

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHYTIC BACTERIA OF GEDI LEAVES  
(*Abelmoschus manihot* L.) ON THE GROWTH OF *Escherichia coli* AND *Staphylococcus  
aureus***

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN GEDI (*Abelmoschus  
manihot* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus***

**Rini Husain<sup>1)\*</sup>, Febby Ester Fany Kandou<sup>1)</sup>, Johanis Jullian Pelealu<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

\*rinihusain21@gmail.com

**ABSTRACT**

*Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues and colonize the intercellular spaces and areas of the vascular system. The presence of endophytic bacteria can stimulate plant growth, increase the utilization of nutrients and produce growth hormones and increase plant resistance to various pathogenic microorganisms. Endophytic bacteria can produce compounds that have the potential as antibacterial. This study aimed to examine the antibacterial activity of gedi leaf endophytic bacteria (*Abelmoschus manihot*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The research method used is a laboratory experiment. The results of the isolation obtained four isolates of endophytic bacteria from *A. manihot*. The results of antibacterial research showed that the average inhibitory power of *E. coli* isolate NB1 was  $(33.8 \pm 15.7)$  and *S. aureus*  $(42.8 \pm 11.8)$  was included in the very strong category in inhibiting the test bacteria. The NB2 isolate did not show any antibacterial activity, the test bacteria *S. aureus*  $(5 \pm 8.66)$  was in the moderate category. NB3 isolate showed moderate activity in inhibiting the test bacteria with an average  $(7.6 \pm 6.63)$  *E. coli* and *S. aureus*  $(5.8 \pm 5.20)$ . NB4 isolate had high inhibitory power of *E. coli*  $(12.8 \pm 2.92)$  classified as weak and *S. aureus*  $(12.6 \pm 3.68)$  strong in inhibiting antibacterial activity. The positive control was very strong in inhibiting the antibacterial activity of *E. coli*  $(33.8 \pm 15.7)$  and *S. aureus*  $(42.8 \pm 11.8)$ . The isolates obtained were of the genus *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Planococcus*, and *Micrococcus*.*

**Keywords:** *Endophytic bacteria, Gedi (Abelmoschus manihot L.), Escherichia coli, Staphylococcus aureus.*

**ABSTRAK**

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di jaringan tumbuhan dan menjajah ruang antar sel dan area sistem vaskular. Keberadaan bakteri endofit dapat merangsang pertumbuhan tanaman, meningkatkan pemanfaatan unsur hara dan menghasilkan hormon pertumbuhan dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap berbagai mikroorganisme patogen. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun gedi (*Abelmoschus manihot*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimen laboratorium. Hasil isolasi memperoleh empat isolat bakteri endofit dari *A. Manihot*. Hasil penelitian antibakteri, besar daya hambat *E. coli* isolat NB1 didapatkan rata-rata  $(33,8 \pm 15,7)$  dan bakteri *S. aureus*  $(42,8 \pm 11,8)$  termasuk dalam kategori sangat kuat dalam menghambat bakteri uji. Pada isolat NB2 tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, bakteri uji *S. aureus*  $(5 \pm 8,66)$  termasuk dalam kategori sedang. Isolat NB3 menunjukkan aktivitas sedang dalam menghambat bakteri uji dengan rata-rata  $(7,6 \pm 6,63)$  *E. coli* dan *S. aureus*  $(5,8 \pm 5,20)$ . Isolat NB4 besar daya hambat bakteri *E. coli*  $(12,8 \pm 2,92)$  tergolong lemah dan *S. aureus*  $(12,6 \pm 3,68)$  kuat dalam menghambat aktivitas antibakteri. Kontrol positif sangat kuat dalam menghambat aktivitas antibakteri pada *E. coli* sebesar  $(33,8 \pm 15,7)$  dan *S. aureus*  $(42,8 \pm 11,8)$ . Isolat yang didapatkan merupakan genus *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Planococcus*, dan *Micrococcus*.

