
**AKTIVITAS ANTIBAKTERI METABOLIT SEKUNDER ISOLAT
BAKTERI ENDOFIT KUNYIT (*Curcuma longa* L.) TERHADAP
*Propionibacterium acnes***

Patrio Victorianus Baraga¹, Mahyarudin Mahyarudin^{2*}, Ambar Rialita³.

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Bansir Laut, Kota Pontianak, Kalimantan
Barat, Indonesia 78115

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Bansir Laut, Kota Pontianak, Kalimantan
Barat, Indonesia 78115

³Departemen Dermatovenerologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Bansir Laut, Kota Pontianak, Kalimantan
Barat, Indonesia 78115

*Corresponding author: mahyarudin@medical.untan.ac.id

Naskah diterima: 23 Desember 2021; Direvisi: 11 Januari 2022; Disetujui: 28 Februari 2022

ABSTRAK

Propionibacterium acnes merupakan penyebab utama terjadinya *acne vulgaris*. Pengobatan tanda, gejala, dan kekambuhan *acne vulgaris* cukup sulit dikarenakan *P. acnes* yang resisten dengan antibakteri seperti golongan linkosamida. Kunyit (*Curcuma longa* L.) mempunyai senyawa aktif kurkumin yang merupakan polifenol alami dengan sifat antibakteri terhadap *P. acnes*. Bakteri endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman aslinya. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri metabolit sekunder endofit kunyit terhadap *P. acnes*. Penelitian bersifat deskriptif yaitu isolat bakteri endofit kunyit diujikan dengan metode difusi cakram terhadap *P. acnes*. Isolat yang paling berpotensi memiliki aktivitas antibakteri diidentifikasi berdasarkan karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel, biokimia dan dilakukan uji senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan metode Ciulei. Sebanyak 12 dari 17 isolat memiliki aktivitas terhadap *P. acnes* dengan diameter zona hambat terbedar yaitu 21,2 mm dengan kode isolat H5. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa H5 memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus*. Hasil uji metabolit menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat H5 yaitu saponin, terpenoid dan flavanoid. Bakteri endofit tanaman kunyit memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. acnes*.

Kata kunci: antibakteri; bakteri endofit; *Curcuma longa* L.; *Propionibacterium acnes*.

ABSTRACT

*Antibacterial activity of secondary metabolites of endophytic bacterial isolated from tumeric (*Curcuma longa* L.) against *Propionibacterium acnes*.*

Propionibacterium acnes is the main cause of *acne vulgaris*. Treatment to control the signs, symptoms, and recurrence of *acne vulgaris* is not easy due to its resistance to antibacterials such as linkosamide group. Turmeric (*C. longa* L.) has an active compound, curcumin, the main natural polyphenol which has antibacterial properties against *P. acnes*. Endophytic bacteria isolated from plant can produce same secondary metabolites with the host plant. The study aimed to determine the antibacterial activity of turmeric bacterial endophytes secondary metabolites against *P. acnes*. The research was descriptive research where endophytic bacterial isolates of turmeric were tested by disk diffusion method against *P. acnes*. The most potential isolates with antibacterial activity was identified based on the characterization of colony morphology, cell morphology, biochemical tests and a secondary metabolic compound test used Ciulei method. A total of 12 from 17 isolates had activity against *P. acnes* with the biggest inhibition zone is 21.2 mm with code H5. The identification results showed that H5 had similarities with the genus *Bacillus*. Metabolite test showed that the antibacterial compounds produced by H5 were saponins, terpenoids and flavonoids. The endophytic bacteria of turmeric plant has potential as an antibacterial against *P. acnes*.

Keywords: antibacterial; endophytic bacteria; *Curcuma longa* L.; *P. acnes*.

PENDAHULUAN

Acne vulgaris (jerawat) adalah kondisi pada kulit yang terjadi karena tersumbatnya folikel rambut oleh sel minyak dan kulit mati. Jerawat umumnya mudah di temukan pada wajah, leher, dada, punggung serta bahu. Jerawat umumnya dimulai pada masa remaja, tetapi waktu berakhirnya bervariasi. Usia onsetnya 18-20 tahun atau tertunda hingga 25-30 tahun. Kadang-kadang dapat dimulai pada usia yang lebih lanjut. Jerawat dapat disebabkan oleh *P. acnes* dan *Staphylococcus aureus* (Aydemir, 2017).

Bakteri *P. acnes* adalah bakteri Gram positif anaerob fakultatif, terdapat pada kulit, rongga mulut, usus besar, konjungtiva, saluran telinga eksternal, dan paling umum pada kelenjar minyak kulit. Bakteri ini merupakan penyebab utama *acne vulgaris* (AV) dan berperan sebagai patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi pasca operasi. Beberapa penelitian juga mengidentifikasi *P. acnes* sebagai kontaminan produk darah, kultur jaringan, dan luka bedah (Mollerup *et al.*, 2016).

Anti jerawat topikal merupakan salah satu cara pengobatan awal pada AV. Bakteri *P. acnes* dihambat pertumbuhannya dengan pengobatan secara topikal seperti penggunaan benzoil peroksida (BP), antibiotik (klindamisin dan

eritromisin), kombinasi antibiotik topikal dan BP, retinoid (tretinoin adapalen, dan tazaroten), kombinasi antara retinoid dan BP, asam azelat, dapson, dan asam salisilat (Alshehri *et al.*, 2017).

