

ISOLASI MIKROBA ENDOFITIK DARI TANAMAN OBAT SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) DAN ANALISIS POTENSINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA

Rumella Simarmata, Sylvia Lekatompessy, dan Harmastini Sukiman
Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan, LIPI, Cibinong-Bogor 16911

ABSTRACT

Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) has many beneficial effects to human health, such as decreasing blood pressure, maintaining blood sugar level (hypoglycaemic), decreasing cholesterol, a remedy for kidney trouble, antibacterial and lessen the inflammation (anti-inflammation). This research was undertaken to discover the potency of endophytic microbes from sambung nyawa as antimicrobial agents. The purpose of this research was to screen the endophytic bacteria and the endophytic fungi having antimicrobial activity, which were isolated from stems, leaves, roots and fruits of medical plants, sambung nyawa. The antimicrobial activity was determined by measuring the growth inhibition of pathogenic microbes i.e *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. and *Bacillus subtilis*. A total of 38 isolates of bacteria and 15 isolates of fungi were obtained from sambung nyawa. Analysis demonstrated that, 45% isolates of bacteria and 20% isolates of fungi exhibited inhibitory activity. Antimicrobial activity was found in 21% of the isolates that inhibited the growth of *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp., and *B. subtilis*, whereas 24% of isolates had activity only against *B. subtilis*. Isolate of endophytic bacteria USN 1.1 and USN 2.3 showed the most significant of inhibition zone. The Inhibition zone of the isolate USN 1.1 to *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp, and *B. subtilis* were 2.318 cm², 0.969 cm², 0.796 cm², and 0.381 cm², respectively. The Inhibition zone of the isolate USN 2.3 to *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp., and *B. subtilis* were 3.01 cm², 0.519 cm², 0.588 cm² and 0.83 cm², respectively. These results indicated that endophytic bacteria and endophytic fungi could be a promising source for antimicrobial agents.

Key words: endophytic microbes, Sambung nyawa (*Gynura procumbens*), antimicrobial activity, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*

PENGANTAR

Tanaman tradisional sebagai bahan baku obat-obatan masih banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia seperti mahkota dewa, sambung nyawa, daun dewa, dan buah merah. Belakangan ini mulai banyak diadakan penelitian untuk daun sambung nyawa, satu jenis tanaman asli Indonesia yang sebenarnya sudah lama dipakai oleh masyarakat, akan tetapi pembuktian khasiatnya secara ilmiah perlu dilakukan. Penelitian tentang khasiat daun sambung nyawa tidak hanya dilakukan di Indonesia saja, tetapi juga di negara lain seperti Malaysia, Singapura, bahkan di Korea Selatan.

Penelitian tentang khasiat daun sambung nyawa untuk mengendalikan tekanan darah sudah dilakukan Endang (2006) dari Puslitbang Farmasi, Departemen Kesehatan RI, Musaadah *et al.* (2006) melakukan penelitian tentang khasiatnya sebagai hipoglikemik, dan Iskandar *et al.* (2006) melakukan penelitian tentang khasiatnya sebagai antiinflamasi.

Selain untuk menjaga tekanan darah agar tidak naik, daun sambung nyawa masih mempunyai banyak manfaat lain untuk kesehatan, seperti mengendalikan kadar gula darah (hipoglikemik), menurunkan kolesterol, mencegah

dan memperbaiki kerusakan ginjal, serta mengurangi peradangan (antiinflamasi). Selain itu, khasiat lain dari sambung nyawa adalah sebagai obat anti-bakteri, radang tenggorokan, batuk, sinusitis, polip, dan amandel (Selvy, 2006). Masing-masing khasiat tersebut telah diteliti secara ilmiah. Jadi, mungkin ada benarnya bila daun ini dinamakan sambung nyawa karena khasiatnya yang banyak bagi kesehatan sehingga seolah-olah dapat menyambung nyawa.

Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Untuk mengefisienkan cara memperoleh senyawa bioaktif tersebut, maka digunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya.

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan, dalam hal ini mikroba endofitik mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan

mempertahankan tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Tanaka *et al.*, 1999).