**Kata kunci:** Bakteri endofit, Gedi (*Abelmoschus manihot* L.), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aures*

## PENDAHULUAN

Gedi (*Abelmoschus manihot*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah Tropis khususnya daerah Minahasa. Masyarakat Minahasa masih banyak memanfaatkannya sebagai bahan makanan dan diolah untuk pengobatan tradisional. Hal ini mengakibatkan kearifan lokal daerah tersebut masih tetap dipertahankan dan terjaga. Tanaman gedi sendiri memiliki senyawa penting, seperti antioksidan, fenolik, flavonoid, steroid, alkaloid, efek antiinflamasi, efek antidiabetes, dan efek analgesik. Daun gedi juga memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Sehingga banyak dimanfaatkan untuk penggunaan dalam obat tradisional (Ipandi, 2016).

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di jaringan tumbuhan dan menjajah ruang antar sel dan area sistem vaskular. Bakteri endofit dapat diisolasi dari akar, batang dan daun (Nursulistyarini dan Ainy, 2014). Hallman dan Berg (2006), mengemukakan bahwa tanaman akan mendapat manfaat dari keberadaan bakteri endofit, seperti merangsang pertumbuhan tanaman, karena bakteri endofit dapat meningkatkan pemanfaatan unsur hara dan menghasilkan hormon pertumbuhan. Bakteri endofit juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap berbagai mikroorganisme patogen dengan cara menginduksi resistensi tanaman yang disebut dengan *Induced Systemic Resistance (ISR)* sehingga dapat menahan serbuan penyakit tanaman. Beberapa jenis bakteri endofit juga diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik, antimalaria, antifungi dan antiimunopresif (Strobel dan Daisy, 2003).

Eksplorasi untuk menemukan sumber antibiotik alami perlu dilakukan salah satunya dengan memanfaatkan bakteri endofit. Sampai saat ini, kurangnya laporan penelitian tentang bakteri endofit pada tanaman gedi (*Abelmoschus manihot*) yang ada di sekitar Kota Manado. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi (*Abelmoschus Manihot*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta mengidentifikasi genus-genus isolat yang didapatkan.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai Desember hingga April 2021. Pengambilan sampel dilakukan di Kelurahan Bailang, Kecamatan Bunaken, Kota Manado. Isolasi antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Farmasi

Program Studi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado.

### Bentuk Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimen laboratorium.

### Alat dan Bahan

#### a. Alat

*Aluminium foil*, autoklaf, batang L, botol semprot, bunsen, cawan petri, cool box, erlenmeyer, gelas ukur, gunting, inkubator, jarum ose, kaca objek, kapas, kertas label, kompor listrik, mikroskop, *laminar air flow*, mikropipet, mistar berskala, pengaduk kaca, pisau, sarung tangan, sentrifugasi, tabung reaksi, timbangan analitik, plastik wrap.

#### b. Bahan

Daun *Abelmoschus manihot*, alkohol 70%, natrium hipoklorit, air, aquades, bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) diperoleh dari Laboratorium Farmasi UNSRAT, B<sub>2</sub>C<sub>12</sub>, 2H<sub>2</sub>O, bahan pewarnaan Gram (safranin, iodine, kristal violet, dan alkohol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> minyak imersi, *Nutrient Agar (NA)*, *Nutrient Broth (NB)*, larutan Mc Farland, sumuran, Ciprofloxacin, NaCl (Natrium Klorida), Lysine, *Simmon's Citrate Agar*, TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), SIM (*Sulfida Indol Motility*), *Kalium hidroksida*, Media VP (*Voges Proskauer*), *Hidrogen Peroksida*, *Kovax Indol*.

### Prosedur Penelitian

#### Isolasi Bakteri Endofit

Daun yang digunakan sebagai sampel dicuci bersih dengan air mengalir dan disterilisasi permukaan menggunakan natrium hipoklorit selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit, dan dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran, maupun organisme epifit yang menempel pada permukaannya. Sampel kemudian dikeringkan di atas tisu steril. Sebanyak 10 gr daun dipotong-potong sampai halus, kemudian dimasukkan ke dalam 90 mL NaCl 0,9%, dilakukan secara aseptik. Isolasi bakteri endofit diawali dengan pengenceran berseri 10<sup>-2</sup> - 10<sup>-6</sup> dan dilanjutkan dengan metode *Spread plate* (metode cawan sebar) pada media NA (*Nutrient Agar*) Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Selanjutnya diambil koloni-koloni bakteri yang menampilkan morfologi yang berbeda. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan dengan metode streak plate pada media NA untuk didapatkan biakan murni atau

isolat tunggal. Karakterisasi isolat bakteri endofit yang telah diperoleh, dilakukan melalui pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri dan kemurnian dari isolat serta pewarnaan Gram (Rori *et al.*, 2020).

