

IDENTIFIKASI SPESIES BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI TUMBUHAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)

Baiq Isti Hijriani^{1*} · Edy Kurniawan² · Aini³ · Annisa Triana Fitri⁴ · Ariyani Ayu Maulana⁵

^{1,3,4} Program studi D-III Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Indonesia

^{2,5} Program studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Indonesia

e-Mail: baiqistih@gmail.com

No Tlp WA : 085920613601

Abstract

Problems due to infectious diseases are one of the serious problems. Continuous use of synthetic antimicrobial drugs can increase the resistance of microorganisms to antibiotics. New compounds with better effectiveness are needed to overcome this problem. The biduri plant contains secondary metabolites that are useful for treatment, besides being obtained directly from plants, another way to obtain secondary metabolites is the use of endophytic bacteria. The ability of endophytic bacteria to produce secondary metabolites that are the same as their hosts is a great potential as a material for making drugs derived from natural materials. This study aims to determine the species of endophytic bacteria isolated from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*). The research method used is Observational-descriptive. The study was conducted by isolating and identifying endophytic bacterial species from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*). Samples of biduri plant leaves were obtained from Montong Sapah Village, Praya Barat Daya, Central Lombok. Identification of endophytic bacterial isolates from biduri leaves was carried out by macroscopic, microscopic and gram staining observations. While identification of endophytic bacterial species from biduri plant leaves was carried out by biochemical tests. The results of the study showed that the isolates of endophytic bacteria from the leaves of the biduri plant (*Calotropis gigantea*) from the results of biochemical tests obtained endophytic bacteria of the species *Bacillus laterosporus*.

Keywords : leaves plant of biduri (*Calotropis gigantea*), bacterium endofit, biochemistry test

Abstrak

Permasalahan akibat penyakit infeksi menjadi salah satu masalah yang serius. Pemakaian obat antimikroba sintesis yang secara terus-menerus dapat meningkatkan resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik. Senyawa baru dengan efektivitas yang lebih baik diperlukan untuk mengatasi masalah tersebut. Tanaman biduri mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat untuk pengobatan, selain bisa didapatkan langsung dari tanaman cara lain mendapat metabolit sekunder adalah pemanfaatan bakteri endofit. Kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi metabolit sekunder yang sama dengan inangnya merupakan potensi besar sebagai bahan pembuatan obat yang berasal dari bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri endofit yang diisolasi dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Metode penelitian yang digunakan adalah Observasional-deskriptif. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi spesies bakteri endofit dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Sampel daun tumbuhan biduri diperoleh dari Desa Montong Sapah Kecamatan Praya Barat Daya Kabupaten Lombok Tengah. Identifikasi isolat bakteri endofit daun tumbuhan biduri dilakukan dengan cara pengamatan makroskopis, mikroskopis dan pengecatan gram. Sedangkan identifikasi spesies bakteri endofit daun tumbuhan biduri dilakukan dengan cara uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) dari hasil uji biokimia didapatkan jenis bakteri endofit spesies *Bacillus laterosporus*. Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan uji sensitivitas bakteri endofit daun tanaman biduri terhadap spesies bakteri penyebab infeksi.

Kata Kunci : Daun Tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*), Bakteri Endofit, Uji Biokimia

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang harus ditangani. Penyakit infeksi ini umumnya diberikan antibiotik sebagai upaya pengobatannya. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan timbulnya masalah baru, yaitu meningkatnya mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antibiotik (Mancuso et al., 2021). Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian senyawa bioaktif baru melalui eksplorasi bahan alam. Indonesia merupakan Negara tropis dengan beraneka ragam tanaman di seluruh Nusantara. Salah satunya adalah tanaman biduri yang berpotensi sebagai obat. Senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan daun biduri diantaranya adalah mengandung saponin, flavonoida, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat (Mawar et al., 2022).

Mikroorganisme selain dikenal sebagai penyebab penyakit bagi manusia dan hewan juga berpotensi menghasilkan antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Salah satunya adalah bakteri endofit yang hidup pada jaringan tanaman obat. Mikroba endofit baik bakteri dan cendawan endofit yang diisolasi dari organ tanaman memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya bahkan dalam jumlah yang lebih besar. Selain itu juga upaya ini lebih efisien dalam memproduksi senyawa bioaktif karena tidak membutuhkan tanaman dalam jumlah besar sehingga dapat menjaga kelestarian tanaman obat (Hamtni et al., 2022).

Secara tradisional daun biduri telah digunakan sebagai tanaman obat untuk beberapa penyakit seperti paralisis, pembengkakan, demam, gigitan ular beracun, cacing dan bisul (Maulana et al., 2015). O. Isolasi yang diperoleh selanjutnya perlu untuk diidentifikasi lebih lanjut sehingga akan mempermudah pencirian dan pengklasifikasiannya. Ini penting untuk memudahkan pengembangan dan pelestariannya.

