

Potensi Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) dalam Menghambat Bakteri Penyebab Infeksi pada Manusia

Debie Rizqoh^{1*}, Wulan Okta Kumala², Sipriyadi³, Besly Sinuhaji⁴, Oktoviani⁵

¹Departemen Mikrobiologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu

²Program Studi S1 Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu

³Departemen Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu

⁴Bagian Patologi Klinik, Rumah Sakit Harapan Doa, Kota Bengkulu

⁵Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu

Abstract

*Endophytic bacteria are a beneficial bacteria that live in plant tissue. Several studies have shown that certain endophytic bacteria can produce secondary metabolites that have health effects. The andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) have several properties, one of which is as antibacterial against pathogenic bacteria. The most common bacterial infections in humans are caused by commensal bacteria in the body such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. This study used a qualitative data collection method with the type of experimental laboratory research to isolate the endophytic bacteria andaliman which had been tested against the pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The initial stage were isolation of endophytic bacteria and observation of colony characteristics, after obtaining isolates with different colony characteristics, a Gram stain test and a antagonist test for pathogenic bacteria were carried out. In this study, 252 colonies grew and there were 85 isolates with different colony characteristics. From all the isolates, there were two isolates that could inhibit the growth of *Escherichia coli* and seventeen isolates that could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*.*

Keywords: Andaliman, Endophytic bacteria, Escherichia coli, Staphylococcus aureus

Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan yang utama. Menurut Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization* - WHO), sekitar 83% kematian

**corresponding author: Debie Rizqoh*

Departemen Mikrobiologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu

Email: debierizqoh@unib.ac.id

Submitted: 15-02-2021 Revised: 13-04-2021

Accepted: 17-07-2021 Published: 12-08-2021

disebabkan oleh penyakit infeksi, kelahiran dan kondisi gizi yang didapatkan oleh anak-anak (WHO, 2015). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2018) oleh Kemenkes RI prevalensi untuk penyakit infeksi di Indonesia dapat dilihat dari beberapa data yang terlapor yaitu Infeksi Saluran Pernapasan Atas (ISPA) sebesar 4,4%, malaria sebesar 0,4%, pneumonia sebesar 2,0%, diare pada balita sebesar 12,3% dan diare yang terdiagnosis tenaga kesehatan sebesar 6,8%. Sebagian besar

penyakit infeksi tersebut disebabkan oleh bakteri.

Salah satu bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan adalah *Escherichia coli* yang telah terdiagnosis oleh tenaga kesehatan (dokter spesialis, dokter umum, bidan dan perawat) menjadi salah satu penyebab diare yang berada di prevalensi tertinggi di Indonesia, yaitu mencapai 10% (Risksdas, 2018). *E. coli* adalah anggota keluarga bakteri *Enterobacteriaceae* sebagai bakteri Gram-negatif penghuni komensal paling umum pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas, serta salah satu patogen terpenting (Kaper *et al.*, 2004). *E. coli* tetap menjadi salah satu penyebab paling umum dari beberapa infeksi bakteri pada manusia dan hewan. *E. coli* adalah penyebab utama enteritis, infeksi saluran kemih, septikemia dan infeksi klinis lainnya, seperti meningitis neonatal (Allocati *et al.*, 2013).

Selain *E. coli* salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram-positif yang dapat hidup sebagai organisme komensal pada kulit, hidung dan tenggorokan. *S. aureus* menyebabkan berbagai infeksi, dari infeksi kulit ringan hingga abses, endokarditis dan sepsis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama keracunan makanan yang disebabkan oleh enterotoksin A yang tahan panas dan merupakan penyebab utama infeksi nosokomial (Ryu *et al.*, 2014). *S. aureus* dapat menyebabkan beberapa infeksi kulit lainnya seperti impetigo bulosa, folikulitis, selulitis dan erisipelas (Sukumaran & Sanjaya, 2016).

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri-bakteri tersebut dapat diobati dengan antibiotik. Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011) antibiotik yang digunakan di Indonesia adalah golongan Beta Laktam (penisilin, sefalosporin, monobaktam dan karbapenem), gentamisin, eritromisin,

tetrasiklin, vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, dan lain-lain. Namun, akibat penggunaan antibiotik yang tidak bijaksana, saat ini telah menyebabkan terjadi peningkatan kasus resistensi antibiotik.

