu banyak ditemukannya bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa berkhasiat sebagai obat dan biokontrol (Nursanty dan Iqbar 2013; Imawati, 2015; Deshmukh *et al.*, 2014; Purwanto, 2013; Sukiman *et al.*, 2009; Strobel *et al.* 2005). Bahan-bahan alam yang berpotensi sebagai obat dapat menjadi model atau prekursor dalam penemuan obat baru. Untuk memperoleh antibiotik baru perlu dilakukan pencarian sumber penghasil antibiotik (Priharta, 2008). Oleh karena itu, eksplorasi mikroba endofit potensial merupakan alternatif untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru (Simanjuntak *et al.*, 2004). Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi mikroba endofit pada tangkai daun tanaman tojang (*Colocasia esculenta*) serta uji aktivitas antibakterinya terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : autoklaf, neraca analitik, cawan petri, gelas kimia, Laminar Air Flow, pinset, silet, korek api, Bunsen, incubator, tabung reaksi, tabung ukur, jarum ose, labu erlemeyer, pipet mikro, tip biru, tip kuning, kaca objek, shaker, sentrifugasi, bunsen, rak tabung, alat tulis, kamera. Bahan penelitian yaitu tangkai daun tanaman tojang (*C. esculenta*) yang diperoleh dari Dusun Bumbang, Desa Masbagik Utara, Kecamatan Masbagik, Kabupaten Lombok Timur. Bahan lain yang digunakan adalah aquadest, tisu, aluminium foil, kertas jagung, kapas, kertas label, karet gelang, alkohol 70%, larutan NaOCl 5,25%, Nutrient Agar (merck), Nutrient Broth (merck), Muller Hilton Agar (merck), larutan NaCl 0.9%, gentian violet, larutan lugol, safranin, alcohol 96%, kertas saring, antibiotik ciprofloxacin 0,01mg/mL.

### Isolasi bakteri endofit

Tanaman tojang diambil dan dicuci dengan air sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Tojang selanjutnya ditiriskan, kemudian dibungkus dengan kertas Koran dan dimasukkan kedalam kantong plastic lalu dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi FKIP, Universitas Mataram. Tojang kemudian dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya dengan air mengalir. Tanaman tojang kemudian direndam dengan natrium hipoklorit 5,25% selama 5 menit, lalu eksplan dibilas dengan alkohol 70% dan aquadest steril secara bergantian sampai aroma NaOCl hilang. Sampel yang telah steril dikeringkan dengan kertas saring steril, kemudian bagian ujung kiri dan kanan bagian tangkai daun dibuang  $\pm$  1 cm. Setelah itu, tangkai daun dipotong sepanjang 5-7 cm lalu diletakkan pada media NA steril dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 32°C. Jika selama 24 jam di sekitar eksplan tanaman tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba, maka eksplan yang telah

diinkubasi dipindahkan pada cawan steril, lalu dipotong membujur menjadi bagian yang lebih kecil dengan ketebalan 0,5–1 cm. Setiap potongan eksplan diletakkan dalam median NA steril dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 72 jam (Nursanty dan Iqbar, 2013).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Stok isolat bakteri endofit ditanam pada media Nutrient Broth lalu diinkubasi selama 48 jam. Medium yang telah ditumbuhkan isolat bakteri kemudian digoyangkan selama 72 jam pada shaker dengan kecepatan 200 rpm. Setelah itu dilakukan pemisahan sel bakteri dan supernatan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* yang dimodifikasi untuk menentukan aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit (Modifikasi Deshmukh *et al.*, 2014). Mikroba patogen yang digunakan sebagai bahan uji adalah mikroba patogen terhadap manusia, yaitu bakteri *S. epidermidis* yang menginfeksi pada permukaan kulit dan *E. coli* yang menginfeksi pada organ dalam tubuh. Mikroba uji yang telah berumur 24 jam diambil 1 ose lalu dicampurkan kedalam larutan garam fisiologis 10 ml dan dihomogenkan menggunakan vortex hingga konsentrasinya mencapai setara McFarland 1,0 ( $3,0 \times 10^8$  CFU/mL), kemudian 1 ml bakteri uji dituang kedalam cawan petri dan dicampurkan ke dalam 14 ml media MHA.

Supernatan bakteri endofit yang diperoleh diteteskan sebanyak 50  $\mu$ L pada sumuran. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 32°C. Terbentuknya zona bening disekitar sumuran menandakan aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kategori kekuatan aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit diukur menggunakan standar kepekaan bakteri terhadap antibiotik seperti pada Tabel 1.

