



UNIVERSITAS NEGERI MANADO, SULAWESI UTARA, INDONESIA

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Tanaman Bangun–bangun (*Coleus amboinicus* L.)

Identification and Characterization of Endophytic Bacteria in Bangun–bangun (*Coleus amboinicus* L.)

Yohanes Eugenius Hasiolan^{1*}, Orbanus Naharia², Helen Joan Lawalata², Jefry Jack Mamangkey² dan Rievo Djarang²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Manado

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Manado

Kampus Unima di Tondano, Sulawesi Utara 95618, Indonesia

*Korespondensi penulis, email: yohanes.eugenius@gmail.com

Diterima 2 Maret 2022/Disetujui 1 April 2022

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang seluruh atau sebagian hidupnya berada di dalam jaringan tumbuhan (akar, batang, dan daun) tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk dapat mengetahui identitas bakteri endofit pada tanaman bangun–bangun (*Coleus amboinicus* Lour) dan untuk mengetahui karakterisasi morfologi sel dan biokimia bakteri endofit yang terdapat pada tanaman bangun–bangun. Metode penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit yang terdapat pada tanaman bangun–bangun. Hasil penelitian diperoleh 6 isolat murni bakteri endofit yaitu kode isolat AB1 (akar bangun–bangun 1) dan DB1 (daun bangun–bangun 1) memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus*. Kode isolat AB2 (akar bangun–bangun 2), BB1 (batang bangun–bangun 1), BB2 (batang bangun–bangun 2), dan DB2 (daun bangun–bangun 2) memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium*.

Kata kunci: Bakteri endofit, *Coleus amboinicus*

ABSTRACT

*Endophytic bacteria are microorganisms that live all or part of their lives in plant tissues (roots, stems, and leaves) without causing disturbance or damage to the host plant. This study was aimed to determine the identity of endophytic bacteria in succulent plants (*Coleus amboinicus* Lour) and to determine the morphological and biochemical characterization of endophytic bacteria found in vegetative plants. The research method was carried out by isolating and identifying endophytic bacteria found in the plants. The results obtained 6 pure isolates of endophytic bacteria, namely isolate code AB1 (root wake-bangun 1) and DB1 (leaf wake-bangun 1) have similarities with the genus *Bacillus*.*

The isolate codes AB2 (root shape 2), BB1 (stem wake-up 1), BB2 (stem wake-shaped 2), and DB2 (leaf wake-up 2) were similar to the genus *Corynebacterium*.

Keywords: *Endophytic bacteria, Coleus amboinicus*

PENDAHULUAN

Tanaman torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) banyak tumbuh di daerah–daerah yang ada di Indonesia sehingga masyarakat mengenalnya dengan berbagai macam sebutan yang berlainan. Menurut (Mutya 2021) masyarakat Sumatera Utara mengenal tanaman ini dalam bahasa Batak dengan nama torbangun atau bangun–bangun. Di Sulawesi Utara dalam bahasa Ponosakan masyarakat mengenal tanaman bangun–bangun itu sendiri dengan nama kunambel (Kinho et al. 2011). Menurut Antwi et al. (2017); Iwansyah et al. (2017); Le et al. (2017); Mathalaimuthu et al. (2017); Swamy et al. (2017); Govindaraju dan Arulselvi (2018); Pane et al. (2018); Mothana et al. (2019); Suryowati dan Gultom (2019); Lifsey et al. (2020); Rahmawati et al. (2021); mengutarakan bahwa tanaman torbangun mempunyai beragam respons farmakologi termasuk analgetik, antibakteri, antidiabetes, antiinflamasi, antikanker, antimikroba, antioksidan, efek pada saluran pernafasan seperti bronchitis, asma hingga batuk, immunosupresi, laktagoga, larvasida, probiotik. Hal ini berkaitan dengan banyaknya senyawa penting atau metabolit sekunder termasuk alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid, DDMP, tanin, ferruginol, γ -sitosterol, stigmasterol, asam linolenik, neophytadiene yang terkandung di dalamnya (Sujamol et al. 2020; Aisyah et al. 2020). Menurut Nasution et al. (2017); Husna et al. (2021); Januarti et al. (2021) bahwa tanaman bangun–bangun memiliki ciri–ciri morfologi yaitu daun bangun–bangun berbentuk bulat telur, tepi daun bergerigi, ujung daun tumpul, tulang daun berwarna hijau muda, memiliki bulu pada tulang daun, memiliki batang yang persegi dan agak berbulu, memiliki aroma yang khas, serta jarang berbunga.