### Uji Potensi Antibakteri dari Isolat Bakteri Endofit

Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* yang mewakili bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri gram positif. Bakteri uji tersebut telah distandarisasi sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 (setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU). Kultur adaptasi dilakukan dengan menginokulasi bakteri ke dalam media NB lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28-30°C. Koloni bakteri uji yang tumbuh dipindahkan ke dalam media NB yang baru kemudian diinkubasi pada suhu 28-30°C sampai jumlah sel  $10^8$  cfu/mL (Simarmata *et al.*, 2007). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji ke permukaan media NA yang sudah memadat.

Sama dengan bakteri uji, isolat endofit diadaptasi dengan menginokulasi bakteri ke dalam media Nutrient Broth diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28-30°C. Selanjutnya uji dilakukan dengan metode Difusi menggunakan sumuran. Secara aseptik, sumuran sudah disterilkan dalam autoclave dan sebagai kontrol positif digunakan Ciprofloxacin 1% yang dilarutkan dengan alkohol 95% sedangkan kontrol negatif digunakan akuades. Hasil tersebut lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Sagita *et al.*, 2017). Zona hambat diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar isolat bakteri endofit. Isolat bakteri endofit yang positif menunjukkan zona hambat terhadap patogen dan merupakan isolat potensial (Rori *et al.*, 2020).

### Pewarnaan Gram

Pengamatan dilakukan dengan 1–2 tetes akuades steril diletakkan di atas kaca objek, koloni bakteri diambil satu ose dari media diletakkan di atas akuades steril dan disebarkan hingga merata, olesan tersebut dibiarkan kering karena udara. Setelah olesan benar-benar kering kemudian kaca objek tersebut dilalukan beberapa kali di atas nyala api sampai kaca objek terasa agak panas bila ditempelkan pada punggung tangan. Olesan ditetesi dengan larutan kristal violet dan didiamkan selama satu menit, kemudian dicuci menggunakan akuades dan dikeringkan. Selanjutnya fiksasi ini ditetesi

dengan larutan iodin dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian ditetesi dengan alkohol dan dikeringkan. Setelah itu, preparat ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan akuades pada botol semprot dan dikeringkan. Sebelum diamati dengan menggunakan mikroskop, preparat ditetesi minyak emersi, selanjutnya diamati dengan pembesaran paling kecil hingga pembesaran paling besar (1000X). Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah. Hasil dicatat dan difoto bentuk dari sel bakteri tersebut apakah bulat (coccus), batang (basil), maupun bergelombang (spiral) (Nurhidayati *et al.*, 2015).

### Karakterisasi Uji Biokimia

#### Uji Motilitas

Dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji dapat melakukan pergerakan atau tidak.

#### Uji Indol

Isolat diinkubasi ketabung dengan koloni biakan yang berasal dari uji motility masing-masing agar miring dengan cara ditusuk jarum sedalam  $\frac{3}{4}$  bagian. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dengan menambahkan 5 tetes *reagen covac's*. Interpretasi hasil: Positif (+) yaitu membentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan artinya membentuk indol; Negatif (-) yaitu tidak membentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan.

#### Uji H<sub>2</sub>S

Uji ini bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam memproduksi H<sub>2</sub> S melalui reduksi thiosulfat. Adanya endapan hitam menunjukkan terjadinya produksi H<sub>2</sub> S.

#### Uji fermentasi karbohidrat

Menentukan kemampuan bakteri dalam mendegradasi dan memfermentasikan karbohidrat tertentu dengan memproduksi asam atau asam dan gas.

#### Uji Lysine

Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan bakteri melakukan dekarboksilasi dalam asam amino berupa lysine melalui produksi enzim dekarboksilasi. Reaksi Positif (+) ditunjukkan dengan perubahan warna pada media

menjadi warna lembayung (violet), sedangkan reaksi Negatif (-) ditandai dengan warna kuning media.

