

Aktivitas antibakteri bakteri endofit daun kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Harmileni¹✉, Gimelliya Saragih¹, Tengku Rachmi Hidayani², Meutia Mirnandaulia²

¹Program Studi Teknik Kimia, Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan

²Program Studi Agribisnis Kelapa Sawit, Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan

✉ harmileni16@gmail.com

Abstrak

Mikroorganisme endofit adalah mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tanaman dan memiliki kemiripan sifat senyawa bioaktif dengan tanaman inangnya. Daun kelapa sawit diketahui memiliki aktivitas antibakteri, tetapi penelitian mengenai aktivitas antibakteri bakteri endofitnya belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi bakteri endofit dari daun kelapa sawit serta menentukan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Delapan isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari daun kelapa sawit. Satu isolat termasuk bakteri Gram negatif dan tujuh isolat adalah bakteri Gram positif. Analisa morfologi menunjukkan satu isolat berbentuk basil dan yang lain berbentuk kokus. Uji antibakteri menunjukkan satu isolat (IDS18) menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *S.aureus* dengan zona hambat 13 mm, tetapi tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Sementara lima isolat yaitu IDS1, IDS10, IDS11, IDS14 dan IDS16 menunjukkan aktivitas yang lemah terhadap *E.coli*, tetapi tidak memiliki aktivitas terhadap *S.aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit daun kelapa sawit berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi produksi senyawa bioaktif antibakteri serta karakterisasinya.

Kata kunci: bakteri endofit, daun kelapa sawit, antibakteri

Abstract

Endophytic microorganisms are microorganisms found in plant tissues and have similar properties of bioactive compounds to their host plants. Oil palm leaves are known to have antibacterial activity, but research on the antibacterial activity of endophytic bacteria has never been reported. This study aimed to isolate endophytic bacteria from oil palm leaves and determine antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Eight isolates of endophytic bacteria were successfully isolated from oil palm leaves. One isolate was Gram-negative bacteria, and seven isolates were Gram-positive bacteria. Morphological analysis showed that one isolate was bacillus-shaped, and the others were cocci-shaped. The antibacterial test showed that one isolate (IDS18) showed potent antibacterial activity against *S. aureus* with an inhibition zone of 13 mm but showed no antibacterial activity against *E. coli*. While five isolates, namely IDS1, IDS10, IDS11, IDS14, and IDS16, showed weak activity against *E.coli* but had no activity against *S. aureus*. The results showed that palm leaf endophytic bacteria have the potential to produce antibacterial compounds. Further research is needed regarding optimizing antibacterial bioactive compounds' production and characterization.

Keywords: endophytic bacteria; palm fronds; antibacterial

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Pendahuluan

Obat-obatan antimikroba, terutama antibiotik, telah lama digunakan untuk mengobati infeksi mikroba. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, variasi genetik telah memberikan keuntungan signifikan bagi mikroorganisme berbahaya dengan menyebabkan resistensi antibiotik. Akibatnya, kita perlu terus mencari agen antimikroba baru atau obat-obatan alternatif. Ketika patogen mikroba menjadi resisten terhadap beberapa jenis obat, muncul kesulitan klinis yang serius. Hal ini juga terkait dengan masalah lain

seperti tingkat toksisitas pengobatan antimikroba pada jaringan inang. Menurut laporan ilmiah, perkembangan obat antibakteri yang sedang berlangsung tidak akan cukup untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik yang signifikan yang dihadapi oleh penyakit bakteri.¹

Resistensi obat meningkat secara global karena penggunaan obat antimikroba yang tidak tepat. Mikroba yang resisten sulit diobati dan membutuhkan antimikroba alternatif, dosis yang lebih tinggi, atau antimikroba yang tidak efektif. Hal ini berdampak buruk bagi negara-negara di semua tingkat perkembangan. WHO menyebut patogen MDR (*multi drug resistance*) atau '*superbug*', sebagai ancaman signifikan yang setiap tahun menyebabkan jutaan kematian di seluruh dunia.² Penemuan sumber-sumber baru sangat diperlukan untuk mengidentifikasi bahan kimia bioaktif yang dapat digunakan sebagai antibiotik baru. Berbagai zat penting telah ditemukan dari mikroorganisme untuk pengobatan, industri farmasi, dan pertanian. Namun, sebagian besar organisme ini berasal dari lingkungan daratan.³

