

Isolasi Bakteri Endofit Daun Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dan Metabolit Sekundernya yang Berpotensi sebagai Antibakteri

Puteri Aryani¹, Endang Kusdiyantini², Agung Suprihadi²

^{1,2)} Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, 50275
E-mail: puteriaryani5@gmail.com, kusdiyantini@yahoo.com

Abstract

Imperata cylindrica is a weed that is resistant to hot and dry conditions, and is a high level of weed that can invade a habitat. This allows the reeds to have the potential for secondary metabolites due to the adaptation of the body's defenses from extreme environments. Research on the potential of secondary metabolites for antibacterial from endophytic alang-alang leaf bacteria has not been widely carried out. Endophytic bacteria are microorganisms that grow in plant tissues. The ability of endophytic bacteria to produce secondary metabolites that are the same as the host plant is a reliable opportunity to produce secondary metabolites. This study aims to isolate endophytic bacteria from *Imperata cylindrica* leaves and their secondary metabolites that have the potential to be antibacterial, as well as screening secondary metabolites with qualitative methods. Isolation of endophytic bacteria from *Imperata cylindrica* leaves was carried out by macroscopic characterization. Antibacterial activity test is a method of diffusion agar (Disk diffusion test) using two test bacteria: *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. The number of endophytic bacteria obtained was four isolates with the codes BE1, BE2, BE3 and BE4. The four endophytic bacterial isolates obtained had secondary metabolite similarities with *Imperata cylindrica* leaf extract, and showed positive results on alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. The total phenols produced by isolates BE1, BE2, BE3, and BE4 were 15.33 mg/l; 62.56 mg/l, 61.17 mg/l, and 27.56 mg / l. Based on the results of the average diameter of inhibitory zone isolates of endophytic bacteria BE1, BE2, BE3 and BE4 were able to inhibit *Escherichia coli* with a weak inhibition response of (1 - 4.8 mm), whereas *Staphylococcus aureus* with a weak resistance response ranged from (1- 5. 8 mm).

Keyword : Antibacterial, Endophytic Bacteria, *Imperata cylindrica*, Secondary Metabolit

Abstrak

Alang-alang (*Imperata cylindrica*) merupakan suatu gulma yang tahan terhadap kondisi panas dan kering, serta merupakan gulma tingkat tinggi yang dapat menginvasi suatu habitat. Hal tersebut memungkinkan alang-alang memiliki potensi metabolit sekunder akibat adanya adaptasi pertahanan tubuh dari lingkungan yang ekstrem. Penelitian tentang potensi metabolit sekunder untuk antibakteri dari bakteri endofit daun alang-alang belum banyak dilakukan. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tumbuhan. Kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari daun alang-alang dan metabolit sekundernya yang berpotensi sebagai antibakteri, serta dilakukan skrining metabolit sekunder dengan metode kualitatif. Isolasi bakteri endofit dari daun alang-alang dilakukan dengan karakterisasi berdasarkan makroskopis. Uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar (*Disk diffusion test*) dengan menggunakan dua bakteri uji : *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Jumlah bakteri endofit yang diperoleh sebanyak empat isolat dengan kode BE1, BE2, BE3 dan BE4. Keempat isolat bakteri endofit yang didapatkan mempunyai persamaan metabolit sekunder dengan ekstrak daun alang-alang, dan menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Total Fenol yang dihasilkan Isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 adalah 15,33 mg/l; 62,56 mg/l; 61,17 mg/l, dan 27,56 mg/l. Berdasarkan hasil rata-rata diameter zona hambat isolat bakteri endofit BE1, BE2, BE3 dan BE4 mampu menghambat *Escherichia coli* dengan respon hambatan lemah yaitu dari (1 – 4,8 mm), sedangkan *Staphylococcus aureus* dengan respon hambatan lemah berkisar dari (1 – 5,8 mm).

Kata kunci : Alang-alang, Antibakteri, Bakteri Endofit, Metabolit Sekunder.

PENDAHULUAN

Beberapa tumbuhan lokal telah dipercayai masyarakat Indonesia berfungsi sebagai obat herbal. Tanaman C4 dikenal sebagai tanaman yang tahan dalam kondisi panas dan banyak ditemukan didaerah tropis. Tanaman C4 pada siang hari tidak membuka stomatanya untuk menjaga agar tanaman tidak kehilangan air lewat evaporasi. Hal ini mengakibatkan menurunnya jumlah CO₂ yang masuk ke dalam stomata yang mengakibatkan terhambatnya proses fotosintesis. Namun faktanya tanaman ini dapat mengembangkan cara untuk menjaga laju fotosintesis tetap normal walaupun stomata tidak membuka penuh. Hal tersebut sama dengan pendapat Perkasa (2017) umumnya tanaman C4 dan CAM lebih adaptif terhadap daerah panas dan daerah kering dibandingkan tanaman C3. Tanaman C3 dan C4 dibedakan oleh cara mengikat CO₂ dari atmosfer dan produk awal yang dihasilkan dari proses asimilasi, pada tanaman C3, RuBP (Substrat untuk pembentukan karbohidrat dalam proses fotosintesis) juga dapat mengikat O₂ pada saat yang bersamaan sebagai fotorespirasi. Tanaman C4, CO₂ diikat oleh PEP (Enzim pengikat CO₂ pada tanaman C4) yang tidak dapat mengikat O₂ sehingga tidak terjadi kompetisi antara CO₂ dan O₂.