Resistensi antibiotik didorong oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan pada manusia, tetapi juga pada hewan, terutama yang digunakan untuk produksi makanan, serta di lingkungan (WHO, 2019). Angka kematian akibat resistensi antimikroba sampai tahun 2014 sekitar 700.000 orang per tahun. Dengan cepatnya perkembangan dan penyebaran infeksi akibat mikroorganisme resisten, pada tahun 2050 diperkirakan kematian akibat resistensi antimikroba lebih besar dibanding kematian akibat kanker (WHO, 2015).

Akibat dari peningkatan resistensi antibiotik ini dapat menurunkan kemampuan antibiotik dalam mengatasi infeksi dari mikroba patogen yang akan menyebabkan terjadinya beberapa masalah kesehatan seperti meningkatnya angka kesakitan dan kematian, meningkatnya biaya dan lama perawatan dan meningkatnya efek samping dari penggunaan ganda dan dosis yang tinggi (Kemenkes, 2016). Peningkatan resistensi antibiotik juga dapat menyebabkan keterbatasan jenis antibiotik yang digunakan sehingga perlu dilakukan penelitian secara terus-menerus mengenai antibiotik-antibiotik terbaru salah satu alternatifnya yaitu tanaman obat.

Alam menyediakan banyak tanaman alternatif yang memiliki kandungan sebagai antimikrob terhadap mikroba patogen salah satunya bakteri endofit yang merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Bhore & Sathisha, 2010). Mekanisme invasi bakteri endofit ke dalam jaringan tumbuhan dapat dilakukan dengan cara bakteri masuk melalui stomata, lentisel, luka alami, trachoma yang rusak pada daun. Bakteri di dalam jaringan tanaman kemudian berkoloni di titik

tempat dia masuk atau menyebar ke seluruh bagian tumbuhan melalui xilem (Zulkifli *et al.*, 2016).

Tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri salah satunya andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang merupakan salah satu tumbuhan rempah yang banyak terdapat di Sumatera Utara (Wongso, 2012). Buah andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) diduga mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba dan antioksidan. Senyawa yang telah diidentifikasi dari buah andaliman adalah alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan terpenoid memiliki aktivitas antibiotik terhadap bakteri Gram positif dan negatif (Wijaya, 1999).

Melihat pentingnya fungsi bakteri endofit bagi tumbuhan dan potensi antibakteri dari andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) sehingga sangat penting untuk dilakukan penelitian ini agar mendapatkan isolat bakteri endofit dari andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) yang memiliki aktivitas sebagai penghasil senyawa antibakteri yang dapat menghambat dari aktivitas bakteri patogen.

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak tanaman andaliman pada penelitian terdahulu memang sudah dilakukan, begitu juga uji jamur endofit andaliman. Namun, penelitian tentang bakteri endofit andaliman masih belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteri endofit andaliman terhadap bakteri penyebab infeksi pada manusia yaitu *E. coli* dan *S. aureus*.

Metode

Metode penelitian dilakukan secara eksperimental kualitatif di laboratorium. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari – Oktober 2020 di Laboratorium Basic Science

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah bakteri endofit andaliman. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas penghambatan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Tahapan penelitian yang digunakan dalam melakukan penelitian ini terdiri dari pengambilan sampel, isolasi mikroba endofit, karakterisasi morfologi bakteri endofit, dan uji antagonis.

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Sidikalang, Kabupaten Dairi, Sumatera Utara. Jenis sampel yang diambil berupa daun dan buah dari tanaman andaliman. Koloni bakteri yang tumbuh di media isolasi dilakukan pengamatan karakterisasi koloni dan dilakukan pewarnaan Gram pada koloni yang memiliki karakterisasi yang berbeda. Kemudian dilakukan uji antagonis terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*.

