

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT KULIT BATANG SRIKAYA (ANNONA SQUAMOSA) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

L. ZULKIFLI¹, DWI SOELISTYA DYAH JEKTI², SAMSUL BAHRI³

¹Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram, E-mail: lzulkifli@yahoo.com

²Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram, E-mail: soelistya.dj@gmail.com

³Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram, E-mail: -

Key Words

*Characterizatio,
Endophytic
Bacteria, Bark
of Srikaya,
Antibacterial*

Abstract

*The objective of this study was to isolate endophytic bacteria from bark of srikaya, analyzing antibacterial activity of endophytic bacteria in *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli* pathogenic bacteria, characterizing endophytic bacteria capable of inhibiting the growth of pathogenic bacteria and identification of endophytic bacteria able to inhibit the growth of pathogenic bacteria. Isolation of endophytic bacteria using TSA and NA media, bioassay on pathogen bacteria with concentration of 10^6 cells / ml with using \emptyset 6 mm wells and entering supernatant of 100 μ l. Supernatant was obtained by growing endophytic bacteria in NB media shaken with shaker 150 cycles / min for 48 h at 32°C then culture centrifuge at 5000 g for 30 min. Positive control using cyprofloxacin. Characterization is based on the nature of the colony, Gram paint, spore formation, and biochemical tests. The results of the study yielded 13 endophytic bacterial isolates and 4 endophytic isolates capable of inhibiting the growth of 8 pathogenic bacteria with sensitive criteria, 2 pathogenic bacteria with resistant criteria and 1 pathogen bacteria can not be inhibited its growth. Gram's paint results show that 4 endophytic isolates belong to Gram-positive, rod-shaped and spore forming cells. From the character possessed by the bacteria can be identified that the 4 bacteria endofit capable of inhibiting pathogenic bacteria are *Bacillus brevis*, *Bacillus latesporus*, *Virgibacillus pantothenicus*, and *Bacillus circulans*.*

Kata Kunci

Karakterisasi,
Bakteri endofit,
Kulit batang
srikaya,
Antibakteri

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan isolasi bakteri endofit dari kulit batang srikaya, menganalisis aktifitas antibakteri dari bakteri endofit pada bakteri pathogen *S. aureus*, *B. cereus* dan *E. coli*, melakukan karakterisasi bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen dan identifikasi bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen. Isolasi bakteri endofit menggunakan media TSA dan NA, bioassay pada bakteri pathogen dengan konsentrasi 10^6 sel/ml dengan menggunakan sumuran \emptyset 6 mm dan memasukkan supernatant sebesar 100 μ l. Supernatant didapatkan dengan menumbuhkan bakteri endofit dalam media NB yang dikocok dengan shaker 150 siklus/menit selama 48 jam pada suhu 32° C kemudian kultur di sentrifuse pada 5000 g selama 30

menit. Kontrol positif menggunakan cyprofloxasin. Karakterisasi didasarkan pada sifat koloni, cat Gram, pembentukan spora, dan tes biokimia. Hasil penelitian menghasilkan 13 isolat bakteri endofit dan 4 isolat endofit mampu menghambat pertumbuhan 8 bakteri pathogen dengan kriteria sensitive, 2 bakteri pathogen dengan kriteria resisten dan 1 bakteri pathogen tidak dapat dihambat pertumbuhannya. Hasil cat Gram menunjukkan bahwa 4 isolat endofit termasuk pada bakteri Gram positif, sel berbentuk batang dan membentuk spora. Dari karakter yang dimiliki oleh bakteri dapat diidentifikasi bahwa ke 4 bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen adalah *Bacillus brevis*, *Bacillus latesporus*, *Virgibacillus pantothenicus*, dan *Bacillus circulans*.

PENDAHULUAN

Tanaman srikaya merupakan tanaman buah yang banyak dikenal dan populer di berbagai daerah di Indonesia, bahkan di negara lain sekalipun. Tanaman srikaya dapat dijumpai di bebatuan dan di tanah yang kering. Srikaya atau *Annona squamosa* merupakan family dari Annonaceae yang berasal dari daerah tropis dan mempunyai khasiat sebagai tanaman obat.