Guspi et al. (2020) berpendapat bahwa mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang mampu tumbuh pada jaringan tanaman dan terjadi interaksi yang menguntungkan dengan tanaman inangnya. Bakteri endofit banyak terdapat pada jaringan tanaman yang sehat seperti jaringan daun, batang, akar hingga biji. Bakteri endofit dapat tinggal di dalam jaringan tumbuhan serta mempunyai habitat yang relatif terlindungi dan mendapatkan nutrisi yang layak. Menurut Malfanova (2013) bakteri endofit memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan tumbuhan. Pulungan (2015); Pulungan & Tumangger (2018) mengemukakan bahwa bakteri endofit memiliki kapabilitas untuk memproduksi senyawa aktif tersebut, suatu potensi yang dapat dikembangkan dengan mempertimbangkan bahwa secara umum senyawa aktif dihasilkan oleh ekstrak dari tumbuhan, terutama dari tumbuhan obat. Senyawa yang diproduksi oleh bakteri endofit tertentu memiliki potensi yang dapat dikembangkan dalam bidang kesehatan seperti persediaan obat, industri dan pertanian. Chairunnisa et al. (2019) mengemukakan bahwa bakteri mampu menembus jaringan internal tanaman karena adanya enzim ekstraseluler berupa selulosa yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Pal et al. 2012; Rahmiati & Mumpuni (2017); Dewi et al. (2019) mengemukakan setelah melakukan penetrasi bakteri endofit akan mengelompok dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui tahapan kompetisi ruang dan nutrisi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identitas bakteri endofit pada tanaman bangun–bangun berdasarkan morfologi sel dan biokimia bakteri endofit.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 sampai dengan Desember 2021 yang bertempat pada Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA Unima.

Pengambilan Spesimen

Dalam penelitian ini spesimen bakteri endofit harus diambil dari tanaman torbangun (*C. amboinicus* Lour.). Dalam mengambil spesimen melakukan cara mencabut tanaman torbangun pada bagian daun, batang, akar tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Pencabutan tanaman bangun-bangun (*C. amboinicus* Lour) dilakukan halaman pekarangan kost yang berada di Perumahan Maesa Unima B/96, kecamatan Tondano Selatan, kabupaten Minahasa, provinsi Sulawesi Utara. Kegiatan pengambilan sampel yang dilaksanakan pada bulan November 2021.

Sterilisasi Permukaan Tanaman Bangun–bangun

Supaya kotoran tidak menempel pertama–tama spesimen bagian tumbuhan yang berupa (daun, batang, hingga akar) dibersihkan dengan cara dicuci dengan menggunakan air bersih yang memakan waktu 5–10 menit, kemudian sampel tanaman tersebut dipotong–potong kecil dengan ukuran 1 cm menggunakan pisau steril setelah itu sampel tersebut direndam dalam tempo 3 menit di dalam larutan alkohol yang memiliki kadar 70%, sesudah itu potongan spesimen tersebut direndam kembali menggunakan natrium hipoklorit yang memiliki kadar 5% dalam tempo 2 menit lalu dibilas menggunakan alkohol yang memiliki kadar 70% yang memakan waktu 30 detik lalu dilanjutkan dengan menggunakan aquadest steril yang memakan waktu 2 menit dengan mengulanginya sebanyak 3x. Kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu atau kertas saring steril (Sulistiyani 2014).

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Bangun–bangun

Spesimen yang memiliki panjang 1 cm setelah dipotong–potong dan sudah disterilkan, lalu spesimen tersebut diletakkan di atas media *nutrient agar* yang ditambahkan *nystatin* yang memiliki kadar 0,01% (100 mg/mL), dengan posisi bekas potongan ke arah media. Kemudian spesimen dipelihara pada suhu 27-30°C selama 48 jam (Sadikin et al. 2021).

Pemurniaan Bakteri Endofit dari Tanaman Bangun–bangun

Koloni bakteri yang sedang mengalami fase pertumbuhan lalu dipindahkan ke media nutrisi agar yang baru supaya tidak tercampur dengan bakteri yang lain oleh karena itu kegiatan diulang beberapa kali. Koloni tunggal yang sudah dimurnikan di media *nutrient agar* yang baru lalu disimpan pada suhu 4°C. Isolat harus dipelihara supaya dapat digunakan untuk uji biokimia.

Identifikasi Bentuk Koloni Isolat Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang telah melalui tahapan inokulasi yang memakan waktu 24 jam kemudian diidentifikasi bentuk bakterinya dilakukan dengan menggunakan referensi buku yang berjudul *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Bergey & Holt 2000). Dalam buku tersebut pengamatannya berupa warna, bentuk, tepian, dan permukaan.

