

Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Potential of Antibacterial Compound Fermentation of Endophytic Bacteria from Taro Tuber (*Colocasia esculenta* L.) againsts *Pseudomonas aeruginosa*

Desi Purwaningsih*, Destik Wulandari

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta
Jl. Letjen Sutoyo Mojosongo, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57127

*Email korespondensi: desipurwaningsih@setiabudi.ac.id

Abstrak

Bakteri endofit merupakan bakteri yang melakukan simbiosis dengan tanaman inang tanpa menyebabkan penyakit tanpa tanaman inang. Beberapa bakteri endofitik yang ditemukan pada tumbuhan mampu menghasilkan senyawa potensial sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil fermentasi bakteri endofit dari umbi tanaman talas mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, serta mengetahui waktu optimum fermentasi yang mempunyai aktivitas antibakteri terbesar. Penelitian ini diawali dengan pembuatan suspensi bakteri endofit dan bakteri uji. Suspensi kemudian digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri endofit dan bakteri uji. Metode identifikasi yang dilakukan meliputi identifikasi koloni, pewarnaan Gram, Pewarnaan Spora dan Uji biokimia dengan ditanam pada media KIA, SIM, LIA dan Citrat. Selanjutnya dilakukan fermentasi untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas auriginosa*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cawan disk. Hasil uji kativitas antibakteri menunjukkan bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillis subtilis* keduanya mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas earuginosa*. nilai tertinggi pada waktu fermentasi 72 jam dengan nilai 8,7 pada bakteri *Bacillus siamensis*. Bakteri endofit *Bacillus subtilis* nilai aktivitas terbesar pada waktu fermentasi 48 jam dengan menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,97.

Kata Kunci: Antibakteri, Endofit, *Colocasia esculenta*, Fermentasi, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Bacterial endophyte is an endosymbiont which lives within host plants without causing apparent disease on its host plants. Some endophytic bacteria found in plants have the capability to produce potential compounds as antibacterial. This study aimed to determine the antibacterial activity of the endophytic bacteria fermentation from the tubers of taro plants and determine the optimum time of fermentation which produce the highest antibacterial activity. This research was initially started by producing the suspension of the endophytic bacteria and test bacteria. The suspension that had been made then was used to characterize and identify the endophytic bacteria and test bacteria. Identification methods include colony identification, Gram staining, Spore staining and biochemical tests planted on MCH, SIM, LIA and Citrate mediums. The fermentation was then carried out to produce secondary metabolite compounds which were utilized to examine the antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The antibacterial activity test was conducted by the disk diffusion assay. The results of the antibacterial activity assay showed that *Bacillus siamensis* and *Bacillus subtilis* were both able to produce secondary metabolites that have potential as antibacterial against *Pseudomonas aeruginosa*. The highest value was achieved by 72 hours fermentation time with a value of 8.7 by *Bacillus siamensis*. The endophytic bacteria *Bacillus subtilis* had the highest activity value at 48 hours fermentation time with an average of diameter of inhibition zone of 8.97.

Keywords: Antibacterial, Endophytic, *Colocasia esculenta*, Fermentation, *Pseudomonas aeruginosa*

Submitted: 23 April 2021

Accepted: 28 September 2021 **DOI:** <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i5.622>

1 Pendahuluan

Bakteri endofit merupakan bakteri yang melakukan simbiosis dengan tanaman inang, bakteri ini hidup pada jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan terjadinya kerusakan/penyakit pada tanaman inang. Bakteri endofit mampu masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya bisa melalui akar dan bagian tanaman yang terpapar langsung dengan udara luar seperti bunga, batang dan daun. Bakteri ini umumnya bersifat obligat atau fakultatif dalam mengkolonisasi inangnya sehingga pada satu tanaman umumnya ditemukan beberapa genus atau spesies bakteri endofit [1]. Bakteri endofitik mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya [2].

Bakteri endofit suatu tanaman mampu menghasilkan produk yang potensial sebagai antibakteri, antimalaria dan anti fungi. Hasilkan suatu senyawa kimia yang bersifat sebagai

antimikroba untuk kelompok bakteri patogen penyebab penyakit pada tanaman dan manusia. Penelitian Guan [3] menyatakan bakteri endofit dari tanaman *Kennedia nigriscans* menghasilkan munumbicin (antibiotik) dan munumbicin D (antimalaria). Bakteri *Pseudomonas viridiflava* yang merupakan bakteri endofit dari daun tanaman rumput ternyata mampu menghasilkan antibiotik *ecomycin* yang mampu bertindak sebagai antifungi [4]. Eksplorasi mikroba endofit potensial merupakan alternatif untuk mendapatkan senyawa antibiotik baru. [5]

Salah satu tanaman yang melakukan simbiosis dengan bakteri endofit adalah tanaman talas (*Colocasia esculenta* L). Tanaman talas merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak khasiat dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat. Tanaman ini mampu menyebabkan berbagai macam penyakit seperti radang, kulit bernanah, bisul, berak darah, gatal-gatal, diare dan sebagai alternatif obat luka. Hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Wijaya [6] menyatakan jika

ekstrak batang tanaman talas mengandung saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan terpenoid[6]. Subhash [1] menyatakan bahwa umbi (*Colocasia esculenta* L) mengandung senyawa alkaloid, steroid, *fixed oil*, flavonoid, tannin[1]. Beberapa senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas anti bakteri. Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan jika bakteri endofit dari tanaman talas berpotensi sebagai sumber antibiotik baru.