#### Uji VP (*Voges Proskauer*)

Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alpha-naftol* dan *kaliium hidroksida* dengan kaldu *Voges Proskauer* yang telah diinokulasi dengan bakteri. Warna merah mudamenunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning-coklat atau tidak berwarna merupakan hasil negatif (Fallo dan Sine, 2016).

#### Uji Katalase

Kultur sediaan diinokulasi kedalam tabung reaksi yang berisi nutrient broth. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kedalam kultur biakan ditambahkan 3 tetes 6% *Hydrogen Peroksida*. Kemudian hasil pengamatan dicatat berdasarkan pembentukan gelembung udara didalam tabung reaksi. Bila terjadi pembentukan gelembung udara, maka uji ini bersifat positif (Liempepas, 2019).

#### Uji Sitrat

Satu ose dari biakan NA miring diinokulasikan ke dalam media *Simmon's Citrat*, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Warna biru menunjukkan hasil positif, warna hijau menunjukkan hasil negatif.

#### Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Diukur NaCl 0,9 % sebanyak 2 ml menggunakan gelas ukur, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan NaCl 0,9 % yang sudah di ukur kedalam tabung reaksi yang berisi bakteri uji, kemudian jarum ose disterilkan dengan lampu bunsen kemudian bakteri uji diambil dengan jarum ose yang sudah disterilkan setelah itu diuji kekeruhannya dengan *Mc. Farland* (Lay, 1994).

#### Pengamatan Pengukuran Zona Hambat

Pengamatan dilakukan 1x24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitar sumuran menunjukkan kepekaan mikroba terhadap antibiotik atau bahan antimikroba yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat atau zona bening. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkungan zona hambat. Diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakteri (Davis dan Stout, 2009).

#### Analisis Data

Data penelitian diambil secara deskriptif menggunakan gambar dan tabel kemudian standar deviasi di analisis menggunakan program Excel. Pada perhitungan diameter zona hambat dihitung dengan cara :  $\frac{A+B}{2} - 7$

Ket: A: Diameter Horizontal (mm)

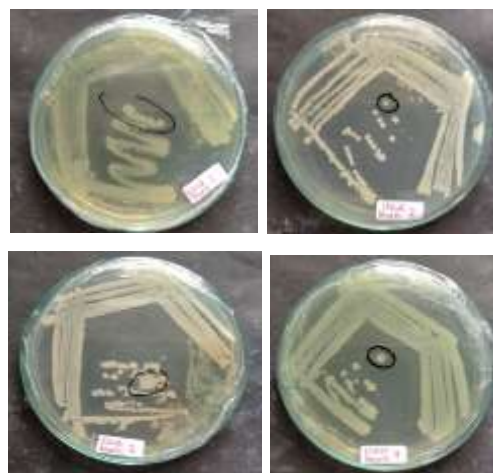
B: Diameter Vertikal (mm)

C: Diameter Pencandang (7 mm)

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Isolasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang diperoleh kemudian dilakukan dengan pemurnian untuk memperoleh isolat tunggal. Isolat yang didapatkan dimurnikan ke dalam media NA yang baru dengan cara inokulasi bakteri berdasarkan perbedaan morfologi dari masing-masing cawan petri dengan metode (*Fourway streak*) dan dilakukan berulang. Menurut Gandjar *et al.* (1992) isolasi adalah suatu cara yang dilakukan untuk memisahkan mikroorganisme tertentu darilingkungan, sehingga diperoleh biakan murni atau biakan yang tidak tercampur dengan jenis yang lain. Pemisahan dan pemurnian dari isolat bakteri endofit dilakukan dengan metode goresan (*streak method*), jika masih terdapat campuran bakteri pada cawan petri tersebut maka pemisahan dilakukan kembali hingga memperoleh kultur murni. Pemisahan atau isolasi bakteri endofit ini bertujuan memisahkan koloni dengan morfologi berbeda untuk dijadikan isolat. Berdasarkan hasil isolasi biakan murni yang didapatkan dari bakteri endofit daun *A. manihot* yaitu empat isolat murni. Hasil isolasi bakteri endofit dapat dilihat pada Gambar 1.







