

ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TUMBUHAN KELAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm) Bedd)

Febri Nur Ngazizah¹, Efriyana Oksal^{2*}, Chuchita², Ahmad Irawan³, Zimon Pereiz²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Palangka Raya

²Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Palangka Raya

³Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Palangka Raya

*Email: efriyana.oksal18@mipa.upr.ac.id

ABSTRAK

Kelakai (*Stenochlaena palustris*) merupakan jenis tumbuhan pakis yang digunakan oleh masyarakat etnis Dayak dalam pengobatan tradisional. Bioaktivitas kelakai yang beragam tidak terlepas dari tingginya kandungan antioksidan yang terdapat pada kelakai. Senyawa fitokimia yang terdapat pada kelakai seperti fenol, flavonoid, antosianin, asam hidroksisinamat, proanthocyanidins, tanin, alkaloid, saponin, karotenoid, terpenoid, diperkirakan bisa dihasilkan oleh mikroba endofit yang ada pada kelakai. Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian tanaman, seperti daun, batang, kulit kayu, dan akar. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari *S. palustris*. Metode yang digunakan adalah direct planting. Sampel yang digunakan adalah daun dan batang *S. palustris*. Hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat enam jumlah isolat bakteri endofit yang ditemukan pada daun dan batang yaitu D1, D2, B1, B2, B3, B4 yang memiliki morfologi koloni pada permukaan dan warna yang berbeda, serta bentuk dan tepi yang sama. Hasil uji pewarnaan Gram pada bakteri endofit menunjukkan hasil negatif dan berbentuk basil. Pada penelitian ini berhasil diperoleh bakteri endofit *S. palustris* dari daun dan batang yang dapat di analisa lebih lanjut aktifitasnya.

Kata Kunci: Bakteri endofit, Kelakai, *Stenochlaena palustris*

ABSTRACT

Kelakai (Stenochlaena palustris) is a type of medicinal fern used by the Dayak ethnic community in traditional medicine. The diverse bioactivity of kelakai is closely related to its high antioxidant content. The phytochemical compounds found in kelakai, such as phenols, flavonoids, anthocyanins, hydroxycinnamic acid, proanthocyanidins, tannins, alkaloids, saponins, carotenoids, and terpenoids, are believed to be produced by the endophytic microbes present in kelakai. Endophytic bacteria can be isolated from the plant, such as leaves, stems, bark, and roots. This research aims to isolate and identify endophytic bacteria from S. palustris. The method used is direct planting. The samples used are the leaves and stems of S. palustris. The results of the research conducted revealed six isolates of endophytic bacteria found in the leaves and stems, namely D1, D2, B1, B2, B3, and B4, which exhibit different colony morphology on the surface and color, while having similar

shapes and edges. The results of the Gram staining test on the endophytic bacteria showed negative results and they are rod-shaped. In this study, endophytic bacteria S. palustris were successfully obtained from leaves and stems, which can be further analyzed for their activity.

Keywords: *Endophytic Bacteria, Kelakai, Stenochlaena palustris*

PENDAHULUAN

Potensi tanaman obat di Kalimantan sangat beragam, baik yang telah digunakan oleh masyarakat sekitar maupun yang belum. Beberapa tanaman yang populer digunakan sebagai obat oleh Masyarakat local adalah bawang dayak palmifolia Merr. (Eleutherine) ^{1,2}, bajakah ^{3,4} dan kelakai ^{5,6}.

Kelakai adalah tumbuhan paku-pakuan dengan panjang 5 – 10 m. Akar kelakai berbentuk serabut dan menjalar di dalam tanah.. Tumbuhan kelakai tumbuh pada rawa atau hutan-hutan, khususnya disekitar tepi sungai dan sumber air. Kelakai merupakan paku terrestrial di alam terbuka dan setelah dewasa akan menjalar atau hidup menumpang pada tumbuhan lainnya ⁷

Kelakai mengandung golongan senyawa flavonoid dan tanin yang diantaranya berfungsi sebagai

mencegah kekurangan darah (pencegah anemia), menstruasi teratur, antidiare serta berkhasiat pada pereda demam, mengobati sakit kulit, meningkatkan ASI, mengobati luka, antiinflamasi, serta dapat mengobati kanker, antibakteri dan antioksidan alami ⁸⁻¹¹, pada kecantikan dapat dimanfaatkan sebagai toner ⁵. Kelakai memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7, MDA-MB-231, DU-145, dan HeLa. Ekstrak, fraksi n-heksan, dan etil asetat herba kelakai memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HepG2, sedangkan fraksi air tidak memiliki aktivitas sitotoksik Fraksi etil asetat memiliki golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin yang memiliki kemampuan sitotoksik terhadap sel HepG2 ¹². Senyawa bioaktif yang terdapat tumbuhan tidak selalu berasal dari tumbuhan itu sendiri, melainkan dari organisme lain yang mensintesis senyawa bioaktif di dalam bagian *S. palustris*. Dengan

demikian ada kemungkinan terdapat jamur atau bakteri endofit yang hidup atau tinggal di tumbuhan *S. palustris* yang berperan sebagai penghasil bioaktif yang sebenarnya.