Karakterisasi Morfologi Sel Isolat Bakteri Endofit

Isolat bakteri diusapkan pada kaca objek kemudian difiksasi di atas nyala api *Bunsen* lalu teteskan larutan kristal violet selama 1 menit setelahnya dicuci menggunakan air steril kemudian teteskan iodine dan diamkan selama 1 menit, lalu cuci menggunakan alkohol 96% selama 5 detik, kemudian dicuci menggunakan air steril, lalu teteskan safranin dan diamkan selama 1 menit, setelah itu cuci dengan air steril dan bersihkan di sekeliling isolat bakteri dengan menggunakan tisu, lalu amati isolat bakteri di bawah

mikroskop dengan perbesaran 100x untuk mengetahui bentuk sel, susunan sel, dan warna bakteri.

Karakterisasi Biokimia Isolat Bakteri Endofit

Uji Pati

Pertama–tama pati dan agar harus ditimbang terlebih dahulu untuk pati harus memiliki berat 0,3 gram sedangkan agar memiliki berat 2.25 gram kemudian dilarutkan di dalam erlenmeyer yang sudah diisi aquades dengan takaran 150 ml, lalu dipanaskan di atas *hotplate* sambil diaduk–aduk sampai mendidih, pati agar yang sudah dipanaskan lalu disterilkan di dalam suhu 121°C dengan menggunakan *autoclave* yang memakan waktu 15 menit. Kemudian media pati agar yang sudah sterilkan diisikan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan lalu dinginkan media pati agar sampai berbentuk padat. Lalu ambil satu ose isolat bakteri endofit yang memiliki potensi untuk diuji kemudian totolkan ke dalam media pati agar, setelah itu diamkan pada suhu ruang 30°C yang memakan waktu 24 jam, lalu teteskan larutan iodin kedalam media selama 30 detik, lalu amati zona bening di sekeliling medium yang berwarna biru kehitaman (Ginting *et al.* 2018).

Uji Katalase

Diambil satu bakteri dari kultur murni, isolat bakteri digores pada plat kaca yang sudah dituliskan nama kode isolat bakteri tersebut dan larutan H₂O₂ 3% diteteskan ke permukaan koloni. Jika terdapat gelembung udara di atas permukaan koloni, maka hasil ujinya positif (Afriani *et al.* 2018).

Uji Sitrat

Pertama–tama *simmon's citrate* agar ditimbang terlebih dahulu untuk mendapatkan berat 3,45 gram lalu tuangkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisikan aquadest dengan takaran 150 mililiter, kemudian dipanaskan di *hotplate* sambil diaduk–aduk hingga mendidih, setelah itu tuangkan *simon sitrat agar* ke dalam tabung reaksi untuk disterilkan di dalam suhu 121°C dengan menggunakan *autoclave* yang memakan waktu 15 menit, lalu diinokulasikan satu ose kultur isolat bakteri pada medium *simmon's citrate* secara miring. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan uji sitrat dilakukan dengan mengamati apakah terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru (Agustina 2018).

Uji Hidrogen Sulfida

Pertama–tama *sulfit indole motility* ditimbang terlebih dahulu untuk mendapatkan berat 4,5 gram gram lalu tuangkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisikan aquades dengan takaran 150 mililiter, kemudian dipanaskan di *hotplate* sambil diaduk–aduk hingga mendidih setelah itu tuangkan SIM agarnya ke dalam tabung reaksi untuk disterilkan di dalam suhu 121°C dengan menggunakan *autoclave* yang memakan waktu 15 menit, setelah itu dinginkan media dengan dibiarkan di ruangan tersebut hingga berbentuk padat, lalu satu ose kultur isolat bakteri endofit diinokulasikan pada media sulfit indol motility (SIM) dengan cara memasukkannya hingga setengah media pada tabung reaksi lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Agustina 2018).

Uji Gelatinase

Pertama–tama menyiapkan bahan media gelatin yaitu pepton 0,75 g, gelatin 18 g, dan *beef extract* 0,45 g lalu tuangkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisikan aquades dengan takaran 100 mililiter, kemudian dipanaskan di *hotplate* sambil diaduk–aduk hingga mendidih setelah itu tuangkan sim agarnya ke dalam tabung reaksi, setelah itu disterilkan di dalam suhu 121°C dengan menggunakan *autoclave* yang memakan waktu 15 menit, setelah itu dinginkan media tersebut hingga berbentuk padat, lalu pindahkan isolat bakteri di *laminar air flow* ke dalam tabung reaksi steril yang berisi nutrien gelatin

dan telah diberikan nama, kemudian didiamkan dalam tempo 3 hari pada suhu ruang 27°C (Prihanto et al 2018).

