

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

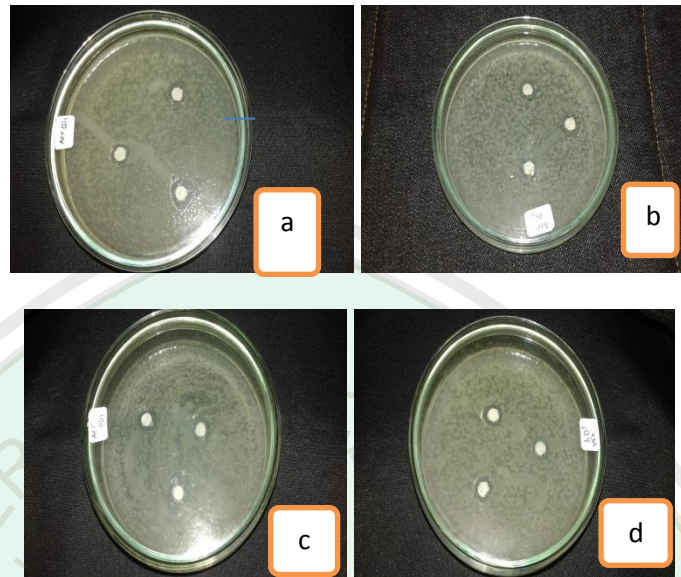
4.1 Uji Aktifitas Metabolit Sekunder Mikroba Endofit dari Rimpang Temulawak Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae*

Pengamatan dilakukan setelah bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diameter zona hambat dari uji aktifitas antibakteri bakteri endofit dari rimpang temulawak terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* dapat dilihat pada 4.1.

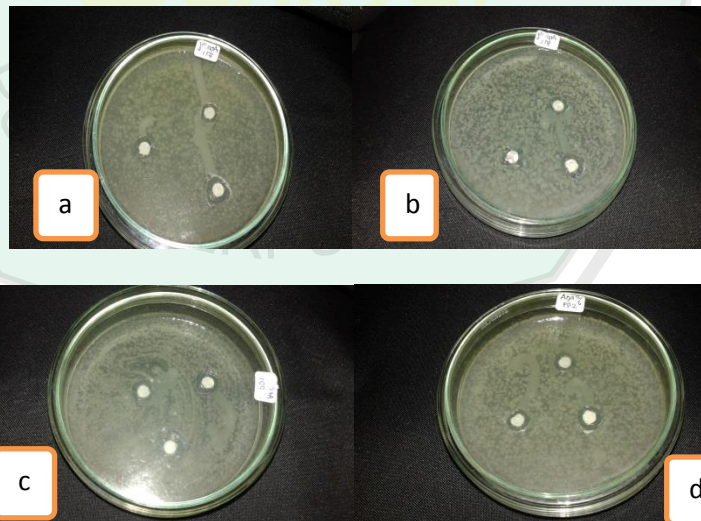
Tabel 4.1 Zona hambat pada uji aktifitas metabolit skunder mikroba endofit terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae*

Kode Isolat	/Spesies	Zona hambat (dalam mm)			
		<i>Aeromonas hydrophilla</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>	
		Panjang	Keterangan (Pan, et al., 2009)	Panjang	Keterangan (Pan, et al., 2009)
BT1	<i>Actinomyces viscosus</i>	3,83	Sedang	3,86	Sedang
BT2	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	5,6	Sedang	5,5	Sedang
PD1	<i>Actinomyces viscosus</i>	4,23	Sedang	3,9	Sedang
PD2	<i>Basillus. Brevis</i>	3,74	Sedang	3,64	Sedang
	Kontrol Positif (Amoxicilin 1 %)	14,18	Kuat	14,86	Kuat
	Kontrol Negatif (Cakram steril)	0	Lemah	0	Lemah

Keterangan: BT1=Isolat rimpang dari Batu, BT2=Isolat rimpang dari Batu, PD2=Isolat rimpang dari Purwodadi



Gambar 4. 1 Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* a. Isolat *Actinomyces viscosus* (BT1), b. Isolat *Pseudomonas stutzeri* (BT2), c. Isolat *Actinomyces viscosus* (PD1) dan d. Isolat *Bacillus brevis* (PD2)



Gambar 4. 2 Zona Hambat hasil Isolat terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*. a. Isolat *Actinomyces viscosus* (BT1), b. Isolat *Pseudomonas stutzeri* (BT2), c. Isolat *Actinomyces viscosus* (PD1) dan d. Isolat *Bacillus brevis* (PD2)

Pan, *et al* (2009), menjelaskan bahwa kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter zona hambat yaitu diameter 0-3 mm respon hambatan pertumbuhan lemah, diameter 3-6 mm respon hambatan pertumbuhan sedang dan diameter ≥ 6 mm respon hambatan pertumbuhan kuat. Berdasarkan Tabel 4.1, 4 isolat yang diuji aktifitas metabolit sekunder bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae*. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba endofit dari rimpang temulawak mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri dengan kriteria sedang.