Alang-alang merupakan tumbuhan C4. Alang-alang dapat bertahan hidup dalam kondisi yang tidak menguntungkan disebabkan adanya formasi rimpang yang baik. Alang-alang dapat hidup ditanah yang kekeringan, kualitas tanah yang buruk. Meskipun alang-alang tidak disukai masyarakat sebab mengganggu hasil pertanian, namun memiliki metabolit sekunder yang berguna bagi kesehatan, sehingga dapat dipangkas untuk kepentingan pengobatan tanpa mengganggu pangan (Estrada, 2015).

Menurut Mulyadi (2017) Sampel daun alang-alang yang dimaerasi dengan etanol yang diujikan dengan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (gram positif) pada metode cakram kertas mampu menghambat pertumbuhan pada konsentrasi terkecil 7% menghasilkan diameter zona hambat 0,02 mm pada *Pseudomonas aeruginosa*, 0,03 mm pada *Escherichia coli* 0,03 mm pada *Staphylococcus aureus* 0,03 mm, dan pada *Bacillus subtilis* 0,1 mm.

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tumbuhan dan dapat dijumpai pada bagian akar, daun serta batang tumbuhan. Kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk

memproduksi metabolit sekunder melalui bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut (Desriani, 2014).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari daun alang-alang. Hal itu dikarenakan fotosintesis banyak terjadi pada daun, yang merupakan pabrik dari glukosa yang akan menjadi dasar terbentuknya metabolit sekunder. Setelah isolat bakteri endofit dan metabolit sekundernya didapatkan lalu akan dilanjutkan uji aktivitas antibakterinya kepada dua bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*). Isolat yang mempunyai kemampuan antibakteri akan dilakukan skrining metabolit sekunder untuk membuktikan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan pada alang-alang berasal dari bakteri endofit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang. Sampel daun alang-alang (*Imperata cylindrica*) didapatkan dari Kelurahan Jangli, Kecamatan Tembalang, Kota Semarang.

1. Isolasi Bakteri Endofit Daun Alang-alang

Alang-alang dari lokasi pengumpulan segera dimasukan ke kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro. Tahap awal isolasi adalah memotong bagian tanaman sepanjang dua cm dan selanjutnya disterilisasi bagian permukaan menggunakan larutan alkohol 2 ml 70% selama satu menit, Natrium hipoklorit 5.25% selama lima menit, dan terakhir dengan larutan 2 ml alkohol 70% selama 30 detik. Setelah itu sampel tanaman dibilas dengan air steril dua kali masing-masing satu menit dan ditanam di dalam media agar NA, daun diletakkan pada posisi tertelungkup. Cawan petri yang sudah mengandung sampel daun diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35°C selama dua sampai tujuh hari (Kumala, 2006).

2. Karakterisasi Bakteri Endofit

Makroskopis

Pengamatan makroskopis dilakukan dari hasil inkubasi. Identifikasi secara visual meliputi pengamatan bentuk koloni, bentuk tepi koloni dan warna koloni, elevasi, struktur, tepi.

3. Penapisan Fitokimia Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit dan Daun Alang-alang

Isolat yang telah disuspensikan dengan menggunakan 5 ml NaCl 0.9% steril sampai didapatkan kekeruhan sesuai dengan standart

Mac Farland. 8 gram nutrisi broth dicampur 1000 ml aquades. Isolat Bakteri endofit yang telah ada didalam 5 ml NaCl steril dimasukkan didalam 4 erlenmeyer 250 ml lalu digojog dengan kecepatan 170 rpm, pada suhu 27°C, selama 48 jam. Hasil fermentasi digunakan untuk penapisan fitokimia. Hasil fermentasi disentrifugasi dan dishaker pada kecepatan 3000 rpm, pada suhu 4°C selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dan biomassa. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai uji aktivitas antimikroba (Kumala, 2006). Senyawa yang diidentifikasi adalah senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan total fenol.