Isolasi Bakteri Endofit

Bagian tanaman Andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) yang digunakan adalah daun, batang dan akar. Sampel daun, batang dan akar dalam keadaan segar dibersihkan dengan air mengalir kemudian dipotong-potong sepanjang 2-5 cm dan dipisahkan menurut bagian tanamannya. Potongan sampel tersebut kemudian disterilisasi permukaan dengan merendamnya dalam alkohol 70% selama 1 menit, larutan Natrium hipoklorit (NaOCl) 5.25% selama 5 menit, dan alkohol 70% selama 2 menit. Potongan sampel yang sudah disterilisasi dipotong-potong kembali kemudian ditanam dalam media King's B. Media yang sudah mengandung sampel tersebut diinkubasi pada suhu ruang dalam keadaan gelap dan diamati setiap hari sampai ada pertumbuhan koloni (Desriani *et al.*, 2014).

Karakterisasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang tumbuh setelah pengamatan 24 jam dari proses inkubasi

kemudian diamati dan dicatat karakterisasi koloni bakteri seperti bentuk, bentuk pinggiran, elevasi, tekstur dan warna kemudian dimurnikan satu per satu dalam media King's B. Kemudian isolat bakteri endofit dari media King's B di remajakan di media NB dan di inkubasi di suhu ruang selama 18-24 jam, kemudian dilakukan metode pewarnaan Gram, setelah itu hasil dari pewarnaan Gram diamati morfologi bakteri dengan mikroskop dan dicatat hasil dari percobaan seperti Gram dan bentuk bakteri.

Uji Antagonis

Uji antagonis bakteri isolat endofit terhadap pertumbuhan bakteri target dilakukan dengan menggunakan teknik media agar dua lapis yang terdiri dari media semi padat dan media padat. Bakteri target yang telah diukur kekeruhannya dengan spektrofotometri ($OD = 0,3$, konsentrasi $10^6 - 10^7$ sel/ml) dalam medium kaldu dicampur ke dalam media semi padat, lalu dituangkan di atas media padat yang telah dibekukan sebelumnya pada cawan. Setelah beku, isolat bakteri endofit digoreskan di atasnya. Uji antagonis bakteri untuk *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan media NA.

Pengamatan dilakukan setelah biakan uji kepekaan bakteri telah di inkubasi selama 24 jam. Isolat bakteri dikatakan positif menghasilkan potensi daya hambat apabila isolat tersebut menghasilkan zona inhibisi pada uji antagonis bakteri. Isolat bakteri endofit yang positif menghasilkan potensi daya hambat diukur diameter zona hambat kemudian diinokulasi ke dalam media NA dan diinkubasi di suhu ruang selama 24 jam (Rizqoh *et al.*, 2016).

Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis secara manual dan ditampilkan dalam tabel dan gambar. Kemudian untuk kategori daya

hambat ditentukan berdasarkan kategori David & Stout (1971) (Tabel 1).

Tabel 1. Kategori Daya Hambat (Davis & Stout, 1971)

Diameter Zona Hambat	Kategori
≥ 20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

Hasil

Isolasi Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Isolasi yang dilakukan dengan metode potong tanam, menghasilkan sebanyak 252 koloni. Rincian jumlah koloni yang tumbuh pada media King's B yaitu pada bagian akar terdapat sebanyak 150 koloni, pada bagian batang sebanyak 81 koloni dan pada daun sebanyak 21 koloni. Hasil pengamatan jumlah total koloni dari isolasi tanaman andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) ditampilkan pada Tabel 2.

Pengamatan Karakterisasi Koloni

Koloni bakteri yang tumbuh dilakukan penapisan berdasarkan karakter morfologi koloni yaitu bentuk koloni, bentuk pinggiran, elevasi, tekstur, dan warna. Dari seluruh koloni yang diisolasi, diperoleh 85 isolat bakteri endofit andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) yang memiliki karakterisasi koloni berbeda dengan rincian pada akar sebanyak 28 isolat yang diberi kode sampel EAA (Bakteri Endofit Andaliman Akar), batang sebanyak 40 isolat yang diberi kode sampel EAB (Bakteri Endofit Andaliman Batang) dan pada daun sebanyak 17 isolat yang diberi kode sampel EAD (Bakteri Endofit Andaliman Daun).