Organisme hidup selalu ditumpangi oleh mikroba, baik berada dipermukaan organisme atau di dalam jaringan. Mikroba yang berada di dalam jaringan tanaman disebut dengan mikroba endofit. Mikroba endofit dapat berupa bakteri ataupun jamur yang akan mendapatkan makanan dari tanaman inangnya dan mikroba endofit akan menghasilkan sesuatu yang akan membantu pertumbuhan tanaman yang ditempatinya. Menurut Strobel (2003) secara molekuler interaksi antara mikroba dan tanaman inangnya akan terjadi transfer materi genetik. Hal tersebut telah terbukti bahwa bahan bioaktif yang dihasilkan oleh inangnya ternyata dihasilkan juga oleh mikroba endofit yang ada di dalam tubuh inangnya.

Setiap tanaman membentuk bahan metabolik sekunder untuk menunjang pertumbuhannya atau untuk menghadapi musuh yang ada disekitarnya. Bahan metabolik sekunder tersebut diantaranya dapat menghambat pertumbuhan mikroba baik yang ada disekitar tanaman maupun untuk menghambat pertumbuhan bakteri pathogen (Gowdhami *et al.*, 2014).

Hasil penelitian Sriwarthini (2014) bahwa ekstrak etanol pada kulit batang *Plumeria acuminata* mampu menghambat bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Pseudomonas*

aeruginosa, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Sedang hasil penelitian Jekti *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Plumeria acuminata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumonia*

Endofit banyak terdapat pada tanaman obat, biji tanaman buah baik di alam maupun yang dipelihara. Bakteri maupun fungi endofit dapat berada dalam satu tanaman. Endofit masuk dalam tubuh tanaman melewati akar, batang, daun, bunga maupun kotiledon. Dari tempat masuk kemudian menyebar di seluruh bagian tanaman host. Mereka kemudian masuk sel atau ruang interselulair ataupun dalam jaringan vascular. Selanjutnya mengatur hubungan yang stabil dengan tanaman host dan melindungi host dari beberapa faktor biotik maupun abiotik (Kanebo *et al.*, 2010). Bakteri endofit dari genus *Pseudomonas*, *Burkholderia* dan *Bacillus* memproduksi metabolit sekunder seperti Taxol sebagai antibiotik dan anticancer, asam Cytonic B sebagai anti virus, Oocydin sebagai insektisidal dan beberapa immunosuppressor (Strobel, *et al.*, 2004).

B. cereus mampu membentuk endospore dengan posisi sentral. Pembentukan endospore bagi bakteri sangat penting karena struktur endospore yang tebal penting untuk pelindung dari panas dan tidak peka terhadap penisilin. Masa inkubasi yang panjang karena spora yang tahan panas dapat tumbuh lagi setelah mencapai suhu yang memungkinkan untuk tumbuh. Endospora juga berkaitan dengan dua jenis enterotoksin yang berbeda cara kerjanya. Pembuktian bahwa keracunan makanan disebabkan oleh *B. cereus* dengan

cara mengisolasi bakteri *B. cereus* dari makanan dan dari kotoran penderita (Madigan *et al.*, 2012).

S. aureus dapat menyebabkan abses, penanahan, bahkan septicemia yang fatal. *S. aureus* juga menyebabkan penyakit melalui produksi toksin, tanpa infeksi invasive yang nyata. Infeksi staphylococcus lokal tampak sebagai jerawat atau pada infeksi folikel rambut. Keracunan makanan disebabkan enterotoksin yang ditandai dengan periode inkubasi yang pendek 1-8 jam, mual hebat, muntah dan diare, tidak ada demam dan cepat sembuh. *S. aureus* dengan katalase positif dan oksidase negatif yang membedakannya dengan Streptococcus. *S. aureus* memfermentasikan karbohidrat, menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas (Jawetz *et al.*, 2005).

E. coli adalah bakteri kelompok coliform, yang digunakan untuk indikator pencemaran air oleh faeses, karena bakteri tersebut merupakan flora normal colon, tempat faeses di proses. *E. coli* juga merupakan kuman oportunistik yang banyak terdapat di usus besar (colon) manusia dan sebagai flora normal colon, sifat *E. coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus besar sehingga dapat menyebabkan penyakit diare (Verma, A. *et al.*, 2008). Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan terjadinya infeksi pada saluran kemih, diare dan meningitis (Madigan *et al.*, 2012).