Kekambuhan terjadi karena *P. acnes* merupakan flora normal pada kulit sehingga tidak dapat mengeradikasinya secara permanen (Mollerup *et al.*, 2016). Sampai saat ini belum ada pengobatan dengan hasil memuaskan dalam mengontrol tanda dan gejala AV terutama kekambuhannya. Hal tersebut dikarenakan *P. acnes* yang dapat resisten dengan antibakteri seperti golongan linkosamida akibat pemakaian jangka panjang untuk pengobatan (Zhu *et al.*, 2019). Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif untuk mengatasi infeksi pada AV contohnya penggunaan metabolit sekunder dari bakteri endofit yang merupakan flora normal dari tanaman (Septiana *et al.*, 2017).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional berasal dari marga *Zingiberaceae*. Jenis tanaman yang sering digunakan adalah kunyit (*C. longa* L.). Tanaman ini mempunyai senyawa aktif yaitu kurkumin yang berpotensi sebagai antioksidan (Soleimani *et al.*, 2018). *Diferuloylmethane* adalah polifenol alami utama yang ditemukan pada kunyit (*C. longa* L.). Kunyit telah digunakan secara tradisional di negara-negara Asia sebagai ramuan medis karena memiliki senyawa antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, antimikroba, dan antikanker (Hewlings & Kalman, 2017).

Tanaman obat dan endofitnya merupakan sumber penting penghasil senyawa metabolit sekunder yang berpotensi dalam pengobatan tradisional. Mikroorganisme endofit adalah penghasil metabolit sekunder sebagai sumber obat untuk aktivitas antibakteri, antiarthritis, antimikroba, antikanker, antidiabetik, anti-serangga, dan immunosupresan (Gouda *et al.*, 2016). Bakteri endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (Nxumalo *et al.*, 2020).

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dengan membentuk koloni untuk bertahan hidup tanpa merugikan sel inang. Bakteri endofit dapat ditemukan di seluruh jaringan tanaman yaitu batang, daun, akar, bunga, buah, dan biji (Afzal *et al.*, 2019). Bakteri endofit berperan sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yang melindungi sel inang dari

stress lingkungan dan serangan mikroba lain (Afzal *et al.*, 2019). Beberapa mikroba endofit yang berpotensi diantaranya adalah endofit tanaman jahe merah (*Zingiber officinale*) mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes* (Abdul *et al.*, 2020) dan bakteri endofit tanaman kunyit (*C. longa*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *S. enterica* ser (Sulistiyani *et al.*, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri bakteri endofit kunyit terhadap *P. acnes* yang kemudian diharapkan menjadi alternatif antibakteri terhadap kasus AV saat ini.

MATERIAL DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, pipet volume, jarum ose, bunsen, vortex mixer, penjepit kaca objek, jangka sorong, pinset, inkubator, gelas beaker, gelas ukur, pipet mikro, mikroskop, erlenmeyer dan *centrifuge*.

Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri endofit kunyit, isolat *P. acnes*, media NA (*Nutrient agar*), media NB (*Nutrient Broth*), media agar darah, H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1%, NaCl steril 0,9%, kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin, klindamisin, tetrametil parafenildiamin, media MIO (*Motility Indole Ornitin*), H₂O₂ 30%, media glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, sorbitol, mannitol, inositol, medium urea, media *Tryptone Water*, reagen Kovacs, media O-F, parafin, media *Simmons Citrat Agar* miring, KOH 40%, etil asetat, *Dragendroff*, FeCl₃, *Lieberman*, *Mayer*, kaca objek, kertas cakram, tisu, *handscoon* steril, kertas saring steril.

Prosedur Penelitian

Produksi Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit Kunyit

Bakteri endofit kunyit didapat dari koleksi penelitian sebelumnya (Yuanita *et al.*, 2019). Bakteri pada *Nutrient Agar* (NA), disubkultur pada NA yang baru dengan metode cawan gores dan diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam hingga diperoleh kultur murni (Yusmaniar *et al.*, 2017). Kultur murni diambil dan dimasukkan pada *Nutrient Broth* (NB) steril sebanyak 10 mL untuk produksi metabolit sekunder. Kultur diinkubasi selama 24-72 jam pada suhu 37°C dalam kondisi stasioner, kemudian disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 5 menit hingga

didapatkan supernatan. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram (Adityawarman, 2017).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji *P. acnes* didapat dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Indonesia. Peremajaan dilakukan dengan inokulasi *P. acnes* melalui metode cawan gores pada NA dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Bakteri hasil peremajaan inilah yang digunakan dalam pembuatan suspensi bakteri uji (Yusmaniar *et al.*, 2017).

Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan ke tabung yang berisi 5 ml NaCl 0,9% steril, dan kemudian dihomogenisasi dengan vortex hingga kekeruhannya sama dengan larutan standard Mc Farland 0,5. Larutan baku McFarland 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Nuria, 2010).

Uji Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas antibiotik dengan difusi cakram *Kirby Bauer* sesuai rekomendasi *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI). Suspensi bakteri dipindah secara aseptik sebanyak 200µL pada permukaan lempeng *Mueller-Hilton Agar* (MHA). Pada permukaan media diletakkan 4 buah cakram antibiotik dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sensitivitas bakteri uji ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni di sekitar kertas cakram (Patel *et al.*, 2017a). Kontrol positif berupa klindamisin dan kontrol negatif berupa *Nutrient Broth*.