Bakteri endofit adalah bakteri yang berhubungan dengan jaringan tanaman sehat yang memberikan manfaat. Hampir setiap tanaman tingkat tinggi memiliki beberapa bakteri endofit.⁴ Endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa dengan tanaman inangnya. Produk alami dari mikroorganisme endofit memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas. De Bary pertama kali mengusulkan istilah endofit pada tahun 1886. Hubungan antara endofit dan tanaman bervariasi mulai dari simbiosis hingga patogenik. Endofit dapat melindungi tanaman dari serangan patogen, merangsang pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketahanan terhadap penyakit, dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan. Endofit juga merupakan sumber metabolit sekunder yang melimpah.⁵

Beberapa limbah dihasilkan oleh bisnis kelapa sawit selama proses pemanenan, pemangkasan, penanaman kembali, dan pengolahan pabrik, dengan daun kelapa sawit menyumbang setidaknya 53% dari berat kering limbah ini. Lebih jauh lagi, telah terbukti bahwa daun kelapa sawit mengandung senyawa bioaktif seperti antioksidan dan antihiperglikemik dan antihipertensi. Beberapa penelitian telah dilakukan pada sifat antimikroba *Elaeis guineensis* terhadap infeksi manusia. *Elaeis guineensis* ditemukan memiliki aksi antibakteri terhadap *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*⁶, namun, potensi bakteri endofit dari daun kelapa sawit untuk menghambat bakteri patogen belum pernah dilaporkan sebelumnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteri endofit yang diisolasi dari daun kelapa sawit, sehingga dapat menjadi referensi di masa depan sebagai salah satu sumber antimikroba.

Metode

Isolasi Bakteri Endofit

Prosedur pencucian daun kelapa sawit meliputi perendaman daun dengan etanol 70% selama 3 menit, natrium hipoklorit 2% selama 5 menit dan etanol 70% selama 30 detik, kemudian daun dicuci dengan air steril. Larutan hasil pencucian dua kali terakhir dituangkan pada media Nutrient Agar untuk memastikan keefektifan perlakuan sterilisasi. Daun kelapa sawit ditambahkan dengan NaCl fisiologis dan kemudian dihancurkan dengan mortar dalam kondisi aseptik. Sekitar 1 gram daun kelapa sawit yang telah dihancurkan diinokulasikan ke dalam 9 ml Nutrient Broth selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur cair kemudian diencerkan secara bertingkat dan dikultur pada permukaan Nutrient Agar dalam cawan petri selama 48 jam.⁷

Pewarnaan Gram Bakteri Endofit

Karakterisasi bakteri endofit daun kelapa sawit dilakukan berdasarkan pewarnaan Gram. Secara singkat, prosedur pewarnaan gram adalah sebagai berikut: Isolat bakteri difiksasi pada kaca objek dengan nyala api Bunsen kemudian diwarnai dengan kristal violet selama satu menit. Isolat dibilas dengan air mengalir dan kemudian ditetesi dengan larutan yodium selama 1 menit. Selama 30 hingga 1 menit, isolat ditetesi dengan larutan penghilang warna dan kemudian dengan safranin. Isolat kemudian dicuci kembali dengan air mengalir, dan morfologi serta warnanya diperiksa di bawah mikroskop cahaya perbesaran 100x.⁸

