

---

# Isolation of Endophyte Bacteria From The Stem Of *Taxus* (*Taxus sumatrana*) And Testing Its Potential As an Antimicrobial Compound Produce

## Isolasi Bakteri Endofit Dari Batang Tumbuhan *Taxus* (*Taxus sumatrana*) Dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba

Nanda Salma Rihadatul Aisy<sup>1</sup>, Dwi Hilda Putri<sup>2</sup>, Linda Advinda<sup>3</sup>, Violita<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

\*Correspondence author: [dwihildaputri.08@gmail.com](mailto:dwihildaputri.08@gmail.com)

### Abstract

Indonesia as a country that has an abundance of flora. Most of the flora that grows is used as a medicinal plant. Types of drugs that are being developed are antimicrobial drugs. A plant that is currently being widely studied to produce antimicrobial compounds is *Taxus sumatrana*. *Taxus* plants have *phenolic* compounds, *lignans*, and *flavonoids*. One way to obtain these compounds is by isolating endophytic bacteria. The aim of this study was to isolate endophytic bacteria from *T. sumatrana* stems and test their potential as antimicrobial compounds. *Taxus* stems were surface sterilized using 1% and 2% hypochlorite. The sterilized tissues were grown in NA medium for 48 hours at room temperature. The growing bacteria were identified by macroscopic and microscopic methods. Antimicrobial activity test was carried out using the inoculation point diffusion method. The results obtained were 2 isolates that could inhibit the growth of *E. coli*. There were 22 isolates of bacteria that were successfully isolated, 2 of which were BKB3 (2) and BBB1 (1) which could inhibit the growth of *E. coli* with a low inhibition zone.

**Keywords;** *Endophytic bacteria, Taxus sumatrana, Antimicrobial*

### Abstrak

Indonesia sebagai salah satu negara yang mempunyai kelimpahan floranya. Sebagian besar flora yang tumbuh digunakan sebagai tumbuhan obat. Jenis obat yang sedang banyak dikembangkan adalah obat antimikroba. Tumbuhan yang sedang banyak diteliti untuk menghasilkan senyawa anti mikroba saat ini adalah *Taxus sumatrana*. Tumbuhan *Taxus* memiliki senyawa *fenolik*, *lignan*, dan *flavonoid*. Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa tersebut dengan cara mengisolasi bakteri endofit. Tujuan dari penelitian ini untuk mengisolasi bakteri endofit dari batang *T. sumatrana* dan uji potensinya sebagai senyawa antimikroba. Batang tumbuhan *Taxus* di sterilisasi permukaan menggunakan hipoklorit 1% dan 2%. Jaringan yang telah disterilisasi ditumbuhkan pada medium NA selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh diidentifikasi dengan cara makroskopis dan mikroskopis. Uji aktivitas anti mikroba dilakukan dengan metode difusi inokulasi titik. Hasil yang didapatkan sebanyak 2 isolat yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Bakteri yang berhasil diisolasi sebanyak 22 isolat, 2 diantaranya BKB3 (2) dan BBB1 (1) yang bisa menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan zona hambat rendah.

**Kata kunci;** *Bakteri endofit, Taxus sumatrana, Antimikroba*

# Pendahuluan

Indonesia terkenal dengan kelimpahan floranya. Sebagai salah satu negara yang memiliki kelimpahan flora yang tinggi, Indonesia mempunyai ribuan kelompok tumbuhan yang harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik. Kelimpahan flora di Indonesia sebagian besar dapat digunakan sebagai tumbuhan obat (Poeloengan et al., 2006).

Jenis obat yang banyak dikembangkan adalah obat antimikroba. Salah satu tumbuhan yang sedang banyak diteliti untuk menghasilkan sumber antimikroba baru adalah *Taxus sumatrana*. *Taxus* memiliki senyawa yang terkandung di dalamnya yaitu *fenolik*, *lignan*, dan *flavonoid* (Gai et al., 2020). Cara yang efisien untuk mendapatkan senyawa bioaktif tersebut adalah dengan cara mengisolasi bakteri endofit (Simarmata et al., 2007).