Tabel 2 Jumlah Total Koloni yang Tumbuh

Kode sampel	Akar		Batang		Daun		
	I	II	I	II	I	II	
EA1	50	20	11	11	6	3	
EA2	30	17	10	34	5	5	
EA3	27	6	7	8	0	2	
	150		81		21		
Jumlah total						252	

Keterangan : EA1=Bakteri Endofit Andaliman Tanaman ke-1, EA2=Bakteri Endofit Andaliman Tanaman ke-2 dan EA3=Bakteri Endofit Andaliman Tanaman ke-3.

Pengamatan Karakterisasi Koloni

Koloni bakteri yang tumbuh dilakukan penapisan berdasarkan karakter morfologi koloni yaitu bentuk koloni, bentuk pinggiran, elevasi, tekstur, dan warna. Dari seluruh koloni yang diisolasi, diperoleh 85 isolat bakteri endofit andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) yang memiliki karakterisasi koloni berbeda dengan rincian pada akar sebanyak 28 isolat yang diberi kode sampel EAA (Bakteri Endofit Andaliman Akar), batang sebanyak 40 isolat yang diberi kode sampel EAB (Bakteri Endofit Andaliman Batang) dan pada daun sebanyak 17 isolat yang diberi kode sampel EAD (Bakteri Endofit Andaliman Daun).

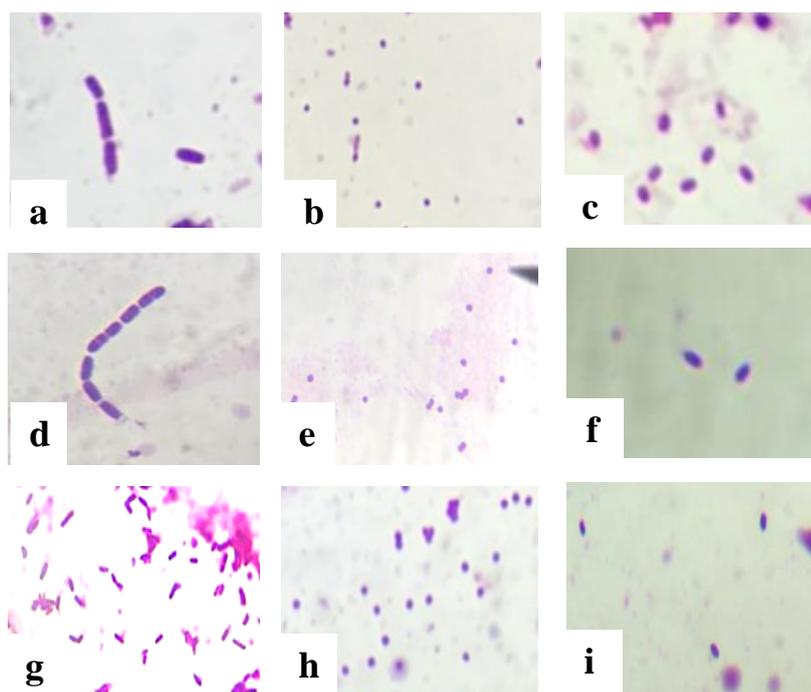
Pengamatan Mikroskopik Pewarnaan Gram

Delapan puluh lima isolat yang dilakukan pengamatan mikroskopik pewarnaan Gram

diperoleh variasi bentuk yaitu basil, coccus dan coccobasil dengan Gram positif pada semua isolat. Pada pemeriksaan mikroskopik dengan perbesaran 100x menunjukkan bakteri endofit berbentuk basil, coccus dan coccobasil yang berwarna ungu (Gambar 1).

Uji Antagonis Bakteri

Delapan puluh lima isolat yang diujikan terhadap bakteri patogen diperoleh sebanyak 18 isolat yang menunjukkan aktivitas daya hambat terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* dengan rincian 1 isolat positif terhadap *E. coli*, 16 isolat positif terhadap *S. aureus* dan 1 isolat positif terhadap keduanya. (Tabel 3 dan Tabel 4).



Gambar 1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) (a) EAA3, (b) EAA16, (c) EAA10, (d) EAB18, (e) EAB22, (f) EAB25, (g) EAD17, (h) EAD4, (i) EAD5.

