

**SKRINING DAN UJI FITOKIMIA EKSTRAK KASAR BAKTERI ENDOFIT  
DARI BATANG PACING (*Costus sp.*)**

**SCREENING AND PHYTOCHEMICALS TEST OF EXTRACT ENDOPHYTES BACTERIA  
FROM STEM OF PACING (*Costus sp.*)**

**Reza Fauziah Aristina, Winni Astuti\*, Djihan Ryn Pratiwi**

Program Studi S1 Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman  
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

\*E-mail: winniastuti@gmail.com

*Received: 20 October 2018, Accepted: 25 February 2019*

**ABSTRACT**

Pacing (*Costus sp.*) has the potential as a medicinal plant, but there has been no research on endophytic bacteria it contains. This study was conducted to screen endophytic bacteria from Pacing (*Costus sp.*) stem and find out the secondary metabolites contained on each endophytic bacteria. Endophytic bacteria obtained from stem of Pacing (*Costus sp.*) as much as 17 colonies. The crude extract from all bacterial colonies contained alkaloids, 15 crude extracts contained saponins. Steroids are only found on 3 types of bacterial extracts and triterpenoids are only found on 2 types of bacterial extracts.

**Keywords:** *Pacing (Costus sp.), Endophytes Bacteria, Phytochemical Test, Secondary Metabolites*

**PENDAHULUAN**

Setiap tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan sebagai inhibitor amilase, salah satu tumbuhan yang memiliki potensi tersebut yaitu tanaman dari suku *Zingiberaceae* Pacing (*Costus sp.*) diantaranya *Costus spiralis* yang mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid saponin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *salmonella typhirium*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* [1] serta *Costus speciosus* yang mengandung diosgenin yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap amilase yang memungkinkan potensinya sebagai obat antidiabetes [2].

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk unik salah satunya terdapat pada bakteri endofit. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup dengan cara membentuk koloni di dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi mikroba endofit sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yakni

steroid, triterpenoid dan saponin yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *sedomonas sp* [3]. Selain itu kapang endofit yang diisolasi dari tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*) dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, terpenoid dan alkaloid yang memiliki aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase yang memungkinkan potensinya sebagai obat antidiabetes [4].

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa potensi bakteri endofit dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder cukup tinggi, maka diduga bakteri endofit pada tumbuhan Pacing (*Costus sp.*) berperan pula dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji fitokimia dari ekstrak kasar bakteri endofit dari salah satu tumbuhan dari suku *Zingiberaceae* yaitu tumbuhan Pacing (*Costus sp.*).

**METODOLOGI PENELITIAN**

**Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet mikro 100–1000  $\mu$ L, pipet mikro 10–100  $\mu$ L, tip 100  $\mu$ L, pipet volume, neraca analitik, *laminar air flow*, Bunsen, botol sampel, kawat ose,

tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, cawan petri, autoklaf, vortex, rak tabung reaksi, *waterbath shaker*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, gelas kimia, tabung selofan, gelas ukur, corong kaca, labu ukur 1000 mL, gelas ukur 500 mL, gelas ukur 100 mL, labu takar, suntikan 100 mL, tabung mikro, pinset, *Erlenmeyer* 500 mL, *Erlenmeyer* 250 mL.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel batang tumbuhan Pacing (*Costus* sp.), aquades, aqua bidest steril, media cairr Luria Bertani (tripton 1%, yeast 0,5% dan NaCl 0,5%), media padat *Nutrient Agar* (NA), etanol 75% dan 95%, bayclin (5,25% NaClO), wipol, gliserol, asam asetat glasial, pereaksi Mayer, larutan FeCl<sub>3</sub> 10%, pita Mg, HCl pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kloroform, tisu, alumunium foil.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Isolasi bakteri endofit**

Sampel batang Pacing (*Costus* sp.) yang telah disiapkan dan disterilisasi disebar diatas media *Nutrient Agar* (NA), lalu diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37°C. Daerah keruh di sekitar sebaran sampel menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Selanjutnya, dilakukan proses perkembang biakan bakteri pada media padat dengan cara mengambil satu ose bakteri yang kemudian digoreskan pada media *Nutrient Agar* yang baru. Daerah keruh di sekitar sebaran sampel dilakukan perkembang biakan bakteri pada media cair Luria Bertani pula dengan cara mengambil satu ose bakteri yang kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi media cair LB kemudian diinkubasi selama selama (16-18) jam pada suhu 37°C.