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang menghuni dan hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan penyakit atau gangguan pada inangnya. Bakteri endofit dapat berperan sebagai penyedia unsur hara, pengendali hama dan dapat membantu proses metabolise sekunder di dalam sel tumbuhan (Bacon & Hinton, 2006). Interaksi antara bakteri endofit dengan tumbuhan inang bersifat mutualime.

Pemanfaatan bakteri endofit dari tumbuhan *T. sumatrana* dapat menghasilkan senyawa antikanker dari penelitian Iszkuło et al., (2013), yang melaporkan bahwa *taxol* berpotensi sebagai antikanker. Informasi mengenai mikroba endofit *T. sumatrana* penghasil senyawa antimikroba terbatas.

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, maka akan dilakukan penelitian mengisolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan *Taxus sumatrana* dan uji potensinya sebagai penghasil senyawa antimikroba.

## Bahan dan Metode

### Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari Juni- Desember 2022 di Laboratorim Penelitian Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Jenis penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit pada batang tumbuhan *T. sumatrana* dan menguji potensinya sebagai penghasil senyawa antimikroba.

### Sampel Batang *Taxus*

Sampel batang *Taxus* diambil dari Gunung Singgalang, Pandai Sikek, Kecamatan X Koto, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat. Bagian batang yang digunakan, batang ranting dan batang utama.

### Sterilisasi Permukaan Batang *Taxus*

Jaringan batang *Taxus* dipotong 1x1 cm. Jaringan disterilisasi permukaan menggunakan alkohol 70% selama 1 menit. Potongan jaringan dicuci menggunakan *aquadest* steril, sampel dimasukkan ke dalam larutan hipoklorit selama 2 menit (Yandila et al., 2018). Selanjutnya jaringan dikeringkan dan direndam dengan alkohol 70% selama 30 detik dan dicuci kembali dengan *aquadest* steril dan dikeringkan (Sari K et al., 2013). Sampel dicuci menggunakan *aquadest* steril dan dikeringkan menggunakan tisu pada saat pergantian larutan (Handayani et al., 2020).

### Isolasi dan Permurnian Bakteri Endofit

Jaringan batang yang sudah disterilisasi permukaan diinokulasikan pada medium NA, dengan cara 3-4 potongan jaringan batang diletakkan ke dalam *petri dish*, selanjutnya medium diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh dimurnikan secara bertahap. Pemurnian bakteri endofit menggunakan metode *streak plate* (Cappuccino, 2014). Koloni yang sudah murni disimpan dalam stok kultur (Putri et al., 2018).

### Identifikasi Bakteri Endofit

Identifikasi bakteri endofit dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berupa koloni, warna, tepian, dan elevasi koloni bakteri. Setiap koloni yang berbeda diamati menggunakan mikroskop stereo dan difoto untuk dokumentasi (Pranoto et al., 2014).

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan teknik pewarnaan gram (Afifah et al., 2018). Bakteri yang sudah diwarnai diamati di bawah mikroskop binokuler untuk mengamati jenis gram bakteri (positif atau negatif) (Pelczar dan Chan, 2005).

### Uji Aktivitas Antimikroba

Uji potensi senyawa antimikroba terhadap mikroba uji bertujuan untuk melihat potensi bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Uji potensi senyawa antimikroba dilakukan dengan metode difusi inokulasi titik. Tahap pertama untuk uji ini adalah membuat suspensi mikroba uji (*S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*) masing-masing suspensi disetarakan standar *McFarland's 0,5* menggunakan *spektrofotometer* (Irdawati *et al.*, 2017). Suspensi mikroba uji diinokulasikan ke medium (NA untuk bakteri dan PDA untuk jamur) dengan metode inokulasi titik dan dikultur selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

Aktivitas antimikroba ditentukan dengan terbentuknya zona bening. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan zona bening menggunakan rumus :

$$d = \text{rata-rata } dB - \text{rata-rata } Da$$

dimana :

d = diameter zona hambat

dA = diameter zona koloni bakteri

dB = diameter zona bening (Hudzicki, 2012).