Bakteri endofit biasanya dapat ditemukan pada jaringan tanaman yang sehat seperti pada jaringan biji, akar, batang dan daun (Sianipar et al., 2020). Mikroba simbiosis endofit adalah mikroba yang berada di dalam tubuh tanaman untuk sebagian besar siklus hidup mereka tanpa ada dampak yang merugikan bagi tanaman inang, meliputi bakteri dan jamur (Kandel et al., 2017). Komunitas endofit memberikan keuntungan terhadap tanaman inangnya seperti melindungi tanaman melawan

herbivora, serangga, atau patogen, serta mampu menstimulasi pertumbuhan tanaman. Tanaman merupakan salah satu sumber daya alam yang digunakan oleh masyarakat dalam bidang pengobatan. Bakteri endofit memiliki potensi besar dalam pencarian sumber-sumber obat baru (Sihombing et al., 2018). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ismail dkk (2018), didapatkan bahwa jamur endofit dari ekstrak daun binahong berpotensi mengganggu regenerasi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan kemampuan bakteri endofit yang sangat besar dan keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia ini menjadikan prospek penelitian tentang bakteri endofit dari tumbuhan sangat besar. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang Identifikasi Spesies Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Daun Tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional-deskriptif yaitu dengan cara mengisolasi dan identifikasi bakteri endofit dari daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Populasi dalam penelitian ini adalah tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*), dengan teknik pengambilan sampel *simple random sampling*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, Laminar Air Flow, Mikroskop, Inkubator, Autoclaf, Erlenmeyer, dan gunting steril. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun tumbuhan Biduri (*Calotropis gigantea*), Media NA (Nutrient Agar), Larutan NaOCl (*Sodium Hipoklorit*) 5,3%, Aquades steril, Spiritus, Alcohol 70%, dan Pewarnaan gram.

Pengambilan sampel dilakukan mengambil bagian daun tanaman biduri, kemudian dipotong sepanjang ± 2 cm dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Setelah pencucian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan memasukkannya kedalam larutan alkohol 70% selama 5 menit, kemudian dilanjutkan kedalam larutan NaOCl 5,3% selama 5 menit kemudian dikeringkan dengan tissue steril. Daun yang telah disterilisasi kemudian dikeringkan diatas kertas saring steril. Kemudian sampel dipotong menjadi ukuran ± 2 cm dengan gunting steril selanjutnya ditanam di dalam media agar NA, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Bakteri yang tumbuh pada media isolasi NA, disubkultur pada media lempeng NA secara *streak*

plate pada suhu 37°C selama 24 jam sampai diperoleh koloni yang murni. Koloni murni kemudian dipindahkan ke media agar NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri murni yang telah diisolasi dan identifikasi yaitu dengan pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia.

HASIL

Daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) ditanam di dalam media agar NA, kemudian di subkultur pada 3 media lempeng NA secara *streak plate*. Subkultur pada 3 media lempeng NA didapatkan 1 isolat murni, diberi simbol E1. Setiap isolat bakteri endofit dibuat dua pada media agar miring, masing-masing dipergunakan sebagai *working culture* (kultur kerja) dan *stock culture* (kultur stok).



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*)



Gambar 2. Pewarnaan gram bakteri endofit

Isolat dengan kode E1 yang telah dimurnikan selanjutnya diamati bentuk selnya dan diuji secara biokimiawi untuk kepentingan karakterisasi dan identifikasi dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik isolat bakteri endofit daun biduri (*Calotropis gigantea*)

| Pengamatan Makroskopik | | | | | | |
|------------------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|---------------------|
| No. | Kode Isolat | Ukuran | Bentuk | Warna | Tepian | Permukaan |
| 1 | E1 | Besar | Bulat | Krem keputihan | Tidak rata | Rata |
| Pengamatan Mikroskopik | | | | | | |
| No. | Kode Isolat | Morfologi | Spora | Endospora | Gram | Genus |
| 1 | E1 | Basil Berantai | Positif (+) | Oval (+) | Positif (+) | <i>Bacillus spp</i> |

Tabel 2. Karakterisasi dan identifikasi Isolat bakteri endofit daun biduri (*Calotropis gigantea*)

| No. | Parameter Uji | Hasil Isolat E1 | Spesies |
|-----|---------------|-----------------|------------------------------|
| 1 | Katalase | Positif (+) | <i>Bacillus laterosporus</i> |
| 2 | Indol | Negatif (-) | |
| 3 | Motility | Negatif (-) | |
| 4 | Urea | Positif (+) | |
| 5 | TSI B/A | Negatif (-/-) | |
| 6 | PATI | Negatif (-) | |
| 7 | MR dan VP | | |
| | a. MR | Positif (+) | |
| | b. VP | Positif (+) | |
| 8 | Karbohidrat | | |
| | a. Manitol | Negatif (-) | |
| | b. Maltosa | Positif (+) | |
| | c. Sukrosa | Negatif (-) | |
| | d. Glukosa | Negatif (-) | |
| | e. Laktosa | Negatif (-) | |