Tabel 1. Kriteria zona hambat antibiotik (Patel *et al.*, 2017).

Antimikroba	Konsentrasi cakram	Kriteria Interpretasi diameter (mm)		
		<i>Susceptible</i> (S)	<i>Intermediate</i> (I)	<i>Resistant</i> (R)
Klindamisin	2µg	≥ 21	15-20	≤14

Skrining Bakteri Endofit yang Berpotensi sebagai Antibakteri terhadap P. acnes

Kultur isolat bakteri endofit yang telah diproduksi metabolit sekundernya kemudian diuji potensi antibakteri dengan metode Kirby Bauer. Suspensi *P. acnes* disebar pada permukaan MHA dengan metode swab. Sebanyak 20µL suspensi bakteri endofit hasil homogenasi diserapkan pada kertas cakram (diameter 6 mm)

dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Muharni *et al.*, 2014; Pence & Liesman, 2020). Diameter zona hambat (mm) yang terbentuk di sekitar cakram diukur dengan jangka sorong (Hidayat *et al.*, 2014) dan dikategorikan menurut klasifikasi zona hambat (**Tabel 2**) (Mahmudah & Atun, 2017).

Tabel 2. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Mahmudah & Atun, 2017).

Diameter Zona Hambat (mm)	Interpretasi
0	Tidak ada aktivitas
1,4 - 6,2	Lemah
6,3-10,3	Sedang
10,4-26,8	Kuat
>26,8	Sangat kuat

Identifikasi Bakteri Endofit

Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dikarakterisasi dan diidentifikasi secara biokimia dengan mengacu *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, uji biokimia, dan pewarnaan endospora bakteri endofit (Krieg *et al.*, 2010; Mamou *et al.*, 2016). Pengamatan sel dilakukan dengan pewarnaan Gram (Nurhidayati *et al.*, 2015). Uji biokimia dilakukan dengan uji oksidase, uji katalase, fermentasi karbohidrat, erease, indol, penggunaan sitrat, kebutuhan oksigen, uji glukosa OF dan uji motilitas (Rahmadani, 2018).

Sebanyak 0,5 mL NaCl 0,9%, isolat bakteri endofit, dan *carbol fuchsin* 0,5 mL dimasukkan ke *microtube* kemudian dipanaskan dalam *waterbath* suhu 80°C selama 10 menit. Campuran kemudian digoreskan ke gelas obyek, dikeringkan dengan *slide dryer*, dicuci dengan H₂SO₄ 1%, dan dibilas dengan akuades. Gelas obyek di warnai dengan *methylene blue* selama 2 menit kemudian dicuci dengan akuades, kemudian diamati dengan mikroskop pembesaran 100x.

Uji Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Potensial

Uji metabolit sekunder meliputi uji terpenoid, alkaloid, flavanoid, dan saponin (Sharma *et al.*, 2016). Uji terpenoid dilakukan dengan campuran supernatan dan kloroform beramoniak dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambah H₂SO₄ 2N dan dikocok kuat. Campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform (bawah). Lapisan kloroform

diletakkan di plat tetes dan dibiarkan menguap lalu ditambah dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi *Lieberman-Burchardt*). Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan warna merah (Sharma *et al.*, 2016).

Supernatan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah kloroform untuk uji alkaloid. Tabung dibagi menjadi dua dan masing-masing ditambah pereaksi *Dragendroff* dan pereaksi *Mayer*. Hasil positif ditandai adanya perubahan warna menjadi jingga setelah penambahan pereaksi *Dragendroff* dan putih setelah penambahan pereaksi *Mayer* (Sharma *et al.*, 2016).

Supernatan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah alkohol 70%, dan dipanaskan untuk uji flavonoid. Campuran ditambah lempeng logam magnesium dan setetes asam klorida pekat. Hasil positif ditandai perubahan warna larutan menjadi kuning (Sharma *et al.*, 2016).

Supernatan dan akuades dimasukkan dalam tabung kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk uji saponin. Larutan dikocok kuat dan hasil positif ditandai terbentuknya busa yang stabil selama sepuluh menit (Sharma *et al.*, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Bakteri Endofit

Sebanyak 17 dari 21 isolat bakteri endofit dari rimpang kunyit berhasil diremajakan pada media *NA*. Isolat tersebut terdiri dari 5 bakteri Gram positif dan 12 bakteri Gram negatif (**Tabel 3**), sedangkan 4 isolat bakteri yang tidak berhasil diremajakan terdiri dari 2 bakteri Gram positif dan 2 bakteri Gram negatif dengan kode H3, H7, M1, dan M12 dikarenakan memang tidak dapat diremajakan kembali maupun sudah terkontaminasi oleh bakteri lain. Isolat bakteri endofit yang tidak tumbuh dan juga terkontaminasi diduga akibat teknik penyimpanan jangka panjang yang kurang baik (Becker *et al.*, 2015).