#### **Pemurnian bakteri endofit**

Pemurnian bakteri endofit menggunakan metode cawan tebar. Kultur bakteri endofit pada media cair Luria Bertani diencerkan sebanyak 10<sup>30</sup> kali pengenceran ke dalam aquabides steril, kemudian diambil sebanyak 50 µL dan disebar pada media padat *nutrient agar* (NA) menggunakan *Hocky stik* lalu diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37°C. Koloni tunggal yang diperoleh diinokulasikan masing-masing ke dalam 5 mL media cair luria bertani steril kemudian diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37°C hingga diperoleh kultur murni bakteri endofit.

#### **Produksi senyawa metabolit sekunder bakteri endofit**

Produksi senyawa metabolit sekunder isolat bakteri endofit dilakukan dengan cara menginokulasi

10 µL isolat bakteri endofit ke dalam 5 mL media cair Luria Bertani steril. Kemudian diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 37°C. Hasil produksi senyawa metabolit sekunder isolat bakteri endofit dipisahkan antara senyawa metabolit sekunder dan bakteri endofit dengan cara melakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan merupakan ekstrak kasar isolat bakteri endofit yang mengandung senyawa metabolit sekunder dan yang terdapat pada kertas saring merupakan residu yang selanjutnya akan didestruksi.

#### **Uji fitokimia ekstrak kasar bakteri endofit**

##### *Uji steroid dan triterpenoid*

Ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit yang telah disaring ditambahkan dengan kloroform beramoniak dan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N ke dalam tabung lalu dikocok kuat, kemudian campuran didiamkan sampai terbentuk dua fase yaitu fase asam (atas) dan fase kloroform (bawah). Lapisan kloroform dimasukkan dalam plat tetes dan dibiarkan menguap lalu ditambahkan dengan asam asetat glasial dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (pereaksi Lieberman-Burchard). Apabila terbentuk warna hijau-biru menandakan adanya senyawa steroid dan warna merah menandakan adanya senyawa terpenoid.

##### *Uji alkaloid*

Fase bawah berupa asam yang didapatkan dari uji terpenoid dan steroid diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan pereaksi Mayer. Hasil uji dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi warna putih setelah penambahan pereaksi Mayer.

##### *Uji fenolik*

Ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit yang telah disaring dimasukkan di atas plat tetes kemudian ditambahkan dengan larutan besi (III) klorida. Hasil uji dinyatakan positif apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi biru-hitam.

##### *Uji flavonoid*

Ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit yang telah disaring dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan beberapa tetes etanol 70% dan kemudian dipanaskan. Campuran ditambahkan dengan pita magnesium dan setetes HCl pekat. Hasil uji dinyatakan positif mengandung flavonoid apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda.

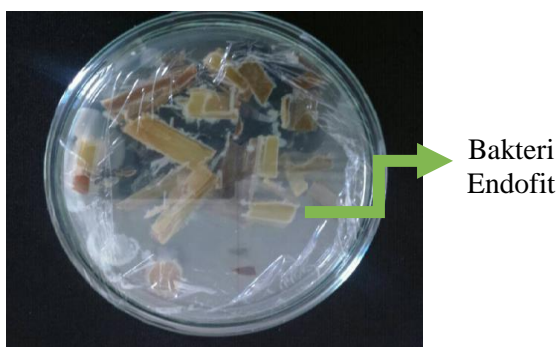
*Uji saponin*

Ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit yang telah disaring diambil beberapa tetes lalu ditambahkan dengan aquades panas lalu dikocok kuat. Hasil uji dinyatakan positif mengandung saponin apabila munculnya busa secara stabil ± 10 menit.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Isolasi Bakteri Endofit**

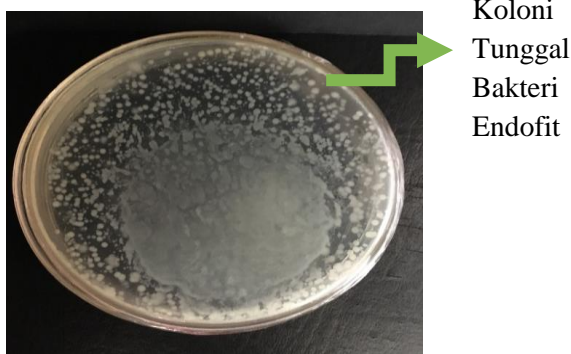
Hasil isolasi bakteri endofit ditunjukkan dengan adanya daerah keruh di sekitar sebaran sampel yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri endofit seperti yang terlihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil isolasi bakteri endofit