Gambar 1. Isolasi Biakan Murni

Selanjutnya isolat-isolat endofit yang telah dikarakterisasi secara makroskopis tersebut kemudian dikarakterisasi secara mikroskopis dan uji biokimia. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram untuk melihat bentuk sel bakteri dan kelompok gram. Pewarnaan gram menggunakan reagen (alkohol, kristal violet, iodine, dan safranin).

Hasil pengamatan makroskopis diperoleh empat isolat yaitu isolat dengan kode NB1, NB2, NB3 dan NB4 menunjukkan bahwa

isolat-isolat yang diperoleh dari daun *A. manihot* memiliki morfologi berwarna putih, kuning, dan hampir bening (Tabel 1). Bentuk isolat-isolat tersebut bervariasi dari bentuk bulat (*circular*), bentuk tak teratur (*irregular*). Isolat-isolat tersebut juga menunjukkan variasi pada tepinya mulai dari tepi utuh (*entire*) dan ada yang bergerigih (*undulate*), berlekuk (*Lobate*), Isolat-isolat tersebut juga menunjukkan perbedaan pada elevasi atau permukaan koloni yang dilihat dari samping, rata (*flat*), dan timbul-datar (*raised*).

**Tabel 1. Deskripsi makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri endofit**

Kode Isolat	Makroskopis			Mikroskopis		
	Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna	Bentuk sel	Kelompok Gram
A.	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	Putih hampir bening	<i>Coccus</i>	 <i>Streptococcus</i>
B.	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	Kekuning-kuningan	<i>Coccus</i>	 <i>Aerococcus</i>
C.	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Lobate</i>	Keputihan-putihan	<i>Coccus</i>	 <i>Planococcus</i>
D.	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Kekuning-kuningan	<i>Coccus</i>	 <i>Micrococcus</i>

### Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan semua isolat merupakan bakteri Gram Positif dengan bentuk sel berbentuk bulat (*coccus*). Bakteri Gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-iodine tetap dipertahankan meskipun diberi larutan alkohol. Perbedaan

warna antara Gram positif dan Gram negatif dimana kelompok Gram positif mampu mempertahankan zat warna utama Gentian Violet (ungu kristal iodine), sehingga nampak berwarna ungu saat pengamatan dikarenakan struktur dinding dengan kandungan peptidoglikan yang tebal. yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol. Pencucian dengan alkohol membuat dinding sel Gram positif mengalami denaturasi protein yaitu protein

menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil dan permeabilitas dinding sel berkurang sehingga kompleks kristal violet yang berwarna ungu dipertahankan dan bakteri tetap akan berwarna ungu (Napitupulu, 2018). Sedangkan Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi sehingga akan berwarna merah karena alkohol akan membuat pori-pori dan dinding sel akan membesar dan menyebabkan terlepasnya kompleks kristal violet yang diserap sebelumnya. Sehingga pada saat pewarnaan kurang dapat mempertahankan zat warna utama pada saat dicuci dengan alkohol (lipid rusak saat dicuci

dengan alkohol), akibatnya kelompok bakteri ini memberikan penampakan warna merah safranin.

### Uji Biokimia

Karakterisasi dilakukan juga secara Biokimia. Pengamatan dengan melihat proses biokimia bakteri dilakukan dengan beberapa uji yaitu motilitas, produksi indol, katalase, uji *Voges Proskauer* (VP), uji *lysine*, fermentasi karbohidrat, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), katalase, dan *Uji Simmon's Citrate Agar* (SCA). Identifikasi bakteri mengacu pada buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Hasil karakterisasi secara biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Karakterisasi berdasarkan uji biokimia isolat bakteri endofit**

Uji Biokimia	Kode Isolat			
	NB1	NB2	NB3	NB4
Motilitas	+	+	+	+
Produksi Indol	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	+	+	+
Fermentasi Karbohidrat	-	+	+	+
Lysine	-	-	-	-
VP	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+
Sitrat	+	+	+	+
Genus	<i>Streptococcus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Planococcus</i>	<i>Micrococcus</i>

\* (+) = Ada perubahan (-) = Tidak ada perubahan

### Uji Potensi Antibakteri dari Isolat Bakteri Endofit

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini dipilih karena cepat, mudah, namun tetap memberikan hasil yang diharapkan. Prinsip dari metode difusi sumuran ialah terbentuknya diameter zona hambat disekitar lubang yang telah

diresapi larutan uji setelah media agar yang ditanami bakteri dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Besar kecilnya diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diukur zona bening cakram (Davis dan Stout, 2009).

