



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Uji Antibakteri Bakteri Endofit Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Terhadap *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*

Antibacterial Test of Endophytic Bacteria Isolated from Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*

Dwi Endah Kusumawati^{1*}, Maria Bintang²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung
Semarang, 50122, Indonesia

²Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Pertanian Bogor, 16680, Indonesia

Received: 14 May 2023 ; Accepted: 17 June 2023

email: dwienhahkusumawati@unissula.ac.id

ABSTRACT

The use of synthetic antibiotics in small doses and long term against pathogenic bacteria can cause negative effects, such as resistance of pathogens and killing of beneficial bacteria. Thus, the innovation to substitute the use of synthetic antibiotics with natural antimicrobial compounds is necessary. Jawer kotok (*Coleus scutellarioides* L. Benth) has been used as medicinal plant and shown to be efficacious as antimicrobial because it contains flavonoids, tannins, alkaloids and saponins. Endophytic bacteria are symbiotic microorganisms that live in healthy plant tissue without harming to the host plant and may produce natural antimicrobial compounds which are similar to those of the host plant. The aims of this study were to isolating endophytic bacteria from jawer kotok and screening their antibacterial activity against two pathogenic bacteria, namely *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. A total of 22 bacterial isolates were obtained from jawer kotok and 9 isolates showed antibacterial activity against *B. cereus* and *S. enteritidis*. BJ7 isolate was the most potential isolate because it showed the strongest inhibition. It is possible that endophytic bacteria from jawer kotok synthesize the similar antimicrobial compounds like those of their host plant (jawer kotok).

Keywords: antibacterial, endophytic bacteria, jawer kotok

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik sintetik dalam dosis kecil dan jangka panjang untuk melawan bakteri patogen dapat menimbulkan efek negatif, seperti resistensi bakteri patogen dan terbunuhnya bakteri baik. Perlu suatu inovasi untuk mensubstitusi penggunaan antibiotik sintetik dengan senyawa antimikroba alami. Jawer kotok (*Coleus scutellarioides* L. Benth) telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat dan terbukti berkhasiat sebagai antimikroba karena mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin. Bakteri endofit adalah makhluk hidup simbiotik yang hidup di jaringan tanaman, tidak merugikan inangnya dan mampu memproduksi senyawa antimikroba yang mirip dengan tanaman inang. Penelitian ini bertujuan mengisolasi sejumlah bakteri endofit dari tanaman jawer kotok dan melakukan penapisan aktivitas antibakterinya terhadap *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. Sebanyak 22 isolat bakteri berhasil diisolasi dari *C. scutellarioides* [L.] Benth. Terdapat 9 isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* dan *S. enteritidis*. BJ7 merupakan isolat yang paling potensial karena menunjukkan daya hambat yang paling besar. Besar kemungkinan bakteri

endofit dari tanaman jawer kotok dapat memproduksi senyawa antimikroba yang mirip dengan tanaman inangnya (jawer kotok).

Kata kunci: antibakteri, bakteri endofit, jawer kotok

1. PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik dalam pencegahan maupun pengobatan suatu penyakit infeksi bakteri seiring waktu semakin meningkat. Penyakit infeksi yang marak terjadi di Indonesia salah satunya adalah diare. *Foodborne infections* maupun *waterborne infections* merupakan dua kasus diare tertinggi, yang penyebabnya adalah *Bacillus cereus* dan *Salmonella* spp. Bakteri *B. cereus* adalah bakteri Gram positif yang dapat mengkontaminasi makanan dan susu mentah, serta memiliki spora yang bersifat tahan panas sehingga tahan terhadap proses pemasakan (Rahmawati & Bintari, 2014) sedangkan *S. enteritidis* adalah golongan bakteri Gram negatif yang dapat mengkontaminasi makanan, terutama pada telur dan daging ayam. Selain itu, *S. enteritidis* juga menjadi agen penyebab salmonellosis dengan gejala demam, perut terasa kram dan diare (Kusmiati et.al., 2020).