Pada penelitian ini, dilakukan isolasi mikroba endofit dari tanaman obat sambung nyawa untuk menggali potensinya dalam menghasilkan senyawa bioaktif, dalam hal ini sebagai antimikroba patogen. Diharapkan, setelah mengetahui adanya aktivitas antimikroba dari mikroba endofit tanaman sambung nyawa, tanaman ini dapat dikembangkan sebagai bahan dasar obat antibakteri atau antifungi baru melalui penelitian lebih lanjut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sumber Tanaman

Tanaman obat yang diisolasi adalah sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yang diambil dari kebun plasma nutfah Puslit Bioteknologi LIPI.

Sumber Mikroba

Isolat *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., dan *Bacillus subtilis* berasal dari koleksi Puslit Bioteknologi LIPI Cibinong. Biakan ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Broth*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*) dalam tabung reaksi.

Metode Isolasi mikroba endofit

Isolasi mikroba endofit dilakukan menurut metode F. Tomita (Lumyong *et al.*, 2001). Tanaman dikoleksi dari lapangan dan kemudian sampel tanaman dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya dengan air mengalir. Kemudian tanaman dipotong-potong dan selanjutnya disterilisasi permukaan menggunakan larutan etanol 75% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit 5,3% selama 5 menit, dan terakhir dengan etanol kembali selama 30 detik. Setelah itu sampel dibilas dengan air steril beberapa kali dan kemudian ditanam di dalam media agar PDA atau NA dengan cara membelah bagian tanaman dan meletakkan pada posisi tertelungkup. Cawan petri yang sudah mengandung sampel tanaman kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu kamar selama 2–4 hari. Mikroba yang tumbuh secara bertahap dimurnikan satu per satu dan dipreservasi.

Uji Aktivitas Antimikroba

Isolat *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp. dan *B. subtilis* ditumbuhkan dan diperbanyak dalam media PDB dan NB, kemudian dikocok selama sehari dengan menggunakan shaker. Kultur murni *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp., dan *B. subtilis* ditambahkan masing-masing 1 ml ke dalam 200 ml NA (untuk isolat bakteri)/PDA (untuk isolat kapang). Kemudian dituang ke dalam cawan petri sebanyak ± 10 ml lalu didinginkan. Isolat yang akan diuji diletakkan ke media yang telah terinokulasi mikroba patogen. Kultur diinkubasi selama 1–2 hari. Zona hambat isolat yang terbentuk diamati.

Pengukuran Zona Hambat

Zona hambat yang terbentuk diamati di sekitar isolat yang diuji, karena luasan zona bentuknya tidak beraturan, maka luasan zona jernih digambar di atas kertas saring, demikian juga untuk zona jernih yang bentuknya beraturan. Kemudian kertas saring tersebut ditimbang dan hasilnya dikonversi kembali ke satuan luas.

Luas zona penghambatan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Lz = \{B_z / B_{av}\} \times 1 \text{ cm}^2$$

di mana:

B_z = Berat kertas saring luasan zona hambat (g/cm²)

B_{av} = Berat kertas saring rata-rata dengan luas kertas saring 1 cm² (g/cm²)

Lz = Luas zona penghambatan (cm²)

HASIL

Isolasi Mikroba Endofit dan Uji Aktivitas Antimikroba

Hasil isolasi mikroba endofit dan uji aktivitas antimikroba dapat dilihat pada Tabel 1.

Luas Zona Hambat Antimikroba

Isolat mikroba endofit yang dinyatakan mempunyai aktivitas antimikroba adalah jika terbentuk zona jernih di sekeliling isolat mikroba endofit yang ditumbuhkan pada media yang telah diinokulasi oleh mikroba patogen. Isolat mikroba endofit yang mempunyai aktivitas antimikroba dapat dilihat pada Gambar 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji antimikroba pada bakteri endofit dan kapang endofit sambung nyawa