Tabel 3. Hasil Uji Antagonis Bakteri Endofit Andaliman terhadap *E. coli*

No	Kode Isolat	Diameter Isolat (mm)	Diameter Isolat + Zona Inhibisi (mm)	Diameter Zona Inhibisi (mm)	Kategori*
1	EAA28	4,2	4,9	0,7 ± 0,1	Lemah
2	EAB6	3,4	4,5	1,1 ± 0,2	Lemah

Keterangan : EAA = Bakteri Endofit Andaliman Akar, EAB = Bakteri Endofit Andaliman Batang, *= Kategori daya hambat berdasarkan klasifikasi David dan Stout (1971).

Tabel 4. Hasil Uji Antagonis Bakteri Endofit Andaliman terhadap *S. aureus*

No	Kode Isolat	Diameter Isolat (mm)	Diameter Isolat + Zona Inhibisi (mm)	Diameter Zona Inhibisi (mm)	Kategori*
1	EAA3	5,6	6,7	1,1 ± 0,1	Lemah
2	EAA16	8,2	12,8	4,6 ± 0,6	Lemah
3	EAA22	5,9	8,5	2,6 ± 0,3	Lemah
4	EAA26	5,7	7,6	1,9 ± 0,4	Lemah
5	EAB3	5,6	6,4	0,8 ± 0,4	Lemah
6	EAB5	6,6	15,0	8,4 ± 0,6	Sedang

No	Kode Isolat	Diameter Isolat (mm)	Diameter Isolat + Zona Inhibisi (mm)	Diameter Zona Inhibisi (mm)	Kategori*
7	EAB6	5,2	9,6	4,4 ± 0,2	Lemah
8	EAB7	5,3	10,4	5,1 ± 0,2	Sedang
9	EAB10	5,8	7,2	1,4 ± 0,2	Lemah
10	EAB11	5,9	7,0	1,1 ± 0,1	Lemah
11	EAB16	5,6	6,8	1,2 ± 0,3	Lemah
12	EAB18	5,4	6,7	1,3 ± 0,1	Lemah
13	EAB21	5,1	6,3	1,2 ± 0,2	Lemah
14	EAD7	6,3	6,8	0,5 ± 0,1	Lemah
15	EAD10	6,4	7,2	0,8 ± 0,2	Lemah
16	EAD13	5,3	5,9	0,6 ± 0,2	Lemah
17	EAD14	5,6	6,7	1,1 ± 0,1	Lemah

Keterangan : EAA = Bakteri Endofit Andaliman Akar, EAB = Bakteri Endofit Andaliman Batang, EAD = Bakteri Endofit Andaliman Daun dan *= Kategori daya hambat berdasarkan klasifikasi David dan Stout (1971).

Pembahasan

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala penyakit (Bhore, 2010). Pada penelitian ini ditemukan isolat bakteri endofit di akar, batang, dan daun. Berdasarkan hasil isolasi di dapatkan isolat endofit dari bagian akar lebih banyak dibandingkan batang dan daun sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Balosi *et al.* (2014) bahwa populasi bakteri endofit lebih banyak terdapat pada akar dan menurun pada batang dan daun. Jumlah bakteri endofit di dalam tanaman tidak dapat ditentukan secara pasti, namun bakteri ini dapat di isolasi dengan media agar (Purwanto *et al.*, 2014). Pada penelitian ini media agar yang digunakan untuk isolasi bakteri endofit yaitu media King's B yang mengandung pepton, gliserol, magnesium sulfat, dispotasium fosfat dan agar yang membantu pertumbuhan bakteri. Bakteri endofit dapat hidup pada media ini dikarenakan sifat media yang kompleks yang memungkinkan memiliki komposisi yang mirip dengan kondisi di dalam tanaman dan merupakan media yang cocok untuk isolasi bakteri yang tidak selektif (Todar, 2020).