Produksi metabolit sekunder yang dihasilkan suatu tanaman diduga akibat adanya interaksi antara tanaman inang dan bakteri endofit. Bakteri endofit dapat diisolasi dari umbi tanaman talas, kemudian ditumbuhkan pada media artificial. Bakteri endofit dari suatu tanaman yang ditumbuhkan pada medium pembiakan akan mampu menghasilkan metabolit yang hampir sama dengan senyawa aktif yang berasal dari tanaman inangnya. Senyawa metabolite sekunder dari bekeri endofit dapat diperoleh dengan cara fermentasi. Dalam penelitian ini kan dilakukan uji aktivitas antibakteri hasil fermentasi bakteri endofit dri umbi tanaman talas terhadap bakteri patogen *Pseudomonas auriginosa*.

2 Metode Penelitian

2.1 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri endofit dan bakteri *Pseudomonas auriginosa* ditanam pada media cair BHI. Suspense bakteri endofit dari umbi tanaman talas selanjutnya digunakan untuk karakterisasi dan fermentasi. Suspensi bakteri *Pseudomonas auriginosa* distandarkan dengan standar . McFarland 0.5 yakni setara dengan kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Pembuatan suspense bakteri mengacu pada metode Assidqi [7]. Bakteri diambil sebanyak 4-10 ose dari media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam, dimasukkan kedalam tabung yang berisi NaCl fisiologis lalu dihomogenkan. Suspensi bakteri disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0.5.

2.2 Identifikasi bakteri endofit dan bakteri uji *Pseudomonas auriginosa*

Bakteri endofit maupun bakteri uji *Pseudomonas auriginosa* diidentifikasi dan

dikarakterisasi untuk memastikan kebenaran bakteri yang akan digunakan. Isolat bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus siamensis*. Bakteri *Pseudomonas knackmussii* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan Uji Biokimia dengan ditanam pada media SIM, KIA, LIA dan Citrat. Bakteri *Bacillus siamensis* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan Spora.

Isolat bakteri uji yakni *Pseudomonas auriginosa* dilakukan identifikasi dan karakterisasi. Metode identifikasi dan karakterisasi yang dilakukan adalah dengan ditanam pada meda diferensial *Pseudomonas Selective Agar*, Pewarnaan Gram, dan uji biokimia dengan ditanam pada media KIA, SIM, LIA an Citrat.

2.3 Fermentasi Bakteri Endofit

Untuk mendapatkan metabolit sekunder dari bakteri endofit umi tanaman talas dilakukan dengan cara fermentasi. Fermentasi dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri endofit pada media cair BHI. Penanaman dilakukan dengan cara mengambil 1 Ose biakan bakteri endofit kemudian diinokulasikan pada media BHI sebanyak 100 mL. kultur bakteri kemudian di inkubasi pada suhu 37°C dan diinkubasi selama 8 hari. Kultur bakteri tersebut setiap hari dilakukan penggojogan selama 15 menit dan dilakukan dua kali dalam sehari. Setiap 2 hari sekali kultur bakteri tersebut dipanen sebanyak 5 mL dan kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm untuk mengambil supernatant yang didalamnya terlarut senyawa metabolit sekunder. Supernatant yang diperoleh dari hasil sentrifugasi selanjutnya di saring untuk memisahkan sel bakteri yang masih tertinggal pada supernatant. Supernatant yang diperoleh kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri hasil fermentasi dari bakteri endofit umbi tanaman talas dilakukan pada bakteri pathogen *Pseudomonas auriginosa*. Metode uji yang dilakukan adalah dengan metode Difusi Cakram. Hasil daya uji antibakteri didasarkan pada pengukuran