Tabel 1 Kategori kekuatan aktivitas antibakteri (Greenwood, 1995)

Kode	Diameter Zona Hambat (mm)
(-)	≤10
(+)	11-15
(++)	16-20
(+++)	>20

Keterangan: (-) tidak beraktivitas  
 (+) aktivitas lemah,  
 (++) aktivitas sedang, dan  
 (+++) aktivitas kuat

### Uji biokimia

Beberapa jenis uji biokimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji fermentasi karbohidrat, uji triple sugar iron agar (TSIA), uji motilitas, uji sitrat, uji urea dan uji katalase. Uji fermentasi karbohidrat menggunakan media uji berupa karbohidrat jenis glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tangkai daun tanaman tojang (*C. esculenta*) sebanyak 9 isolat (table 1). Eksplan yang digunakan sebagai sumber isolat mikroba endofit berasal dari dusun Bumbang, kecamatan Masbagik, kabupaten Lombok Timur. Pengamatan morfologi bakteri endofit dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis.

Secara makroskopis ditunjukkan bentuk koloni bakteri yaitu irregular, circular dan rhizoid. Empat isolat bakteri endofit mempunyai bentuk irregular (takteratur) (TD1A, TD2C, TD2D dan TD2E), sedangkan 5 isolat lainnya terdiri dari 3 bentuk circular (TD1C1, TD1C2, TD2B), 2 rhizoid (TD2D1 dan TD1C3). Untuk elevasi hanya terdapat dua jenis yaitu raised (melengkung) dan flat. Elevasi raised dimiliki oleh 7 isolat (TD1A, TD1C1, TD1C2, TD1C3, TD2C, TD2D, TD2D1). Sedangkan tepian koloni yang dimiliki oleh bakteri endofit yang teramati adalah entire, filamentous, undulate dan

labote. Tepian koloni yang paling banyak teramati adalah entire pada bakteri endofit dengan kode (TD1A, TD1C1, TD1C2).

Setiap bakteri endofit memiliki ciri-ciri morfologi yang berbeda. Hal ini sesuai dengan Bhore dan Sathisha (2010) yang menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Penelitian sejenis juga dilakukan oleh Agu *et al.* (2016), yang berhasil mengisolasi jamur endofit dari *C. esculenta* dan berhasil menemukan 5 spesies yaitu *Mucor circinelloides*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizopus stolonifer* *Penicillium cyclopium* dan *Aspergillus niger*.

Secara mikroskopis, ditunjukkan bahwa bentuk sel isolat bakteri endofit adalah basil atau batang. Ukuran dari setiap endofit berbeda-beda, mulai dari 2,55-5,13  $\mu\text{m}$  (Gambar 1). Semua isolat endofit yang teramati memiliki spora. Menurut Jenson dan Moir (2003), bakteri yang dapat menghasilkan spora lebih tahan terhadap tekanan lingkungan yang ekstrim karena metabolisme selnya mengalami dormansi jika berada pada lingkungan yang buruk. Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit terdiri dari 8 isolat bakteri gram positif dan 1 isolat bakteri gram negatif yaitu TD2C. Perbedaan hasil pewarnaan disebabkan oleh adanya perbedaan struktur kedua kelompok bakteri tersebut sehingga menyebabkan perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna dan penambahan larutan pemucat. Dinding sel bakteri gram positif hanya terdiri dari satu lapisan saja, sedangkan bakteri gram negatif terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. (Khairani 2010).

Isolat mikroba endofit yang didominasi oleh bakteri gram positif juga ditemukan oleh Imawati (2015) yaitu sebanyak 3 bakteri gram positif dan 1 bakteri gram negatif dari keseluruhan isolat, semua isolat yang berhasil diisolasi juga berbentuk batang dan memiliki spora. Pada penelitian Khairani (2010), yang mengisolasi bakteri endofit dari tanaman

jagung (*Zea mays*) diperoleh 8 isolat gram positif dan 5 gram negatif. Nursanty dan Suhartono (2012), berhasil mengisolasi 7 bakteri endofit dari tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.) dan 6 bakteri endofit termasuk gram positif.