No	Kode isolat	Uji Antimikroba			
		<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>B. subtilis</i>
A. BAKTERI					
1	USN 1.1	+	+	+	+
2	USN 1.2	+	+	+	+
3	USN 2.1	+	+	+	+
4	USN 2.2	+	+	+	+
5	USN 2.3	+	+	+	+
6	USN 3.1	+	+	+	+
7	USN 3.2	+	+	+	+
8	BSN 1.1	-	-	-	+
9	BSN 1.2	-	-	-	+
10	BSN 2.1	-	-	v	+
11	BSN 2.2	-	-	-	+
12	BSN 3.1	-	-	-	-
13	BSN 3.2	-	-	-	-
14	BSN 3.3	-	-	-	-
15	BSN 3.4	-	-	-	-
16	BSN 3.5	-	-	-	-
17	BSN 3.6	-	-	-	-
18	BSN 3.7	-	-	-	-
19	BSN 3.8	-	-	-	-
20	BSN 4.1	-	-	-	-
21	BSN 4.2	-	-	-	-
22	BSN 4.3	-	-	-	-
23	BSN 4.4	-	-	-	-
24	BSN 4.5	+	+	+	+
25	BSN 4.6	-	-	-	-
26	BSN 4.7	-	-	-	-
27	BSN 5.1	-	-	-	+
28	BSN 5.2	-	-	-	-
29	BSN 5.3	-	-	-	+
30	BSN 5.4	-	-	-	-
31	BSN 5.5	-	-	-	-
32	BSN 6.1	-	-	-	-
33	BSN 6.2	-	-	-	-
34	BSN 6.3	-	-	-	+
35	BSN 6.4	-	-	-	+
36	BSN 6.5	-	-	-	+
37	BSN 6.6	-	-	-	-
38	BSN 6.7	-	-	-	-
B. KAPANG					
1	USN 1	-	-	-	-
2	BSN 1	-	-	-	-
3	BSN 2	-	-	-	-
4	BSN 3	-	-	-	-
5	BSN 4.1	-	-	-	+
6	BSN 4.2	-	-	-	-
7	BSN 4.3	-	-	-	+
8	BSN 5	-	-	-	-
9	BSN 6	-	-	-	-
10	DSN 1.1	+	-	-	+
11	DSN 1.2	-	-	-	-
12	DSN 2	-	-	-	-
13	DSN 3	-	-	-	-
14	DSN 4	-	-	-	-
15	DSN 5	-	-	-	-

Keterangan:

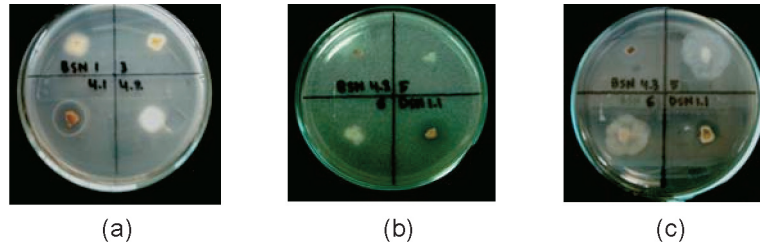
+ : Terbentuk zona hambat

- : Tidak terbentuk zona hambat

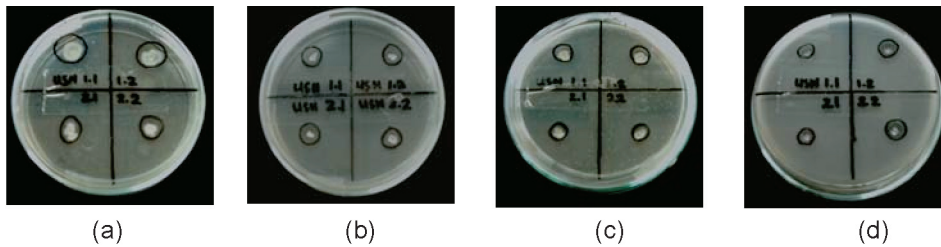
USN : Umbi sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian umbi tanamannya)

BSN : Batang sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian batang tanamannya)

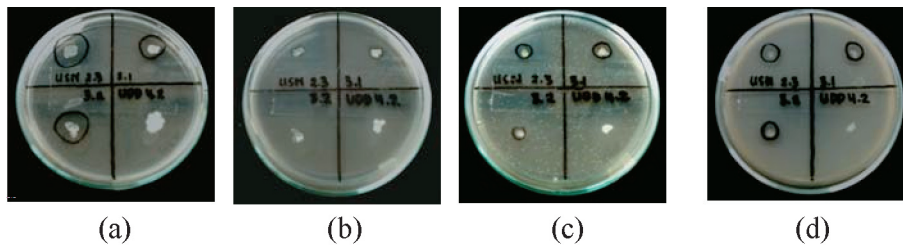
DSN : Daun sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian daun tanamannya)



Gambar 1. Isolat kapang yang menunjukkan aktivitas antimikroba
 a. terhadap bakteri *B. subtilis*
 b. terhadap fungi *C. albicans*
 c. terhadap bakteri *B. subtilis*



Gambar 2. Isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas antimikroba
 a. terhadap fungi *C. albicans*
 b. terhadap bakteri *E. coli*
 c. terhadap bakteri *Pseudomonas* sp.
 d. terhadap bakteri *B. subtilis*



Gambar 3. Isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas antimikroba
 a. terhadap fungi *C. albicans*
 b. terhadap bakteri *E. coli*
 c. terhadap bakteri *Pseudomonas* sp.
 d. terhadap bakteri *B. subtilis*

Hasil pengukuran zona penghambatan isolat terhadap *C. albicans*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp., dan *B. subtilis* dapat dilihat pada Tabel 2.