Tujuan dari penelitian ini adalah 1) melakukan isolasi bakteri endofit dari kulit batang srikaya, 2) menganalisis aktifitas antibakteri dari bakteri endofit pada bakteri patogen *S. aureus*, *B. cereus* dan *E. coli*, 3) melakukan karakterisasi bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan identifikasi bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

METODE

Isolasi bakteri endofit kulit batang srikaya ialah dengan memotong kulit batang srikaya dan dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan air mengalir dilanjutkan dengan mencucinya dalam air yang diberi beberapa tetes detergen. Selanjutnya sampel direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit dan dicuci dua kali dengan aquades. Kemudian

sampel direndam lagi di dalam sodium hipoklorit (NaOCI) 4% selama 5 menit dan dibilas dengan aquades. Kemudian sampel dikeringkan didalam laminar air flow yang diletakkan diatas kertas saring. Dengan menggunakan scalpel yang steril kulit batang srikaya dipotong dan potongan ditempatkan diatas nutrient agar plate dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 48 jam. Media yang digunakan untuk isolasi bakteri endofit kulit batang srikaya adalah media TSA dan NA. Isolat bakteri endofit yang tumbuh dimurnikan dan selanjutnya ditransfer ke nutrient agar slant tube dan disubkultur secara regular setiap minggu serta disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan (SuryakantiSahu *et al.*, 2014).

Kultur bakteri endofit yang akan digunakan ditumbuhkan dalam tabung reaksi ukuran 10 ml yang diisi dengan 5 ml nutrient broth yang telah disterilkan dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 32°C yang dikocok dengan shaker 150 siklus/1 menit. Setelah diinkubasi media kultur dicentrifuge pada 5000 g selama 30 menit dan supernatant dikumpulkan dengan difiltrasi. Supernatant digunakan untuk bahan aktifitas antimikroba dan dapat disimpan sebelum digunakan pada suhu 4°C (Sunkar dan Nachiyar, 2013).

Untuk mengetahui adanya aktifitas antibakteri digunakan metoda difusi sumuran. Bakteri patogen (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*) yang akan di uji dengan konsentrasi 10^6 sel/ml sebanyak 100 µl disebar pada media Muller Hinton agar dengan merata, sumuran dengan garis tengah 6 mm diisi supernatant 100 µl kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik ciprofloxacin (SuryakantiSahu *et al.*, 2014). Zona hambat diukur dan dikelompokkan dalam 3 katagori yaitu katagori sensitive dengan zona hambat ($\emptyset \geq 14$ mm), intermediate ($10 > \emptyset \leq 13$ mm) dan resisten ($\emptyset \leq 9$ mm) (Lorian, 1995).

Karakterisasi hanya dilakukan pada bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kultur bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri patogen dilihat bentuk dan ukuran koloni bakteri, warna, permukaan, tepi, kondisi koloni bakteri endofit. Pengecatan Gram dapat melihat bentuk sel bakteri endofit, susunan sel, pengelompokan bakteri dan pembentukan

spora. Tes biokimia yang dilakukan adalah tes Catalase, Motility, TSI, Voges Proskauer, Simon citrat, Methyl red, Indol tes, Urease, Glukosa, Laktosa, Maltose, Sukrosa, Manitol, NaCl 6.5 %, Pati. Dengan melihat karakterisasi bakteri endofit dan mengacu pada *Bergey'S Manual of Systematic Bacteriology* maka dapat diidentifikasi bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1: Koloni bakteri endofit kulit batang srikaya dan daya hambat

No	Jenis media	Jumlah koloni	Daya hambat	
			Positif	Negative
1.	Trypticase Soy Agar	8	2	6
2.	Nutrien Agar	5	2	3
	Jumlah	13	4	9