Sifat biokimia untuk determinasi bakteri meliputi perubahan karbohidrat, hidrolisis lemak, penguraian protein, reduksi berbagai macam unsur pembentukan pigmen dan pengujian biokimia lainnya (Wuluyo, 2005). Menurut Lay (1994), isolat murni yang diperoleh dikarakterisasi morfologinya dengan pewarnaan Gram serta uji biokimia metabolisme bakteri seperti uji sitrat, uji gelatin, uji motilitas, uji sulfide, uji katalase dan uji hidrolisis pati. Hasil uji biokimia yang dilakukan terhadap sampel bakteri endofit menunjukkan hasil yang beragam (Tabel 2). Uji biokimia yang dilakukan terdiri dari uji karbohidrat, uji katalase, uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar), uji urease, uji Simmon's citrate, uji motilitas (modifikasi Sagita *et al.*, 2017; Wilson *et al.*, 2017)

Uji karbohidrat yang dilakukan pada bakteri endofit menggunakan lima jenis gula yaitu glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa dan manitol. Pada uji karbohidrat jenis glukosa hanya sampel dengan kode TD1A dan TD2D1 yang menunjukkan hasil negatif, ini ditandai dengan tidak berubahnya warna media uji menjadi orange/kuning. Ini berarti bahwa bakteri tersebut tidak menggunakan karbohidrat jenis glukosa untuk diubah menjadi sumber energy utama. Untuk uji maltose, laktosa dan sukrosa, 8 dari 9 sampel dinyatakan positif dan lainnya negatif. Sedangkan pada uji manitol, 7 sampel positif dan 2 sampel negatif. Pada penelitian Wilson *et al.* (2017), uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan 3 jenis gula yaitu glukosa, sukrosa dan laktosa dan diketahui hanya 6 dari 30 endofit yang menggunakan ketiga jenis gula tersebut. Pengujian biokimiawi yang menunjukkan hasil beragam diantara isolat bakteri endofit dipengaruhi oleh tanaman inangnya. Faktor-faktor seperti struktur

tanah, umur tanaman, kondisi lingkungan dan waktu pengambilan sampel yang mempengaruhi fisiologis pertumbuhan tanaman akan mempengaruhi komunitas bakteri endofit (Mano *et al.*, 2008).

Uji Simmon's citrate bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan citrate sebagai satu-satunya sumber karbon (Lay, 1994). Ada 3 isolat bakteri endofit yang menunjukkan hasil positif pada uji ini yang ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi kebiruan akibat dari peningkatan PH medium. Sedangkan pada uji motilitas, semua sampel positif. Pada penelitian Sepriana *et al.* (2017), yang mengisolasi bakteri endofit kulit batang tanaman cengkeh menemukan bahwa semua isolat bakteri endofit menunjukkan hasil positif pada uji motilitas, semua isolat yang ditemukan juga berbentuk basil. Menurut Pelczar dan Chan (2014), kebanyakan spesies dengan bentuk basil dan spiral yang memiliki flagella. Flagela merupakan salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas) pada sel bakteri (Safrida *et al.*, 2012).

Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) merupakan metode yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasi gula. Medium TSIA mengandung 3 macam gula, yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa, terdapat juga indikator fenol merah serta  $\text{FeSO}_4$  untuk memperlihatkan pembentukan  $\text{H}_2\text{S}$  yang ditunjukkan dengan adanya endapan hitam. Dari hasil uji TSIA diketahui bahwa 3 isolat bersifat asam dan 2 diantaranya (TD1A dan TD2D) disertai dengan pecahnya media uji. Sifat asam pada isolat dapat diketahui dengan adanya perubahan warna media menjadi kekuningan pada bagian atas hingga dasar media ketika uji dilakukan, ini menandakan bahwa isolat tersebut dapat memfermentasi gula jenis sukrosa atau laktosa. Sedangkan pecahnya media ketika uji dilakukan menunjukkan bahwa fermentasi gula yang terjadi disertai dengan terbentuknya gas berupa  $\text{H}_2$  dan

Tabel 1 Morfologi Koloni Dan Sel Bakteri Endofit

Kode Isolat	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna	Bentuk sel	Sifat Gram
TD1A	Irregular	Raised	Entire	Putih	Bacil	Positif
TD1C1	Circular	Raised	Entire	Putih	Bacil	Positif
TD1C2	Circular	Raised	Entire	Putih	Bacil	Positif
TD1C3	Rhizoid	Raised	Filamentous	Putih	Bacil	Positif
TD2B	Circular	Flat	Undulate	Putih	Bacil	Positif
TD2C	Irregular	Raised	Lobate	Putih	Bacil	Negatif
TD2D	Irregular	Raised	Lobate	Putih	Bacil	Positif
TD2D1	Rhizoid	Raised	Filamentous	Putih	Bacil	Positif
TD2E	Irregular	Flat	Undulate	Putih	Bacil	Positif