PEMBAHASAN

Total mikroba endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman obat sambung nyawa adalah 38 isolat bakteri dan 15 isolat kapang.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba, 45% isolat bakteri endofit dan 20% isolat kapang endofit menunjukkan potensi aktivitas antimikrobanya. Dua puluh satu persen isolat menghasilkan potensi aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen *E. coli*, *Pseudomonas* sp. dan *B. subtilis*, serta cendawan patogen *C. albicans* sedangkan 24% isolat hanya menunjukkan aktivitas anti *B. subtilis*.

Data penelitian menunjukkan bahwa mikroba endofit yang berpotensi lebih banyak berasal dari isolasi pada

Tabel 2. Luas zona hambat uji antimikroba pada bakteri endofit dan kapang endofit sambung nyawa

No.	Kode isolat	Luas zona hambat terhadap (cm ²)			
		<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>B. subtilis</i>
A. BAKTERI					
1	USN 1.1	2,318	0,969	0,796	0,381
2	USN 1.2	1,696	0,969	1,142	0,761
3	USN 2.1	0,692	0,83	0,519	0,415
4	USN 2.2	0,83	0,623	0,346	0,761
5	USN 2.3	3,01	0,519	0,588	0,83
6	USN 3.1	1,28	0,484	0,796	0,761
7	USN 3.2	2,145	0,415	0,311	0,519
8	BSN 1.1	-	-	-	0,623
9	BSN 1.2	-	-	-	0,208
10	BSN 2.1	-	-	-	0,83
11	BSN 2.2	-	-	-	0,277
12	BSN 3.1	-	-	-	-
13	BSN 3.2	-	-	-	-
14	BSN 3.3	-	-	-	-
15	BSN 3.4	-	-	-	-
16	BSN 3.5	-	-	-	-
17	BSN 3.6	-	-	-	-
18	BSN 3.7	-	-	-	-
19	BSN 3.8	-	-	-	-
20	BSN 4.1	-	-	-	-
21	BSN 4.2	-	-	-	-
22	BSN 4.3	-	-	-	-
23	BSN 4.4	-	-	-	-
24	BSN 4.5	1,142	0,623	0,623	0,623
25	BSN 4.6	-	-	-	-
26	BSN 4.7	-	-	-	-
27	BSN 5.1	-	-	-	0,242
28	BSN 5.2	-	-	-	-
29	BSN 5.3	-	-	-	0,934
30	BSN 5.4	-	-	-	-
31	BSN 5.5	-	-	-	-
32	BSN 6.1	-	-	-	-
33	BSN 6.2	-	-	-	-
34	BSN 6.3	-	-	-	0,242
35	BSN 6.4	-	-	-	0,138
36	BSN 6.5	-	-	-	0,277
37	BSN 6.6	-	-	-	-
38	BSN 6.7	-	-	-	-
B. KAPANG					
1	USN 1	-	-	-	-
2	BSN 1	-	-	-	-
3	BSN 2	-	-	-	-
4	BSN 3	-	-	-	-
5	BSN 4.1	-	-	-	9,931
6	BSN 4.2	-	-	-	-
7	BSN 4.3	-	-	-	0,519
8	BSN 5	-	-	-	-
9	BSN 6	-	-	-	-
10	DSN 1.1	0,657	-	-	5,052
11	DSN 1.2	-	-	-	-
12	DSN 2	-	-	-	-
13	DSN 3	-	-	-	-
14	DSN 4	-	-	-	-
15	DSN 5	-	-	-	-

Keterangan:

+ : Terbentuk zona hambat

- : Tidak terbentuk zona hambat

USN : Umbi sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian umbi tanamannya)

BSN : Batang sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian batang tanamannya)

DSN : Daun sambung nyawa (isolat mikroba endofit yang diambil dari bagian daun tanamannya).

bagian umbi tanaman. Pada umumnya, masyarakat mengkonsumsi atau menggunakan ekstrak bagian daun tanaman sambung nyawa untuk mengambil manfaatnya. Perlu dilakukan penelitian lebih dalam lagi untuk menggali dan mengklarifikasi mikroba endofit yang diisolasi dari bagian lain, seperti batang dan daun.