Aktivitas Antibakteri

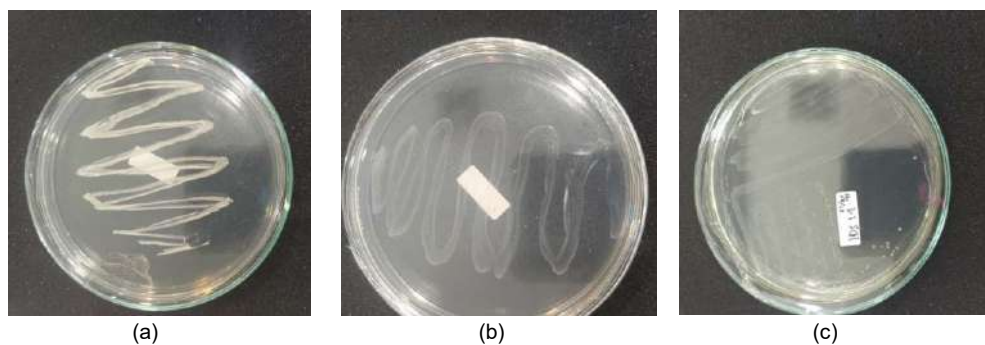
Aktivitas antibakteri bakteri endofit terhadap bakteri patogen dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Bakteri patogen yang digunakan adalah *E.coli* dan *S.aureus*. Bakteri endofit dikultur

pada media Nutrient Broth dan diinkubasi selama 24 jam. Kekeruhan bakteri patogen diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada absorbansi 0,1 pada panjang gelombang 600 nm. Dengan menggunakan kapas lidi steril, bakteri patogen tersebut diusapkan secara merata pada permukaan media nutrient agar. Dengan menggunakan pinset, cakram steril dicelupkan ke dalam supernatan (antibiotik *crude*), ditempelkan pada permukaan nutrient agar, dan dikultur selama 24 jam pada suhu 50°C dalam cawan petri terbalik. Kaliper digital digunakan untuk mengukur zona hambat.⁹

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Endofit

Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi 18 isolat bakteri dari daun kelapa sawit. Selama penelitian, 8 isolat dipilih untuk dipelajari lebih lanjut, diantaranya IDS1, IDS10, IDS11, IDS14, IDS15, IDS16, IDS17, dan IDS18. Pertumbuhan bakteri endofit pada media *Nutrient Agar* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri endofit daun kelapa sawit pada Nutrient Agar (a) isolat IDS1 (b) isolat IDS10 (c) isolat IDS14

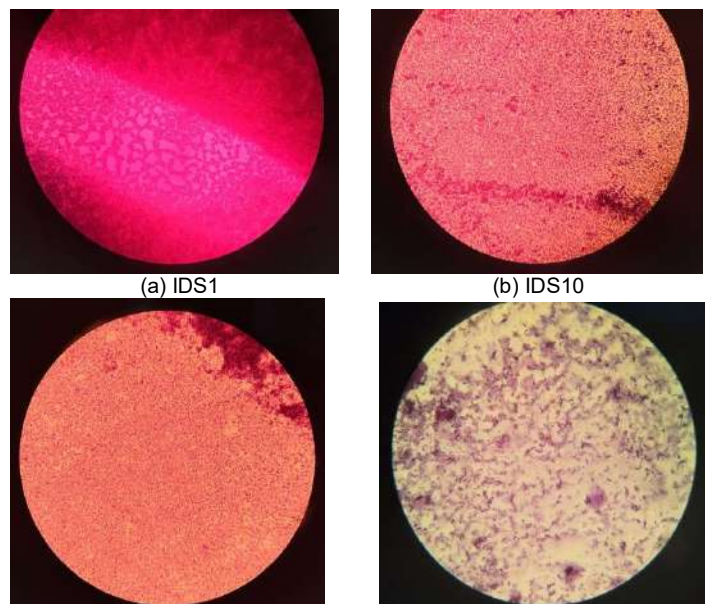
Bakteri endofit dimurnikan terlebih dahulu dengan cara digoreskan pada media agar. Dari gambar di atas terlihat bahwa isolat bakteri endofit dapat tumbuh dengan baik pada permukaan Nutrient Agar.