Koloni yang dihasilkan dari media tanam yang berbeda mempunyai jumlah dan sifat yang berbeda. Media tanam TSA menghasilkan koloni bakteri endofit 8 isolat (61,53%) dan media tanam NA menghasilkan koloni bakteri endofit 5 isolat (38,46%). Dari 8 isolat yang dihasilkan oleh media TSA ternyata hanya 2 isolat (25%) bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen. Demikian pula dari 5 isolat yang dihasilkan

1. Koloni bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosal*) dan sifat koloninya

Media Trypticase Soy Agar dan Nutrien Agar digunakan untuk melakukan isolasi bakteri endofit kulit batang Srikaya. Dari ke dua media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri endofit kulit batang srikaya didapatkan 13 isolat bakteri endofit dengan rincian 8 isolat dari media TSA dan 5 koloni didapatkan dari media NA (tabel 1)

oleh media NA hanya 2 isolat (40%) bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen.

Koloni yang didapat dari media TSA diberikan kode TS yaitu TS1 sampai dengan TS8 sedang koloni yang didapat dari media NA diberikan kode NS yaitu dari NS1 sampai dengan NS5. Sifat koloni bakteri endofit kulit batang *Annona squamosa* terdapat pada tabel 2

Tabel 2: Sifat koloni bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*)

No	Koloni	Ciri koloni
1	TS1	Koloni kecil sp besar, cream kekuningan, permukaan cembung, kering tepi tidak rata,
2	TS2	Koloni kecil sp sedang, cream, tepi bergerigi, basah cembung
3	TS3	Koloni kecil, cream, permukaan cembung, basah, tepi rata
4	TS4	Koloni kecil, tipis, cream bening keputihan, permukaan cembung, basah, tepi rata,
5	TS5	Koloni kecil sp besar, cream keputihan, permukaan cembung, basah, tepi tidak rata
6	TS6	Koloni kecil, cream, permukaan cembung, kering, tepi rata,
7	TS7	Koloni kecil, cream keputihan, permukaan cembung, basah, tepi rata.
8	TS8	Koloni sedang, cream keputihan, permukaan ada cekungan ditengah, kering, tepi rata
1	NS1	Koloni sedang seperti bunga, cream keputihan, permukaan rata, kering, tepi tidak rata.
2	NS2	Koloni kecil sp besar, cream ke coklat muda, permukaan rata, kering, tepi tidak rata
3	NS3	Koloni kecil transparan, putih seperti air, permukaan rata, kering, tepi tidak rata

No	Koloni	Ciri koloni
4	NS4	Koloni lembut, putih, permukaan rata, kering, tepi tidak rata
5	NS5	Koloni sedang sp besar, putih, permukaan rata, kering, tepi tidak rata

Keterangan

TS = endofit yang dihasilkan dengan media TSA

NS = endofit yang dihasilkan dengan media NA

2. Media, bakteri endofit, dan daya hambat terhadap bakteri pathogen

Dari 13 koloni yang dihasilkan maka ada 4 isolat yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri pathogen yaitu 2 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari media TSA dan 2

isolat diisolasi dari media NA. Hasil daya hambat bakteri endofit terhadap bakteri pathogen dengan kriterianya dapat dilihat pada tabel 3