Isolat bakteri dapat disimpan pada minyak mineral (parafin cair) untuk jangka panjang. Penyimpanan dilakukan untuk mempertahankan viabilitas mikroba dengan mencegah keringnya medium sehingga waktu penyimpanan lebih lama (beberapa tahun) dan tidak diperlukan peremajaan berulang. Teknik preservasi lain yang juga efektif dan umum dilakukan adalah subkultur pada media segar, pengawetan pada cakram gelatin, penyimpanan di tanah steril, penyimpanan silika

gel, pengeringan semprot, kriopreservasi, liofilisasi, pengeringan cair, dan vitrifikasi (de Vero *et al.*, 2019).

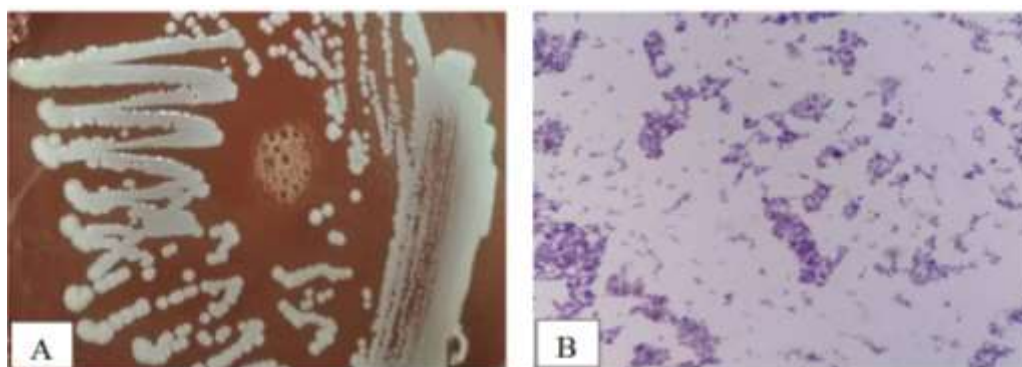
Tabel 3. Hasil peremajaan bakteri endofit

No	Nama Isolat	Morfologi Koloni			Warna	Morfologi Sel
		Bentuk	Permukaan	Tepi		
1	M2	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
2	M3	Bulat	Cembung	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
3	M4	Ireguler	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
4	M5	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
5	M6	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
6	M7	Ireguler	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
7	M8	Ireguler	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
8	M9	Ireguler	Timbul	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
9	M10	Ireguler	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
10	M11	Ireguler	Timbul	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
11	M13	Ireguler	Timbul	Bergerigi	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
12	M14	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram negatif
13	H1	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram positif
14	H2	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	<i>Coccus</i> , Gram positif
15	H4	Ireguler	Datar	Bergerigi	Putih kekuningan	<i>Coccus</i> , Gram positif
16	H5	Ireguler	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Gram positif
17	H6	Ireguler	Datar	Datar	Putih kekuningan	Basil, Gram positif

Isolat bakteri endofit yang baru memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan isolat lama yang sebelumnya di simpan pada lemari pendingin dalam kondisi inaktif sehingga bakteri endofit yang masih muda memiliki tingkat optimal yang lebih baik pada saat produksi metabolit sekunder (de Vero *et al.*, 2019).

Peremajaan dan Konfirmasi Bakteri Uji

Peremajaan bakteri uji pada media agar darah setelah 48 jam menunjukkan pertumbuhan koloni berukuran kecil, berbentuk bulat, mengkilat, tepian utuh, cembung dan berwarna putih. Sel berbentuk basil, tidak beraturan, dan merupakan bakteri Gram positif (**Gambar 3**). Penggunaan agar darah sebagai media yang kaya nutrisi dapat membantu pertumbuhan *P. acnes* (Niederstebruch *et al.*, 2017).



Gambar 3. A) Morfologi koloni *P. acnes* pada media agar darah usia 48 jam dan B) morfologi sel *P. acnes* (Perbesaran 1000x)

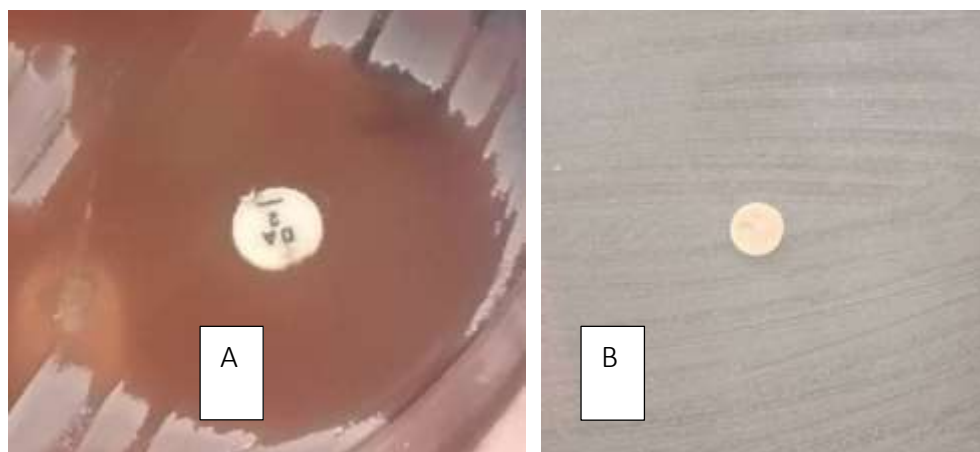
Kontrol positif dan kontrol negatif

Kontrol positif berupa klindamisin sedangkan kontrol negatif berupa media *NB* sebagai pembanding. Pada **Gambar 4** dapat dilihat bahwa kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar 28,876 mm yang menandakan *P. acnes* sangat sensitif terhadap klindamisin (Patel *et al.*, 2017), sedangkan kontrol negatif tidak membentuk zona hambat.