Mikroorganisme yang hidup asimtomatis dalam jaringan tanaman, tidak menyebabkan kerusakan pada tanaman inang dan diisolasi dari permukaan eksplan yang telah disterilkan. Dengan prinsip symbiosis mutualisme, mikroorganisme endofit hidup di dalam jaringan tanaman dan menghabiskan sebagian besar siklus hidupnya di dalam tanaman inang.

Pengujian kandungan metabolit sekunder dari jamur endofitik pada bunga tumbuhan *A. paniculata* diperoleh memiliki kemampuan inhibisi bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi 1%, 3%, dan 5%¹³. Lebih khususnya, bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian tubuh tanaman, seperti daun, batang, kulit kayu, dan akar. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder sama dengan tanaman inangnya¹⁴. Peran lain bakteri endofit

adalah sebagai agen biokontrol patogen yang menyebabkan penyakit pada tanaman. Bakteri endofit menghasilkan senyawa metabolit yang beracun bagi patogen. Bakteri endofit memiliki kemampuan memproduksi metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Hal ini merupakan potensi besar sebagai bahan pembuatan obat yang berasal dari bahan alam, tanpa harus mengeksploitasi tanaman secara berlebihan. Isolasi mikrobiologi seperti bakteri endofit menunjukkan aktivitas farmakologi pada tanaman inangnya seperti antibakteri dan antifungi yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pembuatan obat¹⁵.

METODE PENELITIAN

Isolasi Bakteri Endofit

Sampel *S. palustris* (termasuk akar dan daun) yang digunakan berasal dari lahan gambut Universitas Palangka Raya. Bagian daun dan batang tidak menunjukkan gejala penyakit dimasukkan ke dalam plastik steril kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi bakteri endofit.

Sampel dicuci dan dipotong dengan ukuran 1-3 cm. Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan. Sampel disterilisasi permukaan dengan cara merendamnya dalam etanol 70% selama 60 detik. Langkah berikutnya perendaman dengan Ca(ClO)₂ 25,25% selama 3 menit, kemudian direndam lagi dengan etanol 70% selama 60 detik. selama 30 detik kemudian dibilas tiga kali menggunakan aquades steril untuk menghilangkan residu disinfektan. Sampel ditiriskan lalu diletakkan di atas permukaan media NA. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 - 48 jam¹⁶⁻¹⁸. Sebanyak 1 ml aquades bilasan terakhir dipipet ke dalam media NA untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminasi. Koloni bakteri yang tumbuh di sekitar jaringan tanaman disubkultur hingga menjadi isolat murni^{19, 20}.

Identifikasi Bakteri Secara Makroskopik dan Mikroskopik

Isolat bakteri endofit selanjutnya diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi bentuk, tepi, elevasi dan

warna koloni. Secara mikroskopis dilakukan dengan metode perwarnaan Gram dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x untuk melihat bentuk dan jenis Gram sel bakteri.

Analisis Data

Data hasil penelitian berupa data kualitatif. Data kualitatif terdiri dari hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Data makroskopis meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni, dan warna koloni. Data mikroskopis meliputi bentuk sel, dan sifat Gram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi dengan *direct planting* pada media NA di cawan petri diperoleh 6 isolat bakteri endofit yaitu isolat D1 dan D2 dari daun, serta B1, B2, B3, dan B4 dari batang. Isolat yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopis bakteri endofit yang tersaji pada (Tabel 1).

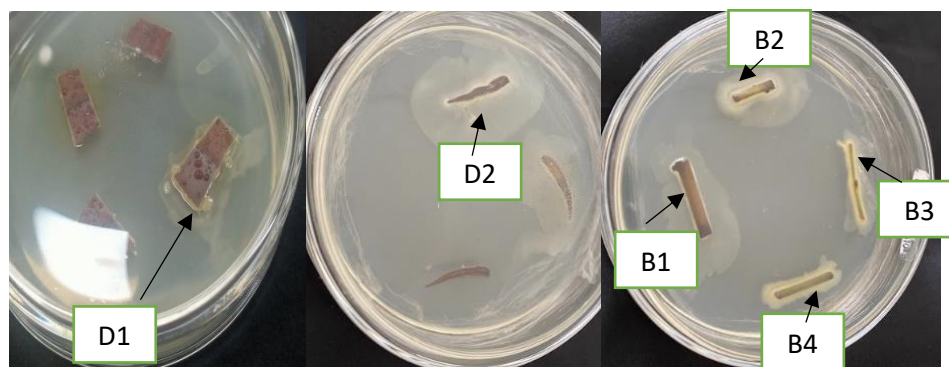
Tabel 1. Karakterisasi makroskopis bakteri endofit pada daun dan batang *S. palustris*