Sumber identifikasi : Capuccino & Sherman

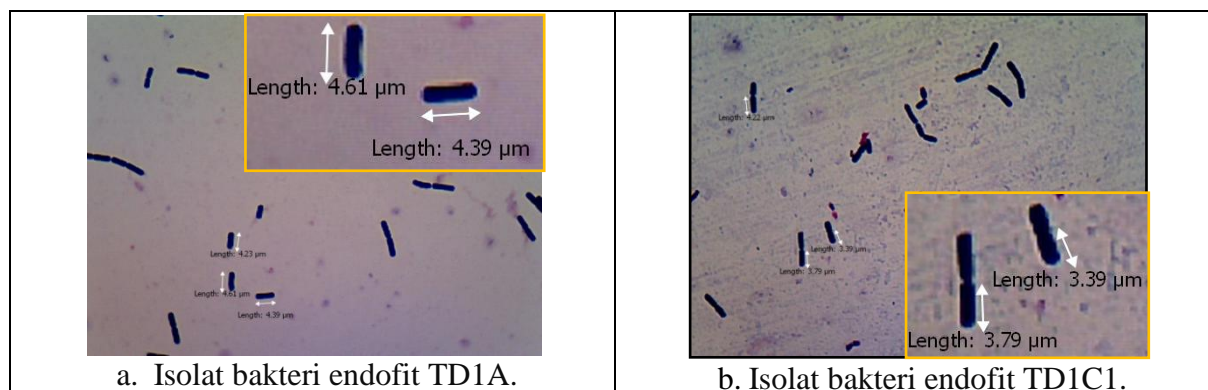
Keterangan:

- TD : Tangkai Daun

Tabel 2 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Endofit

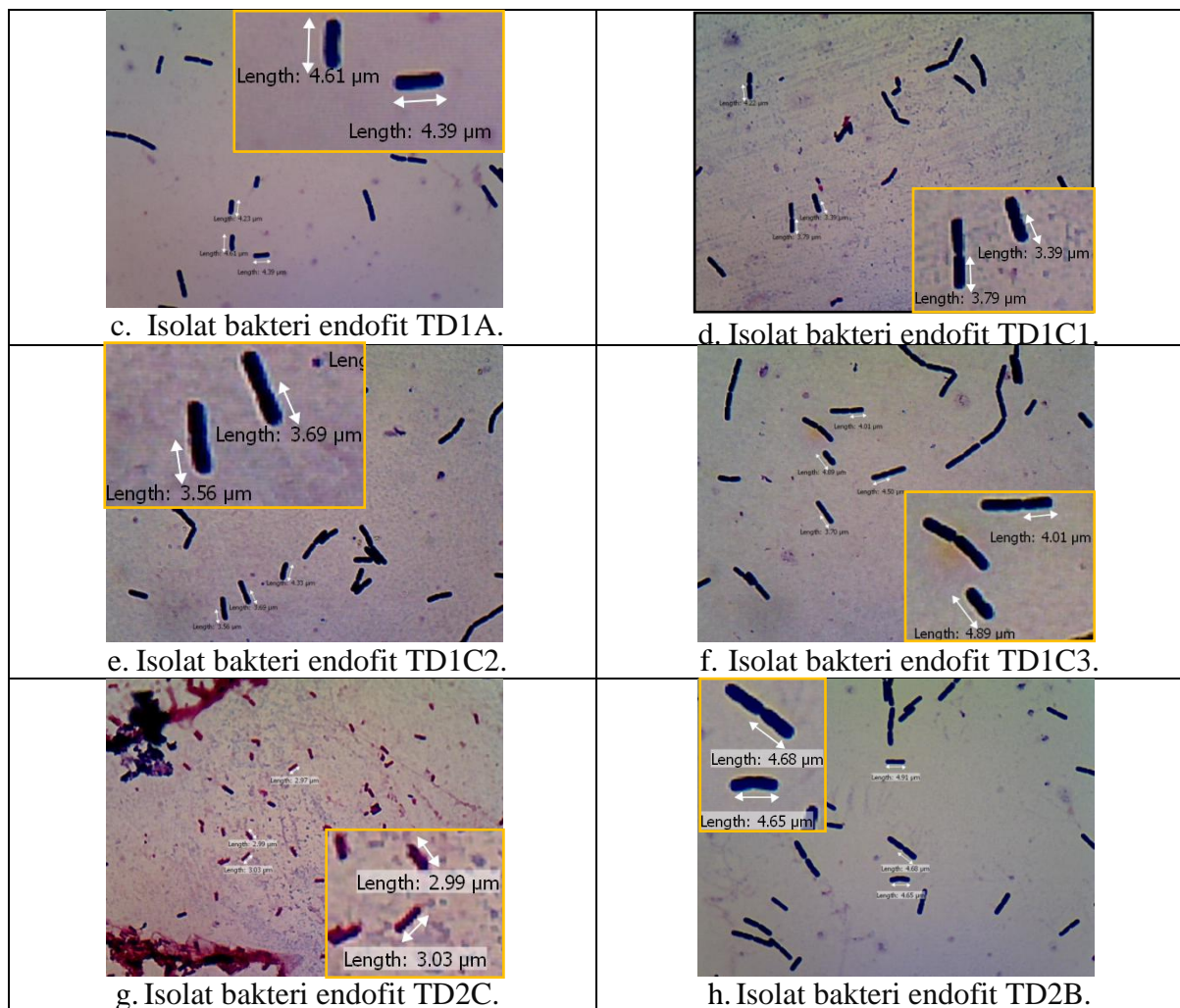
Kode Isolat	SC	Mot	TSI	Urea	Karbohidrat				
					man	glu	malt	lakt	suk
TD1A	-	+	A	-	+	-	+	+	+
TD1C1	-	+	A	-	+	+	+	+	+
TD1C2	+	+	B	+	-	+	+	+	+
TD1C3	+	+	B	-	+	+	+	+	+
TD2B	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TD2C	+	+	-	+	+	+	+	+	+
TD2D	-	+	A	-	-	+	+	-	-
TD2D1	-	+	-	-	+	-	-	+	+
TD2E	-	+	B	-	+	+	+	+	+