Pewarnaan Gram Bakteri Endofit

Hasil pewarnaan Gram bakteri endofit daun kelapa sawit disajikan pada tabel 1. Sedangkan morfologi bakteri endofit di bawah mikroskop perbesaran 100x ditunjukkan pada gambar 2.

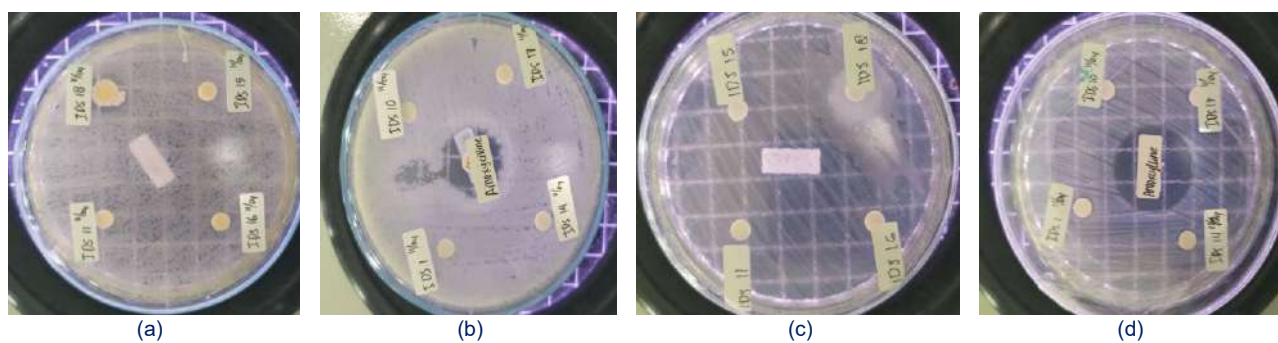
Tabel 1. Karakterisasi isolat

No	Isolat	Pewarnaan Gram	Morfologi
1	IDS1	Negatif	Kokus
2	IDS10	Positif	Kokus
3	IDS11	Positif	Kokus
4	IDS14	Positif	Kokus
5	IDS15	Positif	Kokus
6	IDS16	Negatif	Kokus
7	IDS17	Positif	Kokus
8	IDS18	Positif	Basil