Tahap awal dari penelitian ini akan dilakukan sterilisasi permukaan pada semua bagian yang akan di isolasikan menggunakan alkohol 70% dan natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25% yaitu pada penelitian ini menggunakan bayclin dikarenakan kandungan pada bayclin paling mirip dengan yang dibutuhkan. Alkohol dan natrium hipoklorit berfungsi sebagai disinfektan untuk mensterilkan permukaan dari bagian-bagian tanaman andaliman (*Z. acanthopodium* DC.). Sterilisasi permukaan ini dikatakan berhasil apabila tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme pada cawan petri yang diberikan bilasan terakhir (Goryluk *et al.*, 2009). Bagian-bagian tanaman yang sudah di sterilisasi permukaannya kemudian di tanam ke dalam media King's B dan di inkubasi pada suhu ruang dan diamati setelah 24 jam. Pada penelitian ini bakteri yang di inkubasi akan ditunggu minimal 2 hari untuk tumbuh sesuai dengan pernyataan Arunachalam dan Gayathri (2010) dan Jalgaonwala *et al.*, (2010) bahwa waktu dalam pemilihan hasil inkubasi yang baik yaitu minimal 2 hari dengan tujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan bakteri endofit bukan mikroorganisme kontaminan.

Penelitian ini koloni bakteri endofit yang sudah di isolasi didapatkan keragaman koloni baik dari segi bentuk, warna, kecepatan waktu tumbuh. Hal ini dikarenakan bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies (Bhore and Sathisha, 2010). Keragaman ini terjadi dikarenakan morfologi koloni bakteri pada media agar tergantung pada beberapa faktor seperti media kultur, temperatur, waktu inkubasi dan usia kultur. Pada penelitian Parija (2012) bahwa karakterisasi morfologi bakteri secara makroskopis dapat dilakukan dengan mengamati bentuk, pinggiran, elevasi, tekstur dan warna koloni. Pada pengamatan karakterisasi koloni ini didapatkan hasil yang kurang spesifik dikarenakan indikator pengelompokan dari pengamatan masih terbatas sehingga didapatkan hasil pengamatan dari beberapa isolat masih ada kesamaan.

Pengamatan pewarnaan Gram pada penelitian ini berfungsi untuk menentukan Gram dari isolat bakteri endofit yang sudah di isolasi. Berdasarkan pengamatan mikroskopis pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan Gram-positif. Hal ini menunjukkan bahwa dinding sel dari bakteri endofit andaliman ini tersusun dari peptidoglikan yang tebal. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Parija (2012) bahwa bakteri Gram-positif memiliki dinding amorf yang relatif tebal dan asam protoplasma lebih banyak yang mampu mempertahankan kompleks KV-1 di dalam sel. Sedangkan pada bakteri Gram-negatif mengandung hanya 1-2 lapis peptidoglikan dan hanya terdapat pada luar membran sel. Selain peptidoglikan, bakteri Gram-negatif memiliki tiga komponen utama didinding sel yaitu lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida.

Uji antagonis bakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas isolat bakteri endofit andaliman dalam menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus*. Uji antagonis ini

dilakukan dengan menumbuhkan bakteri endofit dan bakteri patogen ke dalam cawan petri yang menggunakan teknik agar dua lapis (Rizqoh *et al.*, 2016). Penggunaan teknik ini berguna agar hasil dari zona hambat yang diperoleh lebih terlihat jelas dan nutrisi yang diperoleh bakteri target dan bakteri endofit tercukupi. Sesuai dengan penelitian Oktavia dan Pujiyanto (2018) bahwa pada uji antagonis, zona hambat yang terbentuk dapat dipengaruhi oleh konsentrasi bakteri target, konsentrasi bakteri endofit yang diujikan, suhu dan waktu inkubasi serta faktor lain seperti jenis medium yang digunakan.

Aktivitas menghambat dari bakteri endofit terhadap bakteri patogen ditandai dengan timbul zona bening sekitar area bakteri endofit yang ditotol di media yang sudah mengandung bakteri patogen. Zona hambat yang timbul menunjukkan bahwa terdapat aktivitas metabolit sekunder yang bekerja. Mekanisme penghambatan senyawa antibakteri secara umum akan bekerja dengan merusak sintesis dinding sel, mengganggu fungsi membran, sintesis protein, sintesis asam nukleat dan antimetabolit (Hugo and Russel, 2004).

