

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri merupakan makhluk hidup yang bersifat kosmopolitan, yaitu paling banyak jumlahnya dan tersebar luas hampir di semua tempat seperti di makanan, tanah, air, udara, dalam tubuh makhluk hidup, dan bahkan di tempat yang sangat ekstrim seperti di dalam magma (Win *et al.*, 2014). Bakteri dapat menyebabkan berbagai bahaya dan kerusakan. Hal itu nampak dari kemampuannya menimbulkan bermacam-macam penyakit/infeksi dengan cara menginvasi dan berkembang biak dalam jaringan tubuh (El-Said dan Ashgar, 2012).

Menurut Sari *et al.* (2009), angka kematian pasien di Indonesia akibat infeksi bakteri patogen telah mencapai lebih dari 50%. Diantaranya bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Escherichia coli* yang dapat mengakibatkan gangguan intestinal dan infeksi saluran kemih (Prescott, 2008), serta *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan *Central Nervous system* (CNS) (DeLeo *et al.*, 2010).

Indonesia sebagai salah satu negara yang memiliki biodiversitas yang sangat tinggi, menyediakan banyak sumber daya alam hayati yang tak ternilai jumlahnya, mulai dari bakteri, jamur, tumbuhan, hingga hewan. Tumbuhan merupakan salah satu sumber yang penting dalam menghasilkan obat-obatan. Ada sekitar 38.000 jenis tumbuhan yang hidup di Indonesia dengan 1.260 jenis diantaranya merupakan tanaman obat (Departemen Kehutanan Indonesia, 2007). Salah satu penyebab tumbuhan dapat menghasilkan obat-obatan karena tumbuhan mengandung senyawa bioaktif (Mahidol *et al.*, 2002). Senyawa bioaktif yang menghasilkan obat-obatan memiliki efektivitas tinggi dalam mengatasi infeksi bakteri, virus, fungi dan parasit lainnya. Salah

Giri Endah Anggraeni, 2017

POTENSI ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT AKAR TANAMAN OBAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Universitas Pendidikan Indoenesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

satu tumbuhan obat yang memiliki senyawa bioaktif tersebut yaitu *Ageratum conyzoides* L. (Esper *et al.*, 2015) dan *Vetiveria zizanioides* L. (Snigdha *et al.*, 2013).

Selain tumbuhan ternyata senyawa bioaktif juga dihasilkan oleh mikroorganisme endofit yang berada di dalam tumbuhan itu sendiri (Koberi *et al.*, 2013). Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit bagi tanaman tersebut (Malfanove, 2013). Hal ini disebabkan oleh simbiosis mutualisme yang terjadi diantara keduanya. Pada hal ini bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman, sedangkan tanaman mendapatkan senyawa aktif untuk memproteksi serangan mikroba patogen tanaman (Bacon *et al.*, 2006). Menurut Garcia *et al.* (2012), bakteri endofit berkontribusi untuk melindungi tanaman inangnya dari serangan hama dan mikroorganisme patogen dengan cara menghasilkan senyawa metabolit sekunder.

Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, beragam produk alami molekul bioaktif berukuran kecil telah ditemui dalam mikroorganisme endofit ini. Lebih dari 230 metabolit sekunder terisolasi dan diidentifikasi dari 70 strain lebih mikroorganisme tumbuhan (Gunatilaka, 2006). Menurut Menpaara dan Chanda (2013), metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit terkandung dalam supernatan dan merupakan sumber senyawa antimikroba serta agen biologis dalam pengendalian penyakit pada tanaman. Ahamed (2012) juga menegaskan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit terkandung dalam supernatan. Tomita (2003) menyebutkan bahwa sebesar 10-30% bakteri endofit menunjukkan aktivitas antibakteri dalam supernatan.

Salah satu jenis senyawa metabolit sekunder dari bakteri endofit yang telah banyak dikembangkan adalah antibiotik (Berdy, 2005). Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan

toksitasnya bagi manusia relatif kecil (Tjay & Rahardja, 2007). Penggunaan antibiotik ini melebihi 40.000 ton / tahun, baik digunakan dalam industri pangan, pakan, pertanian, kesehatan, biokimia, genetika, dan biologi molekuler (Margino, 2008). Kemampuan bakteri endofit untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sesuai dengan tanaman inangnya merupakan salah satu peluang yang sangat besar untuk memproduksi antibiotik. Hal ini terjadi karena mikroba endofit merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan dengan daya regenerasi yang tinggi, dan memiliki siklus hidup yang pendek dibandingkan dengan tumbuhan inangnya sehingga dapat menghemat waktu produksi dan jumlah senyawa antibakteri yang diproduksi dapat dibuat dalam skala besar tanpa menggunakan ruang yang luas (Prihatiningtias dan Wahyuningsi, 2011). Menurut Simanjuntak *et al.*, (2002), penggunaan bakteri sebagai sumber suatu produk hayati seperti penghasil antibiotik mempunyai proses produksi yang lebih mudah dan biaya produksi yang lebih rendah, serta dapat menjaga kelestarian tanaman inangnya, terutama jenis tumbuhan langka, agar tidak tereksploitasi secara terus menerus. Radji (2005), menyatakan pula bahwa penggunaan bakteri sebagai sumber antibiotik pada akhirnya akan menghasilkan produk dengan harga lebih murah.