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 g sampel uji ditambahkan dalam 10 ml kloroform lalu penambahan 5 tetes NH₄OH, Campuran disaring dan filtratnya di kocok dengan penambahan 10 tetes H₂SO₄ 2 M. Kemudian lapisan asam (atas) dibagi menjadi dua ke dalam tabung reaksi. Tabung pertama ditetesi dengan Pereaksi Dragendorff dan uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga. Tabung kedua ditambahkan setetes Pereaksi Meyer. Terbentuknya kabut putih hingga endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g sampel ditambahkan 10 ml metanol dan 10 ml akuades kemudian disaring. Lalu ditambahkan 5 ml eter kemudian dikocok dan didiamkan. Ambil lapisan metanol dan uapkan pada suhu 40°C kemudian larutkan dalam 5 ml etil asetat, penambahan 1 ml etanol, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat lalu dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, atau kuning.

3. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g sampel ditambahkan 10 ml akuades panas dan didihkan selama 10 menit lalu di saring, kemudian dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Saponin ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1–10cm yang stabil sekitar 10 menit dan tidak hilang ketika ditambahkan 1 tetes asam klorida.

4. Uji Tanin

Sebanyak 1 g sampel ditambahkan 10 ml akuades panas dan didihkan selama 10 menit lalu di saring, ditambahkan larutan besi (III) klorida 1%. Tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

5. Total Fenol

Penentuan kadar fenolik total ekstrak fermentasi isolat bakteri endofit BE1, BE2, BE3 dan BE4 merujuk pada prosedur Chun dkk (2003)

yaitu dibuat dengan cara menimbang 10 mg ekstrak etanol daun nilam kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol p.a dan dihomogenkan. Dipipet 1 ml dari larutan tersebut, kemudian ditambahkan dengan 0,4 ml reagen Folin Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit (Tahir, 2016).

4. Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian kadar zona hambat dilakukan dengan metode kertas cakram. Bakteri uji adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri uji dituangkan ke atas permukaan media NA dengan Metode *Pour Plate*. Bakteri uji yang digunakan merupakan pengenceran 10⁻⁷ CFU/ml. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan secara aseptis dengan cara koloni bakteri uji pada media peremajaan yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang telah diperoleh kemudian disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5% yaitu setara dengan jumlah kecepatan bakteri 1.5x10⁸ CFU/mL dan setelah setara maka suspensi ini digunakan sebagai bakteri uji (ICMR, 2009). Media NA yang berisi bakteri uji diinkubasi selama 24 jam. Kertas saring ukuran 0,5 cm direndam didalam tabung reaksi yang berisi senyawa hasil fermentasi bakteri endofit dengan konsentrasi 10 ml, 20 ml, 40 ml, serta direndam didalam kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif yang merupakan nutrisi broth. Setiap paper disk diinokulasi dengan jarak tertentu secara teratur agar tidak terjadi *overlapping* zona hambat yang terbentuk. Cawan petri diberi label pada dasar petri secara benar. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona keruh dalam petri diamati dan diukur dengan jangka sorong.

HASIL PEMBAHASAN

1. Skrining Fitokimia Daun Alang-alang (*Imperata cylindrica*)

Penelitian ini diawali dengan skrining fitokimia ekstrak daun alang-alang dengan maksud untuk mengetahui komponen senyawa metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan terpenoid yang akan dibandingkan dengan senyawa hasil fermentasi isolat bakteri endofit daun alang-alang (*Imperata cylindrica*). Hasil dari uji skrining fitokimia ekstrak daun alang-alang ditunjukkan pada Tabel 4.1

Hasil uji saponin dari ekstrak daun alang-alang menunjukkan hasil yang positif yaitu ditunjukkan dengan adanya busa. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun alang-alang positif mengandung saponin. Uji alkaloid dari ekstrak daun alang-alang pada Pereaksi Mayer yaitu terbentuk endapan putih, sedangkan pada Pereaksi Dragendorff terbentuknya endapan jingga pekat. Hasil ini Hasil

ini menunjukkan bahwa daun alang-alang positif mengandung alkaloid.

Tabel 4.1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun alang-alang (*Imperata cylindrica*)

No	Kegunaan	Warna	Hasil
1	Saponin	Busa	+
2	Alkaloid		
	Pereaksi Mayer	Jingga	+
	Preaksi	Putih	+
	Dragendorf		
3	Terpenoid	Merah	+
4	Steroid	Hijau	+
5	Flavonoid	Kuning	+
6	Tanin	Biru	+
		Hitam	

Keterangan : + = Hasil Positif Terhadap Metabolit Sekunder

Hal tersebut sama dengan pendapat Madduluri (2013) menyatakan bahwa mekanisme kerja saponin terhadap bakteri menyebabkan kebocoran protein dan enzim didalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen yang menyebabkan saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membrane. Mekanisme alkaloid menurut Cavalieri (2013) menyatakan bahwa mengganggu dinding peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh menyebabkan kematian sel tersebut. Komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase bakteri.