Berdasarkan uji antagonis yang dilakukan pada penelitian ini didapatkan bahwa 18 isolat yang menimbulkan zona hambat terdapat 16 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, 1 isolat yang dapat menghambat *E. coli* dan 1 isolat yang dapat menghambat kedua bakteri patogen yaitu isolat kode EAB6. Hal ini didukung oleh beberapa penelitian Reinoviar *et al.* (2019) dan Sepriani *et al.* (2018) bahwa pada penelitiannya menunjukkan adanya potensi daya hambat dari tanaman andaliman terhadap *S. aureus*. Dan pada penelitian Sitanggung *et al.* (2019) bahwa pada penelitiannya menunjukkan aktivitas daya hambat dari ekstrak salah satu bagian tanaman ini terhadap bakteri patogen *E. coli*. Dari hasil penelitian ini dapat terlihat bahwa bakteri endofit Gram

positif memiliki aktivitas daya hambat lebih tinggi terhadap bakteri patogen Gram positif dibandingkan Gram negatif. Hal tersebut sama dengan beberapa penelitian Purwanto *et al.* (2014), Shukla *et al.* (2015), Kafur *et al.* (2011) dan Desriani *et al.* (2014) bahwa isolat yang terisolasi dari bakteri endofit suatu tanaman akan memiliki aktivitas zona hambat yang lebih tinggi terhadap bakteri patogen Gram positif seperti *S. aureus*. Hal ini dapat terjadi karena bakteri patogen Gram negatif memiliki kemampuan pertahanan yang kuat saat diserang oleh senyawa penghambat dibandingkan bakteri patogen Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki pertahanan yang baik karena memiliki komponen dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih tipis karena sebagian besar hanya tersusun oleh peptidoglikan sedangkan bakteri Gram negatif tidak hanya disusun oleh peptidoglikan namun disusun juga oleh komponen lain seperti lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida yang memungkinkan senyawa penghambat dari isolat bakteri endofit andaliman tidak dapat masuk kedalam sel bakteri Gram negatif (Fitri *et al.*, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil isolasi bakteri endofit andaliman di dapatkan sebanyak 252 koloni. Pengamatan karakteristik koloni bakteri diperoleh 85 isolat bakteri endofit andaliman yang memiliki karakteristik koloni yang berbeda. Semua isolat bakteri endofit andaliman yang dikarakterisasi pada penelitian ini merupakan bakteri Gram positif. Berdasarkan uji antagonis bakteri, didapatkan 2 isolat bakteri endofit andaliman yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan 17 isolat bakteri endofit andaliman yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh dana hibah Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP) Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Bengkulu.

Daftar Pustaka

- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., and Ilio, C. Di. 2013. *Escherichia coli* in Europe : An Overview, 6235–6254.
- Arunachalam, C., and Gayathri, P. 2010. Studies on bioprospecting of endophytic bacteria from the medicina plant of *Andrographis paniculata* for their antimicrobial activity and antibiotic susceptibility pattern. *Int J of Curr Pharm. Res.* 2 (4) : 63-68.
- Balosi, F., I. Lakani, and J. Panggeso. 2014. Eksplorasi Bakteri Endofit sebagai Agen Pengendalian Hayati terhadap Penyakit Darah pada Tanaman Pisang secara In Vitro. *e-J. Arotekbis.* 2 (6): 579-586.
- Bhore, S. J., and 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.* 2010 ; 6(4): 345- 52.
- Cappuccino, J. G. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi.* Jakarta: EGC.
- Desriani, D., Safira, U. M., Bintang, M., Rivai, A., and Lisdiyanti, P. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas,* 3(2), 89–93.
- Fitri, L., and B. M. Buatam. 2010. Screening of Antimicrobial Producing Strains Isolated from the Soil of Grassland Rhizosphere in Pocut Meurah Intan Forest Park, Seulawah, Aceh Besar. *Biodiversitas.* 11 (3): 129-132.