Tabel 1. Karakterisasi makroskopis bakteri endofit pada daun dan batang *S. palustris*

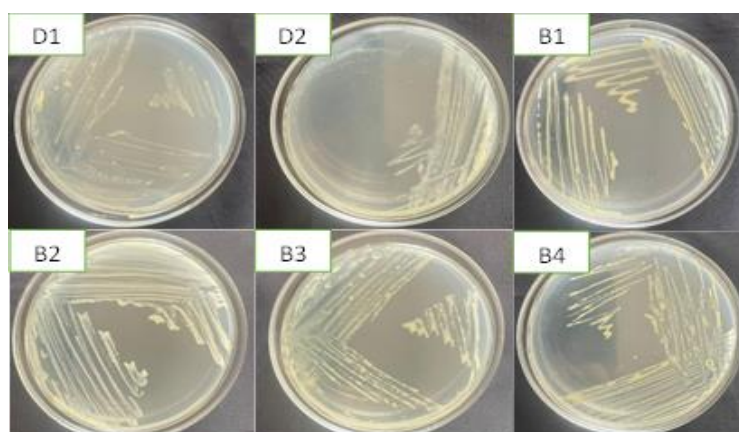
Isolat	Pengamatan Makroskopis			
	Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna
D1	Bulat	Datar	Rata	Krem
D2	Bulat	Datar	Rata	Krem
B1	Bulat	Timbul	Rata	Putih Kekuningan
B2	Bulat	Datar	Rata	Krem Pekat
B3	Bulat	Datar	Rata	Krem Pekat
B4	Bulat	Timbul	Rata	Putih Kekuningan

Keterangan:

- D1 : Isolat bakteri endofit daun 1
- D2 : Isolat bakteri endofit daun 2
- B1 : Isolat bakteri endofit batang 1
- B2 : Isolat bakteri endofit batang 2
- B3 : Isolat bakteri endofit batang 3
- B4 : Isolat bakteri endofit batang 4



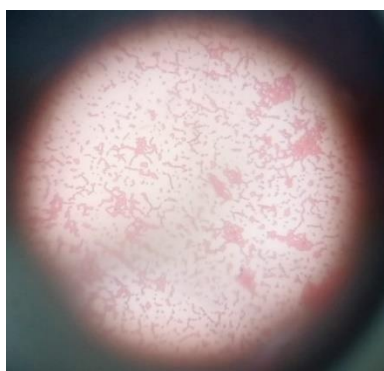
Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit pada media NB dari sampel: (D). daun (B). batang. Masing-masing isolat bakteri endofit kemudian diinokulasikan kembali pada media NA sampai memperoleh koloni tunggal (Gambar 2).



Gambar 2. Kultur isolat bakteri endofit pada media NB dari sampel: (D). daun (B). batang

Daun dan batang *S. palustris* yang telah ditanam pada media NA menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri endofit disekitar daun dan batang. Secara makroskopis dapat dilihat bahwa koloni bakteri endofit dari masing-masing isolat mempunyai karakter yang berbeda-beda.

Karakteristik sel bakteri endofit koloni tunggal yang telah diperoleh kemudian dilakukan pengujian Gram. Berdasarkan uji pewarnaan Gram ke enam isolat bakteri endofit tumbuhan *S. palustris* berbentuk basil (batang) pendek dan bersifat Gram negatif (berwarna merah) setelah diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x.



Gambar 3. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri endofit tumbuhan *S. palustris*

Sampel tumbuhan *S. palustris* yang digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofit berasal dari lahan gambut Universitas Palangka Raya. Daun dan batang yang digunakan dipilih dalam kondisi segar, tidak layu dan tidak ada kerusakan atau tanda penyakit pada organ. Pada penelitian ini sampel daun dan batang terlebih dahulu disterilisasi permukaan. Sterilisasi permukaan sampel daun dan akar dilakukan supaya tidak ada bakteri atau jamur kontaminan.

