

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT ASAL AKAR CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM CIPLUKAN ROOT (*Physalis angulata* L.) FOR *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

Ika Afifah Nugraheni, Heni Setianah, Doddy Sulistiawan Wibowo

Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

Korespondensi: Ika Afifah Nugraheni. Alamat email: ikaafifah@unisayogya.ac.id

ABSTRAK

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan tanaman herbal yang mengandung berbagai manfaat bagi kesehatan manusia, termasuk bagian akar. Manfaat lain yang dimiliki akar tanaman ciplukan masih perlu dieksplorasi, termasuk dengan kemampuan bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dengan tanaman memungkinkan bakteri dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji potensi aktivitas antibakteri dari bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan terhadap bakteri patogen, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Total enam isolat bakteri endofit yang digunakan merupakan hasil isolasi dari akar tanaman ciplukan pada penelitian sebelumnya. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram atau Kirby Bauer, yaitu dengan menghitung diameter zona hambat koloni terhadap bakteri patogen. Sebanyak empat isolat menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*. Nilai hambat terbesar dimiliki oleh isolat AR21 yaitu sebesar $1,6 \pm 0,5$ mm. Meskipun demikian, semua isolat tidak membentuk zona penghambatan terhadap *E. coli*. Hasil ini mengindikasikan bahwa bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen dari kelompok gram positif, yang diwakili oleh *S. aureus*. Bakteri endofit tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen gram negatif, *E. coli*.

Kata Kunci: Akar Ciplukan; Bakteri Endofit; Aktivitas Antibakteri; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

ABSTRACT

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) is herbal plant that contains various benefits for human health, including the roots. The other benefits of ciplukan roots still need to be explored, including the ability of endophytic bacteria that live in plant tissues. The symbiotic relationship of mutualism between endophytic bacteria and plants allows bacteria to produce the same bioactive compounds as their host plants. This study aims to isolate and test the potential antibacterial activity of endophytic bacteria from ciplukan roots against pathogenic bacteria, i.e. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Total of six endophytic bacterial isolates used were the result of ciplukan roots isolation in the previous studies. Antibacterial activity was carried out using the disc diffusion or Kirby Bauer method, by calculating the diameter of inhibitory zone against pathogenic bacteria. A total of four isolates showed inhibitory activity against *S. aureus*. The largest inhibitory zone was AR21 isolate with value 1.6 ± 0.5 mm. However, all isolates did not form inhibition zone against *E. coli*. These results indicated that endophytic bacteria from ciplukan roots have potential to produce antibacterial compounds against pathogenic bacteria from gram-positive group, represented by *S. aureus*. Endophytic bacteria did not show antibacterial activity against gram-negative pathogenic bacteria, *E. coli*.

Keywords: Ciplukan Roots, Endophytic Bacteria, Antibacterial Activity, *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

How To Cite: Nugraheni, I., Setianah, H., & Wibowo, D. (2021). AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT ASAL AKAR CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Biomedika*, 13(1), 48-55. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11009>

DOI: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11009>

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis telah dianugerahi beragam komoditas tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional, salah satunya yaitu tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). Berdasarkan berbagai penelitian ilmiah, ekstrak tanaman ciplukan mempunyai aktivitas sebagai antihiperqlikemi, antimikrobia, antivirus, imunostimulan dan immunosupresan (immunomodulator), antiinflamasi, antioksidan, dan sitotoksik (Latifah *et al.*, 2014). Eksplorasi untuk menemukan aktivitas lainnya perlu dilakukan salah satunya dengan mengisolasi bakteri endofit dari tanaman ciplukan.

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit bagi tanaman tersebut (Hardoim *et al.*, 2008). Suatu bakteri disebut sebagai bakteri endofit apabila minimal salah satu fase dari siklus hidupnya berkembang biak di dalam jaringan tanaman. Proses kolonisasi bakteri endofit berawal dari bagian perakaran, selanjutnya menyebar ke seluruh bagian tanaman seperti batang, daun, buah maupun biji (Kandel *et al.*, 2017). Simbiosis yang terbentuk antara bakteri endofit dengan tanaman inang berupa hubungan mutualisme. Bentuk simbiosis ini antara lain menyediakan

nutrisi yang dibutuhkan tanaman, meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui modulasi hormon pertumbuhan maupun menghambat pertumbuhan fitopatogen melalui mekanisme kompetisi nutrisi, mekanisme pertahanan tanaman maupun produksi senyawa enzim dan antibiotik (Ma *et al.*, 2016; Miliute *et al.*, 2015).