Uji Karbohidrat

Pertama-tama *triple sugar iron agar* ditimbang terlebih dahulu supaya mendapatkan berat 9,75 gram lalu tuangkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisikan aquades dengan takaran 150 mililiter, kemudian dipanaskan di *hotplate* sambil diaduk-aduk hingga mendidih setelah itu tuangkan SIM agarnya ke dalam tabung reaksi, setelah itu sterilkan di dalam suhu 121°C dengan menggunakan *autoclave* yang memakan waktu 15 menit, setelah itu dinginkan media tersebut hingga berbentuk padat, lalu pindahkan isolat bakteri ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *triple sugar iron agar* dengan cara ditusuk berliku-liku dan telah diberikan nama, kemudian didiamkan dalam tempo 24 jam pada suhu ruang 37°C (Ginting et al. 2018)

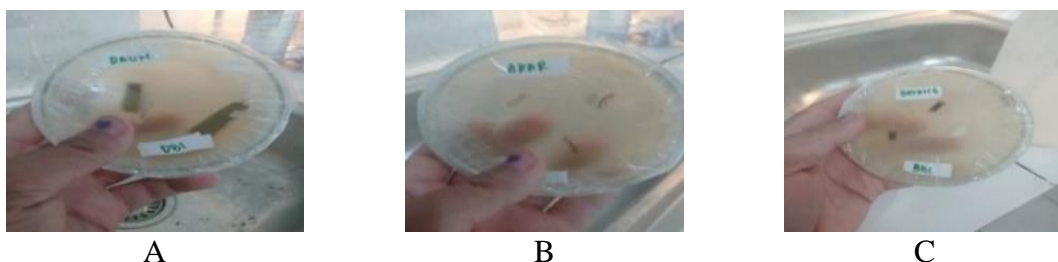
Analisis Data

Data hasil penelitian mengenai karakteristik isolat bakteri dianalisis secara deskriptif dengan melihat permukaan koloni, tepian koloni, bentuk koloni, warna koloni, bentuk sel bakteri, susunan sel bakteri, pewarnaan gram dan pengujian biokimia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit pada Tanaman Bangun-bangun

Pada tahapan isolasi bakteri endofit dari akar, batang hingga daun tanaman bangun-bangun harus menjalani desinfeksi permukaan dengan natrium hipoklorit 5% dan alkohol yang berperan untuk desinfektan mikroorganisme epifit pada permukaan sampel. Arwinda (2019) mengemukakan bahwa natrium hipoklorit memiliki fungsi mengoksidasi enzim kunci dalam mekanisme metabolisme sel mikroba. Selain natrium hipoklorit, terdapat juga klor yang berikatan dengan komponen sitoplasma sel mikroba, sehingga dapat menghasilkan senyawa terklorinasi yang bersifat toksik dan dapat merusak sel mikroba. Penggunaan natrium hipoklorit yang ditujukan untuk menghilangkan mikroorganisme epifit mengakibatkan tumbuhnya koloni pada permukaan agar di sekitar fragmen jaringan yang diambil sebagai koloni bakteri endofit. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri endofit adalah nutrient agar (NA). Bakteri endofit dapat tumbuh pada media NA karena sifat media yang kompleks, dan kemungkinan komposisi media akan mendekati kondisi tanaman.



Gambar 1 Koloni isolat bakteri endofit pada tanaman bangun-bangun A Daun, B. Akar, C. Batang

Tidak hanya itu dengan akumulasi *nystatin* juga berperan selaku antifungi buat memaksimalkan hasil isolasi. Diinkubasi pada temperatur 30°C yang membutuhkan waktu 48 jam dengan memiliki maksud buat mengoptimalkan perkembangan masing-masing koloni bakteri endofit. Gambar 1 menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu tumbuh pada akar, batang dan daun tanaman bangun-bangun. Pada akar diperoleh 2 isolat bakteri

endofit, pada batang diperoleh 2 isolat bakteri endofit, dan pada daun diperoleh 2 isolat bakteri endofit.

Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Endofit

Karakterisasi morfologi dari ke enam koloni bakteri endofit bertujuan untuk memperlihatkan keragaman baik dari warna, ukuran, bentuk, tepian, elevasi isolat bakteri endofit. Perbedaan karakter koloni berdasarkan warna koloni, tepi koloni, dan elevasi koloni pada 6 koloni ditunjukkan pada Tabel 1 Koloni AB1 memiliki karakter putih susu, bentuk bulat, tepian utuh dan permukaan koloninya timbul. Koloni AB2 memiliki karakter putih susu, bentuk bulat, tepi utuh, dan permukaan koloninya timbul. Koloni BB1 memiliki karakter yang putih, bentuk bulat, tepiannya utuh, dan permukaan koloninya timbul. Koloni BB2 memiliki karakter krem, bentuk bulat, tepi utuh, dan permukaan koloni rata. Koloni DB1 memiliki karakter yang putih, bentuk bulat, tepiannya berombak dan permukaan koloninya rata. Koloni DB2 memiliki koloni putih, bentuk bulat, tepi utuh, dan permukaan koloni timbul. Keanekaragaman bakteri endofit dalam suatu tumbuhan dipengaruhi oleh pertumbuhan tumbuhan. Dalam beberapa kasus, tanaman dari spesies yang sama mempunyai bakteri endofit yang berbeda (Putri *et al.* 2018).