Umumnya antibiotik yang digunakan untuk menangani kasus infeksi merupakan antibiotik sintetik yang penggunaannya dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen (Aqlinia & Pujiyanto, 2020). Perlu dilakukan penelusuran alternatif antibiotik yang bersifat alami, yang salah satunya berasal dari bakteri endofit yang hidup bersimbiosis dengan tanaman obat (Kusumawati et.al., 2022). Bakteri endofit tumbuh berkoloni di dalam jaringan tanaman inangnya namun tidak berefek negatif terhadap inangnya (Saputri et.al., 2015).

Tanaman miana atau jawer kotok (*Coleus scutellarioides* L. Benth) telah lama digunakan sebagai obat untuk mengatasi beberapa jenis penyakit, diantaranya: diare, kecacingan, kandidiasis, antiinflamasi (Hamidah et.al., 2019). Ekstrak daun jawer kotok terbukti mengandung flavonoid, tanin, steroid dan saponin yang bersifat antibakteri. Tingkat toksisitas dari ekstrak daun jawer kotok juga tergolong rendah, sehingga aman digunakan sebagai bahan obat (Ridwan et.al., 2020). Bakteri endofit yang hidup di dalam tanaman

obat kemungkinan memiliki peran dalam jalur metabolisme metabolit sekunder sehingga mampu memproduksi senyawa bioaktif yang mirip dengan tanaman inangnya (Zhang et.al., 2014). Hal ini tentunya berpotensi untuk dikembangkan, mengingat proses ekstraksi bahan obat dari tanaman obat membutuhkan biomassa yang besar, waktu serta proses yang kompleks jika dibandingkan dengan ekstraksi senyawa bioaktif dari sumber bakteri (Safira et.al., 2014).

2. METODOLOGI

Isolasi bakteri endofit asal jawer kotok (Kusumawati et.al., 2014)

Bagian tanaman (akar, batang dan daun) yang diisolasi bakteri endofitnya dicuci bersih kemudian dipotong dengan ukuran 1-3 cm. Sampel kemudian dibilas dengan etanol 70% (selama 1 menit), dilanjutkan dengan natrium hipoklorit 5,25% (selama 5 menit) dan yang terakhir dibilas 3 kali dengan etanol 70%. Setelah itu, sampel dicacah lalu diletakkan pada cawan petri yang berisi campuran media *Nutrient Agar* dan nistatin (0,01% b/v) kemudian diinkubasi di suhu kamar dalam kondisi gelap. Bakteri endofit yang tumbuh di sekitar sampel kemudian dimurnikan dan disimpan di agar miring NA.

Pengujian aktivitas antibakteri (Safira et.al., 2014)

Koleksi bakteri endofit diregenerasi ke agar miring NA yang baru dan bakteri patogennya diregenerasi ke media *Nutrient Broth* (NB) kemudian diinkubasi 24 jam di suhu ruang. Sejumlah 0,4 mL dari kultur bakteri patogen (*Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis* ditambahkan ke 80 mL media NA (suhu \pm 40 °C) kemudian 20 mL campuran tersebut dituangkan ke cawan Petri steril dan dibiarkan memadat. Isolat endofit kemudian diinokulasi ke media berisi bakteri uji lalu diinkubasi selama 24-48 jam. Terbentuknya zona bening di sekeliling endofit diukur

menggunakan jangka sorong dan dibandingkan diameternya dengan zona bening kontrol positif (kanamisin 50 µg/mL).

3. HASIL

Isolasi Bakteri Endofit Asal Jawer Kotok

Sejumlah 22 isolat bakteri endofit asal jawer kotok berhasil diisolasi, yaitu: 10 isolat dari batang (kode BJ), 6 isolat dari akar (kode AJ), dan 6 isolat dari daun (kode DJ). Secara morfologi, bakteri endofit dari jawer kotok dibedakan baik dari segi warna, elevasi, tepian maupun kecepatan pertumbuhan isolat. Apabila diamati kecepatan pertumbuhannya, terdapat 10 isolat kategori cepat (tumbuh dalam waktu 24 jam setelah waktu isolasi), 10 isolat kategori sedang (48 jam) dan 2 isolat kategori lambat yang artinya isolat ini muncul lebih dari 2 hari setelah waktu isolasi (Tabel 1).