Uji aktifitas metabolit sekunder bakteri endofit terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan zona hambat terbesar pada isolat BT2 yaitu spesies *Pseudomonas stutzeri* menghasilkan zona hambat sebesar 5,6 mm. Zona hambat terkecil 3,74 mm pada isolat PD2 spesies *Bacillus brevis*. Isolat PD1 menghasilkan zona hambat 3,83 mm, isolat BT1 sebesar 4,23 mm.

Uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada isolat BT2 spesies *Pseudomonas stutzeri* zona hambat sebesar 5,5 mm. Hasil zona hambat terkecil 3,64 mm pada isolat PD2 spesies *Bacillus brevis*. Isolat BT1 spesies *Actinomyces viscosus* sebesar 3,86 mm dan isolat PD1 spesies *Actinomyces viscosus* sebesar 3,9 mm.

Aktifitas metabolit skunder isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak secara *in vitro* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* menunjukkan adanya zona hambat dengan kriteria sedang. *Pseudomonas stutzeri*

pada isolat BT2 menghambat bakteri *Aeromonas hydrophilla* (Bakteri gram negatif) dengan kriteria sedang (5,6 mm) dan bakteri *Streptococcus agalactiae* (Bakteri gram positif) dengan kriteria sedang pula (5,5 mm). Metabolit sekunder *Pseudomonas stutzeri* dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif cukup baik dilihat dari hasil zona hambat terbesar berdasarkan data pada tabel 4.1.

Aktifitas antibiotik yang sensitif menghambat pertumbuhan bakteri baik golongan bakteri Gram Positif maupun Gram Negatif, dikatakan mempunyai spektrum yang luas. Sebaliknya suatu antibiotik yang hanya efektif terhadap golongan bakteri Gram tertentu dikatakan antibiotik spektrum sempit, seperti golongan penisilin yang aktif pada bakteri Gram Positif. Golongan streptomisin aktif menghambat pada golongan bakteri gram negatif sedangkan tetrasiklin mempunyai spektrum luas pada dua daerah bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (Tortora, 2001).

Hasil zona hambat yang terbentuk berdasarkan tabel 4.1, isolat *Pseudomonas stutzeri* mampu menghambat paling baik diantara isolat yang lain. Hal ini mungkin terjadi karena *Pseudomonas stutzeri* menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan kadar paling banyak diantara isolat yang lain. Pemanfaatan metabolit sekunder isolat *Pseudomonas stutzeri* bisa digunakan dalam mengendalikan penyakit ikan akibat bakteri patogen *Aeromonas hydrophilla* maupun *Streptococcus agalactiae* sehingga, dapat menggantikan peran antibiotik dari bahan kimia.

Tabel 4.1 menunjukkan uji metabolit yang dihasilkan bakteri endofit dari semua isolat rimpang temulawak yang berasal dari kota Batu dan Purwodadi

mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit kemungkinan menghasilkan senyawa aktif seperti yang dihasilkan tanaman temulawak. Tanaman temulawak menghasilkan senyawa aktif antibakteri. Tanaman temulawak menghasilkan senyawa kurkumin, alkaloid, tanin dan flavonoid yang mampu digunakan sebagai antibakteri (Aulmozi, 2007). Kemungkinan bakteri endofit juga memiliki senyawa aktif antibakteri yang dihasilkan oleh tanaman inangya tersebut.

Penelitian sebelumnya sudah ada yang menguji antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada spesies *Pseudomonas stutzeri* menghasilkan zona hambat sebesar 5,6 mm. Zona hambat terkecil 3,3 mm pada isolat *Actinomyces viscosus* dari tanaman temulawak di batu dan zona hambat sebesar 5 mm dari purwodadi. *Basillus brevis* menghasilkan zona hambat 4 mm. Hasil zona hambat merupakan kriteria sedang (Imawati, 2015).

Uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada isolat *Basillus brevis* zona hambat sebesar 4,7 mm. Hasil zona hambat terkecil 1,7 mm pada isolat *Actinomyces viscosus* yang diisolasi dari tanaman temulawak di batu sedangkan, dari purwodadi yaitu sebesar 3,7 mm. Isolat *Pseudomonas stutzeri* menghasilkan zona hambat sebesar 3,3 mm. (Imawati, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat dimanfaatkan untuk

antibakteri yang dapat menghambat bakteri pathogen lain bukan hanya bakteri pathogen yang diuji pada penelitian ini.