Keterangan: - SC : Simmon Citrate - Mot : Motil - TSI : Triple Sugar Iron  
 - Man : Manito - Glu : Glukosa - Malt : Maltosa  
 - Lakt : Laktosa - Suk : Sukrosa - (-) : Tidak ada aktivitas  
 - (+) : Positif - A : Asam - B : Basa



Gambar 1. Identifikasi morfologi sel beberapa isolat bakteri endofit menggunakan pewarnaan Gram.





Gambar 2. (Lanjutan) Identifikasi morfologi sel beberapa isolat bakteri endofit menggunakan pewarnaan Gram.

CO<sub>2</sub> (Buchanan, 2003). Hasil uji yang berbeda ditunjukkan isolate TD1C2, TD1C3 dan TD2E dimana media berwarna kemerahan yang menandakan sifat basa karena terjadi fermentasi pepton yang menghasilkan ammonia. Hasil uji urea pada sampel menunjukkan 2 bakteri endofit yaitu TD1C2 dan TD2C positif menggunakan urea sebagai sumber karbon. Uji yang berguna untuk mengidentifikasi mikroorganismenya mempunyai enzim urease ini menunjukkan hasil positif apabila adanya perubahan warna media menjadi pink atau keunguan akibat terdegradasinya urea menjadi amoniak yang menyebabkan lingkungan berubah menjadi basa.