Tabel 3 : Media, bakteri endofit dan daya hambat pada bakteri pathogen

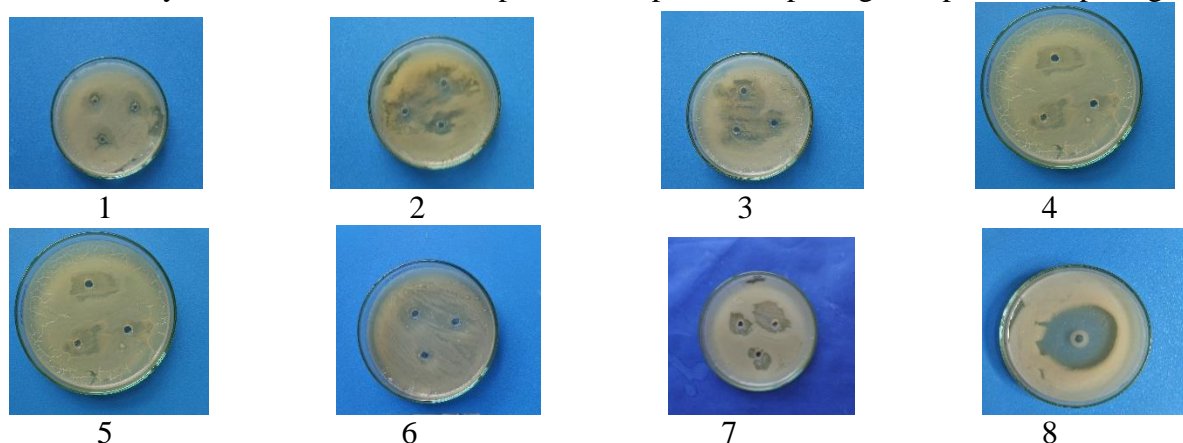
No	Media	Koloni bakteri endofit	SA Zona hambat (mm)	BC Zona hambat (mm)	EC Zona hambat (mm)
1.	Trypticase Soy agar	TS1	21(s)	27 (s)	27 (s)
2.		TS2	7 (r)	9 (r)	8 (r)
3.	Nutrient agar	NS1	--	21 (s)	15 (s)
4.		NS2	14 (s)	35 (s)	14 (s)
5.	Muller Hinton Agar	Cypro	45 (s)	46 (s)	48 (s)

Keterangan : SA = *Staphylococcus aureus* BC = *Bacillus cereus*
EC = *Echerichia coli*

Kriteria zona hambat :

Sensitive : $\varnothing \geq 14$ mm; intermediate : $10 > \varnothing \leq 13$ mm; resisten $\varnothing \leq 9$ mm
(Lorian, 1995)

Hasil daya hambat bakteri endofit pada beberapa bakteri pathogen dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1: Daya hambat bakteri endofit pada bakteri pathogen

Keterangan:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Isolat TS1 pada <i>S. aureus</i> | 2. Isolat TS1 pada <i>B. cereus</i> |
| 3. Isolat TS1 pada <i>E. coli</i> | 4. Isolat NS1 pada <i>E. coli</i> |
| 5. Isolat NS2 pada <i>S. aureus</i> | 6. Isolate NS2 pada <i>B. cereus</i> |
| 7. Isolat NS2 pada <i>E. coli</i> | 8. Cyprofloxasin pada <i>B. cereus</i> |

Isolasi bakteri endofit dengan menggunakan media TSA dan NA menghasilkan 13 koloni yaitu 8 koloni (63,53%) dihasilkan dari media TSA dan 5 koloni (38,46%) dihasilkan dari media NA. Jumlah yang berbeda dari hasil isolasi ini mungkin dikarenakan media yang digunakan. Media NA adalah media dasar sedang TSA adalah media yang diperkaya. Media TSA berisi pepton yang berasal dari casein dan soy meal, sodium chlorid dan agar. Sedang media NA berisi pepton dari daging, ekstrak daging dan agar (Cappucino dan Sherman, 1983). Dari 8 koloni yang dihasilkan media TSA terdapat 2 koloni (25%) bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen sedang dari 5 koloni yang dihasilkan media NA terdapat 2 koloni (40%) bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen. Dari hasil ini menunjukkan bahwa koloni bakteri endofit yang diisolasi dari media NA mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen lebih besar dari pada koloni bakteri endofit yang diisolasi dengan media TSA.

Kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *S. aureus*, *B. cereus* dan *E. coli* sangat bervariasi. Tetapi hal ini sedikit berbeda dengan laporan Jekti (2017) yang menggunakan 5 macam media untuk mendapatkan 35 koloni bakteri endofit yang dihasilkan dari kulit batang tanaman *Plumeria acuminata*. Dari 12 koloni endofit yang diisolasi dengan media TSA hanya ada 2 koloni (16,66%) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen. Sedang dari 8 koloni endofit yang diisolasi dengan media NA hanya ada 1 koloni (12,5%) yang mampu menghambat bakteri pathogen. Dari hasil ini tidak dapat diambil kesimpulan walau TSA mampu mengisolasi banyak bakteri endofit tetapi tidak selalu mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen.