Hasil pengujian senyawa terpenoid pada ekstrak daun alang-alang adalah terbentuknya warna merah yang menunjukan adanya senyawa terpenoid. Mariajancyrani (2013) menyatakan bahwa senyawa terpenoid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kekurangan dalam penelitian tersebut belum diketahui mengapa senyawa terpenoid dapat menghambat pembelahan bakteri. Menurut pernyataan Cowan (1999) yang menyatakan bahwa aktivitas terpenoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri tidak sepenuhnya dipahami, tetapi diduga melibatkan gangguan membran oleh senyawa lipofilik.

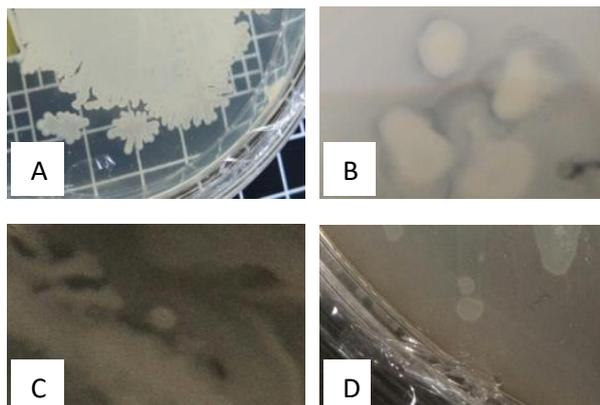
Hasil yang didapatkan dari uji fenol pada ekstrak daun alang-alang yaitu terbentuknya warna lembayung yang menunjukan ekstrak daun alang-alang positif mengandung fenol. Menurut Palczar dalam Rijayanti (2014) yang menyatakan bahwa mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga sel menjadi lisis.

Hasil yang didapatkan dari uji tanin ekstrak daun alang-alang yaitu terbentuknya warna biru-hijau. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun alang-alang positif mengandung tanin. Hal ini sama dengan pernyataan Marliana (2005) yang menyatakan bahwa terbentuknya endapan putih disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen antara gugus hidroksi tanin dengan gugus karbonil protein pada gelatin.

2. Isolasi Bakteri Endofit

Potongan daun alang-alang (tiga cm) yang telah steril diletakkan pada media NA steril, dan ditaruh didalam ruangan yang memiliki suhu dingin yaitu 16°C. Bakteri endofit sudah tumbuh disekitar daun alang-alang. Kondisi daun alang-alang menjadi coklat, disebabkan teroksidasi dan kehilangan kandungan air. Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi sebanyak empat isolat. Bakteri endofit tersebut diberi kode BE1, BE2, BE3, BE4. Morfologi isolat bakteri endofit yang diamati secara makroskopik menunjukkan morfologi yang berbeda-beda ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Morfologi koloni isolat BE1, BE3, dan BE4 memiliki bentuk koloni yang sirkular (bulat) sedangkan isolat BE2 memiliki bentuk koloni irregular (tidak beraturan). Elevasi yang dimiliki keempat isolat adalah flat atau datar. Tepi koloni dari isolat BE1, BE3, dan BE4 adalah *entire* atau bulat sempurna, sedangkan tepi koloni dari BE2 adalah *lobate*. Optikal dari isolat BE1 merupakan transparan, sedangkan BE2, BE3, BE4 memiliki optikal koloni yang moderat.



Gambar 2 Isolat bakteri endofit daun alang-alang
Keterangan :
A = Koloni Bakteri Endofit BE2, B = Koloni Bakteri Endofit BE4, C = Koloni Bakteri Endofit BE3, D = Koloni Bakteri Endofit BE1

3. Skrining Fitokimia Bakteri Endofit

Penapisan fitokimia terhadap isolat bakteri endofit bertujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang disintesis oleh isolat bakteri endofit. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun alang-alang mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan fenol. Berikut hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Hasil metabolit sekunder dari hasil fermentasi isolat bakteri endofit daun alang-alang menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan ekstrak daun alang-alang. Hal itu dikarenakan isolat bakteri endofit daun alang-alang

Tabel 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Fermentasi Isolat Bakteri Endofit Daun Alang-alang (*Imperata cylindrica*)