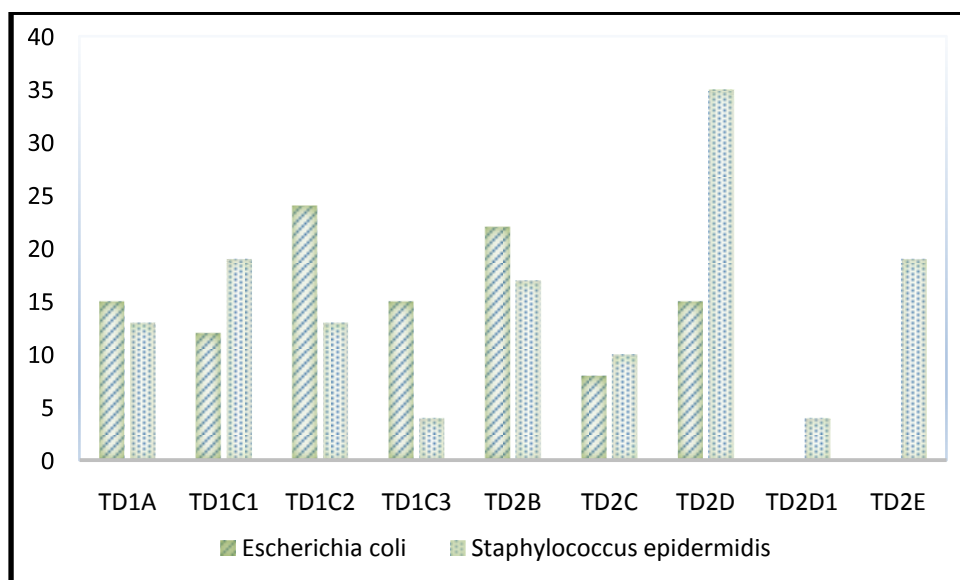
#### Uji Aktivitas Antibakteri Endofit

Uji zona hambat pada bakteri endofit dari tanaman tojang (*C. esculenta*) yang

dilakukan terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. epidermidis* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri seperti yang terlihat pada Gambar 3 yaitu berupa nilai rata-rata diameter zona bening. Aktifitas antibakteri bakteri endofit dari tangkai daun tanaman tojang (*C. esculenta*) ada yang tergolong kuat, sedang dan tidak beraktifitas (berdasarkan standar Greenwood, 1995). Isolat bakteri endofit TD1C, TD2B memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri patogen *E. coli* dan TD2D memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri patogen *S. epidermidis*, ini ditunjukkan dengan nilai rata-rata diameter zona hambat diatas 20 mm. Hal ini menandakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut dapat digunakan sebagai

antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. epidermidis* atau *E. coli*. Hal ini didukung oleh penelitian Fadlila *et al.* (2015), yang menunjukkan bahwa ekstrak tangkai daun *C. esculenta* mampu hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar

1,37 cm dengan konsentrasi minimal 0,5%. Penelitian lain dilakukan oleh Mawarsari, 2015 dan menemukan bahwa krim ekstrak umbi *C. esculenta* menunjukkan efek penurunan luas luka bakar dan peningkatan presentase penyembuhan luka bakar.



Gambar 3 Rata-rata diameter zona hambat isolat endofit (mm)

Adanya aktivitas antibakteri pada tanaman dapat terjadi karena adanya metabolit sekunder yang dihasilkan. Menurut Tan dan Zou (2001), mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder sama dengan inangnya yang diduga sebagai akibat transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit. Berdasarkan hasil penelitian Wijaya *et al.* (2014), diketahui bahwa ekstrak batang *Colocasia esculenta* mengandung saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan terpenoid. Sifat antibakteri yang terbentuk diduga berasal dari senyawa alkaloid, tanin dan flavonoid seperti yang terdapat pada tanaman temulawak (Aulmozi, 2007). Kemampuan tannin dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tannin juga memiliki efek yang sama dengan fenolik (Robinson, 1998). Efek antibiotik tannin antaralain melalui reaksi dengan membran

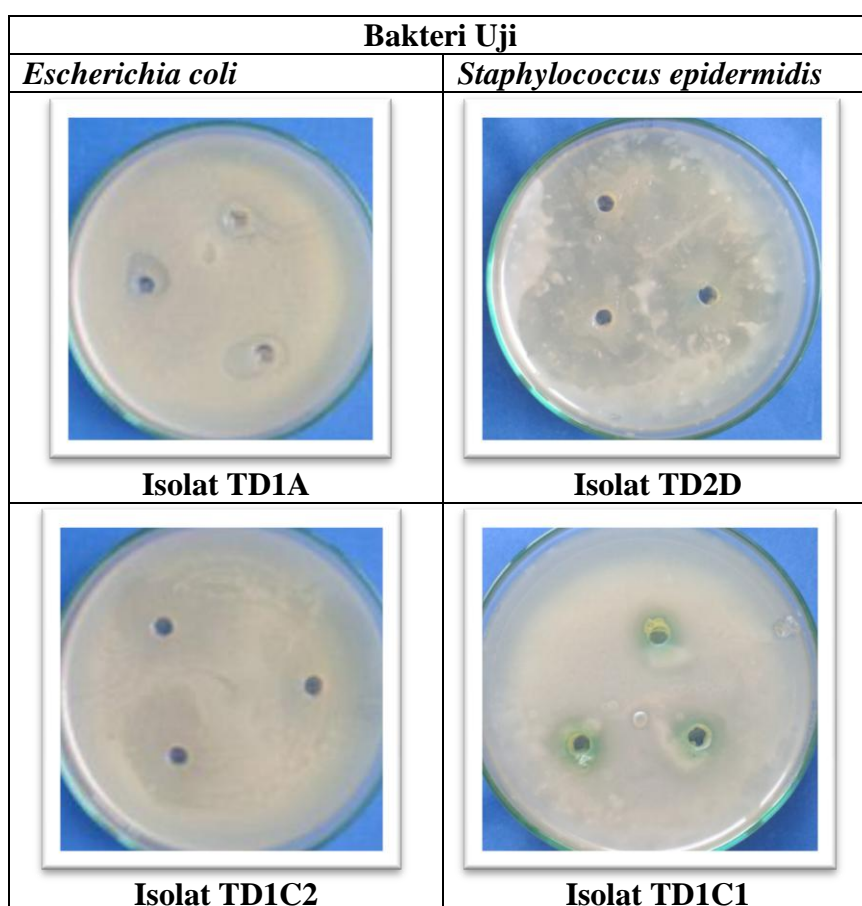
sel, inaktivasi enzim dan inaktifasi fungsi materi genetik.