Tabel 1 Hasil morfologi koloni bakteri endofit tanaman bangun-bangun

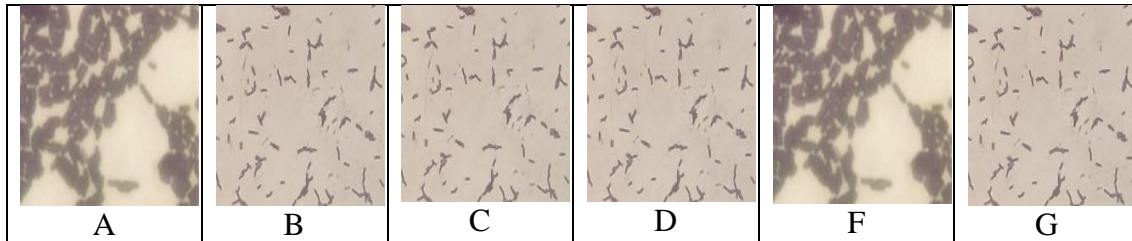
Kode Koloni	Morfologi			
	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
AB 1	Putih Susu	Bulat	Utuh	Timbul
AB 2	Putih Susu	Bulat	Utuh	Timbul
BB 1	Putih	Bulat	Utuh	Timbul
BB 2	Putih	Bulat	Utuh	Timbul
B 1	Putih	Bulat	Berombak	Rata
DB 2	Putih	Bulat	Utuh	Timbul

Keterangan: AB 1 (Akar Bangun–bangun 1); AB 2 (Akar Bangun–bangun 2); BB 1 (Batang Bangun–bangun 1); BB 2 (Batang Bangun–bangun 2); DB 1 (Daun Bangun–bangun 1); DB 2 (Daun Bangun–bangun 2)

Karakterisasi Morfologi Sel Isolat Bakteri Endofit

Pewarnaan gram merupakan tahapan penting untuk melakukan karakterisasi dan identifikasi bakteri. Hasil pewarnaan gram dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu bakteri tersebut gram positif atau gram negatif. Prosedur ini dilaksanakan dengan akumulasi kristal ungu yang memiliki fungsi selaku pewarna utama, larutan iodin memiliki fungsi sebagai menguatkan pembentukan warna oleh bakteri, alcohol 96% selaku cat peluntur yang memiliki fungsi bakal melunturkan warna utama apa seandainya bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif, serta safranin selaku memberikan warna berbeda kepada iodin serta kristal violet. Dalam pewarnaan gram memperoleh hasil isolat bakteri endofit yaitu AB1, AB2, BB1, BB2, DB1, DB2 tergolong gram positif sebab memperlihatkan hasil mikroskopik sel yang memiliki warna ungu, dikarenakan gram negatif mempunyai dinding sel yang tebal akibatnya mampu mengikat kuat warna iodin serta kristal ungu meskipun telah dibersihkan menggunakan alcohol 96% dan tidak diwarnai dengan safranin. Berlandaskan pada Arwinda (2019) peluntur yang

dipergunakan merupakan alcohol, bakteri gram positif akan menyebabkan dinding sel terdeprotonasi, yang akan mengubah bentuk dinding sel menjadi keras dan membuat lapisan cat utama kusut, sehingga tidak akan bisa jika diwarnai dengan cat safranin yang berwarna merah, sehingga bakteri akan terwarnai ungu. Oleh karena sifat tersebutlah bakteri menjadi gram-positif.



Gambar 2 Morfologi sel isolat bakteri endofit tanaman bangun-bangun A. Isolat AB 1, B. Isolat AB 2, C. Isolat BB 1, D. Isolat BB 2, E. Isolat DB 1, F. Isolat DB 2

Gambar 2 menunjukkan hasil pengamatan mikroskopis bahwa isolate AB1, dan DB1 memiliki sel yang berbentuk batang dan lurus sedangkan isolate BB1, AB2, BB2, DB2 memiliki sel yang berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, ramping memiliki ujung meruncing. Jika dilihat pada susunan sel nya bahwa isolate AB1 dan DB1 sel nya tersusun berpasangan sedangkan isolate BB1, AB2, BB2, DB2 sel nya tersusun sendiri-sendiri atau berpasangan, seringkali dalam formasi V atau palisade dari beberapa sel paralel.