No	Nama Sampel Uji	Parameter	Senyawa Fitokimia	Total Fenol
1	BE1	Total Fenol	+ (Positif)	15,33 mg/l
		Flavonoid	+ (Positif)	
		Alkaloid	+ (Positif)	
		Saponin	+ (Positif)	
		Tanin	+ (Positif)	
2	BE2	Total Fenol	+ (Positif)	62,56 mg/l
		Flavonoid	+ (Positif)	
		Alkaloid	+ (Positif)	
		Saponin	+ (Positif)	
		Tanin	+ (Positif)	
3	BE3	Total Fenol	+ (Positif)	61,17 mg/l
		Flavonoid	+ (Positif)	
		Alkaloid	+ (Positif)	
		Saponin	+ (Positif)	
		Tanin	+ (Positif)	
4	BE4	Total Fenol	+ (Positif)	27,56 mg/l
		Flavonoid	+ (Positif)	
		Alkaloid	+ (Positif)	
		Saponin	+ (Positif)	
		Tanin	+ (Positif)	

Keterangan : + = Positif Mengandung Metabolit Sekunder Flavonoid, Alkaloid, Saponin, dan Tanin.

mengalami koevolusi dan transfer genetik metabolit sekunder dari daun alang-alang. Menurut Tan & Zou dalam jurnal Priyanto (2014) yang menyatakan bahwa mikroorganisme endofit yang hidup didalam tanaman dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder sama dengan inangnya yang diduga sebagai akibat koevolusi dan transfer gen (genetic recombination) dari tanaman inang ke mikroorganisme tersebut. Berdasarkan penelitian Seniwati (2009) yang

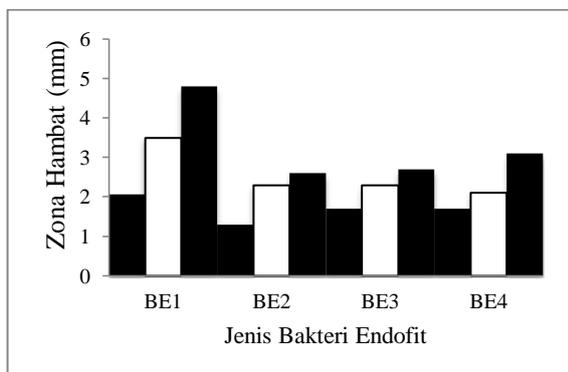
mengatakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh alang-alang yang mengandung senyawa aktif alkaloid, flavanoid, steroid, terpenoid, dan tanin. Hasil konsentrasi alkaloid yang terkandung pada tanaman alang-alang sebesar 0.02 gram setiap 2.5 gram sampel sedangkan kandungan flavonoid sedangkan pada alang-alang sebesar 0.22 gram.

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit tanaman alang-alang menunjukkan bahwa isolat BE1, BE2, BE3 dan BE4, memiliki aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif serta bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Alasan penggunaan bakteri ini sebagai pembanding, karena bakteri secara garis besar dikelompokkan berdasarkan susunan dinding selnya menjadi dua yaitu bakteri gram positif dan gram negatif.

4.1 Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Daun Alang-alang Terhadap *Escherichia coli*

Isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 memberikan hasil rata-rata zona hambat yang lemah terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu antara (1 mm – 4 mm), namun isolat bakteri endofit BE1 pada konsentrasi 40 ml menunjukkan respon hambatan terkuat (4.8 mm). Terbentuknya zona bening menandakan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri. Perbedaan zona bening yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan tiap isolat bakteri endofit.



Gambar 4.1 Perbedaan aktivitas zona hambat isolat bakteri endofit terhadap *Escherichia coli*

Diameter zona hambat yang terbentuk dari aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit pada konsentrasi 10 ml menunjukkan bahwa isolat BE1 memiliki presentase angka paling tinggi yaitu 2.06 mm daripada zona hambat antibakteri yang dihasilkan isolat bakteri endofit lainnya yang menunjukkan angka > 1 mm. Aktivitas zona hambat yang terbentuk dari BE1 pada konsentrasi 20 ml, dan 40 ml juga lebih tinggi daripada isolat bakteri endofit lainnya dengan angka 3.5 mm dan 4.8 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa banyaknya metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat bakteri endofit BE1. Metabolit sekunder yang terbentuk dikarenakan cepatnya pertumbuhan

bakteri endofit sehingga banyak menggunakan nutrisi pada media NA.

Isolat BE2 menunjukkan aktivitas zona hambat yang paling rendah pada konsentrasi 10 ml, dan 40 ml sebesar (1.3 mm, dan 2.6 mm), meskipun konsentrasi 20 ml memiliki rata-rata yang sama dengan isolat BE3, dan BE4 yaitu sebesar 2.3 mm. Hal ini menunjukkan rendahnya pertumbuhan isolat BE2 sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan berjumlah sedikit. Hal tersebut sama dengan pendapat Desriani (2014) yang menyatakan bahwa bakteri endofit yang menghasilkan diameter zona hambat yang sangat lemah, kemungkinan jumlahnya amat sangat sedikit sehingga sulit diamati dengan mata telanjang. Kedua, kemungkinan bakteri endofit tersebut hanya dapat menghasilkan senyawa antibakteri jika berinteraksi secara *in planta* dengan tanaman inangnya. Sehingga, saat bakteri endofit tersebut dipisahkan dari inangnya, kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri menjadi menurun atau justru hilang sama sekali.