- Goryluk, A., H. R. Burlaga, and Mblaszczyk. 2009. Isolation and Characterization of Bacterial Endophyte of *Chelidonium majus* L. *Polish Journal of Microbiology*. 58 (4): 255-261.
- Hugo and Russel. 2004. *Pharmaceutical Microbiology Seventh Edition*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford.
- Jalgaonwala, R. E., Mohite, B. V., and Mahajan, R. T. 2010. Evaluation of endophytes for their antimicrobial activity from indigenous medicinal plants belonging to north maharashtra region india . *Int. J. on Pharm and Biomed Res*. 1 (5) : 136- 141.
- Kafur, A., and A. B. Khan. 2011. Isolation of Endophytic Actinomycetes from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don Leaves and Their Antimicrobial Activity. *Iranian Journal of Biotechnology* . 9 (4): 302-306.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., and Mobley, H. L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123–140.
- Kemenkes. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. [pdf] Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. http://www.binfar.depkes.go.id/dat/Permenkes_Antibiotik.pdf [29 November 2019].
- Kemenkes. (2016, November 25). *Kemenkes dan Kementerian Berkomitmen untuk Kendalikan Resistensi Antimikroba*. Diakses pada 25 Agustus 2019 melalui <http://www.depkes.go.id/article/view/16112800003/kemenkes-dan-kementan-berkomitmen-untuk-kendalikan-resistensi-antimikroba.html>.
- 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), 6–12.
- Parija, S. C. 2012. *Microbiology and Immunology Second Edition*. Reed Elsevier India Private Limited, New Delhi.
- Purwanto, Ukhradiya, M. S., Fachriyan, H. P., and Maria, B. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Curr. Biochem. I (1): 51-57*. Bogor : IPB. e-ISSN: 2355-7877.
- Rienoviar, Heliawati, L., dan Khoiriyah, A. 2019. Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Warta IHP*, 36(2),124-130.
- Riskesdas. 2018. *Hasil Utama Riskesdas 2018* . Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Rizqoh, D., Sari, N. R., Wati, R. N., Santosa, F., and Hasanah, R. 2016. Aktivitas Bakteri Filosfer Daun Reundeu (*Staurogyne longata*) Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba Potensial. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 1, 1–7.
- Ryu, S., Song, P. I., Seo, C. H., Cheong, H., and Park, Y. 2014. Colonization and infection of the skin by *S. aureus*: immune system evasion and the response to cationic antimicrobial peptides. *Int J Mol Sci*. 2014;15(5):8753–8772. Published 2014 May 16.
- Sitanggang, F. M. C., Duniaji, A. S., and Pratiwi, I. D. P. K. 2019. *DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH ANDALIMAN (Zanthoxylum acanthopodium DC) DALAM ETIL ASETAT TERHADAP PERTUMBUHAN Escherichia coli*.

- Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(3), 257.
- Sepriani, Oma, Nurhamidah, and Dewi, H. 2018. Potensi ekstrak tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *e-prints*. Univeristas Bengkulu.
- Sukumaran, V., and Sanjaya, S. 2016. Bacterial skin and soft tissue infections. *Aust Prescr*. 2016; 39 (5): 159– 163.
- Shukla, S., G. Naik, and S. K. Mishra. 2015. Potential Antimicrobial Activity of Bacterial Endophyte s Isolated from Flacourtia jangomas (Lour.) Raeusch, A Less Explored Medicinal Plant. *Journal Of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences*. 4 (6): 473-477.
- Thairu, Y., Nasir, I. A., and Usman, Y. 2014. Perspektif laboratorium pewarnaan gram dan signifikansinya dalam investigasi penyakit menular. *Sub-Sahara Afr J Med* 2014; 1: 168-74.
- Wijaya, C. H. 1999. Andaliman rempah tradisional Sumatera Utara dengan antioksidan dan antimikroba. *Teknologi dan Industri Pangan*. Sumatera utara: 2(10) 59- 61.
- WHO. 2019. *World Health Statistics: World Health Statistics 2019*. Genewa.
- WHO. 2015. *World Health Statistics: World Health Statistics 2019*. Genewa.
- Wongso. 2012. Buah andaliman khas Sumatera Utara. <http://www.bisnisukm.com>. [Diakses 27 Agustus 2019].
- Zulkifli, L., Jekti, D. S. D., Mahrus, Nur, L., and Dewa, A. C. R. 2016. Isolasi Bakteri Endofit Dari Sea Grass Yang Tumbuh Di Kawasan Pantai Pulau Lombok Dan Potensinya Sebagai Sumber Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. Vol 16 (2) 80- 93.