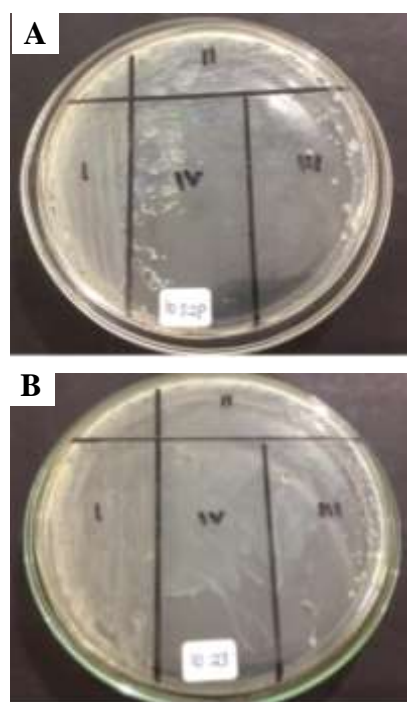
Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Suspense bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah di standarisasi dengan mc Farland 0.5 ditanam pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan metode Swab menggunakan kapas lidi steril. Bakteri yang sudah ditanam pada media MHA dibiakkan selama 10 menit terlebih dahulu agar bakteri terdifusi ke dalam media. Selanjutnya kertas cakram kosong ditetesi sebanyak 50 µL hasil fermentasi bakteri endofit dan dibiakkan selama 10 menit. Kemudian kertas cakram tersebut diletakkan pada media MHA yang sudah berisi bakteri uji. Selanjutnya media MHA tersebut Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah 24 jam diukur diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Uji dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Identifikasi bakteri Endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis*

Bakteri Endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* diidentifikasi untuk mengetahui kebenaran bakteri yang digunakan dalam penelitian[8]. Bakteri *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* disubkultur pada media *Nutrient Agar* dengan metode goresan lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh kemudian diamati berdasarkan karakter bentuk, permukaan, elevasi dan bentuk tepi koloni.

Bacillus siamensis dan *Bacillus subtilis* keduanya menunjukkan warna koloni krem/putih kekuningan, betuk bult, permukaan kasar, elevasi cembung dan bentuk tepian koloni rata (Gambar 1). Bakteri golongan *Bacillus* mempunyai beberapa karakteristik ketika ditanam pada media NA, antara lain koloni berwarna putih kekuningan, tepi rata, permukaan kasar, tidak berlendir cenderung kering, koloni berukuran besar dan tidak mengkilat [9].



Gambar 1. Hasil identifikasi morfologi koloni (A) Bakteri *Bacillus subtilis* (B) Bakteri *Bacillus siamensis* yang ditanam pada media nutrient agar

Tabel 1. Hasil identifikasi koloni bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis*

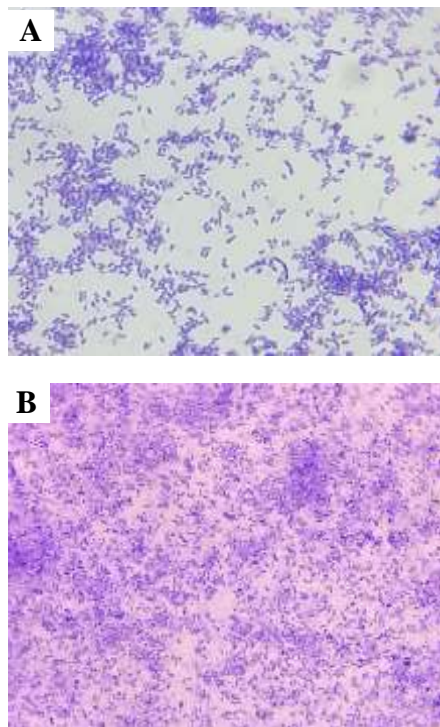
| Morfologi koloni yang diamati | Morfologi <i>B. siamensis</i> | Morfologi <i>B. subtilis</i> |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Warna | krem | krem |
| Bentuk | Bulat | Bulat |
| Permukaan | kasar | Kasar |
| Elevasi | Cembung | Cembung |
| Bentuk tepi | Rata | Rata |

Hasil Identifikasi bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan hasil kedua bakteri memberikan penampakan morfologi koloni yang mirip. Bakteri endofit

Identifikasi secara makroskopis pada bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* adalah dengan menggunakan pewarnaan Gram dan spora. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat Gram. Bakteri golongan *Bacillus* merupakan bakteri dengan sifat Gram positif yang ditandai dengan sel berwarna ungu.

Pewarnaan Gram menggunakan 4 macam cat warna yakni Gram A (Kristal violet) yang berfungsi sebagai cat utama, Gram B (lugol/iodine) yang berfungsi sebagai mordant,

Gram C (alkohol) berfungsi sebagai pelarut dan terakhir adalah Gram D (Safranin) yang berfungsi sebagai cat penutup. Dari hasil penelitian diperoleh hasil jika bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* mempunyai sifat Gram positif karena sel berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan, sel berbentuk batang dengan berkoloni seperti rantai (Gambar 2).