Tabel 4.1. Zona hambat isolat bakteri endofit terhadap bakteri *Escherichia coli* (mm)

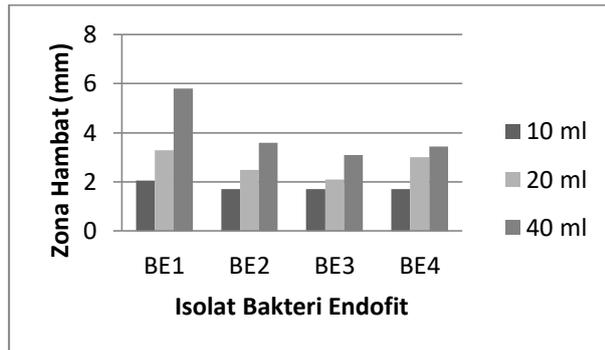
Isolat Bakteri	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
BE1	10 ml	2.06	Lemah
	20 ml	3.5	Lemah
	40 ml	4.8	Lemah
BE2	10 ml	1.3	Lemah
	20 ml	2.3	Lemah
	40 ml	2.6	Lemah
BE3	10 ml	1.7	Lemah
	20 ml	2.3	Lemah
	40 ml	2.7	Lemah
BE4	10 ml	1.7	Lemah
	20 ml	2.1	Lemah
	40 ml	3.1	Lemah

4.2 Zona Hambat Isolat Bakteri Daun Alang-alang terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil zona hambat Isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil zona bening yang berbeda-beda hasil rata-ratanya, namun memiliki angka yang tidak jauh berbeda dari respon zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Perbedaannya adalah terletak waktu inkubasi yang memerlukan 48 jam agar dapat terlihat aktivitas antibakterinya. Zona hambat yang terbesar diberikan oleh Isolat BE1 yaitu 5,8 mm terhadap *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan oleh Gambar 4.2.

Isolat bakteri endofit BE1 menunjukkan zona hambat yang paling besar daripada bakteri yang

lainnya, yaitu pada konsentrasi 10 ml memiliki nilai sebesar 2.05 mm, sedangkan BE2, BE3 dan BE4 hanya mampu menghambat < 2 mm. Isolat BE1 pada konsentrasi 20 ml mampu membentuk diameter zona hambat sebesar 3.5 mm, sedangkan BE2, BE3, dan BE4 hanya mampu menghambat 2.5 mm, 2.1 mm, dan 3 mm. Isolat BE1 pada konsentrasi 40 ml yang merupakan konsentrasi tertinggi mampu menghambat 5.8 mm, sedangkan BE2, BE3, dan BE4 hanya mampu membentuk diameter hambat 3.6 mm, 3.1 mm, 3.45 mm sebesar < 3.5 mm.



Gambar 4.2. Perbedaan aktivitas zona hambat isolat bakteri endofit terhadap *Staphylococcus aureus*

Isolat bakteri endofit BE1 menunjukkan zona hambat yang paling besar daripada bakteri yang lainnya, yaitu pada konsentrasi 10 ml memiliki nilai sebesar 2.05 mm, sedangkan BE2, BE3 dan BE4 hanya mampu menghambat < 2 mm. Isolat BE1 pada konsentrasi 20 ml mampu membentuk diameter zona hambat sebesar 3.5 mm, sedangkan BE2, BE3, dan BE4 hanya mampu menghambat 2.5 mm, 2.1 mm, dan 3 mm. Isolat BE1 pada konsentrasi 40 ml yang merupakan konsentrasi tertinggi mampu menghambat 5.8 mm, sedangkan BE2, BE3, dan BE4 hanya mampu membentuk diameter hambat 3.6 mm, 3.1 mm, 3.45 mm.

Kemampuan isolat bakteri endofit daun alang-alang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* menunjukkan nilai yang lebih tinggi daripada bakteri *Eshcerichia coli*. Hal tersebut ditunjukkan dengan kemampuan isolat BE1 pada konsentrasi 40 ml mampu menghambat dengan nilai 5.8 mm, sedangkan pada *Eshcerichia coli* hanya menghambat 4.8 mm. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan jenis gram bakteri antara *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Tabel 4.2. Rata-rata zona hambat hasil fermentasi bakteri endofit terhadap *Staphylococcus aureus* (mm)