Terbentuknya zona bening di sekitar koloni isolat bakteri endofit mengindikasikan kemungkinan adanya senyawa antibakteri yang mampu membunuh atau menghambat

pertumbuhan bakteri patogen (Tabel 3). Menurut Simarmata *et al.* (2007), Bakteri endofit yang diisolasi menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar koloni bakteri endofit (Purwanto *et al.*, 2014).

**Tabel 3. Aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* (mm)**

Sampel	Ulangan		
	U1	U2	U3
NB1	11,5 mm	15 mm	13 mm
NB2	-	-	15 mm
NB3	7,5 mm	10 mm	-
NB4	8,5 mm	15,5 mm	14 mm
K (+)	41 mm	32 mm	55,5 mm
K (-)	-	-	-

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* memperlihatkan bakteri endofit dari daun gedi dengan kode isolat NB1 menunjukkan aktifitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening. Sedangkan pada NB2 pada U1 dan U2 tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Sedangkan isolat NB3 dan NB4 terdapat juga aktivitas antibakteri. Penggunaan kontrol positif didapatkan hasil yang sangat besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Gambar 2).

Kontrol positif dapat menghambat bakteri *S. aureus* karena ciprofloxacin merupakan antibiotik yang menghambat sintesis protein dalam sel bakteri *S. aureus* mencegah perpanjangan rantai polipeptida yang sedang tumbuh dan berakibat terhentinya sintesis protein dan merupakan antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*), yang termasuk dalam golongan florokuinolon yang paling umum digunakan mekanisme kerja menghambat DNA girase (topoisomerase II) dan topoisomerase IV yang terdapat dalam bakteri (Faidiban *et al.*, 2020).

Alasan penggunaan akuades sebagai (kontrol negatif) sebagai perbandingan antara antibiotik yang dipakai. Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Dari hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pada kontrol (+) maka

semakin tinggi zona hambat yang didapatkan (Melati *et al.*, 2009). Zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada (Tabel 4).

**Tabel 4. Aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* (mm)**

Sampel	Ulangan		
	U1	U2	U3
NB1	19,5 mm	15 mm	13 mm
NB2	-	-	-
NB3	-	11,5 mm	11,5 mm
NB4	15 mm	14 mm	9,5 mm
K (+)	52 mm	25,5 mm	24 mm
K (-)	-	-	-

Hasil pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi bakteri 1x24 jam dengan dilakukannya 3x pengulangan terhadap bakteri *E. coli* (Gambar 3). Diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri uji tertinggi didapatkan pada kontrol positif 52 mm ulangan satu pada pertumbuhan pertumbuhan *E. coli* dengan rata-rata 33,8 mm tergolong sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Kode isolat NB1 terlihat adanya zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran pada ulangan satu dan ketiga sehingga bakteri endofit ini berpengaruh atau terdapat aktivitas bakteri uji *E. coli* dengan besar rata-rata 12,3 mm yang menunjukkan kategori kuat dalam menghambat aktivitas antibakteri. Sedangkan pada NB2 tidak terlihat adanya zona hambat disekitar lubang yang artinya bakteri endofit pada daun gedi tidak berpengaruh atau tidak adanya aktivitas antibakteri yang ditimbulkan yang diujikan pada bakteri *E. coli*. Hasil pengujian daya hambat daun gedi dengan kode isolat NB3 menunjukkan rata-rata 7,6 mm artinya kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Kode isolat NB4 menunjukkan aktivitas antibakteri dengan rata-rata 12,8 mm zona hambat.





**Gambar 2.** Hasil uji antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* dari isolat bakteri endofit dalam satu cawan petri terdapat tiga ulangan serta kontrol positif dan kontrol negatif.