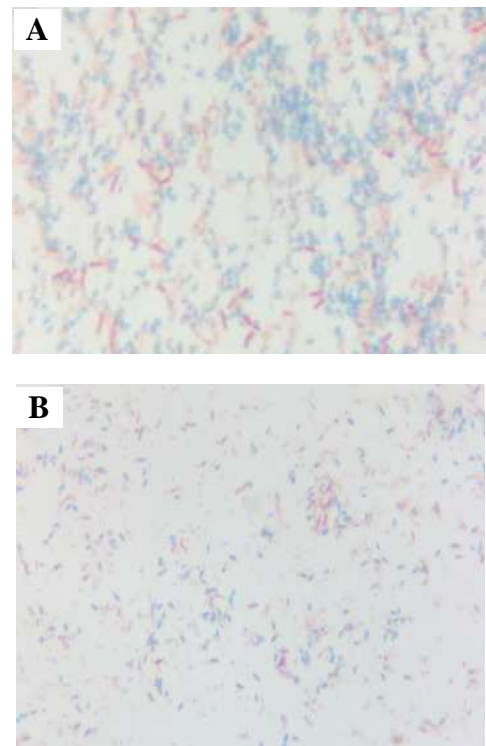


Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram (A) Bakteri *Bacillus subtilis* (B) Bakteri *Bacillus siamensis*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x

Sifat Gram suatu bakteri sangat berkaitan erat dengan sifat fisik dan kimia dinding sel suatu bakteri. Karakteristik bakteri Gram positif adalah mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negative mempunyai kandungan lipid yang tebal pada dinding selnya. Perbedaan struktur dinding sel ini menyebabkan bakteri Gram positif mempunyai afinitas yang tinggi terhadap Kristal violet sedangkan bakteri Gram negative mempunyai afinitas yang rendah. Bakteri Gram positif mampu membentuk kompleks antara Kristal violet-lugol, sehingga ketika ditambah dengan pelarut yang berisi alkohol akan

menyebabkan sel mengalami dehidrasi yang menyebabkan pori-pori menciut dan daya serap dinding sel menurun sehingga kompleks Kristal violet-lugol tidak dapat keluar dari sel akibatnya sel tetap berwarna ungu.

Identifikasi selanjutnya adalah dengan melakukan pewarnaan spora. Spora adalah bentuk dari bakteri untuk mempertahankan diri dari kondisi yang kurang mendukung untuk kehidupan dari bakteri tersebut. Golongan bakteri yang mampu membentuk spora antara lain adalah golongan *Bacillus sp* dan *Clostridium sp*. Spora akan berwarna hijau dan sel vegetatif akan berwarna merah.



Gambar 3. Hasil pewarnaan spora (A) *Bacillus siamensis* (B) *Bacillus subtilis*. Spora berwarna hijau dan sel vegetatif bakteri berwarna merah. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x

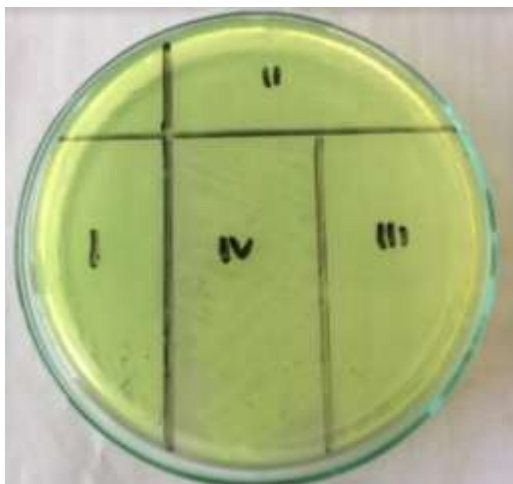
Hasil pewarnaan spora menunjukkan jika bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* mempunyai spora, hal ini ditunjukkan dengan sel vegetatif yang berwarna merah dan sel spora yang berwarna hijau (Gambar 3). Cat warna yang digunakan dalam pewarnaan spora ini adalah *malachite green* sebagai cat untuk

spora, sehingga jika terdapat sopra maka akan berwarna hijau. Spora yang berhasil diwarnai akan mengikat kuat cat warna tersebut sehingga ketika ditutup kembali dengan cat warna lain (safranin) spora akan tetap mempertahankan warna awalnya.

3.2 Identifikasi Bakteri Uji *Pseudomonas auriginosa*

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas auriginosa*. Identifikasi bakteri uji perlu dilakukan untuk memastikan jika bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas auriginosa* murni tanpa terkontaminasi bakteri lainnya. Identifikasi yang dilakukan meliputi identifikasi koloni, Pewarnaan Gram dan uji biokimia.

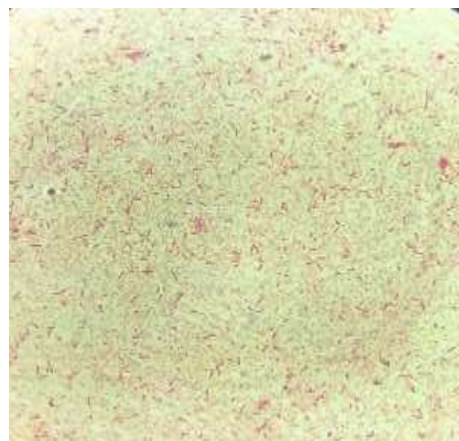
Identifikasi koloni dilakukan dengan cara menggosokkan biakan *Pseudomonas auriginosa* pada media *Pseudomonas selective agar* (PSA). Hasil penelitian menunjukkan koloni bulat, halus dan berwarna hijau (gambar 4). Warna hijau dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas auriginosa* karena mempunyai pigmen pyocyanin.