Isolat Bakteri	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
BE1	10 ml	2.05	Lemah
	20 ml	3.3	Lemah
	40 ml	5.8	Lemah
BE2	10 ml	1.7	Lemah
	20 ml	2.5	Lemah
	40 ml	3.6	Lemah
BE3	10 ml	1.7	Lemah
	20 ml	2.1	Lemah
	40 ml	3.1	Lemah
BE4	10 ml	1.7	Lemah
	20 ml	3	Lemah
	40 ml	3.45	Lemah

Hasil penelitian membuktikan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang tidak mudah dihambat aktivitasnya oleh hasil metabolit sekunder daun alang-alang BE1, BE2, BE3, dan BE4. Hal tersebut dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dihambat pada waktu inkubasi 48 jam. Zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi tertinggi yaitu 40 µl dari BE1, BE2, BE3, dan BE4 sebesar (5.8 mm, 3.6 mm, 3.1 mm, 3.45 mm), sedangkan isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 pada konsentrasi 40 ml dalam waktu 24 jam menunjukkan diameter zona hambat sebesar (4.8 mm, 2.6 mm, 2.7 mm, 3.1 mm). Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena perbedaan jenis gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang tebal yaitu (15-80 nm) daripada bakteri gram negatif.

Kerentanan terhadap penisilin atau metabolit sekunder terhadap *Staphylococcus aureus* dianggap lebih rentan daripada bakteri gram negatif. Hal tersebut dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan dari isolat BE1, BE2, BE3 dan BE4 pada konsentrasi 40 ml sebesar (5.8 mm, 3.6 mm, 3.1 mm, 3.45 mm) yang lebih besar daripada zona hambat *Escherichia coli* yaitu sebesar (4.8 mm, 2.6 mm, 2.7 mm, dan 3.1 mm). Hal tersebut didukung oleh pendapat Pelzhar dan Chan (2008) yang menyatakan bahwa gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal (15.80 nm) sedangkan gram negatif lebih tipis (10-15 nm). Komposisi kandungan lipid pada gram negatif lebih sedikit yaitu (1-4%), sedangkan gram negatif (11-22%). Peptidoglikan pada gram positif ada sebagai lapisan tunggal, dan komponen utama lebih dari 50%, berat kering pada beberapa sel bakteri, dan memiliki asam tekoat. Gram negatif memiliki

peptidoglikan yang terletak didalam dan jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering, dan tidak memiliki asam tekoat. Gram positif lebih rentan terhadap penisilin sedangkan gram negatif kurang rentan. Gram positif lebih resisten sedangkan gram negatif kurang resisten.

Beberapa isolat bakteri endofit menunjukkan aktivitas yang lemah dalam menghambat kedua bakteri uji yang diujikan. Bakteri endofit tersebut kemungkinan mampu menghasilkan senyawa antibakteri namun dalam jumlah sedikit. Isolat yang didapatkan belum diketahui secara pasti spesiesnya. Hal ini dikarenakan tujuan utama penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri endofit yang berpotensi menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji tersebut.

KESIMPULAN

Bakteri endofit yang diisolasi dari daun alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebanyak empat isolat dengan kode BE1, BE2, BE3, dan BE4. Isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 memberikan hasil positif terhadap uji alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin. Sedangkan total fenol yang didapat BE1, BE2, BE3 dan BE4 adalah 15,33 mg/l; 62.56 mg/l; 61,17 mg/l; 27,56 mg/l. Uji aktivitas antibakteri isolat BE1, BE2, BE3, dan BE4 menunjukkan mampu menghambat *Escherichia coli* dengan respon hambatan lemah yaitu dari (1 – 4,8 mm), sedangkan *Staphylococcus aureus* dengan respon hambatan lemah berkisar dari (1 – 5,8 mm).

DAFTAR PUSTAKA

Cavalieri S. J., Harbeck R.J., McCarter Y.S., Ortez J.H., Rankin I.D., Sautter R.L., Sharp S.E., and Spiegel C.A. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Department of Laboratory Medicine and Microbiology. Washington; University of Washington.

Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Journal Microbiology Reviews* 12(4): 564-582

Desriani, Safira U.M., Bintang M., Rivai A., Lisdiyanti P. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Ketapang China. *Jurnal Universitas Mulawarman*. Samarinda : Universitas Mulawarman.

Elfidasari D. 2011. Perbandingan Kualitas Es Di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia Dengan Restoran Fast Food Di Daerah Senayan Dengan Indikator Jumlah *Escherichia Coli* Terlarut Pada Tahun

2014. *Jurnal Al Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi* 3(1): 18-23.

Estrada J.A., Flory S.R. 2015. Cogongrass (*Imperata Cylindrica*) Invasions in The US: Mechanism, Impact, and Threats to Biodiversity. *Journal Ecology and Conservation*. ISSN : 2351-9894.

Hidayat S., Bakar M.S.A., Yang Y., Phusunti N. 2018. Characterisation PYGC analysis of *Imperata Cylindrica* As Potential Biomass For Bio-Oil Production in Brunei Darussalam. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* hal. 510-519.