Bakteri endofit banyak hidup di jaringan akar tanaman. Meskipun demikian bakteri endofit juga tumbuh di jaringan lain seperti batang dan daun (Paul *et al.*, 2013). Bakteri endofit yang hidup di dalam tanaman *A. conyzoides* L diantaranya dari genus *Pseudomonas* dan *Shewanella* (Fitriani *et al.*, 2015)., sedangkan bakteri endofit pada tanaman *V. zizanioides* L. diantaranya dari genus *Pseudomonas*, *Serratia*, dan *Duganella* (Pontieri *et al.*, 2005). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada *V. zizanioides* budidaya telah dilakukan oleh Fitriani *et al.*, (2013). Dalam penelitian tersebut ditemukan bahwa bakteri-bakteri endofit pada tanaman budidaya *V. zizanioides* memiliki gen ketosintase yang mengekspresikan enzim

ketosintase. Enzim ini berfungsi untuk merangkai senyawa antibiotik (Fitriani *et al.*, 2013).

Di Indonesia penelitian tentang bakteri endofit ternyata sudah cukup banyak dilakukan sebelumnya, diantaranya Simarmata *et al.* (2007) tentang isolasi mikroba endofit dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan beberapa mikroba. Ada pula penelitian tentang aktivitas antibakteri dari endofit tanaman mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang dilakukan oleh Utami *et al.* (2011). Dari penelitian-penelitian di atas dapat diketahui bahwa metabolit sekunder bakteri endofit dari suatu tanaman mempunyai kemampuan yang baik sebagai zat antimikroba.

Pengukuran sensitifitas mikroorganisme terhadap suatu zat antimikroba dapat dilakukan dengan berbagai metode, diantaranya yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi dinilai lebih efektif dibanding dengan metode difusi karena dapat digunakan untuk mendapatkan MIC (*Minimum inhibition concentration*) dan MBC (*Minimum bactericidal concentration*) suatu agen antimikroba. MIC merupakan konsentrasi terendah antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan MBC adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% pada biakan selama waktu yang ditentukan (Altun *et al.*, 2014). Kelebihan dari metode ini adalah memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan secara bersama-sama. MIC dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi dan dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba (Sennang *et al.*, 2011). Kelebihan lain dari metode dilusi ini adalah memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik difusi, yaitu sekitar 30 kali lebih sensitif (Langfield *et al.*, 2004). Teknik ini juga dapat digunakan untuk beberapa sampel yang berbeda dengan jumlah sampel yang sedikit, serta tidak membutuhkan waktu yang lama karena pengujian dilakukan dalam waktu

satu kali pada suatu *microplate* dengan jumlah sumur yang banyak. Metode mikrodilusi ini dapat digunakan untuk berbagai macam mikroorganisme, murah, dan menghasilkan hasil dapat diulang (Baris *et al.*, 2006).

Permatasari (2011) dan Ihsan (2013) berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi isolat bakteri endofit dari akar tanaman *A. conyzoides* L. dan *V. zizanioides* L., yang kemudian diidentifikasi secara molekuler oleh Rosika (2015), yakni *Acinetobacter* sp. (isolat M), *Pseudomonas aeruginosa* (isolat O), *Pantoea* sp. (isolat H), *Pantoea* sp. (isolat I13), *Klebsiella pneumonia* (isolat I14), *Staphylococcus equorum* (isolat B14), dan *Staphylococcus* sp. (isolat B15). Berdasarkan fakta-fakta tentang potensi bakteri endofit yang telah dipaparkan, muncul dugaan bahwa ke-7 isolat bakteri endofit tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai potensi antibakteri dari supernatan bakteri endofit *A. conyzoides* L. dan *V. zizanioides* L. terhadap bakteri patogen (*E. coli* dan *S. aureus*).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang di atas maka rumusan masalah untuk penelitian ini adalah : Bagaimana potensi antibakteri dari bakteri endofit akar tanaman *A. conyzoides* L. dan *V. zizanioides* L. terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?

C. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut dapat diuraikan beberapa pertanyaan penelitian, yaitu:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri dari supernatan isolat bakteri endofit M, O, H, I13, I14, B14, dan B15 terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus*?

2. Berapa nilai *Minimum Inhibitory Concentration* dan *Minimum Bactericidal Concentration* dari supernatan isolat M, O, H, I13, I14, B14, dan B15 terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*?

D. Batasan Masalah

Untuk memfokuskan ruang lingkup penelitian, pembatasan dilakukan pada parameter sebagai berikut :

1. Tanaman obat yang digunakan ialah *V. zizanioides* L dan *A. conyzoides* L.
2. Senyawa antibakteri yang diujikan ialah supernatan dari isolat bakteri endofit dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.
3. Sampel bakteri uji yang dijadikan parameter adalah *E. coli* InaCC BP2 dan *S. aureus* InaCC B-286.

E. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini diantaranya ialah:

1. Menganalisis aktivitas antibakteri dari supernatan yang diduga mengandung metabolit sekunder pada isolat bakteri endofit M, O, H, I13, I14, B14, dan B15 terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus*.
2. Menganalisis nilai *Minimum Inhibitory Concentration* dan *Minimum Bactericidal Concentration* dari supernatan isolat M, O, H, I13, I14, B14, dan B15 terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*

F. Manfaat

Manfaat praktis dan teoritis yang dapat diambil dari penelitian ini diantaranya :

- a. Membuka wawasan dan memberikan informasi tentang potensi antibakteri yang dihasilkan oleh isolat M, O, H, I13, I14, B14, dan B15.

- b. Sebagai pustaka dalam pengembangan penelitian selanjutnya, juga dalam pengembangan produk antibakteri dari metabolit sekunder bakteri endofit pada akar tanaman *A. conyzoides* L. dan *V. zizanioides* L.
- c. Dapat diaplikasikan sebagai sumber senyawa antibakteri untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh *E. coli*, dan *S. aureus* pada manusia.

G. Struktur Organisasi Skripsi

Bab I berisi tentang latar belakang, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, tujuan, serta manfaat dari penelitian ini. Latar belakang dari penelitian ini ialah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit yang secara alami hidup dalam jaringan tanaman. Terdapat beberapa batasan masalah dalam penelitian ini yang dimaksudkan agar penelitian ini menjadi fokus untuk dapat menjawab rumusan masalah yang muncul. Sehingga hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber senyawa antibakteri alami yang dapat dijadikan obat.

Bab II berisi tentang kajian pustaka mengenai hal-hal yang berkaitan dengan penelitian ini, termasuk objek penelitian dan beberapa literatur yang menjelaskannya. Bagian ini merupakan lanjutan dari Bab I yang mengandung berbagai teori yang telah ada sebelumnya dan dipaparkan secara detail sehingga dapat membuka wawasan mengenai objek yang ada dalam penelitian ini. Kajian pustaka mengandung bahasan tentang *A. conyzoides*, *V. zizanioides*, *E. coli*, *S. aureus*, metabolit sekunder, dan senyawa antibakteri. Kajian pustaka digunakan sebagai pembanding antara temuan yang didapatkan dalam penelitian ini dengan teori yang telah ada sebelumnya.

Bab III merupakan bagian prosedural yang menjelaskan secara detail mengenai langkah-langkah penelitian yang telah dilakukan. Mulai dari tahap persiapan, tahap penelitian, hingga tahap penulisan skripsi. Setiap tahap

penelitian yang dilakukan ini menghasilkan berbagai temuan yang selanjutnya akan dibahas dalam Bab IV sebagai temuan dan bahasan mengenai temuan tersebut.

Bab IV ini membahas secara detail dan menyeluruh tentang temuan yang didapatkan dari penelitian. Beberapa temuan yang didapatkan dari penelitian ini diantaranya ialah hasil uji antagonis isolat bakteri endofit terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode difusi cakram, dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode mikrodilusi cair. Maka dari itu bagian ini merupakan bagian yang paling pokok dalam skripsi. Temuan yang didapatkan kemudian dibandingkan kebenarannya dengan teori-teori yang telah ada sebelumnya, yang juga tercakup dalam Bab II.

Bab V merupakan bagian akhir dari skripsi yang berisi simpulan, implikasi, dan rekomendasi dari penelitian yang telah dilakukan. Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dari lima isolat bakteri endofit tanaman *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil penelitian yang telah dilakukan ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk mengembangkan produk antibakteri yang bersifat alami. Namun akan lebih baik lagi apabila penelitian ini dilanjutkan dengan penelitian lanjutan mengenai MIC dari isolat bakteri endofit ini dengan rentang MIC yang lebih diperkecil lagi. Sehingga nilai MIC yang diketahui benar-benar akurat.