Kemampuan bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *S. aureus*, *B. cereus*, dan *E. coli* sangat bervariasi besaran daya hambatnya. Pada table 3 dapat dilihat bahwa TS1 mempunyai kemampuan dengan kriteria sensitive dalam menghambat pertumbuhan ke 3 bakteri pathogen sedang

TS2 mampu menghambat ke 3 bakteri pathogen dengan kriteria resisten. Bakteri NS1 hanya mampu menghambat bakteri *B. cereus* dan *E. coli* dengan kriteria sensitive tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Bakteri NS2 mampu menghambat pertumbuhan ke 3 bakteri pathogen dengan kriteria sensitive. Kemampuan ini sesuai dengan pendapat Gajalaksmi *et al.*, (2011) bahwa tanaman srikaya (*Annona squamosa*) mengandung metabolik sekunder yang bermanfaat sebagai bahan obat karena adanya skuamosin dan asimicin. Sedang menurut Gowdhami *et al.*, (2014) kulit kayu tanaman srikaya (*Annona squamosa*) mengandung flavonoid, borneol, kamfer, terpen dan alkaloid anonain yang semuanya merupakan bahan aktif untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri pathogen,

Menurut Strobel (2003) interaksi antara tanaman inangnya dan mikroba indofitnya akan terjadi transfer materi genetic secara molekuler. Dengan demikian maka bakteri endofit menghasilkan metabolit sekunder seperti yang dimiliki oleh tanaman inangnya. Sehingga bahan aktif yang dihasilkan oleh kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) juga akan ditransfer ke bakteri endofitnya.

Hampir semua bagian tanaman srikaya (*Annona squamosa*) mengandung metabolik skunder yang sangat bermanfaat sebagai bahan obat. Daun srikaya (*Annona squamosal*) sangat baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri enteric atau bakteri saluran pencernaan seperti *E. coli*. Hal ini karena daun tanaman *Annona squamosa* mengandung 4-(2-nitroethyl)-1-((6-o- β -D-xylopyranosyl) oxy), benzene, anonaine, benzyltetrahydro-isoquinoline, borneol, camphene, campor, carvone, car-3-ene, carvone, β -carphyllene, eugenol, farnesol, geraniol, 16-hentriacontanone, Hexacontanol, Higenamine, isocoridine, limonine, linalool, linalool acetate, mentone, methylantranilate, methylsalicylate, methylheptenonep- β -sitosterol, thymol dan triacontanol (Jayshree *et al.*, 2008 dan Dinesh K, Yadaf *et al.*, 2011).

3. Karakterisasi dan identifikasi bakteri endofit

Karakterisasi bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) dilihat dari bentuk koloninya sangat bervariasi. Pada

umumnya bentuk koloni bulat dengan tepi rata atau bergerigi, ukuran koloni kecil sampai besar, warna cream sampai putih, permukaan datar sampai cembung, keadaan koloni basah sampai kering. Hasil tes biokimia dari 15 macam tes yang diberikan hanya 5 sampai 7 positif dan antara 8 sampai 10 adalah negative. Hampir ke 4 bakteri yang mampu menghambat bakteri pathogen adalah semua bersifat motil, menghasilkan enzim glucose,

menghasilkan enzim katalase. Tidak semua menghasilkan pati, dan dapat memecah maltosa. Banyaknya persamaan dalam tes biokimia menunjukkan bahwa mereka saling dekat atau dekat secara genus dan adanya perbedaan menunjukkan adanya perbedaan dalam spesies. Karakterisasi yang dilihat dari tes biokimia, morfologi, cat Gram dan identifikasi dapat dilihat pada table 4