Gambar 4. Hasil identifikasi koloni *Pseudomonas auriginosa* pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA)

Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bakteri *Pseudomonas auriginosa* merupakan bakteri Gram negative yang ditunjukkan dengan sel yang berwarna

merah susunan sel tersebar dan sel berbentuk batang (Gambar 5). Bakteri Gram negatif tidak dapat menahan kompleks zat warna iodin dan menjadi translusen, bakteri ini dapat diwarnai lagi dengan safranin (zat berwarna merah) sehingga sel bakteri Gram negative berwarna merah [10].

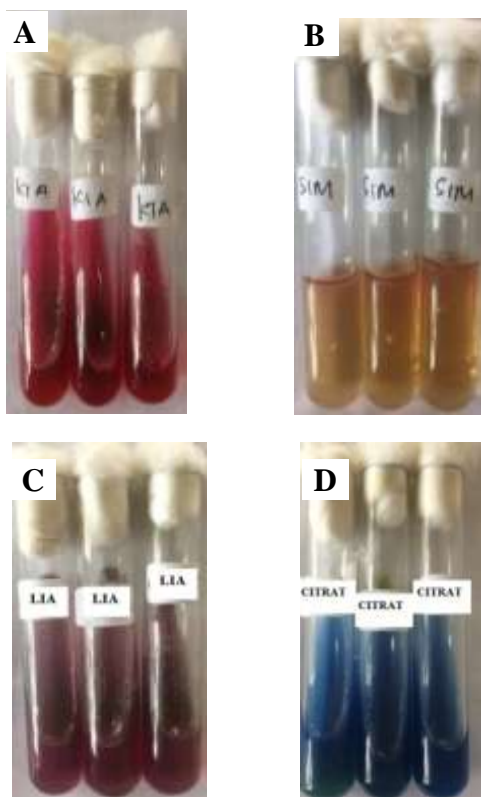


Gambar 5. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas auriginosa*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x.

Tahap identifikasi selanjutnya adalah dengan uji biokimia menggunakan media KIA, SIM, LIA, Citrat (Gambar 6). Hasil pengamatan pada media KIA menunjukkan hasil K/K s⁻. Bagian lereng dan dasar tetap berwarna merah hal ini menunjukkan jika bakteri *Pseudomonas auriginosa* tidak mampu memfermentasikan glukosa dan laktosa.

Hasil Uji pada media SIM menunjukkan hasil sulfida (-), Indol (-) dan motilitas (+). Bakteri *Pseudomonas auriginosa* tidak mampu menghasilkan sulfida karena bakteri tidak mampu mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfida yang menyebabkan media tidak menghasilkan warna hitam. Hasil dari uji indol menunjukkan negatif atau tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan erlich Adan B (1:1). Hal ini disebabkan bakteri tidak membentuk indol dan triptophan sebagai sumber karbon. Motilitas yang positif ditandai dengan adanya pertumbuhan dan penyebaran kekeruhan bakteri pada seluruh media.

Hasil uji LIAdidapatkan hasil menunjukkan warna ungu pada lereng dan dasar media serta tidak S- terbentuk warna hitam (K/K). Berdasarkan hasil tersebut bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk sulfida (warna hitam), tidak membentuk deaminasi lisin dan dapat membentuk dekarboksilasi lisin (warna ungu). Pengamatan pada medium citrat positif berwarna biru artinya *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.



Gambar 6. Hasil uji biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada beberapa media; (a) media Kliger Iron Agar (KIA), (b) media Sulfid Indol Motil (SIM), (c) media Lysine Iron Agar (LIA), (d) media Citrat

3.3 Fermentasi Bakteri Endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis*

Tujuan dari fermentasi bakteri endofit adalah untuk mengasihkan senyawa metabolit sekunder. Media yang digunakan dalam fermentasi adalah media cair yakni media BHI. Media cair lebih dipilih karena lebih efektif digunakan untuk memproduksi biomassa

sehingga hasil dari fermentasi menjadi lebih optimal. Fermentasi bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* dilakukan dalam rentang waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Inkubasi bakteri dilakukan pada suhu 37°C dan dilakukan penggojokan setiap hari. Fermentasi dengan cara digojog merupakan suatu metode pemanfaatan dari medium oleh mikroorganisme yang hasilnya akan menjadi lebih efisien, mempercepat pertumbuhan isolat bakteri dan pertumbuhan yang dihasilkan lebih homogen.

Metabolit sekunder akan dihasilkan mikroorganisme pada akhir fase pertumbuhan yakni pada fase stasioner. Fase stasioner adalah fase dimana sel yang tumbuh jumlahnya sama dengan sel yang mati. Sintesis metabolit sekunder akan dihasilkan saat nutrient pada media pertumbuhan mikroorganisme telah habis, keterbatasan jumlah nutrient media pertumbuhan menyebabkan terakumulasi inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder[11]. Penelitian Roostan [12] menunjukkan fase stasioner dari bakteri *Bacillus subtilis* adalah 96 jam. fase pertumbuhan bakteri ini digunakan untuk menentukan waktu fermentasi yang akan digunakan. Pada saat inkubasi 24 jam pertama bakteri masih dalam tahap penyesuaian diri (fase lag) sehingga senyawa metabolit yang dihasilkan masih sangat rendah.