Bakteri endofit umumnya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inang. Salah satu teori yang mendukung hal tersebut yaitu adanya transfer material genetik atau *horizontal gene transfer* dari tanaman inang ke bakteri endofit (Ludwig-Müller, 2015). Jenis transfer genetik inilah yang memungkinkan terjadinya perpindahan gen penyandi metabolit tertentu dalam proses evolusinya. Oleh karena itu, bakteri endofit berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka menggali kemampuan dan aktivitasnya.

Beberapa studi mengenai kemampuan bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat telah dilakukan. Bakteri endofit yang diisolasi dari bagian umbi tanaman herbal sambung nyawa (*Gynura procumbens*) diketahui mempunyai kemampuan sebagai antimikrobia terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus subtilis*

(Simarmata *et al.*, 2007). Selain itu, sebanyak 14 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) dan 3 di antaranya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Magharaniq *et al.*, 2014).

Sejauh ini, penelitian mengenai kemampuan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh bakteri endofit dari tanaman ciplukan belum pernah ada. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini perlu dilakukan untuk mengeksplorasi dan melakukan penapisan awal kemampuan antibakteri baru dari sumberdaya lokal Indonesia.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta selama bulan Agustus-November 2019. Rancangan penelitian berupa eksperimental laboratorium. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu bakteri endofit dari akar ciplukan, sedangkan variabel terikat berupa diameter zona hambat terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*.

Alat dan Bahan

Sebanyak enam isolat bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan yang diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan sebelumnya telah disiapkan sebagai isolat uji. Kode isolat tersebut yaitu AR11, AR12, AR21, AR31, AR33, AR34. Peremajaan bakteri endofit dilakukan menggunakan media *Tryptic Soy Agar* (TSA). Bahan lain yang digunakan antara lain medium *Tryptic Soy Broth* (TSB), kandistatin, alkohol 70%, aquades, kloramfenikol serta bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* (kultur koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta).

Alat-alat yang digunakan selama penelitian antara lain cawan petri, tabung reaksi, batang L, autoklaf, *biological safety cabinet*, oven, inkubator, dan kertas saring yang dibentuk bulat (kertas cakram).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 100 µl ke dalam cawan petri yang berisi media TSA dengan penambahan larutan kandistatin 0,02% b/v dan diratakan menggunakan batang L. Cawan petri yang sudah dituangi bakteri patogen tersebut selanjutnya dibagi menjadi beberapa bidang untuk pengujian, meliputi uji untuk isolat bakteri

endofit, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades steril dengan volume masing-masing 20 µl. Kertas saring steril berbentuk cakram diletakkan di tengah bidang pembagian. Isolat bakteri endofit diinokulasikan ke kertas saring steril sebanyak 20 µl. Cawan petri yang telah dinokulasi selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang diamati setelah inkubasi 1-2 hari (Simarmata, Lekatompessy and Sukiman, 2007). Zona hambat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram (Oktavia dan Pujiyanto, 2018).

Teknik Pengumpulan Data

Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Diameter daerah zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong ataupun penggaris dan dihitung menggunakan rumus Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). KHM adalah diameter zona bening (mm) dikurangi diameter kertas cakram (mm).

Analisis dan Interpretasi Data

Analisis kriteria kekuatan daya antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu: diameter zona hambat kurang dari 5 mm

yang dikategorikan lemah, diameter zona hambat sebesar 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan diameter lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat (Isnietty, 2010).

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri yang diperoleh dianalisis dengan mencari nilai rerata (*mean*) dari setiap ulangan. Kemudian, nilai standar deviasi (SD) dihitung dari rerata masing-masing isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri endofit yang digunakan merupakan hasil isolasi penelitian sebelumnya dari akar ciplukan. Bagian akar umumnya mengandung bakteri endofit dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan bagian tajuk tanaman (Afzal *et al.*, 2019). Hal ini berhubungan dengan proses kolonisasi bakteri endofit yang dimulai dari bagian perakaran dan menyebar ke seluruh bagian tanaman. Selain dari ciplukan, bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jenis tanaman inang dan berbagai bagian tanaman, seperti bagian akar, batang, daun, biji, buah, maupun umbi akar. Bakteri endofit hidup dan berkembang di dalam pembuluh vaskular maupun ruang antar sel dari bagian-bagian tanaman tersebut.