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang tersebar dalam tumbuhan karena flavonoid mempunyai banyak fungsi. Menurut Robinson (1998), pada tumbuhan yang mengandung flavonoid, senyawa ini berfungsi sebagai pengatur tumbuh, fotosintesis, kerja antimikroba dan virus. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai fungsi sebagai senyawa antibakteri dengan cara mengganggu integritas membran sel bakteri. Sedangkan saponin mempunyai tingkat toksitas yang tinggi melawan fungi (Wehantouw *et al.*, 2011). Fadlila *et al.* (2015), melakukan penelitian yang berhasil mengidentifikasi bahwa senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri pada tangkai daun *C. esculenta*.

Hasil pengujian dengan kategori lemah ditemukan pada isolat TD1A, TD1C1, TD1C2, TD1C3, TD2D. Bakteri

endofit dengan kode TD1A memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap kedua bakteri uji dengan diameter zona hambat sebesar 15 mm dan 13 mm. Sedangkan bakteri endofit dengan kode, TD1C1, TD1C3, dan TD2D memiliki aktivitas antibakteri lemah terhadap pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona hambat secara berturut-turut 12 mm, 15 mm dan 15 mm. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *S. epidermidis* lebih dominan dengan aktivitas antibakteri sedang dengan diameter zona hambat sebesar 19 mm, 17 mm, 19 mm

ditunjukkan oleh bakteri endofit TD1C1, TD2B dan TD2E2. Menurut Strobel (2005), terbentuknya zona hambat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan bakteri uji yang berlebihan sehingga pengaruh metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit tidak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri uji. Gambar 4 menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri isolat endofit yang memiliki potensi yang beragam dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. epidermidis*.



Gambar 4. Hasil Uji aktivitas antibakteri beberapa mikroba endofit

Selain dari faktor lingkungan dan bakteri uji, aktivitas senyawa antibakteri ini juga dipengaruhi oleh mekanisme kerja antibakteri itu sendiri. Mekanisme kerja senyawa yang bersifat antibakteri ada beberapa cara yaitu menghambat sintesis dinding sel yang menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga terjadi lisis, perubahan permeabilitas membran sel atau

transport aktif melalui membran sel yang dapat menyebabkan kebocoran dan kematian sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan sintesis asam nukleat (Ramachandran *et al.*, 2004).

#### **KESIMPULAN**

Isolasi bakteri endofit pada tangkai daun tanaman tojang (*Colocasia esculenta*)

diperoleh 9 isolat bakteri endofit. Dari 9 yang diperoleh, 8 isolat bersifat gram positif dan 1 isolat (TD2C) bersifat gram negative. Diperoleh 7 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. epidermidis*. Dua isolat bakteri endofit (TD1C2 dan TD2B) memiliki aktifitas antibakteri kuat terhadap pertumbuhan *E. coli* dan satu isolat (TD2D) memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap pertumbuhan *S. epidermidis*. Dua isolat bakteri endofit TD2C dan TD2D1 tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. epidermidis*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agu, K.C., Awah N.S., Nnadozie A.C., Okeke B.C., Orji M.U., Iloanusi C.A., Anaukwu C.G., Eneite H.C., Ifediegwu M.C., Umeoduagu N.D., Udoh E.E. 2016. Isolation, Identification and Pathogenicity of Fungi Associated with Cocoyam (*Colocasia esculenta*) Spoilage. *Universal Journal of Food and Nutrition Science* 4(1): 1-4.
- Aulmozi, S. dkk. 2007. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Alstonia scholaris* L.R.Br. An official publication of phcog. Net. Phocog Mag. Vol 3 No 10.
- Bhore SJ, Sathisha G. 2010. Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World J. Agric. Sci.* 6(4): 345-352.
- Buchanan, RE. dan Gibbons NE. 2003. *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. USA: the Wiliam & Wilkins Company Baltimore.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Puspa Swara : Jakarta.
- Deshmukh, S. R., Y. K. Dhas, B. A. Patil. 2014. Comparative Account On Medicinal Importance Of *Momordica charantia* And Its Endophytes. *World Journal of Pharmaceutical Research*. Volume 3, Issue 9, 632-640.
- Fadlila, W. N., M. Y. Kiki, S. Livia. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri Dengan Metode Bioautografi Klt Terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L.) schott). *Prosiding penelitian SPeSIA Unisba* 2015: 583-590.
- Imawati, R. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Khairani, G. 2010. Isolasi dan uji kemampuan antibakteri endofit penghasil hormone IAA (indole acetic acid) dari akar tanaman jagung (*Zea mays* L.). *Skripsi*. USU.
- Lay, B. 1994. *Analisis Mikrobial di Laboratorium*. Jakarta: Managemen PT grafindo prasada.
- Mano H & H Morisaki. 2008. Minireview: Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes and Environments* 23: 109-117.
- Mawarsari, T. 2015. Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Bakar Ekstrak Etanol Umbi Talas Jepang (*Colocasia esculenta* (L.) schott var. *antiquorum*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