Karakterisasi Biokimia Isolat Bakteri Endofit

Karakterisasi biokimia dilaksanakan dengan melakukan uji katalase, hidrolisa pati, hydrogen sulfida, sitrat, hidrolisa gelatin, fermentasi karbohidrat. Uji katalase dilaksanakan untuk menentukan isolat bakteri tersebut mampu memproduksi enzim katalase dengan ditambahkan pereaksi H_2O_2 pada plat kaca yang sudah digoreskan bakteri endofit. Untuk mengetahui bahwa terdapat enzim katalase memiliki bukti dengan terdapatnya gelembung-gelembung udara dipermukaan koloni. Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat AB1, AB2, BB1, BB2, DB1, DB2 dapat memproduksi enzim katalase yang dapat mendegradasi H_2O_2 menjadi air (H_2O) & oksigen (O_2) (Indarwati & Prasdini 2018).

Uji hidrolisa pati dilaksanakan untuk menentukan isolat bakteri tersebut mampu memproduksi enzim amilase dibuktikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni isolat bakteri tersebut. Media pati agar yang telah ditumbuhi oleh bakteri kemudian ditetaskan dengan larutan iodin. Bagian luar yang transparan akan terbentuk warna biru karena larutan iodin bereaksi dengan pati, sehingga tidak terhidrolisis. Isolat AB1, AB2, BB1, BB2, DB1, DB2 mampu menghidrolisis pati dikarenakan terdapat aktivitas enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati menjadi dekstrin, maltose, glukosa (Ginting *et al.* 2018).

Uji hydrogen sulfida dilaksanakan untuk menentukan apakah isolat bakteri memperlihatkan mobilitas bakteri (motilitas) dan mampu menghasilkan H_2S dengan melakukannya membuat media SIM secara tegak lurus dalam tabung reaksi. Menurut Arwinda (2019) jika terindikasi hasil positif ditandai dengan terdapatnya keaktifan motil dari bakteri dengan mengganti warna media SIM menjadi warna hitam. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat AB2, BB1, BB2, DB2 terdapat keaktifan motil ditandai adanya rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium sedangkan isolat AB1 dan DB1 tidak terdapat keaktifan motil dikarenakan tidak adanya

rambatan–rambatan di sekeliling bekas tusukan jarum pada medium. Isolat AB1, AB2, BB1, BB2, DB1, DB2 tidak mampu memproduksi H₂S.

Tabel 2 Hasil karakterisasi biokimia dan morfologi sel bakteri endofit tanaman bangun-bangun

Parameter Uji	Kode Isolat						Genus <i>Bacillus</i>	Genus <i>Corynebacterium</i>
	AB1	AB2	BB1	BB2	DB1	DB2		
Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Susunan Sel	Berpasangan	Tunggal atau berpasangan seringkali membentuk formasi V atau Palisade	Tunggal atau berpasangan seringkali membentuk formasi V atau Palisade	Tunggal atau berpasangan seringkali membentuk formasi V atau Palisade	Tunggal atau berpasangan seringkali membentuk formasi V atau Palisade	Berpasangan	Tunggal atau berpasangan	Tunggal atau berpasangan seringkali membentuk formasi V atau Palisade
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrolisa Pati	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrogen Sulfida	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat	-	+	+	+	-	+	-	+
Hidrolisa Gelatinase	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentasi Karbohidrat	+	+	+	+	+	+	+	+

Uji Sitrat dilaksanakan untuk mengetahui kapabilitas bakteri dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu–satunya sumber energi dan karbon. Menurut Arwinda (2019) jika bakteri dapat memanfaatkan sitrat, maka asam akan dikeluarkan dari media kultur sehingga ammonium hydrogen fosfat ikut terurai untuk melepas ion ammonium (NH₄⁺) oleh karena itu mengakibatkan medium menjadi alkalis serta merubah warna media dari hijau menjadi biru. Tabel 2 menunjukkan hasil bahwa isolat AB1 serta DB1 lemah dalam memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang tunggal sedangkan pada isolate AB2, BB1, BB2, DB2 mampu dalam memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang tunggal.