Skrining Bakteri Endofit yang Berpotensi sebagai Antibakteri terhadap P. acnes

Hasil uji antibakteri terhadap *P. acnes* dengan difusi cakram menunjukkan bahwa dari 17 isolat bakteri endofit rimpang tanaman kunyit, sebanyak 12 isolat memiliki aktivitas sedang hingga kuat terhadap *P. acnes* dengan diameter zona hambat 8,44 mm-21,2 mm (**Tabel 4**). Interpretasi zona hambat berdasarkan Mahmudah & Atun (2017) yaitu sangat kuat bila >26,8 mm; kuat bila 10,4-26,8

mm; sedang bila 6,3-10,3 mm; lemah bila 1,4-6,2 mm; dan tidak ada aktivitas bila tidak ada zona hambat (0 mm). Isolat bakteri endofit tanaman kunyit dengan kode H5 memiliki zona hambat terbesar dengan diameter sebesar 21,2 mm (**Gambar 5**).

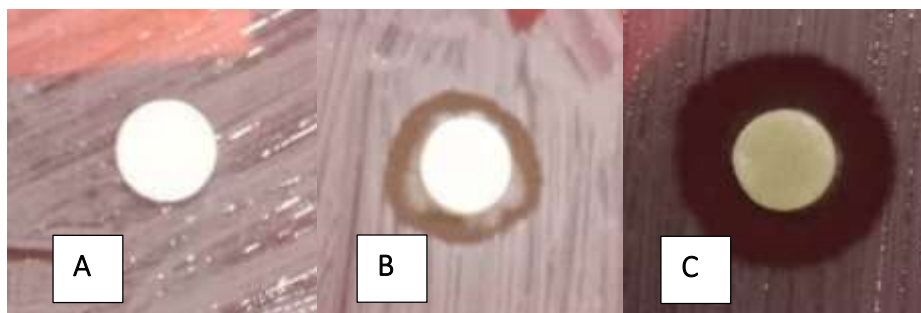


Gambar 4. A) Kontrol positif klindamisin pada media agar darah usia 48 jam dan B) kontrol negatif NB pada media agar darah usia 48 jam

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri endofit

No.	Nama Isolat	Zona Hambat (mm)	Interpretasi
1.	H1	8,44	Sedang
2.	H2	0	Tidak ada aktivitas
3.	H4	0	Tidak ada aktivitas
4.	H5	21,2	Kuat
5.	H6	0	Tidak ada aktivitas
6.	M2	11,06	Kuat
7.	M3	0	Tidak ada aktivitas
8.	M4	11,56	Kuat
9.	M5	0	Tidak ada aktivitas
10.	M6	15,4	Kuat
11.	M7	15,63	Kuat
12.	M8	13,75	Kuat
13.	M9	15,97	Kuat
14.	M10	16,09	Kuat
15.	M11	15,3	Kuat
16.	M13	17,3	Kuat
17.	M14	9,38	Sedang

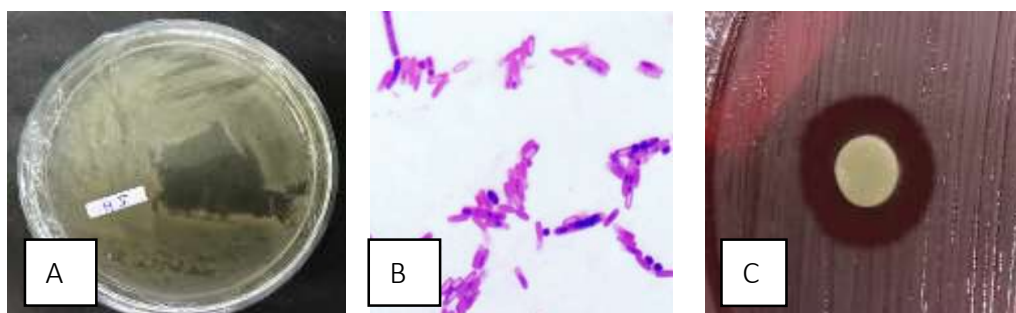
Catatan: Isolat diuji tanpa pengulangan



Gambar 5. A) Isolat M3 tidak memiliki aktivitas antibakteri; B) Isolat M14 dengan aktivitas sedang, dan C) Isolat H5 dengan aktivitas kuat

Identifikasi Bakteri Endofit yang Potensial sebagai Antibakteri

Identifikasi bakteri dilakukan melalui empat tahap pemeriksaan yaitu pemeriksaan morfologi koloni, morfologi sel, pengujian biokimia, dan pewarnaan endospora. Pemeriksaan morfologi koloni dan morfologi sel diketahui bahwa isolat bakteri endofit H5 memiliki bentuk ireguler, permukaan datar, tepi bergelombang, dan berwarna putih kekuningan. Sedangkan hasil pemeriksaan morfologi sel menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit H5 merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang (**Gambar 6**).