- Nursanty, R., dan Iqbar. 2013. Identifikasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Belimbing Wuluh. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi* Vol 5, Nomor 1: hlm 36-38.
- Nursanty, R., dan Suhartono. 2012. Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi* Volume 4, Nomor 1, hlm 7-10.
- Pelczar, M. J., dan E. C. S. Chan. 2014. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI press.
- Pratiwi, B. E. 2015. Isolasi Dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Dari Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Yang Berpotensi Sebagai Anti Bakteri. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Purwanto, U. M. S. 2013. Penapisan Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Binahong Dan Ketepeng Cina Penghasil Senyawa Antibakteri Pathogen. *Skripsi*. Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam. Institut pertanian bogor.
- Ramachandran *et al.*, 2004. Serba-serbi Kesehatan. Jakarta: Bukune.
- Robinson, T. 1998. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Terjemahan kosasih padmawinata. Bandung: ITB.
- Safrida, Y.D., C. Yulvizar, C. N. Devira. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.). *Depik*. 1(3): 200-203.
- Sagita, D., N. Suharti, N. Azizah. 2017. Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ipteks Terapan Research of Applied Science and Education* V11.i1 (65-74)
- Sepriana, C., D. S. D. Jekti, L. Zulkifli. 2017. Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Kemampuannya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*. Hal: 52-59.
- Simanjuntak, p., Bustanusallam, Malini, Otovina, Rahayuningsih, Said. 2004. Isolasi dan identifikasi artemisinin dari hasil kultivasi mikroba endofit dari tanaman *Artemisia annua*. *Majalah Farmasi Indnoesia*. Vol. 15 No. 2:68-74.
- Strobel G, Daisy B, Castillo U. 2005. *Novel natural products from rainforest endophytes*. Dalam: *Natural Products: Drug Discovery and Therapeutic Medicine* (Zhang L. and Demain A., eds.). Humana Press. Totowa : NJ.
- Sukiman, H., S. Lekatompessy, dan T. Widowati. 2009. Mikroba Endofitik Dari Taman Nasional Batang Gadis Sumatera Utara: Potensinya Dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba Terhadap Mikroba Patogen. *Berita Biologi*. 9(6): 801-807.
- Tan, R. X., dan Zou, W. X.. 2001. *Endophytes: A Rich Source of Fuctional Metabolites*, *The Royal Society of Chemistry*. Diakses dari [www.naturalproduct.com](http://www.naturalproduct.com) [14 Juli 2017].
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Penerbit Universitas Muhammadiyah Press.
- Wehantouw, F., S. Manurung, E. Suryanto. 2011. Aktivitas

- Antihyperglycemic Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Pada Tikus Yang Diinduksi Sukrosa. *Chem. Prog.* Vol. 4 No.2 :89-96.
- Wijaya, B. A., C. Gayatri, W. Frenly. 2014. Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta* [L]) Sebagai Alternatif Obat Luka Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Pharmakon jurnal ilmiah farmasi-UNSURAT.* Vol. 3 No.3 : 211-219.
- Wilson, W., Y. A. Purwestri, L. Sembiring. 2017. Isolasi, Karakterisasi Dan Skrining Antimikrobia Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng (*Pimpinella Pruatjan* Molck.). *Jurnal Labora Medika* Vol 1 No 1 (2017) 1-6.
- Zinniel, D. K., P. Lambrecht, N. B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmariski, P. Higley, C. A. Ishimaru, A. Arunakumari, R. G. Barletta, A. K. Vidaver. 2002. Isolation And Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria From Agronomic Crops And Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology.* Vol 68, No. 5: 2198-2208.