Sebanyak empat isolat bakteri endofit dari akar ciplukan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (tabel 1). Zona hambat terbesar dimiliki oleh kode isolat AR21 dengan nilai rerata $1,6 \pm 0,5$ mm. Dua isolat bakteri endofit tidak membentuk zona hambat terhadap *S. aureus*, yaitu dengan kode isolat AR11 dan AR34.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Bakteri Endofit Terhadap *S. aureus*

Kode isolat	Ulangan (mm)			Rerata \pm SD (mm)
	1	2	3	
AR11	0	0	0	0
AR12	1	1	0	$0,7 \pm 0,5$
AR21	2	2	1	$1,6 \pm 0,5$
AR31	1	1	0,5	$0,8 \pm 0,2$
AR33	1	1	0,5	$0,8 \pm 0,2$
AR34	0	0	0	0
Kontrol positif				30
Kontrol negatif				0

Ket: SD=standar deviasi

Semua isolat uji mempunyai nilai standar deviasi yang lebih kecil dibandingkan nilai rerata ulangnya. Nilai standar deviasi berfungsi untuk mengetahui sebaran data dari setiap ulangan yang dilakukan. Hal ini menunjukkan bahwa data antar ulangan uji aktivitas antibakteri mempunyai nilai kesenjangan yang kecil, sehingga data dianggap representatif.

Berdasarkan pengujian antibakteri terhadap *E. coli*, semua isolat menunjukkan hasil yang negatif atau tidak terbentuk zona hambat (tabel 2). Zona hambat hanya terbentuk

pada kontrol positif, yaitu kloramfenikol sebesar 22 mm.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Bakteri Endofit Terhadap *E. coli*

Kode isolat	Ulangan (mm)			Rerata dengan nilai SD (mm)
	1	2	3	
AR11	0	0	0	-
AR12	0	0	0	-
AR21	0	0	0	-
AR31	0	0	0	-
AR33	0	0	0	-
AR34	0	0	0	-
Kontrol positif				22
Kontrol negatif				0

Ket: SD=standar deviasi

Kontrol positif pada kedua uji bakteri patogen menggunakan kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan salah satu jenis antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif. Pada kedua pengujian bakteri patogen, kontrol positif kloramfenikol memberikan hasil zona penghambatan lebih dari 20 mm.

Aktivitas antibakteri bakteri endofit dari akar ciplukan diujikan pada 2 jenis bakteri patogen yang mewakili kelompok gram bakteri. Kelompok bakteri gram positif diwakili *S. aureus*, sedangkan kelompok gram negatif diwakili oleh bakteri *E. coli*. Kedua bakteri patogen tersebut bersifat merugikan bagi manusia, bahkan tanpa disadari terdapat dalam berbagai produk makanan maupun jamu yang dianggap sebagai produk kesehatan (Nugraheni,

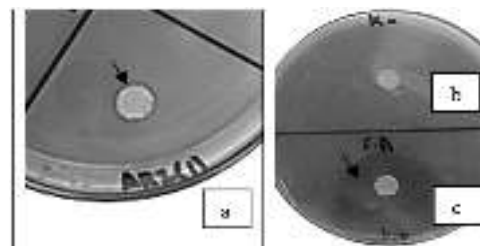
2019). Perbedaan keduanya antara lain terletak pada komposisi struktur dinding selnya.

Pada penelitian ini, bakteri endofit hanya memberikan hasil positif penghambatan terhadap bakteri patogen pada kelompok gram positif, *S. aureus*. Hal yang sama dilaporkan pada penelitian lain di mana bakteri endofit dari tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) memiliki aktivitas penghambatan lebih tinggi terhadap bakteri gram positif, *S. aureus*, dibandingkan dengan *E. coli* (Oktavia dan Pujiyanto, 2018). Selain itu, aktivitas antibakteri yang dimiliki senyawa flavonoid dari tanaman ciplukan memberikan penghambatan yang lebih efektif terhadap bakteri patogen *S. aureus* dibandingkan *E. coli*, dengan menunjukkan aktivitas penghambatan tergolong kuat terhadap *S. aureus* (Isnietty, 2010). Aktivitas antibakteri senyawa flavonoid ciplukan menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13 mm terhadap *S. aureus* (Isnietty, 2010). Oleh karena itu, dimungkinkan bakteri endofit juga memiliki aktivitas antibakteri yang hampir sama dengan senyawa flavonoid dari tanaman ciplukan.

Ditinjau dari struktur dinding selnya, kelompok gram positif hanya memiliki 1 lapisan dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan

di mana dinding sel terdiri dari 2 lapisan, yaitu lapisan membran luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan lapisan lain berupa peptidoglikan. Beberapa senyawa antibakteri mempunyai mode aksi berupa penghambatan sintesis lapisan peptidoglikan, menghambat sintesis protein, maupun menghambat lintasan metabolisme (Allison and Lambert, 2014). Meskipun demikian, mode aksi dari senyawa yang diekskresikan oleh bakteri endofit belum diketahui dan masih perlu dilakukan penelitian lanjut.