## Hasil dan Pembahasan

### Pengamatan Secara Makroskopis

Penelitian ini berhasil mengisolasi 22 isolat bakteri endofit dari batang *Taxus*. Karakterisasi dan morfologi dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Pengamatan Makroskopis Bakteri Endofit Batang *Taxus*

Kode Isolat	Identifikasi Morfo logi	Kode Isolat	Identifikasi Morfologi	Kode Isolat	Identifikasi Morfologi	
BKB3 (1)	Bentuk: Irregular Elevasi : Raised Warna : Kuning Tepian: Undulate	BKB3 (2)	Bentuk: Circular Elevasi: Raised Warna : Kuning	BKB3 (3)	Bentuk: Irregular Elevasi : Flat Warna : Kuning Tepian : Undulate	<p>Keterangan: BKB (<i>batang kecil ranting</i>) BBA (<i>batang besar</i>)</p> <p>Berdasarkan data diatas isolat bakteri endofit banyak ditemukan pada batang besar. Sampel tersebut diperoleh dari batang kecil bagian ranting dan batang utama. Menurut</p>
BKB3 (4)	Bentuk: Circular Elevasi : Raised Warna : Cream Tepian : Entire	BKB3 (5)	Bentuk : Spindle Elevasi : Raised Warna : Cream Tepian : Entire	BKB3 (6)	Bentuk : Spindle Elevasi : Raised Warna : Cream Tepian : Entire	
BKA3 (1)	Bentuk : Irregular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Undulate	BKA3 (2)	Bentuk: Irregular Elevasi : Flat Warna : Cream Tepian: Undulate	BKA3 (3)	Bentuk : Irregular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Undulate	
BKA3 (4)	Bentuk : Irregular Elevasi : Flat Warna : Cream Tepian : Undulate	BKA3 (5)	Bentuk : Circular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Entire	BKA3 (6)	Bentuk : Irregular Elevasi : Raised Warna : Cream Tepian : Undulate	
BKA3 (7)	Bentuk : Circular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Entire	BKA3 (8)	Bentuk : Circular Elevasi : Raised Warna : Putih Tepian : Entire	BBB1 (1)	Bentuk : Irregular Elevasi : Raised Warna : Kuning Tepian : Undulate	
BBB1 (2)	Bentuk : Irregular Elevasi : Raised Warna : Kuning Tepian : Undulate	BBB1 (3)	Bentuk: Irregular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian: Undulate	BBB1(4)	Bentuk : Circular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Entire	
BBB1 (5)	Bentuk : Irregular Elevasi : Raised Warna : Putih Tepian : Undulate	BBB1 (6)	Bentuk : Circular Elevasi : Flat Warna : Putih Tepian : Entire	10 <sup>-4</sup> BBA1 (1)	Bentuk : Irregular Elevasi : Raised Warna : Cream Tepian : Undulate	
10 <sup>-4</sup> BBA1 (2)	Bentuk : Circular Elevasi : Flat Warna: Putih Susu Tepian : Entire					

Park *et al.*, (2012), umur tumbuhan menjadi salah satu faktor bahwa populasi bakteri endofit pada bagian tumbuhan yang lebih tua lebih banyak ditemukan dibandingkan bagian tumbuhan muda. Hasil penelitian Pranoto *et al.*, (2014), menyatakan bakteri endofit dapat hidup pada batang, daun dan akar disetiap jaringan tua maupun muda. Menurut Sulistiyani & Lisdiyanti, (2016), sebanyak 50% bakteri endofit ditemukan pada bagian batang tumbuhan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Afifah *et al.*, (2018), berhasil mengisolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan Andalas, dimana populasi bakteri endofit yang lebih banyak pada jaringan batang tua daripada jaringan batang muda.