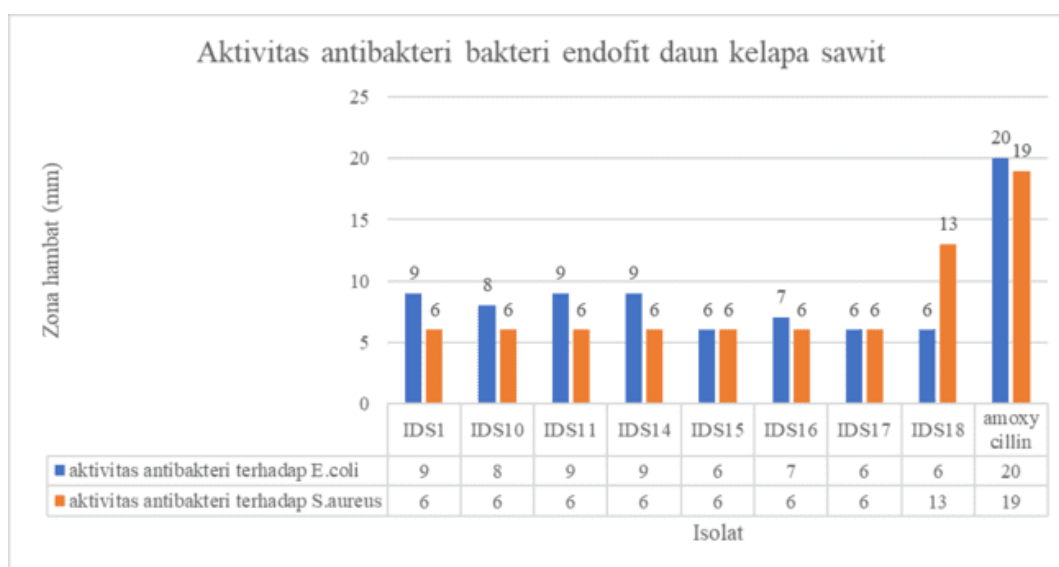


Gambar 2. Morfologi isolat bakteri endofit daun kelapa sawit di bawah mikroskop perbesaran 100x. (a) isolat IDS1, berbentuk kokus; (b) isolat IDS10, berbentuk kokus; (c) isolat IDS15, berbentuk kokus; (d) isolat IDS18, berbentuk basil.

Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Kelapa Sawit



Gambar 3. Aktivitas antibakteri endofit daun kelapa sawit terhadap *S.aureus* dan *E.coli* dengan amoksisilin sebagai kontrol positif (a) aktivitas antibakteri isolat IDS18 terhadap *S.aureus*, ditunjukkan dengan tanda panah hitam. (b) isolat IDS1, IDS10, IDS14 dan IDS17 tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*. (c) isolat IDS11, IDS15, IDS16 dan IDS18 tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. (d) aktivitas antibakteri yang lemah dari isolat IDS1 dan IDS10 terhadap *E.coli*.



Gambar 4. Diagram aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit daun kelapa sawit terhadap *E.coli* dan *S.aureus*. Diameter cakram yang digunakan adalah 6mm, sehingga zona hambat dengan diameter 6mm dianggap tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa aktivitas antibakteri terkuat ditunjukkan oleh isolat IDS18 terhadap *S.aureus*, sementara isolat IDS1, IDS10, IDS11, IDS14 dan IDS16 menunjukkan aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *E.coli*.

Pembahasan

Isolasi bakteri endofit daun kelapa sawit dimulai dengan sterilisasi permukaan daun. Sterilisasi permukaan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme epifit yang melekat pada permukaan daun. Penggunaan natrium hipoklorit dan etanol 70% dalam sterilisasi permukaan dikarenakan sifat bakterisida dan virusida yang dimiliki oleh larutan tersebut¹⁰. Dalam penelitian ini bakteri endofit diisolasi dari "dalam" daun, bukan dari permukaan. Sesuai dengan namanya, endofit (*endophyte*) berasal dari kata "*endo*" yang berarti di dalam, dan "*phyte*" yang berarti tanaman, sehingga didefinisikan sebagai mikroorganisme yang berada di dalam tanaman. Bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai organ tanaman seperti daun, akar, batang dan buah¹¹. Pada penelitian sebelumnya, beberapa peneliti telah mengisolasi bakteri endofit dari daun, seperti daun cengkeh¹⁰, daun salam¹², dan tanaman Kupa¹³. Dalam penelitian ini, peneliti melakukan pewarnaan Gram untuk menentukan klasifikasi serta morfologi bakteri tersebut. Dari delapan isolat, tujuh isolat memiliki morfologi kokus dan satu basil, serta enam isolat Gram positif dan dua isolat Gram negatif.