**Gambar 3.** Hasil uji antibakteri pada bakteri uji *E. coli* dari isolat bakteri endofit dalam satu cawan petri terdapat tiga ulangan serta kontrol positif dan kontrol negatif.

Zona hambat yang terbentuk pada *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Adanya perbedaan komponen dinding sel kedua bakteri tersebut, dapat berpengaruh pada kerja ekstrak daun gedi sebagai antibakteri. Hal ini disebabkan struktur dinding sel gram negatif peptidoglikan sangat tipis (5-20%), lipid 20%, protein, lipopolisakarida dan lipoprotein. Sedangkan dinding sel gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel dan menemukan target untuk bekerja. Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang tebal (15-80 mm)

terdiri dari lapisan peptidoglikan 40-50%, lipid 2% dan asam terikoat (Alusinsing *et al.*, 2017).

Menurut Son dan Chaech (2012), bakteri endofit tersebut kemungkinan mampu menghasilkan senyawa antibakteri namun dalam jumlah yang sedikit atau menghasilkan senyawa aktif lain yang belum diketahui. Terbentuknya zona bening menandakan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri. Perbedaan diameter zona bening yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan tiap isolat bakteri endofit. Hasil tersebut juga menandakan bahwa kemungkinan besar senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut memiliki spektrum yang luas (Kusumawati *et al.*, 2014). Perbandingan rata-rata dan standar deviasi bakteri uji dapat dilihat pada (Tabel 5).

**Tabel 5. Rata-rata dan Standar Deviasi Aktivitas antibakteri**

Kode Isolat	Rata-rata dan Standar Deviasi	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Kontrol (+)	24,3 ± 7,65	33,6 ± 17,5
Kontrol (-)	-	-
NB 1	12,3 ± 7,52	13 ± 10,4
NB 2	-	2,3 ± 4,0
NB 3	1,66 ± 1,44	4,0 ± 3,77
NB 4	4,8 ± 4,75	6,8 ± 4,0

Menurut Davis dan Stout (2009), kriteria kekuatan antibakteri yaitu jika diameter zona hambat <5 mm maka dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan apabila zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat. Pada pengujian antibakteri besar kecilnya zona hambat tergantung pada zona bening yang dihasilkan dari masing-masing sampel.

Pengujian sampel bakteri endofit NB1 terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan hasil sebesar (13 ± 10,4) dan pada bakteri *E. coli* didapatkan hasil sebesar (12,3 ± 7,52). Pengujian aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* termasuk dalam kategori kuat yang dapat dilihat dengan adanya zona bening pada sumuran dengan diameter yang cukup besar sehingga memiliki kemampuan bakteristatis artinya hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Radji, 2011). Aktifitas antibakteri NB2 pada bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil sebesar (2,3 ± 4,0) sedangkan



pada bakteri *E. coli* tidak terdapat aktivitas antibakteri atau tidak mampu menghambat bakteri *E. coli*. Pengujian dengan kode isolat NB3 dari hasil diameter zona hambat kedua bakteri terlihat bahwa adanya zona bening. Zona bening menunjukkan bahwa ekstrak bersifat bakteriosida yang artinya memiliki kemampuan membunuh bakteri. Zona bening yang terbentuk pada bakteri *S. aureus* dan bakteri *E.coli* termasuk kedalam kategori lemah dalam menghambat aktivitas antibakteri. Kecilnya daya hambat diduga disebabkan oleh beberapa faktor antara lain komposisi medium kultur, proses inkubasi, kecepatan difusi agar dan sensitivitas organisme (Rostinawati, 2009). Pada isolat NB4 aktifitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil sebesar  $(6,8 \pm 4,0)$  sedangkan pada bakteri *E. coli* sebesar  $(4,8 \pm 4,75)$  dari hasil diameter zona hambat kedua bakteri terlihat bahwa adanya zona bening. Zona bening menunjukkan memiliki kemampuan membunuh bakteri. Zona bening yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk kedalam kategori sedang dan bakteri *Escherichia coli* termasuk kedalam kategori lemah. Sedangkan hasil antibiotik ciprofloxacin pada bakteri *Escherichia coli* sebesar  $(24,3 \pm 7,65)$  dan bakteri *S. aureus* sebesar  $(33,6 \pm 17,5)$  Hasil ini menunjukkan bahwa besar diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik ciprofloxacin berada pada kategori sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa bahwa *Abelmoschus manihot* memiliki potensi yang besar sebagai sumber antibiotik terhadap bakteri.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, besar daya hambat untuk uji antibakteri didapatkan sangat kuat pada kontrol (+) bakteri *E. coli* sebesar  $(33,8 \pm 15,7)$  dan *S. aureus*  $(42,8 \pm 11,8)$  dalam menghambat aktivitas antibakteri. Dari empat isolat yang didapatkan merupakan genus *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Planococcus*, dan *Micrococcus*.

#### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang aktivitas antibakteri pada beberapa bagian tanaman Gedi (*Abelmoschus manihot*) dengan uji bakteri lainnya. Serta perlakuan konsentrasi yang lebih tinggi terhadap antibiotik yang digunakan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alusinsing, S., N.S. Kojong. S. Sudewi. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **6(4)**.
- Davis, W.W., T.R. Stout. 2009. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Journal Microbiology*. **(22)**: 659-665.
- Faidiban, A.N., J.Posangi., P.Wowor., R.Bara. 2020. Efek Antibakteri *Chromodoris annae* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Medical Scope Journal (MSJ)*.**1(2)**:67-70.
- Fallo, G. dan Y. Sine. 2016. Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.) Bio – Edu : *Jurnal Pendidikan Biologi*. **1(2)**: 27-29.
- Gandjar, I., I.R. Koentjoro., W. Mangunwardoy., dan L. Soebagya. 1992. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Universitas Indonesia Press. Depok.
- Hallman, J., G. Berg. 2006. *Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes*. Dalam: Schulz B, C. Boyle, and T. Sieber (Eds.). *Soil biology Microbial root endophytes* Vol. **9**. Berlin, Heidelberg, Germany. SpringerVerlag.
- Holt, J.G., N.R. Krieg., P.H.A. Sneath., J.T. Staley., and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9 th Edition* A Wolters Kluwer Company. Philadelphia.
- Ipandi, I., L. Triyasmono., B. Prayinto. 2016. Penentuan Kadar Flavonoid total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol daun Kajajahi (*Leucosyke capitella* Wedd.). *Jurnal Farmasi*. **3(1)**: 95-96.
- Kusumawati, D.I., F.H. Pasaribu., M. Bintang. 2014. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* [L.] Benth.) terhadap

- Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*. **1(1)**: 45-50.
- Liempepas, A.G., W.A. Lolo., P. Yamlean. 2019. Isolasi dan Uji Antibakteri dari Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Callyspongia aerizusa* serta Identifikasi secara Biokimia. *Pharmaccon*. **8(2)**.
- Melati, P., Welly., Darwis., E. Widiyati. 2009. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Ubi Jalar Merah (*Ipomoea batatas* *poir*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Bisul pada Manusia. FMIPA Pasca Sarjana. Universitas Bengkulu.
- Napitupulu, R.J. 2018. *Modul Mikrobiologi Ikan Kompetensi Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif*. Pusat Pendidikan Kelautan dan Perikanan.
- Nurhidayati, S., Faturrahman., M. Ghazali. 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice Ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. **1(2)**: 24-30.
- Nursulistyarini, F., E.Q. Ainy. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis). Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*. UIN Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Purwanto, U.M.S., F.H. Pasaribu., M. Bintang. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry* **1(1)**: 51-57.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis mikroba di laboratorium*. Grasindo Persada. Jakarta.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Rori, A.C., F.E. Kandou., A.M. Tangapo. 2020. Isolasi dan Uji Antibakteri dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove (*Avicennia marina*). *Koli Jurnal*. **1(1)**.
- Rostinawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode Difusi Agar. *Jurnal Penelitian*.
- 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 Iptek Terapan*. **11(1)**: 65-74.
- Simarmata, R., S. Lekatompessy., H. Sukiman. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berk Penel Hayati*, **13**: 85-90.
- Son, R., dan Y.K. Cheah. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medical Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. **9(2)**: 23–33.
- Strobel, G., and B. Daisy. 2003. *Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product*. *Microbiology and Molecular Biology Review*. **67**: 491-502..