Tabel 4: Karakterisasi, tes biokimia, morfologi, cat Gram dan identifikasi

No.	TES BIOKIMIA	BAKTERI ENDOFIT			
		TS1	TS2	NS1	NS2
1.	TSI	B/A -/-	B/A -/-	B/A -/-	B/A -/-
2.	SC	-	-	-	-
3.	UR	-	-	-	-
4.	Mot	+	+	+	+
5.	GL	+	+	+	+
6.	SK	+	-	-	-
7.	LK	-	-	-	-
8.	ML	±	-	-	±
9.	MN	-	-	-	-
10.	INL	-	-	-	-
11.	MR	-	+	-	+
12.	VP	-	-	-	-
13.	PATI	+	-	+	+
14.	NaCl 6.5%	+	+	+	+
15.	Kat	+	+	+	+
16.	Bentuk koloni	Bulat kecil sp besar	Bulat kecil	Bulat besar	Bulat besar
17.	Elevasi	Permukaan cembung	Permukaan datar	Permukaan datar	Permukaan datar
18.	Tepi	tidak rata	bergerigi	Tepi tidak rata	tepi tidak rata
19.	Warna	Cream kekuningan	Cream	cream keputihan	Cream ke coklat muda
20.	Keadaan koloni	kering	Basah	kering	kering
21.	Morfologi sel	Baktil gemuk pendek, tersebar / berantai	Baktil kecil tersebar	Baktil besar panjang tersebar/berantai	Baktil besar panjang tersebar/berantai
22.	Ukuran sel	0,82 x 2,76 µm	0,67 x 1,12 µm	0,81 x 2,27 µm	0,76 x 1,91 µm
23.	Uji Gram	Gram (+)	Gram (+)	Gram (+)	Gram (+)
24.	Bentuk & Letak endospora	Endospore (+) sentral	Endospore (+) sentral	Endospore (+) sentral	Endospore (+) sentral
25.	Spesies	<i>B. brevis</i>	<i>B. latesporus</i>	<i>Virgibacillus pantothenticus</i>	<i>B. circulans</i>

Keterangan:

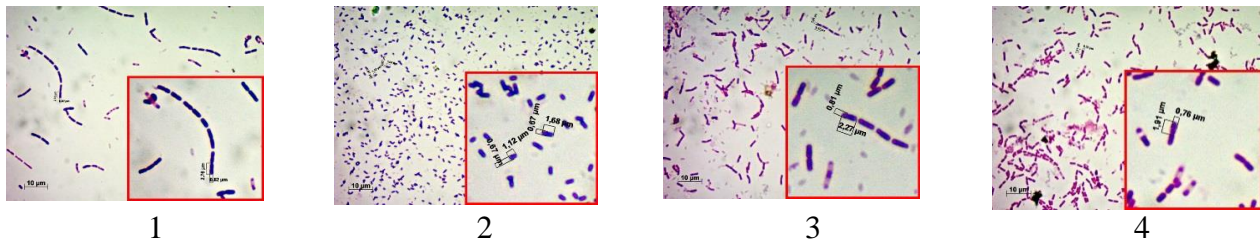
TSI: triple sugar iron, SC: Simmon citrate, Ur: urease, Mot: motility, GL: glukosa, LK: laktosa, SK: sukrosa, ML: maltosa, Mn:

manitol, INL: indol, VP: vogesproskauer, MR: metilred, Pati, Kat: katalase

Dari hasil pengecatan Gram untuk bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen semuanya termasuk gram

positif, berbentuk basil dan berspora. Hasil pengecatan Gram bakteri endofit yang mampu

menghambat bakteri pathogen dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen

Keterangan:

- 1. Endofit TS1
- 2. Endofit TS2
- 3. Endofit NS1
- 4. Endofit NS2

Hasil karakterisasi menunjuk pada identifikasi bakteri endofit yaitu pada genus Bacillus. Menurut Strobel, *et al.*, (2004) bakteri endofit dari genus Pseudomonas, Burkholderia dan Bacillus memproduksi metabolit sekunder seperti Taxol sebagai antibiotik dan anticancer, asam Cytonic B sebagai anti virus, Oocydin sebagai insektisida dan beberapa immunosuppressor. Sehingga bakteri endofit yang dihasilkan dari kulit batang *Annona squamosa* mampu menghambat bakteri pathogen *S. aureus*, *B. cereus* maupun *E. coli*.