Berdasarkan hasil perhitungan luas zona hambat diperoleh hasil bahwa seluruh isolat mikroba endofit yang diperoleh dari bagian umbi sambung nyawa memperlihatkan potensi aktivitas antimikroba. Isolat bakteri endofit USN 1.1 dan USN 2.3 memperlihatkan zona hambat yang paling signifikan besarnya. Luas zona hambat isolat USN 1.1 terhadap *C. albicans* 2,318 cm², *E. Coli* 0,969 cm², *Pseudomonas* sp 0,796 cm² dan *B. subtilis* 0,381 cm². Luas zona hambat isolat USN 2.3 terhadap *C. albicans* 3,01 cm², *E. coli* 0,519 cm², *Pseudomonas* sp. 0,588 cm² dan *B. subtilis* 0,83 cm².

Tabel 2 memperlihatkan hanya sebagian kecil isolat kapang endofit yang mempunyai potensi aktivitas mikroba, namun jumlah yang kecil ini sangat potensial dalam menghambat mikroba patogen dilihat dari luas zona hambat yang terbentuk. Isolat mikroba lainnya yang tidak menunjukkan aktivitas antimikroba pada tes yang dilakukan di penelitian ini mungkin mempunyai kandungan senyawa aktif namun jumlahnya lebih kecil atau mungkin juga mengandung senyawa aktif potensial yang lain (Son dan Cheah, 2002). Diharapkan pada penelitian selanjutnya, senyawa aktif penghasil antimikroba ini dapat diidentifikasi, diisolasi, diekstrak dan selanjutnya dapat difermentasi dan dimanfaatkan sebagai bahan baku obat antimikroba yang baru.

Menurut Aminah (1995), telah dilakukan penelitian mengenai kajian fitokimia daun sambung nyawa, dan penelitian ini berhasil mengisolasi kandungan kimia yang terkandung dalam daun sambung nyawa. Namun kandungan kimia yang berhasil diisolasi ini belum diketahui manfaatnya secara klinis. Dari hasil isolasi mikroba endofit pada tanaman sambung nyawa diperoleh 38 isolat bakteri dan 15 isolat kapang. Delapan bakteri menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*, 8 bakteri menghambat pertumbuhan

bakteri *E. coli*, 8 bakteri menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp., 17 bakteri menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, 1 kapang menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*, dan 3 kapang menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada rekan-rekan Laboratorium Mikrobiologi Tanah Puslit Bioteknologi LIPI khususnya rekan A. Rivai dan Nuriyanah yang telah memberikan bantuan selama penelitian berlangsung.

KEPUSTAKAAN

- Aminah HI, 1995. www.pustaka.usm.my/docushare/dsweb/Get/Document-11412/Aminah+Hasan+Idrus.pdf. Tanggal Akses 14 Juni 2006.
- Endang H, 2006. www.kompas.com/kompas-cetak/0408/06/ilpeng/1191362.htm. Tanggal Akses 24 Mei 2006.
- Iskandar *et al.*, 2006. http://72.14.203.104/search?q=cache:IZju kVvJ7dAJ:www.mahidol.ac.th/mahidol/abstracts/annual_2002/pharmacy/index.pdf+gynura+procumbens+antimicrobial+filetype:pdf&hl=id&gl=us&ct=clnk&cd=1. Tanggal Akses 14 Juni 2006.
- Lumyong S, Norkaew N, Ponputhachart D, Lumyong P, dan Tomita F, 2001. *Isolation, Optimisation and Characterization of Xylanase from Endophytic fungi*. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources. *The Tropic*, 15.
- Musaadah N, *et al.* 2006. www.frim.gov.my/pdf/rr02/6.pdf. Tanggal Akses 7 Juni 2006.
- Selvy R, 2006. www.webspawner.com/users/nusaherbal/. Tanggal Akses 14 Juni 2006.
- Son R dan Cheah YK, 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.
- Tanaka M, Sukiman H, Takebayashi M, Saito K, Suto M, Prana MS, dan Tomita F, 1999. *Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia*. *Microbes and Environment* 14(4): 237–241.

Reviewer: **Ir. Triwibowo Yuwono, Ph.D.**