**Pemurnian Bakteri Endofit**

Hasil yang diperoleh dari pemurnian bakteri endofit terdapat 17 koloni tunggal bakteri endofit seperti pada gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil pemurnian bakteri endofit

**Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Bakteri Endofit**

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar bakteri endofit diperoleh hasil positif terhadap alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin. Seluruh ekstrak kasar bakteri endofit positif mengandung alkaloid berdasarkan hasil uji menggunakan pereaksi Mayer dengan hasil uji positif terbentuk warna putih. Warna putih yang terbentuk tersebut karena terbentuknya senyawa kompleks antara alkaloid dengan ion K dari pereaksi Mayer, dimana atom nitrogen pada cincin alkaloid akan berikatan secara

kovalen koordinasi dengan ion K dari pereaksi Mayer [5].

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia ekstrak kasar bakteri endofit

Kode	Senyawa Metabolit Sekunder					
	Alka- -loid	Stero- id	Triter- penoid	Fe- nolik	Flava- noid	Sapo- -nin
C1	+	-	-	-	-	+
C2	+	-	-	-	-	+
C3	+	-	-	-	-	+
C4	+	-	-	-	-	-
C5	+	-	-	-	-	+
C6	+	-	-	-	-	+
C7	+	-	+	-	-	+
C8	+	+	-	-	-	+
C9	+	-	-	-	-	-
C10	+	+	-	-	-	+
C11	+	-	-	-	-	+
C12	+	+	-	-	-	+
C13	+	-	-	-	-	+
C14	+	-	+	-	-	+
C15	+	-	-	-	-	+
C16	+	-	-	-	-	+
C17	+	-	-	-	-	+

Keterangan:

- (+) Positif mengandung senyawa metabolit sekunder
- (-) Negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Sedangkan 15 ekstrak kasar bakteri endofit mengandung saponin dengan hasil uji positif munculnya busa stabil setelah ditambahkan aquades panas dan dikocok kuat. Munculnya busa stabil tersebut dikarenakan terjadinya hidrolisis senyawa saponin menjadi glikosida dan senyawa lainnya, adanya kemampuan glikosida ini yang menyebabkan timbulnya busa [5]. Sebanyak 2 ekstrak kasar bakteri endofit positif mengandung triterpenoid dengan hasil uji positif terbentuknya warna jingga dan 3 ekstrak kasar bakteri endofit positif mengandung steroid dengan hasil uji positif terbentuknya warna hijau, perubahan warna yang terbentuk pada uji triterpenoid dan steroid dikarenakan terjadinya perpanjangan konjugasi akibat adanya penambahan pereaksi Lieberman-Burchard [6].

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan yang telah diproduksi oleh bakteri endofit memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri dan sebagai inhibitor amilase.

Rahmawati (2015) membuktikan bahwa alkaloid, saponin, flavonoid dan fenolik memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhirium*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* [1], serta penelitian yang telah dilakukan Bhogankar (2012) membuktikan bahwa diosgenin mampu menghambat kerja amilase sehingga memiliki potensi sebagai obat antidiabetes [2].

#### KESIMPULAN

Bakteri endofit dari batang Pacing (*Costus* sp.) dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin yang diduga dapat bermanfaat sebagai antibakteri maupun sebagai antidiabetes.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rahmawati, M. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Air Rimpang Pacing (*Costus spiralis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriaae*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* Serta Fungi *Candida albicans*. *Skripsi Penelitian*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- [2] Bhogankar, P. Y. 2012. Karakterisasi Fisik *Costus speciosus* (Koenig ex Retz), Smith-Awell Dikenal Tanaman Obat Ayurvedic. *Leaflet Ilmu Pengetahuan*, 11, 1-9.
- [3] Rozaq, M. F. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri dan Inhibisi Amilase dari Isolat Bakteri Endofit Dari Batang *Melicope glabra* (BL) T.G.Hartley. *Skripsi Penelitian*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman.
- [4] Prahesti, D. A., Pujiyanti, S dan Rukmi, M. I. 2018. Isolasi, Uji Aktivitas dan Optimasi Inhibitor A-Amilase Isolat Kapang Endofit Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis. *Jurnal Biologi*, 7, 43-51.
- [5] Marlina, S. D., dkk. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. Vol 3 (1): 26-31.
- [6] Setyowati E. A. W., Ariani D. R. S., Ashadi, Mulyani., dkk. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethius* Murr.) Varietas Petruk. *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN (979363175-0): 271-280.