### PengamatanSecaraMikroskopis

Pengamatan mikroskopis mendapatkan 14 bakteri gram positif dan 8 bakteri gram negatif. Sebagian isolat yang berhasil di isolasi sebagian besar berbentuk *bacil*. Pada proses pewarnaan gram ini menggunakan kontrol dari bakteri *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif).Hasil dari pewarnaan gram didukung oleh penelitian Afifah *et al.*, (2018), bahwa pada isolat bakteri dari batang tumbuhan Andaleh banyak mendapatkan bakteri gram positif. Penelitian dari Hidayati, (2019), isolat bakteri dari batang tumbuhan kamboja putih (*Plumeria acuminata*Ait) mendapatkanbakteri gram positif. Bentuk sel dan jenis gram bakteri endofit *Taxus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan Mikroskopis Bakteri Endofit Batang *Taxus*

Nama Isolat	Pengamatan Mikroskopis		Nama Isolat	Pengamatan Mikroskopis	
	Bentuk sel	Gram		Bentuk sel	Gram
BKB3 (1)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	BKA3 (6)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)
BKB3 (2)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	BKA3 (7)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)
BKB3 (3)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)	BKA3 (8)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)
BKB3 (4)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)	BBB1 (1)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKB3 (5)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)	BBB1 (2)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKB3 (6)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)	BBB1 (3)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKA3 (1)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	BBB1 (4)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKA3 (2)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	BBB1 (5)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKA3 (3)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	BBB1 (6)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKA3 (4)	<i>Bacil</i>	Positif (+)	10 <sup>-4</sup> BBA1 (1)	<i>Coccus</i>	Positif (+)
BKA3 (5)	<i>Bacil</i>	Negatif (-)	10 <sup>-4</sup> BBA1 (2)	<i>Coccus</i>	Positif (+)

### Uji Aktivitas Antimikroba

Pada uji aktivitas antimikroba didapatkan hasil dengan Sebagian besar bakteri endofit dari batang *Taxus* tidak memiliki aktivitas antimikroba. Hasil uji aktivitas antimikroba dari bakteri endofit batang *Taxus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Kode isolat	Diameter zona hambat			Kode isolat	Diameter zona hambat		
	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C.albicans</i>		<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C.albicans</i>
BKB3 (1)	-	-	-	BKA3 (6)	-	-	-
BKB3 (2)	-	4,7 mm	-	BKA3 (7)	-	-	-
BKB3 (3)	-	-	-	BKA3 (8)	-	-	-
BKB3 (4)	-	-	-	BBB1 (1)	-	4,7 mm	-
BKB3 (5)	-	-	-	BBB1 (2)	-	-	-
BKB3 (6)	-	-	-	BBB1 (3)	-	-	-
BKA3 (1)	-	-	-	BBB1 (4)	-	-	-
BKA3 (2)	-	-	-	BBB1 (5)	-	-	-
BKA3 (3)	-	-	-	BBB1 (6)	-	-	-
BKA3 (4)	-	-	-	10 <sup>-4</sup> BBA1 (1)	-	-	-
BKA3 (5)	-	-	-	10 <sup>-4</sup> BBA1 (2)	-	-	-

Berdasarkan pada Tabel 3. diatas isolat bakteri endofit batang tumbuhan *Taxus* menunjukkan bahwa Sebagian besar isolate yang telah diuji tidak dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Hasil tabel uji aktivitas antimikroba didapatkan hasil bahwa Sebagian bakteri endofit dari batang *Taxus* tidak dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Isolat BKB3 (2) dan BBB1 (1) yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Dari hasil uji aktivitas antimikroba yang dihasilkan dari ke dua isolat tersebut termasuk zona hambat yang rendah. Diameter zona hambat menurut Sari K *et al.*, (2013), diameter zona hambat mempunyai kriteria dimana diameter  $\leq 10$  mm tidak ada menghambat pertumbuhan mikroba uji, diameter 11- 15 mm dikategorikan lemah menghambat pertumbuhan mikroba, diameter 16-20 mm dikategorikan sedang dalam

menghambat pertumbuhan mikroba uji dan diameter >20 mm dikategorikan kuat dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji. Hasil data yang telah disajikan dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif yang dimiliki *Taxus* kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji.