Enam isolat bakteri endofit didapatkan pada penelitian ini. Isolat diperoleh dari hasil isolasi tumbuhan *S. palustris* pada bagian daun dan batang. Kemudian koloni bakteri dimurnikan dengan metode *streak plate* secara kuadran pada media NA, *Streak plate* secara kuadran bertujuan untuk mendapatkan bakteri yang murni atau terpisah koloninya. Koloni bakteri endofit *S. palustris* secara makroskopis umumnya mempunyai bentuk koloni yang bulat, tepi rata dan warna putih hingga krem.

Sedangkan hasil pengamatan mikroskopis menggunakan pewarna gram

menghasilkan keenam isolate bakteri endofit tumbuhan *S. palustris* berbentuk batang gram negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian Linda (2022) Enam isolat bakteri endofit dari tumbuhan paku laut merupakan bakteri Gram negatif²¹. Bakteri pada tanaman yang sama tidak selalu identik. Meskipun bakteri memiliki banyak bentuk, tiga bentuk yang paling umum adalah bulat (coccus), batang (bacillus) dan spiral (coccus). Perubahan bentuk sel mungkin terjadi baik secara permanen maupun sebagai akibat dari pengaruh lingkungan yang tidak baik, yang disebut involusi²².

Hasil penelitian pada *S. palustris* pernah dilakukan oleh Anam, et al., (2024) dan memperoleh skrining bakteri endofit yang dapat menekan kejadian penyakit fusarium pada beras merah sebesar 67,5% dan 70% dengan efektivitas 30,7% dan 28,2% lebih baik dibanding kejadian penyakit kontrol 97,5%²³. Selain pada *S. palustris* jenis tumbuhan paku lainnya yaitu *Acrostichum aureum* diperoleh hasil isolat endofit yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif alkaloid dan saponin serta ekstrak kasar isolate DSB1.6 Gugus alkaloid di peroleh dari analisis FTIR pada

empat puncak utama serapan spektrum 3197,09-3253,15 cm^{-1} , 1622,20 cm^{-1} , 1018,46-1200,74 cm^{-1} dan 645,22-702,12 cm^{-1} ²¹.

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat bakteri endofit pada jaringan daun dan batang tumbuhan *S. palustris*. Isolat bakteri endofit tersebut sebanyak 6 isolat yaitu D1, D2, B1, B2, B3 dan B4. Karakter mikroskopis menggunakan pewarnaan gram dari keenam isolat tersebut berbentuk basil gram negatif. Berdasarkan hasil penelitian tersebut disarankan melakukan kajian lebih lanjut seperti uji hemolisis, uji antimikroba dan uji antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Fakultas FMIPA Universitas Palangka Raya atas bantuan dana DIPA PNBPU Universitas Palangka Raya Tahun 2024 dalam skema penelitian dosen pemula.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumalasari E, Prihandiwati E. Formulasi Krim Antiaging Ekstrak Daun Bawang Dayak Dengan Emulgator Anionik Dan Nonionik. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2019;2(2):222-230. Doi:10.36387/Jifi.V2i2.386
2. Kumalasari E, Agustina D, Ariani N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* Merr.) Terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2020;3(1):75-84. Doi:10.36387/Jifi.V3i1.497
3. Ayuchecaria N, Gunawan Ye, Oksal E, Citrariana S. Formulasi Dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Daun Bajakah Kalalawit (*Uncaria Gambir* Roxb.) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit Putih. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2023;6(2):251-262. Doi:10.36387/Jifi.V6i2.1635
4. Ayuchecaria N, Oksal E, Sri Martani N, Kartika Komara N, Pereiz Z. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Hanjuang Merah (*Cordyline Fruticose*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2024;7(1):86-94. Doi:10.36387/Jifi.V7i1.1683
5. Forestryana D, Muawiyah W, Sayakti Pi. Inkorporasi Mikroemulsi Ekstrak Etanol Akar Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burn. F) Bedd.) Pada Formulasi Toner Wajah Dengan Variasi Konsentrasi Gliserin. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2024;6(3):18-29. Doi:10.36387/Jifi.V6i3.1706
6. Oksal E, Ayuchecaria N, Agnestisia R, Et Al. Review Article: Antioxidant Activity In Kalakai (*Stenochlaena Palustris*). *Alotrop*. 2023;7(2):1-9. Doi:10.33369/Alo.V7i2.29209
7. Muslim Mrf, Wirnawati W. Karakterisasi Simplisia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris* Bedd.). Published Online 2022.
8. Rostinawati T, Suryana S, Fajrin M, Nugrahani H. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F) Terhadap *Salmonella Thypi* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar Clsi M02-A11. *Pharmauho*. 2017;3(1):1-5.
9. Legung D. Analisis Fitokimia, Bioaktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai Tua (*Stenochlaena Palustris*). Published Online 2023.
10. Saputri R, Rakhman Hakim A, Shelvia Savitri A, Ujuldah A, Damayanti A, Pitriya A. Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris*) Asal Gambut Kalimantan Selatan.