DISKUSI

Berdasarkan hasil identifikasi uji biokimia isolat bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea*) didapatkan spesies bakteri endofit genus *Bacillus* spesies *Bacillus laterosporus*. Hasil penelitian ini serupa dengan bakteri endofit yang diisolasi dari daun kelor, dimana pada isolasi tersebut ditemukan bakteri genus *Bacillus* pada permukaan daun kelor (Sadikin et al., 2021). Bakteri *Bacillus laterosporus* juga sering ditemukan pada tanah, batu permata, lahar, air tawar, air laut, susu, puyuh (Curtis et al., 2020). Berdasarkan hal tersebut bakteri *Bacillus laterosporus* merupakan bakteri kosmopolit. Bakteri *Bacillus laterosporus* adalah bakteri berbentuk batang, endospora yang terbentuk secara morfologis yang ditandai dengan produksi tubuh parasporal berbentuk kano (CSPB) yang melekat erat pada satu sisi spora, yang menentukan posisi lateral dalam sporangium. Beberapa strain *Bacillus laterosporus* menunjukkan aktifitas antimikroba spektrum luas terhadap berbagai bakteri dan jamur (Ruii, 2014).

Bacillus laterosporus dapat menghambat pertumbuhan jamur seperti pada fitopatogenik *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*, *F. Semitectum*, *Magnoportha*, *Rhizoctonia oryzae*, bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Diarta et al., 2016)(Curtis et al., 2020). Sifat anti jamur dan anti bakteri dari strain *Bacillus laterosporus* telah menemukan minat dalam pengobatan untuk produksi antibiotik dengan efek terapi. *Bacillus laterosporus* memiliki sifat antagonisme terhadap berbagai mikroorganisme berbahaya, selain itu juga dilaporkan menghasilkan efek menguntungkan dalam usus mamalia setelah diberikan sebagai aditif pakan (Bahaddad et al., 2023).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mamangkey et al (2022), didapatkan spesies bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa* dari ekstrak daun *Anredera cordifolia* memiliki aktivitas antioksidan, serta mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 35216, *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, sedangkan jamur endofit dari ekstrak daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu isolat bakteri endofit pada daun tumbuhan biduri (*calotropis gigantea*) dari hasil identifikasi didapatkan bakteri endofit spesies *Bacillus laterosporus*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada seluruh tim yang telah membantu dalam penyusunan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dengan ini penulis menyatakan bahwa data-data yang dipublikasikan pada naskah tersebut tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak-pihak manapun.

REFRENSI

- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2023). *Pedoman Penilaian Khasiat dan Keamanan Obat Antibakteri*.
- Bahaddad, S. A., Almalki, M. H. K., Alghamdi, O. A., Sohrab, S. S., & Yasir, M. (2023). *Bacillus Species as Direct - Fed Microbial Antibiotic Alternatives for Monogastric Production*. 1-16. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09909-5>
- Curtis, A. K., Lamb, C., Hassan, W. M., & Foxworth, J. (2020). *Brevibacillus Laterosporus Bacteremia in an Adult*. 12(9), 12-14. <https://doi.org/10.7759/cureus.10481>
- Diarta, I. M., Javandira, C., & I Ketut Widnyana. (2016). ANTAGONISTIK BAKTERI *Pseudomonas* spp. DAN *Bacillus* spp. TERHADAP JAMUR *Fusarium oxysporum* PENYEBAB PENYAKIT LAYU TANAMAN TOMAT. *Jurnal Bakti Saraswati*, 05(01).
- Hamtni, Nurhati, W., Rahmita, M., Trisna, C., Rahmawati, J., & Shufiyani. (2022). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit pada Batang dan Daun Tanaman Songgolangit (Tridax procumbens (Lour .))*. 1(1), 19-22.
- Mamangkey, J., Pardosi, L., & Wahyuningtyas, R. S. (2022). Aktivitas Mikrobiologis Endofit dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Pro-Life*, 9(1).
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). *Bacterial Antibiotic Resistance : The Most Critical Pathogens*. 1-14.

- Maulana, G. K., Bagus, I., Oka, M., Dwinata, I. M., Pendidikan, M., & Dokter, P. (2015). *Aktivitas Vermisidal dan Ovisidal Daun Biduri (Calotropis Spp .) Terhadap Cacing Fasciola Gigantica Secara In Vitro Indonesia Medicus Veterinus Agustus 2015*. 4(4), 314-320.
- Mawar, Parawansa, A. K., & Abdullah. (2022). Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemberian Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantean*) dalam Menekan Perkembangan Keong Mas pada Tanaman Padi Sawah. *Jurnal Agrotek*, 6(2), 11-16.
- Ruiu, L. (2014). *Brevibacillus laterosporus*, a Pathogen of Invertebrates and a Broad-Spectrum Antimicrobial Species. *Insects*, 4, 476-492. <https://doi.org/10.3390/insects4030476>
- Sadikin, N. A. N., Bintari, S. H., Widiatningrum, T., Pramesti, & Dewi. (2021). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*, 10(2), 109-119.
- Sianipar, G. W. S., Sartini, S., & Riyanto, R. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(2), 83-92. <https://doi.org/10.31289/jibioma.v2i2.312>
- Sihombing, M. C. H., Simbala, H. E. I., & Yudistira, A. (2018). Isolasi, Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Simbion Endofit Alga *Padina* Sp . *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 41-52.