Uji hidrolisis gelatin dilaksanakan untuk menentukan isolat bakteri mampu memproduksi enzim gelatinase yang dapat menghidrolisis protein menjadi asam amino. Uji ini dilaksanakan dengan menambahkan 1 ose bakteri endofit ke medium nutrient gelatin dan ditempatkan di dalam kulkas pada suhu 4°C yang membutuhkan waktu 30 menit. Menurut Nursyam dan Prihanto (2018); Prihanto *et al.* (2018) jika bakteri dapat mencerna gelatin, media gelatin tetap berupa cair sesudah dikeluarkan dari kulkas, sedangkan jika bakteri lemah dalam mencerna gelatin, media gelatin berubah bentuk menjadi padat sesudah dikeluarkan dari kulkas hal itu disebabkan karena terjadinya aktivitas bakteri dengan melepaskan gelatin menjadi substrat yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi keruh. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa keenam isolat memberikan hasil negatif.

Uji karbohidrat dilaksanakan untuk menentukan apakah isolat bakteri tersebut mampu menguraikan gula seperti glukosa, laktosa, hingga sukrosa. Menurut Arwinda (2019) jika menunjukkan hasil positif didapati dengan perubahan warna media menjadi kuning – kuning yang bermakna terbentuknya penguraian sukrosa dan laktosa, sebaliknya perubahan warna media menjadi merah–kuning menunjukkan maka sekedar terbentuknya penguraian glukosa. Dalam metode ini pula dapat memproduksi gas dan asam (CO₂), akhirnya akan terlihat timbulnya media ke atas tabung reaksi. Tabel 2 menunjukkan hasil bahwa keenam isolat sanggup menguraikan glukosa.

KESIMPULAN

Isolat AB1 dan DB1 memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* yang ditandai dengan bentuk sel batang, susunan sel tunggal atau berpasangan, gram positif, tidak motil, uji hidrolisa pati positif, dan katalase positif, serta mampu memfermentasi karbohidrat. Isolate BB1, AB2, BB2, DB2 memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium* yang ditandai dengan bentuk selnya batang lurus atau sedikit melengkung, sel tersusun tunggal atau berpasangan dan seringkali dalam formasi V atau palisade dari beberapa sel paralel, gram positif, motil, uji hidrolisa pati positif, sitrat positif, katalase positif, serta mampu memfermentasi karbohidrat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani I, Puspita F, Ali M. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri Endofit dari Tanaman Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal UR* 5 (1): 1-14.
- Agustina. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit pada Akar Tanaman Bawang Dayak [skripsi]. Medan: Fakultas Biologi, Universitas Medan Area.
- Aisyah SI, Rusmiyati H, Sukma D, Damanik R, Nurcholis W. 2020. Analisis Komparatif Kandungan Metabolit pada Daun Mutan Tanaman Torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.). *Agrosaintek* 4(1): 10-16.
- Antwi AO, Obiri DD, Osafo N, Forkuo AD, Essel LB. 2017. Stigmasterol inhibits Lipopolysaccharide induced innate immune responses in murine models. *Int Immunopharmacol* 53:105–113.
- Arwinda. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Kunyit Mangga (*Curcuma manga* Valetton & Van Zijp) yang Berpotensi sebagai Antibakteri [skripsi]. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Azrai M. 2021. Potensi Antikanker Tumbuhan Daun Bangun–bangun (*Plectranthus amboinicus* Lour.) [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- Bergey DHL, Holt JG. 2000. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9thed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Chairunnisa C, Riyanto R, Karim A. 2019. Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat, Pematang Siantar. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)* 1(2), 44-52.
- Dewi L, Sartini S, Rahmiati R. 2019. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella sp.* *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)* 1(1): 21-27.
- Ginting SSB, Suryanto D, Desrita. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal* 5(1): 23-29.
- Govindaraju S, Arulselvi PI. 2018. Characterization of *Coleus aromaticus* essential oil and its major constituent carvacrol for in vitro antidiabetic and antiproliferative activities. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 24(1):37–51.
- Guspi, Sianipiar WS, Sartini, Riyanto. 2020. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)* 2(2): 83-92.