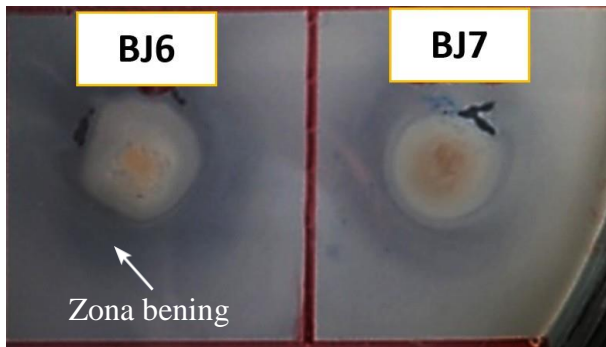
Pengujian Aktivitas Antibakteri (Safira et.al., 2014)

Skrining aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*B.cereus* dan *S.enteritidis*) dari isolat bakteri endofit asal jawer kotok dilakukan dengan metode inokulasi titik. Adanya zona bening di sekeliling bakteri endofit menandakan isolat tersebut memiliki aktivitas antibakteri (Gambar 1). Ukuran diameter zona bening tersaji pada Tabel 2. Berdasarkan hasil pengujian, sembilan isolat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* dan *S.enteritidis*. Sembilan isolat tersebut yaitu 3 dari akar (AJ1, AJ2 dan AJ3), 5 isolat dari batang (BJ5, BJ6, BJ7, BJ8 dan BJ9), dan 1 isolat dari daun (DJ6). BJ7 merupakan isolat yang paling potensial karena menunjukkan diameter zona bening paling besar terhadap bakteri patogen (*B. cereus* dan *S. enteritidis*).

Tabel 1. Pengamatan morfologi isolat bakteri endofit dari jawer kotok

Kode isolat	Morfologi			Kecepatan Pertumbuhan
	Warna	Elevasi	Tepian	
AJ1	Putih susu	Datar	Seperti kapas	+++
AJ2	Putih	Datar	Bergerigi	+++
AJ3	Putih	Datar	Bergerigi	++
AJ4	Putih susu	Datar	Rata	++
AJ5	Krem	Cembung	Bergerigi	++
AJ6	Krem	Datar	Rata	++
BJ1	Kuning muda	Cembung	Bergerigi	+++
BJ2A	Kuning muda	Cembung	Bergerigi, Licin	+++
BJ2B	Krem	Datar	Rata	++
BJ3	Putih tulang	Cembung	Rata	+++
BJ4	Putih tulang	Cembung	Rata, licin	+++
BJ5	Putih tulang	Cembung	Bergerigi	++
BJ6	Putih susu	Cembung	Bergerigi, licin	++
BJ7	Putih susu	Cembung	Rata	++
BJ8	Kuning	Cembung	Rata	++
BJ9	Putih susu	Datar	Rata	+
DJ1	Putih susu	Cembung	Rata	+++
DJ2	Putih tulang	Cembung	Bergerigi	+++
DJ3	Putih susu	Datar	Bergerigi. Licin	+++
DJ4	Putih susu	Cembung	Bergerigi	+++
DJ5	Putih susu	Cembung	Rata	++
DJ6	Putih susu	Datar	Rata	+

Keterangan: (+) = lambat, (++) = sedang, (+++) = cepat



Gambar 1. Zona bening disekeliling bakteri endofit terhadap *S. enteritidis*

Tabel 2. Diameter zona bening yang terbentuk disekitar isolat bakteri endofit dari jawer kotok

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. enteritidis</i>
AJ1	2	1
AJ2	4	2
AJ3	3	3.5
AJ4	-	-
AJ5	-	1
AJ6	-	1
BJ1	-	-
BJ2A	-	-
BJ2B	-	-
BJ3	-	1
BJ4	-	2
BJ5	1	5.5
BJ6	3	7
BJ7	8.5	7.5
BJ8	3	10
BJ9	2	3
DJ1	1	-
DJ2	-	1
DJ3	-	1
DJ4	-	1
DJ5	-	1
DJ6	2.5	1

4. PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Jawer Kotok

Bakteri endofit diketahui dapat diisolasi dari seluruh bagian tanaman, seperti akar, nodul, daun dan batang (Singh et.al., 2017). Isolasi bakteri endofit dari jawer kotok dilakukan pada bagian akar, batang dan daun, meskipun pada umumnya bagian tanaman jawer kotok yang digunakan sebagai obat adalah daun (Prima

et.al., 2018), namun terdapat kemungkinan bahwa bakteri endofit yang ada di batang maupun akar memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa antibakteri yang sama atau bahkan baru.

Bagian tanaman yang digunakan sebagai sampel dipilih dengan kondisi segar, tidak layu, utuh (tidak nampak adanya kerusakan atau tanda terserang hama/penyakit). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 22 isolat yang tumbuh di sekitar bagian tanaman yang disterilisasi. Sterilisasi bagian tanaman dengan etanol dan natrium hipoklorit bertujuan mematikan mikroba yang hidup di permukaan tanaman, sehingga bakteri yang muncul dan tumbuh di sekitar sampel adalah benar bakteri endofit. Berdasarkan hasil penelitian, bakteri endofit diperoleh dari akar, daun dan batang jawer kotok. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Selangga & Listihani, 2021) bahwa endofit dapat tumbuh berkoloni di bagian tertentu atau menyebar di seluruh bagian tanaman

Keberadaan bakteri endofit pada tanaman diduga masuk dari lingkungan luar ke dalam tanaman melalui kotiledon, rambut akar, lentisel, stomata, hidatoda maupun luka pada tanaman (Kandel et.al., 2017). Hubungan antara bakteri endofit dengan tanaman inangnya dapat bersifat netral, komensalisme atau mutualisme. Simbiosis mutualisme terjadi ketika bakteri endofit bisa memanfaatkan nutrisi yang berasal dari metabolisme tanaman, sedangkan tanaman memperoleh *derivate* nutrisi maupun senyawa aktif dari bakteri endofit yang diperlukan untuk keberlangsungan hidup tanaman dari serangan patogen (Pakaya et.al., 2022). Keberagaman bakteri endofit yang terdapat pada tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi kesuburan tanah, yang berarti meskipun jenis tanamannya sama belum tentu memiliki bakteri endofit yang sama (Safira et.al., 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian daya antibakteri isolat bakteri endofit asal jawer kotok dilakukan terhadap *B. cereus* dan *S. enteritidis*. Kedua jenis bakteri patogen tersebut diketahui berperan sebagai penyebab kasus infeksi dan diare tertinggi di Indonesia (Rahmawati & Bintari, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Yuniar et.al., 2021), secara empiris tanaman jawer kotok digunakan untuk mengatasi diare dan terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. enteritidis*, sehingga diharapkan bakteri endofit yang hidup dalam tanaman jawer kotok memiliki kemampuan memproduksi senyawa bioaktif yang mirip dengan inangnya. Terdapat sembilan isolat yang menunjukkan zona bening dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Zona bening tersebut menandakan pada saat pengujian, bakteri endofit mengalami fase stationer, dimana pada fase tersebut isolat bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang digunakannya sebagai antibakteri untuk bertahan hidup. Selain itu, hasil pengujian yang positif (ada zona bening) menandakan adanya kompetisi ruang dan nutrisi antara bakteri endofit dengan *B. cereus* maupun *S. enteritidis* yang mengindikasikan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik (Selangga & Listihani, 2021).

Tidak semua isolat menunjukkan hasil positif. Hal ini dapat disebabkan pengaruh metabolit yang dihasilkan bakteri endofit terlalu rendah konsentrasinya sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji secara signifikan (Safira et.al., 2014). Selain itu, tidak semua bakteri endofit memiliki kemampuan yang sama dalam menghasilkan senyawa antibakteri, beberapa diantaranya justru mampu menghasilkan senyawa bioaktif lain yang bermanfaat sebagai antimalaria antikanker, antifungi, dll (Anwar & Futra, 2019).