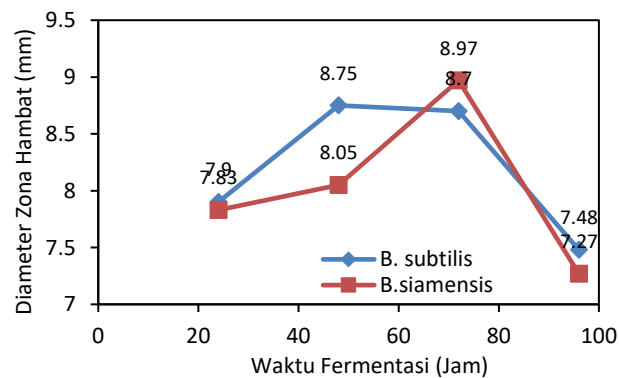
3.4 Uji Aktivitas Antimikroba bakteri endofit terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi disk cakram. Disk cakram ditetesi hasil fermentasi dari bakteri endofit dan diletakkan pada media MHA yang sudah ditanam dengan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram disk. Zona bening yang terbentuk karena adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa metabolit sekunder. Pengujian antibakteri dilakukan pada supernatan hasil fermentasi jam ke 24, 48, 72 dan 96.

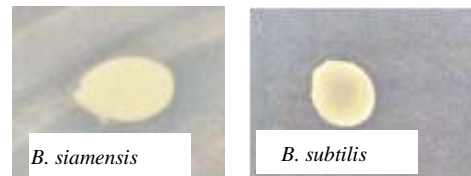
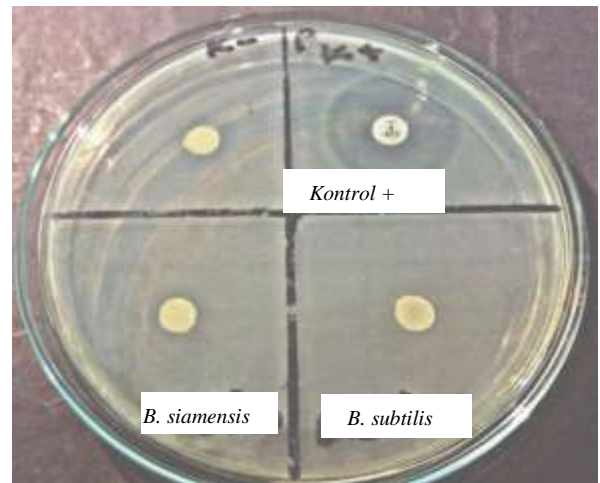
Tabel 2. Hasil uji kativitas antibakteri endofit terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

| Bakteri Endofit | Kelompok | Rata-rata (mm) ± SD |
|---------------------------|---------------------|---------------------|
| <i>Bacillus siamensis</i> | Kontrol positif (+) | 25,2 ± 3,85 |
| | jam ke 24 | 7,90 ± 0,51 |
| | jam ke 48 | 8,75 ± 0,13 |
| | jam ke 72 | 8,7 ± 0,54 |
| | jam ke 96 | 7,48 ± 0,62 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Kontrol positif (+) | 25,2 ± 3,85 |
| | jam ke 24 | 7,83 ± 0,83 |
| | jam ke 48 | 8,05 ± 0,23 |
| | jam ke 72 | 8,97 ± 0,53 |
| | jam ke 96 | 7,27 ± 0,19 |

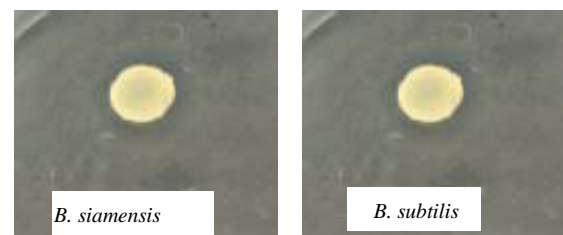
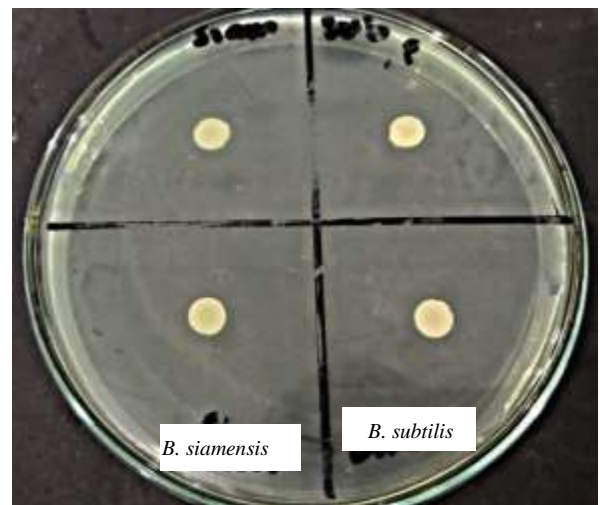
Berdasarkan hasil pada tabel 2 menunjukkan adanya zona hambat disetiap waktu fermentasi. Bakteri *Bacillus subtilis* jam ke 24 hasil daya hambat tidak optimum. Hal ini disebabkan bakteri masih berada pada tahap penyesuaian diri (fase lag) sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan masih sangat sedikit. Berdasarkan tabel dapat diketahui pada waktu fermentasi 24 jam hasil aktivitas antibakteri menunjukkan zona hambat sebesar 7.83 mm. Pada waktu fermentasi 48 jam terjadi kenaikan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dari bertambahnya diameter zona hambat. Zona hambat yang dihasilkan pada waktu fermentasi 48 jam adalah sebesar 8.05 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri dari hasil fermentasi bakteri endofit *Bacillus subtilis* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* diketahui nilai tertinggi pada waktu fermentasi 72 jam rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,97 mm. Pada waktu fermentasi 96 jam terjadi penurunan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan berkurangnya diameter zona hambat, yakni sebesar 7.27 mm.