Gambar 6. A) Morfologi koloni isolat H5 pada NA usia 24 jam; B) Morfologi sel isolat H5 perbesaran 1000x; dan C) Zona hambat H5 yang terbentuk di media agar darah usia 48 Jam

Pengujian biokimia yang dilakukan terhadap isolat potensial atau isolat H5 yaitu uji kebutuhan oksigen, uji motilitas, uji glukosa, uji laktosa, uji manitol, uji maltosa, uji sukrosa, uji indol, uji simon sitrat, uji oksidase, uji katalase dan uji TSIA (**Tabel 5**). Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, dan hasil biokimia, diperoleh bahwa isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *P. acnes* yaitu isolat H5 memiliki kemiripan dengan

Bacillus sp. sebagian besar Genus *Bacillus* dapat menghasilkan enzim katalase. Genus ini ada yang aerob, fakultatif anaerob, tetapi beberapa spesies ada yang bersifat obligat anaerob. Kebanyakan spesies pada genus ini akan tumbuh pada media biasa seperti NA dan agar darah. Morfologi koloni dan ukurannya bervariasi tergantung spesiesnya. Bersifat oksidase positif maupun negatif (Krieg *et al.*, 2010). Biasanya ditemukan di tanah, lingkungan yang terkontaminasi oleh tanah baik secara langsung maupun tidak, serta juga dapat ditemukan pada air dan makanan (Logan & Vos, 2015).

Tabel 5. Hasil uji biokimia bakteri endofit yang potensial

No.	Uji Biokimia	Hasil	Interpretasi
1.	Motilitas	+	Bakteri ini memiliki flagel untuk bergerak.
2.	Glukosa	+	Bakteri ini dapat memfermentasi glukosa menghasilkan asam dan gas.
3.	Laktosa	-	Bakteri ini tidak dapat memfermentasi laktosa menghasilkan asam.
4.	Manitol	-	Bakteri ini tidak dapat memfermentasi manitol.
5.	Maltosa	-	Bakteri ini tidak dapat memfermentasi maltosa.
6.	Sacarosa (sukrosa)	+	Bakteri ini dapat memfermentasi sukrosa menghasilkan asam.
7.	Indol	-	Bakteri ini tidak memiliki enzim triptopanase.
8.	Urea	+	Bakteri memiliki enzim urease, dapat mengubah urea menjadi ammonia
9.	Simon sitrat	-	Bakteri ini tidak menggunakan sitrat sebagai sumber energinya.
10.	Oksidase	+	Bakteri ini memiliki enzim sitokrom c oksidase
11.	Katalase	+	Bakteri ini memiliki enzim katalase untuk mengubah H ₂ O ₂ menjadi air
12.	Glukosa OF	NF	Bakteri tidak dapat memfermentasi karbohidat pada keadaan tabung tertutup.

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengkonfirmasi secara pasti terhadap *Bacillus*, dikarenakan *Bacillus* mampu menghasilkan endospora. Endospora yang dihasilkan, mampu untuk membuat bakteri tahan terhadap berbagai kondisi ekstrim seperti suhu, kekeringan, sinar UV, larutan asam dan basa kuat, zat oksidatif, dan tekanan hidrostatis yang ekstrim. Endospora umumnya dapat rusak pada suhu 121°C, akan tetapi terdapat beberapa bakteri yang dapat

menghasilkan endospora yang tahan dengan pemanasan 150°C (Palombo, 2020). Pada pewarnaan endospora bakteri didapatkan hasil bahwa isolat bakteri endofit H5 positif memiliki endospora (**Gambar 7**). Hal ini sesuai dengan penelitian yang oleh Sulistiyani *et al.* (2016) yang menemukan bakteri *Bacillus* dari tanaman kunyit. *Bacillus subtilis* diketahui dapat menghasilkan metabolit sekunder golongan *cyclic lipopetide* (*surfactin*, *iturin*, dan *fengycin* yang termasuk dalam golongan saponin (Kaspar *et al.*, 2019). Senyawa saponin sebagai antibakteri memiliki cara kerja dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Khan *et al.*, 2018).



Gambar 7. Pewarnaan spora isolat H5 perbesaran 1000x

Uji Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Potensial sebagai Antibakteri

Uji metabolit sekunder dilakukan terhadap isolat potensial yaitu H5 yang diduga termasuk dalam genus *Bacillus*. Hasil uji menunjukkan isolat H5 dapat menghasilkan senyawa golongan saponin, terpenoid dan flavonoid (**Tabel 6** yang memiliki sifat antibakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sulistiyani *et al.* (2016) bahwa bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa yang serupa dengan senyawa yang dihasilkan tanaman kunyit yaitu saponin, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid.

Tabel 6. Hasil uji metabolit sekunder bakteri endofit potensial

No.	Uji Metabolit Sekunder	Isolat H5
1.	Saponin	+
2.	Alkaloid	-
3.	Terpenoid	+
4.	Flavonoid	+
5.	Fenol	-

Penelitian menyebutkan bahwa *B. subtilis* dapat menghasilkan terpenoid dengan cara memproduksi banyak isoprena secara alami. Isoprena yang dihasilkan *B. subtilis* melalui proses metabolik diubah menjadi senyawa metabolit terpenoid (Guan et al., 2015). Terpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin sehingga menurunkan permeabilitas membran sel (Guan et al., 2015). Flavanoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Khan et al., 2018).