Pewarnaan Gram membagi bakteri menjadi dua kelompok, yaitu Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan dinding sel dan permeabilitas sel membran. Mekanisme pewarnaan Gram adalah kerusakan pada permukaan sel sebagai akibat proses penghilangan warna (*decolorization*). Kerusakan permukaan sel yang signifikan terjadi pada bakteri Gram negatif dan hanya sedikit kerusakan terjadi pada bakteri Gram positif. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri Gram negatif lebih mudah “bocor” dikarenakan sel yang kaya lemak tapi ber dinding tipis, sehingga kehilangan zat warna kristal violet pada proses *decolorization*, dan menunjukkan warna *counterstain*, yaitu safranin. Sementara bakteri Gram positif memiliki dinding tebal tetapi sedikit lemak, sehingga tetap mempertahankan warna kristal violetnya¹⁴. Aktivitas antibakteri bakteri endofit terhadap *E.coli* dan *S.aureus*, secara umum menunjukkan bahwa bakteri endofit memiliki aktivitas yang lemah terhadap *E.coli*, serta tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, kecuali isolat IDS18. Perbedaan karakter serta aktivitas antibakteri bakteri endofit dalam penelitian ini disebabkan oleh keanekaragaman spesies bakteri dalam daun sawit. Tanaman inang merupakan habitat bagi bakteri endofit karena adanya simbiosis mutualisme, dimana bakteri endofit mendapatkan nutrisi berupa vitamin, polisakarida dan asam lemak dari tanaman inangnya. Disisi lain, bakteri endofit menghasilkan beberapa produk seperti asam amino, antibiotik dan toksin yang bermanfaat untuk pertumbuhan metabolisme dan meningkatkan ketahanan tanaman inang. Infeksi dikarenakan bakteri patogen menyebabkan tanaman menghasilkan senyawa kimia yang memberikan perlindungan terhadap tanaman tersebut, dengan demikian, maka senyawa bioaktif antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit akan dipengaruhi oleh kondisi tanaman inang³.

Dalam penelitian terdahulu dijelaskan bahwa ekstrak daun kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum yang cukup luas, yaitu mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri Gram negatif (*E.coli*, *Klasiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Proteus mirabilis*) Gram positif (*S.aureus* dan *Bacillus subtilis*) serta beberapa yeast (*C.albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*) dan beberapa jamur¹. Aktivitas antibakteri endofit daun sawit disebabkan oleh senyawa bioaktif yang mampu dengan mudah masuk ke membran sel bakteri melalui pori pada bakteri, yang kemudian mengganggu beberapa metabolisme sel atau senyawa bioaktif membentuk berbagai pori pada bagian luar membran sel bakteri, sehingga menyebabkan kebocoran substansi internal sel, sehingga sel lisis dan mati¹⁵. Dalam penelitian ini isolat IDS18 menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *S.aureus*, tetapi tidak memiliki aktivitas terhadap *E.coli*. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan struktur membran bakteri. Menurut Breijyeh et al (2020), membran luar bakteri Gram negatif adalah penyebab utama resistensi sejumlah bakteri Gram negatif terhadap berbagai antibiotik, termasuk β -laktam, kuinolon, kolistin dan antibiotik yang lain. Sebagian besar antibiotik harus melewati membran luar untuk mencapai targetnya. Misalnya, antibiotik yang bersifat hidrofobik dapat melewati membran luar melalui jalur difusi. Di sisi lain, antibiotik yang bersifat hidrofilik seperti β -laktam menggunakan jalur *porin* untuk melewati membran luar. Namun, vankomisin tidak dapat melewati membran luar karena strukturnya yang mencegahnya menggunakan kedua jalur tersebut. Perubahan pada membran luar oleh bakteri Gram negatif, seperti perubahan sifat hidrofobik atau mutasi pada *porin* dan faktor lainnya, dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. Berbeda dengan bakteri Gram negatif, bakteri Gram positif tidak memiliki lapisan membran luar yang penting, sehingga membuat bakteri Gram positif lebih rentan terhadap antibiotik dibandingkan bakteri Gram negatif¹⁶. Meskipun demikian, tujuh isolat justru memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dibandingkan *S.aureus*. Hal ini disebabkan oleh faktor-faktor lain seperti jumlah mikroorganisme yang diuji, suhu, adanya senyawa organik, keasaman dan alkalinitas, serta jenis senyawa bioaktif¹⁷.