- Husna N, Panjaitan D B, Febriana A, Ginting Y, Purba S B. 2021. Hubungan daun bangun– angun terhadap produksi ASI pada ibu nifas di Kelurahan Seribu Dolok. *Jurnal Penelitian Kebidanan dan Kespro* 3(2): 33–39.
- Indarwati R, Prasdini WA. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Susu Mastitis Subklinis di Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu. Proceedings of 20th FAVA & the 15th KIVNAS PDHI Bali Nov 1-3 2018.
- Iwansyah AC, Damanik RM, Kustiyah L, Hanafi M. 2019. The ethyl acetate fraction of Torbangun (*Coleus amboinicus* L.) leaves increasing milk production with up-regulated genes expression of Prolactin receptor. *Journal of Tropical Life Science* 9(2): 47–154.
- Januarti IB, Putri CN. 2021. Pendampingan Budidaya dan Pengolahan Nutrasetikal Daun Bangun–Bangun untuk Ibu Rumah Tangga. *Indonesian Journal of Community Services* 3(1):39-46.
- Kinho J, Arini DID, Tabba S, Kama H, Kafiar Y, Shabri S, Karundeng MC. 2011. Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara Jilid I. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Lifsey HC, Kaur R, Thompson BH, Bennett L, Temel RE, Graf GA. 2020. Stigmasterol stimulates transintestinal cholesterol excretion independent of liver X receptor activation in the small intestine. *J Nutr Biochem* 76:108263. doi:10.1016/j.jnutbio.2019.108263.
- Malfanova NV. 2013. Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities [dissertation]. Leiden: Leiden University, Netherlands.
- Mathalaimuthu B, Shanmugam D, Kalimuthu K, Kadarkarai M, Jayapal G, Giovanni B. 2017. *Coleus aromaticus* leaf extract fractions: A source of novel ovicides, larvicides and repellents against Anopheles, Aedes and Culex mosquito vectors? *Process Safety and Environmental Protection* 106: 23–33. 10.1016/j.psep.2016.12.003.
- Mothana RA, Khaled JM, El-Gamal AA, Noman OM, Kumar A, Alajmi MF, Al-Rehaily AJ, Al-Said MS. 2019. Comparative evaluation of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of the crude extracts of three *Plectranthus* species grown in Saudi Arabia. *Saudi Pharm J* 27(2):162–170.
- Nasution N, Siregar L, Bayu E. 2017. Karakteristik Pertumbuhan Vegetatif dari Beberapa Aksesori Tanaman Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng). *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara* 5(1): 26–32.
- Nursyam H, Prihanto A. 2018. Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Mangrove *Rizhopena mucronata* Penghasil Gelatinase(MMP2). *JPHPI* 21(1):143-147.
- Pal A, Chattopadhyay A, Paul AK. 2012. Diversity and Antimicrobial Spectrum of Endophytic Bacteria Isolated from *Piper foetidum* L. *Int J Curr Pharm Res.* 4:123-127.
- Pane YS, Sufitni S, Lumongga F, Alrasyid N, Sari DP, Wati R, Basyuni M. 2018. The Effectiveness of *Coleus amboinicus* Leaf Extracts as an Analgetic Activity on Mice Exposure to acetic acid. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 11(9): 301–304. 10.22159/ajpcr.2018.v11i9.26538.
- Prihanto AA, Timur H, Jaziri A, Nurdiani R, Pradarameswari K. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Soneratia alba* penghasil enzim gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesian Journal of Halal* 1(1):31-42.
- Pulungan ASS. 2015. Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Bioremediasi Senyawa Pencemar. *Jurnal Biosains* 1(1):75-84.

- Pulungan A, Tumangger D. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase dari Daun Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *BIOLINK : Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan* 5(1):71-80.
- Putri DH, Fifiendy M, Putri MF. 2018. Diversitas Bakteri Endofit pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.). *Jurnal Eksakta* 19(1): 125-130. DOI:10.24036/eksakta/vol19-iss01/112.
- Rahmawati, Astuti P, Wahyuono S. 2021. Profil Fitokimia dan Multipotensi dari *Coleus amboinicus* (Lour.). *Journal of Pharmaceutical Science and Clinic Research (JPSCR)* 02: 158-188. DOI: 10.20961/jpscr.v6i2.47436.
- Rahmiati R., Mumpuni M. 2017. Eksplorasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dan Potensinya Dalam Menghambat Bakteri Patogen. *Elkawanie*, 3(2):141-150.
- Ramalakshmi S, Muthuchelian K. 2011. Analysis of bioactive constituents from the Ethanolic leaf extract of *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC by gas chromatography-mass spectrometry. *Int J Chem Tech Res* 3(3):1054–1059.
- Sadikin NAN, Bintari SB, Widiatningrum T, Dewi P. 2021. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Life Science* 10 (2): 109 – 119.
- Sujamol M., Roy J, James KM. 2020. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Coleus aromaticus* Leaf Extract, in: *Materials Today: Proceedings*. Elsevier BV. 10.1016/j.matpr.2020.05.255.
- Suryowati T, Gultom M. 2019. Effect of Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) on Blood Pressure in Women with Hypercholesterolemia, in: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing. 10.1088/1742-6596/1146/1/012002.
- Swamy MK, Arumugam G, Kaur R, Ghasemzadeh A, Yusoff MM, Sinniah UR. 2017. GC-MS based metabolite profiling, antioxidant and antimicrobial properties of different solvent extracts of Malaysian *Plectranthus amboinicus* leaves. *Evidence based Complementary and Alternative Medicine*, 1517683: pp.1–12. 10.1155/2017/1517683.