Bacillus dapat menghasilkan beberapa senyawa antibiotik baru sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tiap spesiesnya. Hal ini terbukti dari penelitian yang dilakukan oleh Horak. Beberapa spesies *Bacillus* yang telah diketahui dapat menghasilkan senyawa antibiotik baru adalah *B. cereus* diketahui dapat menghasilkan *cerexin* dan *zwittermicin*, *B. circulans* and *Brevibacillus laterosporus* diketahui dapat menghasilkan *circulin*, *B. licheniformis* dapat menghasilkan *bacitracin*, *B. pumilus* dapat menghasilkan *pumulonin* and *B. subtilis* menghasilkan *difficidin*, *subtilin*, *surfactin* dan *bacilomycin* (Horak et al., 2019).

Senyawa metabolit ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi antibakteri. Bakteri endofit juga dapat memodulasi senyawa metabolit sekunder dari tanaman inangnya. Literatur sebelumnya juga menyatakan bahwa bakteri endofit yang berasal dari famili *Solanum lycopersicum*, *Psidium guajava*, *Pinus merkusii*, *Dendrocalamus asper*, *Albizia chinensis*, dan *Theobroma cacao L* dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri (Maulidia et al., 2020).

KESIMPULAN

Bakteri endofit tanaman kunyit (*C. longa L.*) memiliki potensi sebagai antibakteri dengan aktivitas sedang (8,44 mm) hingga kuat (21,2 mm) terhadap *P. acnes*. Identifikasi karakter bakteri endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri paling potensial (isolat H5) berdasarkan pengamatan morfologi koloni,

morfologi sel, dan uji biokimia menunjukkan adanya kemiripan dengan *Bacillus*. Senyawa metabolit yang dapat dihasilkan bakteri endofit isolat H5 diantaranya yaitu senyawa golongan saponin, terpenoid, dan flavanoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, J. A., Posangi, J., Wowor, P. M., & Bara, R. A. (2020). Uji efek daya hambat jamur endofit rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biomedik*, 12(2), 88–93. <https://doi.org/10.35790/jbm.12.2.2020.29163>
- Adityawarman. (2017). Isolasi, identifikasi dan aktivitas antibakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Cerebellum*, 5(4B), 1569–1581. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/JC/article/view/44821>
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Alshehri, M., Almutairi, A., Alomran, A., Alrashed, B., & Kaliyadan, F. (2017). Over-the-counter and prescription medications for acne: A cross-sectional survey in a sample of university students in Saudi Arabia. *Indian Dermatology Online Journal*, 8(2), 120. <https://doi.org/10.4103/2229-5178.202273>
- Aydemir, E. H. (2017). Acne vulgaris. *Türk Pediatri Arşivi*, 49(1), 13–16. <https://doi.org/10.5152/tpa.2014.1943>
- Becker, K., Skov, R. L., & von Eiff, C. (2015). *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive Cocci. In *Manual of Clinical Microbiology* (pp. 354–382). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch21>
- de Vero, L., Boniotti, M. B., Budroni, M., Buzzini, P., Cassanelli, S., Comunian, R., Gullo, M., Logrieco, A. F., Mannazzu, I., Musumeci, R., Perugini, I., Perrone, G., Pulvirenti, A., Romano, P., Turchetti, B., & Varese, G. C. (2019). Preservation, characterization and exploitation of microbial biodiversity: The Perspective of the Italian network of culture collections. *Microorganisms*, 7(12), 685. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120685>
- Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2016). Endophytes: A treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>
- Guan, Z., Xue, D., Abdallah, I. I., Dijkshoorn, L., Setroikromo, R., Lv, G., & Quax, W. J. (2015). Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* for terpenoid

production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(22), 9395–9406. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6950-1>

Hewlings, S., & Kalman, D. (2017). Curcumin: A review of its effects on human health. *Foods*, 6(10), 92. <https://doi.org/10.3390/foods6100092>

Hidayat, S., Hanum, F., & Ismail, A. (2014). Efektivitas daya hambat dan daya bunuh bakteri ulkus traumatikus pada mukosa mulut dengan berbagai konsentrasi propolis (*Trigona* sp.). *Medali: Media Dental Intelektual*, 2(1), 79–84. <http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/medali/article/view/456/382>

Horak, I., Engelbrecht, G., Rensburg, P. J. J., & Claassens, S. (2019). Microbial metabolomics: essential definitions and the importance of cultivation conditions for utilizing *Bacillus* species as bionematicides. *Journal of Applied Microbiology*, 127(2), 326–343. <https://doi.org/10.1111/jam.14218>

Kaspar, F., Neubauer, P., & Gimpel, M. (2019). Bioactive secondary metabolites from *Bacillus subtilis*: A comprehensive review. *Journal of Natural Products*, 82(7), 2038–2053. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00110>

Khan, M. I., Ahhmed, A., Shin, J. H., Baek, J. S., Kim, M. Y., & Kim, J. D. (2018). Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effects against various strains of Gram positive and Gram negative bacteria, a comprehensive study *in vitro* and *in vivo*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/3486106>

Krieg, N. R., Staley, J. T., Brown, D. R., Hedlund, B. P., Paster, B. J., Ward, N. L., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2010). Bergey's manual of systematic bacteriology second edition. In *Springer-Verlag New York Inc.*

Logan, N., & Vos, P. de. (2015). *Bergeys's manual of systematics of archaea and bacteria: genus bacillus* (W. S. John, Ed.). Inc.