Kesimpulan

Delapan isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari daun kelapa sawit. Isolat ini kemudian di karakterisasi berdasarkan morfologi dan pewarnaan Gram-nya. Hasil uji antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli* menunjukkan isolat IDS18 memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *S. aureus* (diameter zona hambat = 13 mm) tetapi tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. Lima isolat yang lain menunjukkan aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *E.coli* tetapi tidak menghambat *S.aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit dari daun sawit berpotensi sebagai penghasil senyawa

bioaktif antibakteri. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi produksi senyawa bioaktif antibakteri serta karakterisasinya.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia Industri (BPSDMI) Kementerian Perindustrian yang telah mendanai penelitian ini dalam kegiatan SPIRIT 2023. Penulis juga berterima kasih kepada Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan dan Lab Terpadu Universitas Prima Indonesia atas fasilitas yang telah disediakan demi kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Referensi

1. Vijayarathna S, Zakaria Z, Chen Y, Latha LY, Kanwar JR, Sasidharan S. The antimicrobial efficacy of *elaeis guineensis*: Characterization, in Vitro and in Vivo Studies. *Molecules*. 2012;17(5):4860–77.
2. Parmanik A, Das S, Kar B, Bose A, Dwivedi GR, Pandey MM. Current Treatment Strategies Against Multidrug-Resistant Bacteria: A Review. *Curr Microbiol*. 2022;79(12):1–15.
3. Fitri DS, Pangastuti A, Susilowati A, Sutarno. Endophytic bacteria producing antibacterial against methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) in seagrass from Rote Ndao, East Nusa Tenggara, Indonesia. *Biodiversitas*. 2017;18(2):733–40.
4. Darwis W, Supriyanto AP, Wibowo RH. Endophytic Bacteria Identification of Red Ginger (*Zingiber officinale* Var . *Rubrum*) From Enggano Island. *Elkawnie J Islam Sci Technol*. 2022;8(1):119–36.
5. Sudha V, Govindaraj R, Baskar K, Al-dhabi NA. Biological Properties of Endophytic Fungi. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2013;59(December):1–7.
6. Nordin NF, Begum H, Gulam S, Ahsan JK. The Antibacterial Activity of Palm Oil (*Elaeis guineensis*) Leaf Extracts Against *Staphylococcus aureus*. 2023;10(1):45–56.
7. Sulistiyani S, Ardyati T, Winarsih S. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Endophyte Bacteria Associated with *Curcuma longa* Rhizome. *J Exp Life Sci*. 2016;6(1):45–51.
8. Claus D. A standardized Gram staining procedure. *World J Microbiol Biotechnol*. 1992;8(4):451–2.
9. Ginting CN, Piska F, Harmileni, Fachrial E. Molecular identification of thermophilic bacteria with antimicrobial activity isolated from hot springs in North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*. 2023;24(2):752–8.
10. Triandriani W, Sogandi, Saputri DD, Suhendar U. Antioxidant Activity of Endophytic Bacterial Extract Isolated from Clove Leaf (*Syzygium aromaticum* L.). *J Agric Appl Biol*. 2020;1(1):9–17.
11. Firdous J, Lathif NA, Mona R, Muhamad N. Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review. *Indian J Agric Res*. 2019;53(1):1–7.
12. Irdawati, Advinda L, Angraini F. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum*Wight). *Bioscience*. 2017;1(2):63–9.
13. Indrawati I, Rossiana N, Hidayat TR. Antibacterial Activity of Bacterial Endophytes from Kupa Plant (*Syzygium Polycephalum* Miq. (Merr & Perry) Against Pathogenic Bacteria. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2018;166(1):1–9.
14. Thairu Y, Usman Y, Nasir I. Laboratory perspective of gram staining and its significance in investigations of infectious diseases. *Sub-Saharan African J Med*. 2014;1(4):168.
15. Islam N, Choi J, Baek KH. Antibacterial Activities of Endophytic Bacteria Isolated from *Taxus brevifolia* Against Foodborne Pathogenic Bacteria. *Foodborne Pathog Dis*. 2018;15(5):269–76.
16. Breijyeh Z, Jubeh B, Breijyeh Z, Karaman R. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules*. 2020;25(12).
17. Ainy EQ, Sembiring MA. Antibacterial Activity of Cultivable Endophytic Bacteria from Mangrove Tree *Rhizophora mucronata*. In: KOB I 2nd International Conference 2019. Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2019. p. 250–6.