- Sains Medisina*. 2023;1(4):191-194.
11. Habibah H, Saputri I, Setiawati I, Komari N. Effect Of Kelakai (*Stenochlaena Palustris*) Extract On Organophosphate Pesticide Exposure : Cytotoxic Studies In Silico And In Ovo Pengaruh Ekstrak Kelakai (*Stenochlaena Palustris*) Pada Paparan Pestisida Organofosfat : Kajian Sitotoksik In Silico Dan I. *Jurnal Ilmiah Berkala: Sains Dan Terapan Kimia*. 2023;17(2):1-14. Doi:10.20527/Jstk.V17i2
 12. Yanti Mn, Rahmawati I, Herdwiani W. Uji Aktivitas Sitotoksik Herba Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm.F.) Bedd.) Terhadap Sel Kanker Hati Hepg2. *Jurnal Bioteknologi Dan Biosains Indonesia*. 2021;8(2):255-266.
 13. Riga R, Aulia Suhanah R, Suryelita S, Benti Etika S, Ulfah M. Jamur Endofitik Yang Diisolasi Dari Bunga *Andrographis Paniculata* (*Sambilotto*) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2021;4(1):139-148. Doi:10.36387/Jifi.V4i1.664
 14. Ariyanti D, Arsita N. Isolasi Dan Uji Daya Hambat Bakteri Endofit Alga Hijau (*Ulva Lactuca*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Salmonella Thyphi*. *Jurnal Tambora*. 2023;7(2):24-32. Doi:10.36761/Jt.V7i2.2978
 15. Prayoga P, Muhsinin S, Marliani L. Review : Karakterisasi Dan Pemanfaatan Bakteri Endofit Yang Berasal Dari Familia Zingiberaceae Di Bidang Farmasi. *Jops (Journal Of Pharmacy And Science)*. 2021;4(2):51-60. Doi:10.36341/Jops.V4i2.1885
 16. Febrianti Dr, Musiam S, Kurniawan D, Tinggi S, Kesehatan I, Banjarmasin I. Aktivitas Minyak Atsiri Bunga Lily (*Lilium Auratum*) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*. *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*. 2021;1(2).
 17. Febrianti Dr, Aryzki S, Khadijah M, Kumalasari E, Niah R. Aktivitas *Baccaurea Motleyana* Mull.Arg. Terhadap *Salmonella Thyphi*. *Jurnal Pharmascience*. 2024;11(2):352. Doi:10.20527/Jps.V11i2.16498
 18. Aryzki S, Rizki Febrianti D, Studi Farmasi P, Et Al. Aktivitas Minyak Atsiri Bunga Lili (*Lilium Auratum*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Pharmascience*. 2023;10(1):102-109. <https://Ppjp.Ulm.Ac.Id/Journal/Index.Php/Pharmascience>
 19. Triana O, Sarjono Pr, Mulyani Ns. Isolasi Bakteri Endofit Pada Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Linn. Var *Rubrum*) Penghasil Senyawa Antioksidan. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. 2017;20(1):25-29. Doi:10.14710/Jksa.20.1.25-29

20. Naibaho F, Putra Ed, Neneng L, Panjaitan D. Isolasi Bakteri Endofit Bawang Dayak (Eleutherine Bulbosa) Dan Uji Antagonisme Terhadap Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*. 2023;19(1):42-51. Doi:10.21009/Bioma19(1).5
21. Linda Tm, Berlyansah A, Fibriarti Bl, Sofiyanti N, Devi S. Isolation And Analysis Of Bioactive Compounds Endophytic Bacteria Of Sea Fern (Acrostichum Aureum L.) From Bengkalis Island, Riau. *Jurnal Biologi Tropis*. 2021;22(1):46-54. Doi:10.29303/Jbt.V22i1.3104
22. Ginting L, Wijanarka, Kusdiyantini E. Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (Carica Papaya L.) Dan Uji Aktivitas Enzim Amilase. *Berkala Bioteknologi*. 2020;3(2):1-7.
23. Anam Ak, Mariana M, Budi Is. Formulasi Bakteri Endofit Untuk Menekan Kejadian Penyakit Fusarium Pada Padi Beras Merah (Oryza Nivara. L). *Jurnal Proteksi Tanaman Tropika*. 2024;7(2):865-873. Doi:10.20527/Jptt.V7i2.2606