Mahmudah, F. L., & Atun, S. (2017). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Sainstek*, 22(1), 59. <https://doi.org/10.21831/jps.v22i1.15380>

Mamou, G., Malli Mohan, G. B., Rouvinski, A., Rosenberg, A., & Ben-Yehuda, S. (2016). Early developmental program shapes colony morphology in bacteria. *Cell Reports*, 14(8), 1850–1857. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.01.071>

Maulidia, V., Soesanto, L., Syamsuddin, S., Khairan, K., Hamaguchi, T., Hasegawa, K., & Sriwati, R. (2020). Secondary metabolites produced by endophytic bacteria against the root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(11). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211130>

- Mollerup, S., Friis-Nielsen, J., Vinner, L., Hansen, T. A., Richter, S. R., Fridholm, H., Herrera, J. A. R., Lund, O., Brunak, S., Izarzugaza, J. M. G., Mourier, T., Nielsen, L. P., & Hansen, A. J. (2016). *Propionibacterium acnes*: Disease-causing agent or common contaminant? detection in diverse patient samples by next-generation sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, *54*(4), 980–987. <https://doi.org/10.1128/JCM.02723-15>
- Muharni, Fitriya, Oktaruliza, M., & Elfita. (2014). Uji aktivitas antibakteri dan antioksidan senyawa derivat piranon dari mikroba endofitik *Penicillium* sp. pada tumbuhan kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (berg.) Roscoe). *Traditional Medicine Journal*, *19*(3), 107–112. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8226>
- Niederstbruch, N., Sixt, D., Benda, B. I., & Banboye, N. (2017). A suitable blood agar containing human blood especially for the use in laboratories of developing countries. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *11*(05), 399. <https://doi.org/10.3855/jidc.8957>
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). Deteksi bakteri patogen yang berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, *1*(2), 24-30. <https://doi.org/10.29303/jstl.v1i2.53>
- Nuria, M. C. (2010). Antibacterial activities from jangkang (*Homalocladium platycladum* (F. Muell) Bailey) leaves. *Mediagro: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, *6*(2), 9-15. <https://doi.org/10.31942/md.v6i2.883>
- Nxumalo, C. I., Ngidi, L. S., Shandu, J. S. E., & Maliehe, T. S. (2020). Isolation of endophytic bacteria from the leaves of *Anredera cordifolia* CIX1 for metabolites and their biological activities. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *20*(1), 300. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03095-z>
- Palombo, E. A. (2020). Ethanol treatment does not inactivate spore-forming bacteria – A cautionary note about the safe transport of bacteria prior to identification by MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods*, *172*, 105893. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105893>
- Patel, J., Weinstein, M., Eliopoulus, G., Jenkins, S., Lewis, J., Limbago, B., & Mathers, A. (2017a). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (P. A. Wayne, Ed.; 27th ed., Vol. 37). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Patel, J., Weinstein, M., Eliopoulus, G., Jenkins, S., Lewis, J., Limbago, B., & Mathers, A. (2017b). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (P. A. Wayne, Ed.; 27th ed., Vol. 37). Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Pence, M. A., & Liesman, R. (2020). Clinical microbiology. In *Contemporary Practice in Clinical Chemistry* (pp. 985–1006). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815499-1.00055-7>
- Rahmadani, B. A. (2018). Karakteristik bakteri endofit daun pare (*Momordica charantia* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 4(1), 3–22. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/25678>
- Septiana, E., Sukarno, N., & Simanjuntak, P. (2017). Endophytic fungi associated with turmeric (*Curcuma longa* L.) can inhibit histamine-forming bacteria in fish. *HAYATI: Journal of Biosciences*, 24(1), 46–47. <https://doi.org/10.4308/hjb.24.1.46>
- Sharma, D., Pramanik, A., & Agrawal, P. K. (2016). Evaluation of bioactive secondary metabolites from endophytic fungus *Pestalotiopsis neglecta* BAB-5510 isolated from leaves of *Cupressus torulosa* D.Don. *3 Biotech*, 6(2), 210. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0518-3>
- Soleimani, V., Sahebkar, A., & Hosseinzadeh, H. (2018). Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. *Phytotherapy Research*, 32(6), 985–995. <https://doi.org/10.1002/ptr.6054>
- Sulistiyani, S., Ardyati, T., & Winarsih, S. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of endophyte bacteria associated with *Curcuma longa* rhizome. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 6(1), 45–51. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2016.006.01.11>
- Yuanita, M. M., Putri, E. A., Mahyarudin, M., Mardhia, M., & Rialita, A. (2019). Eksplorasi bakteri gram negatif endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) yang memiliki kemampuan quorum quenching. *Majalah Kedokteran Andalas*, 42(2), 80. <https://doi.org/10.25077/mka.v42.i2.p80-90.2019>
- Yusmaniar, Wardiyah, & Nida, K. (2017). *Mikrobiologi dan parasitologi* (E. Krisnadi, Ed.; 1st ed.). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <http://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wp-content/uploads/2017/11/DAFTAR-ISI-DAN-MIKROBIOLOGI-PARASITOLOGI.pdf>
- Zhu, T., Zhu, W., Wang, Q., He, L., Wu, W., Liu, J., Li, Y., & Sun, D. (2019). Antibiotic susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with acne in a public hospital in Southwest China: Prospective cross-sectional study. *BMJ Open*, 9(2), e022938. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-022938>