## Daftar Pustaka

- Afifah, N., Putri, D. H., & Irdawati, I. (2018). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*, 2(1), 72. <https://doi.org/10.24036/02018219952-0-00>
- Bacon, C. W., & Hinton, D. M. (2006). Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. *Plant-Associated Bacteria*, 1992, 155–194. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_5)
- Cappuccino, J.G., Sherman, N. 2014. *Microbiology A Laboratory Manual. Tenth Edition*. USA: Person.
- Gai, Q. Y., Jiao, J., Wang, X., Liu, J., Fu, Y. J., Lu, Y., Wang, Z. Y., & Xu, X. J. (2020). Simultaneous determination of taxoids and flavonoids in twigs and leaves of three *Taxus* species by UHPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 189, 113456. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113456>
- Handayani, D., Putri, D. H., Farma, S. A., Annisa, N., Oktaviani, M., & Rahwani. (2020). Isolation of Endophytic Fungi from Stem of Andaleh (*Morus macroura* Miq.) That Produce Antimicrobial Compound. 10(ICoBioSE 2019), 43–45. <https://doi.org/10.2991/absr.k.200807.010>
- Hidayati, M. N. (2019). ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT DARI BATANG TUMBUHAN KAMBOJA PUTIH (*Plumeria acuminata* Ait). *Journal of Pharmacopolium*, 2(1), 30–36. <https://doi.org/10.36465/jop.v2i1.469>
- Hudzicki, J. (2012). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. *American Society For Microbiology, December 2009*, 1–13. <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
- Irdawati, Advinda, L., & Angraini, F. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight). *BioScience*, 1((2)), 62.
- Iszkuło, G., Kosiński, P., & Hajnos, M. (2013). Sex influences the taxanes content in *Taxus baccata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(1), 147–152. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1057-0>
- Poeloengan, M., Komala, I., & Salmah, S. (2006). Antimicroba and Fitochemical Activities of Herbal Medicine. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner*, 974–978.
- Pranoto, E., Fauzi, G., & Hingdri. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman Teh (*Camellia Sinensis* (L.) O.Kuntze) Produktif dan Belum Menghasilkan klon GMB 7 Dataran Tinggi. *Biospecies*, 7(1), 1–7.
- Putri, M. F., Fifendy, M., & Putri, D. H. (2018). Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.). *Eksakta*, 19(1), 125–130. <https://doi.org/https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss1>
- Sari K, Periadnadi, & Nasir N. (2013). Uji Antimikroba Ekstrak Segar jahe-Jahean (*Zingiberaceae*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(1), 20–24.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., & Sukiman, H. (2007). ISOLASI MIKROBA ENDOFITIK DARI TANAMAN OBAT SAMBUNG NYAWA *Gynura procumbens*) DAN ANALISIS POTENSINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA. *Berkala Penelitian Hayati*, 13(1), 85–90. <https://doi.org/10.23869/bphjbr.13.1.200714>
- Sulistiyani, T. R., & Lisdiyanti, P. (2016). Keragaman bakteri endofit pada tanaman *Curcuma heyneana* dan potensinya dalam menambat nitrogen. *Widyariset*, 2(2), 106–117.
- Yandila, S., Hilda Putri, D., & Fifendy, M. (2018). Kolonisasi Bakteri Endofit Pada Akar Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Bio-Site*, 04(2), 61–67.