Hasil positif pada pengujian antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening atau zona hambat di sekitar kertas cakram (gambar 1). Zona hambat tersebut mengindikasikan bahwa bakteri endofit menghasilkan senyawa aktif yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Diameter zona bening yang terbentuk bervariasi tergantung pada jenis isolat bakteri endofit dan bakteri patogennya.



Gambar 1. Visualisasi pembentukan zona hambat terhadap *S. aureus*. a) bakteri endofit kode isolat AR21, b) kontrol negatif, c) kontrol positif. Tanda panah menunjukkan zona hambat.

Kekuatan daya hambat keempat isolat bakteri endofit terhadap *S. aureus* termasuk rendah, karena diameter zona hambat kurang dari 5 mm. Hasil uji kontrol positif kloramfenikol memberikan zona hambat sebesar 30 mm. Begitu pula kontrol positif terhadap *E. coli* juga memberikan zona hambat 22 mm. Hal ini mengindikasikan bahwa kloramfenikol memiliki zona penghambatan yang sangat kuat. Pembentukan zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan senyawa antibakteri dan jenis bakteri patogen (Isnietty, 2010).

Isolat bakteri endofit tidak membentuk zona hambat terhadap patogen bukan berarti tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini kemungkinan dikarenakan isolat tersebut mempunyai kandungan senyawa aktif antibakteri dalam jumlah yang sangat rendah, atau mungkin juga memiliki kandungan senyawa potensial lainnya (Simarmata *et al.*, 2007). Oleh karena itu, eksplorasi senyawa antibakteri tetap perlu dilakukan.

Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni mengindikasikan adanya kemampuan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan. Aktivitas ini

kemungkinan berupa kemampuan mensekresikan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* maupun *S. aureus*. Meskipun demikian, optimasi produksi senyawa bioaktif oleh bakteri endofit masih diperlukan untuk memaksimalkan aktivitasnya sebagai antibakteri.

SIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak empat isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan dengan kode isolat AR12, AR21, AR31, dan AR33, memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *S. aureus*. Meskipun demikian, semua isolat bakteri endofit memberikan hasil uji negatif, atau tidak terbentuk zona hambat terhadap *E. coli*. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengidentifikasi spesies isolat, karakterisasi senyawa yang dihasilkan, dan optimalisasi aktivitas antibakteri dari bakteri endofit yang diisolasi dari akar ciplukan.

PERSANTUNAN

Kami mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas 'Aisyah Yogyakarta, serta Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset,

Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas Dana Riset Hibah Bersaing DIKTI Tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, I. Shinwari, Z.K., Sikandar, S. and Shahzad, S. 2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol Res.* 221(April 2018). Pp: 36–49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001.
- Allison, D. G. and Lambert, P. A. 2014. *Modes of Action of Antibacterial Agents, Molecular Medical Microbiology: Second Edition.* Elsevier Ltd. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00032-9.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S. and Elsas, J. D. van. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16(10). Pp: 463–471. doi: 10.1016/j.tim.2008.07.008.
- Isnietty. 2010. Isolasi dan Uji Antibakteri Flavonoid Dari Daun Ciplukan (*Physalis minima* Linn. *Eksakta.* 2(11). Pp: 95–102.
- Kandel, S., Joubert, P. and Doty, S. 2017. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms.* 5(4), P: 77. doi: 10.3390/microorganisms5040077.
- Latifah, N., Hidayati, A.A., Yunas, S.R., dan Sulistyorini, E. 2014. Ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Encyclopedia of Anticancer Plant.* P: 193. Available at: http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/en/?page_id=193.
- Ludwig-Müller, J. 2015. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production?. *Biotech Lett.* 37(7). Pp: 1325–1334. doi: 10.1007/s10529-015-1814-4.
- Ma, Y. Rajkumar M, Zhang C, Freitas H. 2016. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *J Environ Manag.* Elsevier Ltd. 174. Pp: 14–25. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.02.047.
- Purwanto, U.M.S., Pasaribu, F.H., dan Bintang M. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Curr. Biochem.* 1(1). Pp: 45–50. doi: 10.29244/51-57.
- Miliute, I., Buzaitė, O., Baniulis, D., and Stanys, V. 2015. Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: a review. *Zemdirbyste.* 102(4). Pp: 465–478. doi: 10.13080/z-a.2015.102.060.
- Nugraheni, I. A. 2019. Deteksi *Escherichia coli* Dan *Salmonella* Pada Jamu Kunir Asem Di Daerah Gamping, Sleman, Yogyakarta. *Journal Health of Studies.* 3(2). Pp: 40–50.
- Oktavia, N. and Pujiyanto, S. 2018. Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi.* 1(1). Pp: 6–12.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S. and Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk. Penel. Hayati.* 13(1). Pp: 85–90.