Bacillus tersebar luas di alam dan mengkontaminasi setiap komunitas pertanian. Bacillus dapat diisolasi dari tanah, debu, cereal, tanaman, rambut hewan, air tawar (Jenson and Moir, 2003). Bacillus membentuk endospora yang tahan panas dan peka terhadap penicillin. Endospora resisten pada kondisi kering dan pertumbuhan spora dapat dihambat oleh nisin (Madigan *et al.*, 2012; Jenson and Moir, 2003). Banyaknya Bacillus yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen kemungkinan karena Bacillus menghasilkan enterotoksin, Bacillus membentuk spora sehingga Bacillus mampu bertahan hidup ditempat dengan kondisi yang buruk sekalipun.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) didapatkan hasil sebagai berikut:

- 1. Isolasi bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) didapatkan 13 koloni bakteri endofit dengan rincian 8 diisolasi dengan media TSA dan 5 diisolasi dengan media NA
- 2. Empat (4) baktetri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen ialah 2 bakteri hasil isolasi dengan media TSA dan 2 hasil isolasi dengan media NA
- 3. Karakterisasi telah dilakukan pada bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri pathogen dengan hasil identifikasi empat (4) bakteri endofit kulit batang srikaya (*Annona squamosa*) yang mampu menghambat bakteri pathogen adalah: *B. brevis*, *B. latesporus*, *Virgibacillus pantothenicus*, *B. circulans*.

DAFTAR PUSTAKA

Cappuccino, J.G. and Sherman, N. 1983. Microbiology a Laboratory Manual. Addison-Wesley Publishing company, Amsterdam

Dinesh K, Yadav, Neetu Singh, Kapil Dev, Sarma, R., Sashi, M., Palit, G., Maurya, R. 2011. Anti ulcer Constituents of *Annona squamosa* Twig. *Fitoterapia*. 82, 666-672

Gajalaksmi, S. Deepika, V.D., Mythili, S., Sathiavelu, A., 2011. Pharmacological Activities of *Annona squamosa*: a

- Review. International Journal of Pharmaceutical Science Review and reseach. 10(2) :24-29
- Gowdhami, Sarkar dan Ayyasami, 2014. Screening of Phytochemical and antibacterial Activity of Annona squamosal Extract. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 3(7) : 30-39
- Jawetz, M. dan Adelberg's 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta
- Jayshree, D., dan Vipin K. 2008. Annona squamosal (L). Phytochemical Analysis and Antimicrobial screening. *Journal of Pharmacy Research* 1(1): 34-38
- Jenson I and Moir CJ., 2003. *Bacillus cereus* and other Bacillus species. In : Hocking AD (Ed) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. 6th Edition, pp 445-478. Australian Institute of Food Science and Technology Inc. NSW Branch
- Krieg, N.R., Holt, J.G. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Lorian, V. 1995. Antibiotic in Laboratory medicine. In J.F. Acor & F.W. Goldstein (Eds) Disk susceptibility test (4th. Ed). William & walking, London.
- Madigan, MT; Martinko, JM and Parker, J. 2012. *Biology of Microorganism* Eight Edition Prentice Hall International, Inc. New York, USA
- Sriwarthini NLPN. 2014, *Uji aktivitas antibacteri ekstrak kulit batang kamboja (P.acuminata) terhadap bakteri isolat klinik*, FKIP Universitas Mataram: Mataram
- Strobel G. 2003. *Endophytes as sources of bioactive products*. Microbes and Infection (5): 535– 544
- Strobel G., Daisy B., Castillo U., Harper J. 2004. Natural Products from Endophytic microorganism. *J Nat Prod.*, 67: 257-268
- Sunkar, S. dan Nachiyar, C.V. 2013. Isolation and Characterization of an Endophytic Bacterium from Brassica oleracea with Potential Enzyme and Antibacterial Activity, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(2) :183-187.
- SuryakantiSahu, RichaChaturvedi, Mathew B., PayelBehra, Divya R., Venketesha RT., and BinduSadanandan, 2014. Antibacterial and antioxidant activity of endophytic bacteria isolated from annonamuricata
- Verma, A. Bolton, F.J. Fiefield, D., Lamb, P. Woloschin, E., Smith, N., McCann, R. 2008. An Outbreak of E. coli 0157 Associated with a Swimming pool: an Unusual Vehicle of Transmission. *Epidemiol Infect.* 135(6) :989-992