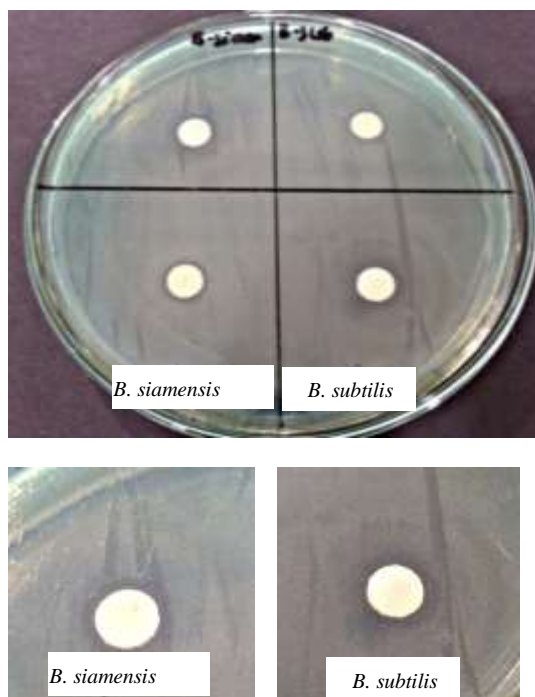
Gambar 7 . Kurva perbandingan aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus siamensis* terhadap *Pseudomonas aeruginosa*



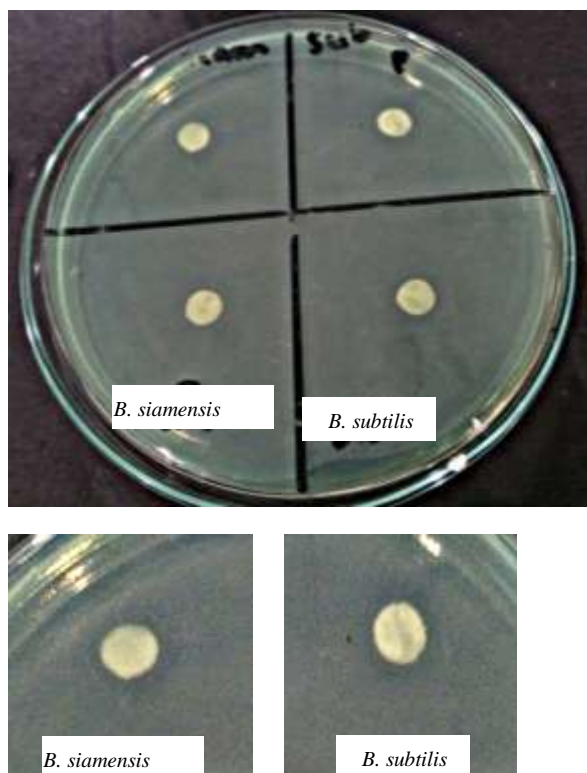
Gambar 8. Hasil uji aktivitas antibakteri endofit terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada waktu fermentasi 24 jam



Gambar 9. Hasil uji aktivitas antibakteri endofit terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada waktu fermentasi 48 jam



Gambar 10. Hasil uji aktivitas antibakteri endofit terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada waktu fermentasi 72 jam



Gambar 11. Hasil uji aktivitas antibakteri endofit terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada waktu fermentasi 96 jam

Hasil uji aktivitas antibakteri pada *Bacillus siamensis* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan pola yang sama dengan bakteri *Bacillus subtilis*. Hasil uji aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan pada jam ke 48 dan 72 dengan diameter zona bening sebesar 8.7 mm. Waktu fermentasi 24 jam diameter zona hambat sebesar 7.90 mm dan meningkat di jam ke 48 dan 72 jam dengan diameter zona hambat sebesar 8.7 mm. pada waktu fermentasi 96 jam terjadi penurunan aktivitas antibakteri yakni dengan nilai diameter zona hambat sebesar 7.48 mm. Perbedaan aktivitas antibakteri pada isolat bakteri dapat terjadi karena adanya perbedaan laju pertumbuhan, pengaruh kandungan enzim yang terdapat pada setiap bakteri berbeda sehingga berpengaruh terhadap proses metabolisme serta dalam menghasilkan senyawa bioaktif (metabolit sekunder) [13].

Bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan tanaman inangnya akibat adanya transfer materi genetik, sehingga seringkali memiliki aktivitas biologis yang serupa dengan senyawa bioaktif yang diproduksi inangnya [4]. Penelitian ini membuktikan jika bakteri endofit dari umbi talas mempunyai aktivitas antibakteri seperti pada ekstrak tanaman inangnya meskipun aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri endofit dari umbi talas belum bisa dikatakan kuat. Penelitian yang dilakukan Hibai [14] menyatakan jika ekstrak umbi talas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* dan *Vibrio Cholera*.

4 Kesimpulan

Bacillus siamensis yang diisolasi dari umbi tanaman talas memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas*. Hasil uji aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan pada jam ke 48 dan 72 dengan diameter zona bening sebesar 8.7 mm, dan aktivitas antibakteri mengalami penurunan setelah fermentasi selama 96 jam.

5 Kontribusi Penulis

Pembagian tugas sudah dilakukan sesuai dengan prosinya antara penulis pertama dengan penulis kedua, baik dalam tahapan penelitian ataupun penulisan naskah jurnal.

6 Daftar Pustaka

- [1] S. J. Bhore and G. Sathisha, "Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-Like Compounds: Crude Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria Is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay," *World J. Agric. Sci.*, vol. 6, no. 4, pp. 345–352, 2010.
- [2] T. Taechowisan, C. Lu, Y. Shen, and S. Lumyong, "Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity," *Microbiology*, vol. 151, no. 5, pp. 1691–1695, 2005, doi: 10.1099/mic.0.27758-0.
- [3] S. H. Guan, I. Sattler, W. H. Lin, D. A. Guo, and S. Grabley, "p-Aminoacetophenonic acids produced by a mangrove endophyte: *Streptomyces griseus* subsp.," *J. Nat. Prod.*, vol. 68, no. 8, pp. 1198–1200, 2005, doi: 10.1021/np0500777.
- [4] G. Strobel and B. Daisy, "Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products," *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, vol. 67, no. 4, pp. 491–502, 2003, doi: 10.1128/mmbr.67.4.491-502.2003.
- [5] P. Simanjuntak, Bustanussalam, D. M. Otovina, M. Rahayuningsih, and E. G. Said, "Studies on endophytic microbes of *Artemisia* spp. (3). Isolation and identification of artemisinin from product of endophyte microbe cultivation from *Artemisia annua*," *Maj. Farm. Indones.*, vol. 15, no. 2, pp. 68–74, 2004.
- [6] B. A. Wijaya, G. Citraningtyas, and F. Wehantouw, "Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta* [L]) Sebagai Alternatif Obat Luka Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*)," *Pharmakon*, vol. 3, no. 3, pp. 211–219, 2014, doi: 10.35799/pha.3.2014.5409.
- [7] K. Assidqi, W. Tjahjaningsih, and S. Sigit, "Potensi ekstrak daun patikan kebo (," vol. 1, no. 2, pp. 113–124, 2012.
- [8] D. Wulandari and D. Purwaningsih, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L . Kunth) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*," *J. Farm. Indones.*, vol. 13, no. 2, pp. 171–177, 2016.
- [9] Mukamto, S. Ulfah, W. Mahalina, A. Syauqi, L. Istiqfaroh, and G. Trimulyono, "Mukamto 2015.Pdf." .
- [10] S. A. Brooks, Geo F . Butel, Janet. Morse, *Mikrobiologi Iftdokteran*, vol. 23. 2004.
- [11] M. Poeloengan and Praptiwi, "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Gardnia mangostana* Linn)," vol. XX, no. 30, pp. 65–69, 2010.
- [12] Zohreh Roostan, "Phenanthrene biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* isolated from Persian gulf sediments," *African J. Microbiol. Res.*, vol. 6, no. 21, pp. 4585–4591, 2012, doi: 10.5897/ajmr12.340.
- [13] M. F. Imron and I. F. Purwanti, "Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter* S8 dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan Trivalent Chromium (Cr³⁺) pada Limbah Cair," *J. Tek. ITS*, vol. 5, no. 1, pp. 3–10, 2016, doi: 10.12962/j23373539.v5i1.14854.
- [14] A. R. Y. Hibai, Herwin, and R. Kosman, "Antibacterial Activity Assay Of Ethanolic Extract Of Bulbs Sticky Taro (*Colocasia esculenta*) Use TLC-Bioautografi," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 07, no. 01, pp. 76–84, 2015.