5. DAFTAR PUSTAKA

Anwar, L., & Futra, D. (2019). Potensi metabolit sekunder produksi bakteri endofit dari tumbuhan laban (*Vitex pubescens* Vahl) sebagai antikanker. *Chempublish Journal*, 4(2), 71–80. <https://doi.org/10.22437/chp.v4i2.7937>

Aqlinia, M., & Pujiyanto, S. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial terhadap *Staphylococcus*

aureus. *Jurnal Akademika Biologi*, 9(1), 23–31.

- Hamidah, M., Moektiwardoyo, M., & Abdassah, M. (2019). Review Artikel: Senyawa Aktif Antiinflamasi Daun Jawer Kotok (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.BR). *Farmaka*, 17(1), 89–96.
- Kandel, S., Joubert, P., & Doty, S. (2017). Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077>
- Kusmiati, A., Haryani, T. S., & . T. (2020). Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Kulit Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) sebagai Antibakteri *Salmonella enteritidis*. *Ekologia*, 19(1), 27–33. <https://doi.org/10.33751/ekol.v19i1.1659>
- Kusumawati, D. E., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*, 1(1), 45–50. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.45-50>
- Kusumawati, D. E., Purwanto, U. M. S., Bintang, M., & Pasaribu, F. H. (2022). Analysis of Metabolite Compound Profiles of Miana Leaves Endophytic Bacteria (*Coleus scutellarioides*) using GC-MS. *Current Biochemistry*, 8(2), 63–67. <https://doi.org/10.29244/cb.8.2.2>
- Pakaya, M. S., Akuba, J., Papeo, D. R. P., & Puspitadewi, A. A. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar Pare. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 4(1), 301–309.
- Prima, S. R., Munarsih, F. C., & Saadah, U. N. (2018). Perbandingan Jenis, Komposisi Dan Jumlah Pelarut Terhadap Uji Total Flavonoid Dari Daun Jawer. *Jurnal Farmasi Higea*, 10(2), 154–162.
- Rahmawati, F., & Bintari, S. H. (2014). Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. *Unnes Journal of*

- Life Science*, 3(2), 103–111.
- Ridwan, Y., Satrija, F., & Handharyani, E. (2020). Toksisitas Akut Ekstrak Daun Miana (*Coleus blumei* Benth) pada Mencit (*Mus musculus*). *Acta Veterinaria Indonesiana*, 8(1), 55–61. <https://doi.org/10.29244/avi.8.1.55-61>
- Safira, U. M., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*, 1(1), 51–57. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.51-57>
- Saputri, D. D., Bintang, M., & Pasaribu, F. H. (2015). Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Tembelekan (*Lantana camara* L.) as Antibacterial Compounds Producer. *Current Biochemistry*, 2(2), 86–98. <https://doi.org/10.29244/cb.2.2.86-98>
- Selangga, D. G. W. & Listihani. (2021). Screening of Endophytic Bacteria Isolated from Mimosa pudica in Bali Island. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 5(1), 50–57. <https://doi.org/10.22225/seas.5.1.3303.50-57>
- Singh, A. K., Sharma, R. K., Sharma, V., Singh, T., Kumar, R., & Kumari, D. (2017). Isolation, morphological identification and in vitro antibacterial activity of endophytic bacteria isolated from *Azadirachta indica* (neem) leaves. *Veterinary World*, 10(5), 510–516. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.510-516>
- Yuniar, N., Sabilu, Y., Juminten, Suryani, Madjid, R., Suhadi, Jafriati, & Sety, L. M. (2021). Effectiveness Of Utilizing Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) on the Growth of *Escherichia* bacteria (*E. coli*) as a Cause Of Diarrhea At Drinking Water Refill Center. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 56(5), 494–503. <https://doi.org/10.35741/issn.0258-2724.56.5.45>
- Zhang, H., Ying, C., & Bai, X. (2014). Advancement in Endophytic Microbes from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(5), 1589–1600.