Harbrone J.B. 1987. Metode Fitokimia. *Journal Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*.

Hoffman, D. 2003. Medical Herbalism. *Journal The Science and Practice of Herbal Medicine* hal. 101-103.

Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII, 327-335, 362-363. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

Kassim A. 2016. Potential of Cogon Grass (*Imperata cylindrica*) As an Alternatif Fibre in Paper-Based in Paper-Based Industri. *ARPN Journal of Engineering and Applied Science* Vol 11(4).

Kumala W. 2006. *Mikologi Dasar Kedokteran*. Jakarta: Universitas Trisakti.

Lakitan B. 2007. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.

Madmariajancyrani J., Chandramohan G., Saravanan, dan Elayaraja A. 2013. Isolation and Antibacterial Activity of Ternepoid from Bougainvillea Glabra Choicy Leaves. *Assian Journal of Plant Science and Reasearch* 3(3):70-73.

Madduliri S., Rao K., Babu. Sitaram B. 2013. In Vitro Evaluation of Five Indegenous Plants Extract Againts Five Bacterial Phatogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 5(4); 679-684.

Marliana S.D., Suryani V. Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi* 3 (1), 26-31.

Mulyadi M., Wuryanti W., Sarjono P.R. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi UNDIP*. Vol. 20, No 3. Semarang, Indonesia.

Parija S.C. 2009. *Textbook of Microbiology and Immunology*. *Journal Elsevier* hal. 41-44.

- Parwata I.M.O.A. 2016. *Flavonoid, Buku Ajar Kimia Organik*. Denpasar : Universitas Udayana Press.
- Perkasa A.Y., Siswanto T., Shintarika F., Aji T.G. 2017. Studi identifikasi Stomata pada Kelompok Tanaman C3, C4, dan CAM. *Jurnal Pertanian Presisi* 1(1): 59-72.
- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Prasetyo H., Zaman S. 2016. Pengendalian Gulma Perkebunan Kelapa Sawit (*Elaris guineensis* Jacq.) di Perkebunan Padang Halaban. Sumatera Utara. *Journal of Bogor Agricultural University* vol.4, No. 1. Hal. 87-93
- Pratiwi, S.T. 2009. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga Press; Jakarta.
- Prescott L.M. 2002. *Prescott-Harley-Klein: Microbiology Sth Edition*. USA: The McGrawth-Hill Companies.
- Priyanto S., Rumella, Sylvia L, Harmastini S. 2014. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Journal Berk Penel Hayati* (13): 85- 90.
- Pusat Penelitian Kelapa Sawit. 2010. *Budi Daya Kelapa Sawit*. Jakarta (ID): PT Balai Pustaka.
- Rijayanti R.P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Magnifera foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. Naskah Publikasi. Universitas Tanjungpura.
- Rostinawati T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. *Universitas Padjajaran Press: Jatinagor*.
- Ruslin, Dhianawaty D. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang). *Jurnal MKB* vol. 47, No 1, hal. 60-64.
- Sainsbury D., Singleton P. 2006. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3th Edition*. England: Jhon Wiley and Sons. Ltd.
- Saraswati dan Sumarno. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayat*. Bogor : Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Seniwati, Raihanah, Nugraheni I.K, Umaningrum D. 2009. Skrining Fitokimia Dari Alang-alang (*Imperata cylindrica L. Beauv*) dan Lidah Ular (*Hedyotis Corymbosa L.Lamk*). *Journal Sains and Chemistry application*. Volume 3, Nomor 2, July 2009, halaman 124-133.
- Setyamidjaja, D. 2006. *Seni Budi Daya, Kelapa Sawit*. Yogyakarta (ID): Kanisius.
- Sudjadji. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Kanisius; Yogyakarta.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. ISBN : 978-602-8915-50-2. UNESA Press.
- Syakir M., Bintoro M.H., Agusta H., Hermanto. 2008. Pemanfaatan Limbah Sagu Sebagai Pengendalian Gulma Pada Lahan Perdu. *Jurnal Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik* vol. 14, Nomor 3, ISSN: 0853 – 8212. Hal. 107-112.
- Tahir M., Muflihunna A., dan Syafiranti. 2016. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth.*) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia, Vol. 4 No.1*.
- Tan R.X., Zou W.X. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Journal Nat. Prod* vol.18 : 448.
- Trivedi P., Pandey S., Bhadauria S. 2010. *Text of microbiology*. Aavishkar Publishers. ISBN 978-81-7910-306-7. Jaipur; india.
- United State Departemen of Agriculture. 2019. *Classification of Imperata cylindrica (L.) P. Beauv.* <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=IMCY>. 5 Februari 2019.