Masing – masing senyawa antibakteri tersebut memiliki cara tersendiri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan tanin dalam menghambat pertumbuhan bakteri menurut Robinson (1991) yaitu dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin juga mempunyai efek yang sama dengan senyawa *fenolik*. Efek antibiotic tanin antara lain melalui: reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik.

Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun, memiliki molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat mengganggu permeabilitas membrane sel bakteri, mengubah struktur dan fungsi membran, dan akhirnya menyebabkan membran sel akan rusak dan akhirnya lisis (Arabski *et al*, 2012).

Penelitian ini menunjukkan bahwa rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antimikroba terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae* karena diduga didalam rimpang temulawak yang digunakan sebagai sampel terdapat senyawa xanthorizol, dimana senyawa ini tidak ditemui pada *Curcuma* sp. lain. Hansel (1980) ekstrak segar temulawak memiliki senyawa antimikroba yang khas yaitu xanthorizol yang tidak dimiliki oleh rimpang *Curcuma* sp. lainnya walaupun hanya dalam jumlah yang sangat kecil. Senyawa xanthorizol pada temulawak $\geq 6\%$. Hwang (2000)

menyatakan aktifitas antimikroba dari xanthorricol mempunyai stabilitas yang baik terhadap panas, yakni pada temperatur tinggi antara 60-121°C.

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Nursanty dan Suhartono, 2012). Bakteri endofit selama berada dalam tanaman mendapatkan asupan makanan dari tanaman. Bakteri endofit memanipulasi tanaman dalam mengalihkan aliran nutrisi (misal hasil fotosintesis seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa) menuju tempat kolonisasi bakteri (Kim, 2011).

Bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya. Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengembangan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman tersebut (Priharta, 2008).

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa bakteri endofit tidak hanya hidup tanpa manfaat pada jaringan tanaman tetapi, ternyata juga bisa menghasilkan senyawa yang potensial dan kebanyakan hampir sama dengan tanaman inangnya. Sebagaimana penjelasan Surat As – Shad (38): 27 bahwa segala yang Allah ciptakan tak ada yang sia – sia. Pasti ada manfaat dari penciptaan-Nya :

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya : “ Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka”

Tafsir Ibnu katsir oleh Dr. Abdullah Muhammad bin Abdurrahman Bin Ishaq Alu Syaikh (2004) menjelaskan bahwa Allah memberitakan bahwa Dia tidak menciptakan makhluk-Nya dengan sia-sia. Akan tetapi Dia menciptakan makhluk untuk beribadah kepada-Nya dan mengesakan-Nya. kemudian Dia akan menghimpun mereka pada hari kiamat, dimana orang yang taat akan diberikan pahala dan orang yang kafir akan disiksa. Untuk itu Allah berfirman:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۗ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۗ

Artinya : “Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir.”

yaitu orang-orang yang tidak memandang adanya hari kebangkitan dan hari kembali, tetapi hanya meyakini adanya negeri ini [dunia] saja. “فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ” (“Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”) yaitu celakalah bagi mereka pada hari kembali dan berbangkit merkea sebab api neraka yang dipersiapkan untuk mereka. Kemudian Allah menjelaskan bahwa dengan keadilan-Nya dan kebijaksanaan-Nya tidak akan menyamakan antara orang yang beriman dengan orang-orang yang kafir.

Tafsir Hidayatul Insan oleh Marwan bin Musa (2013) menjelaskan bahwa Allah Subhaanahu wa Ta'aala memberitahukan tentang sempurnanya hikmah (kebijaksanaan)-Nya dalam menciptakan langit dan bumi, dan bahwa Dia tidaklah

menciptakan keduanya sia-sia (tanpa hikmah, faedah dan maslahat). Mereka beranggapan dengan anggapan yang tidak layak dengan kebesaran Allah SWT. Yakni biarlah neraka yang mengambil hak yang mereka abaikan itu. Allah SWT. menciptakan langit dan bumi dengan kebenaran dan untuk kebenaran, Dia menciptakan keduanya (langit dan bumi) untuk memberitahukan kepada hamba sempurnanya ilmu-Nya, kemampuan-Nya, luasnya kekuasaanNya, dan bahwa Dia yang berhak disembah tidak selain-Nya yang tidak mampu menciptakan apa-apa, dan bahwa kebangkitan adalah hak, dan bahwa Allah akan memutuskan masalah yang terjadi antara orang-orang yang baik dan orang-orang yang buruk.

Tafsir Al – jalalain oleh Al – imam Jalaluddin Muhammad bin Ahmad, Muhammad Al – mahali (2010) menjelaskan bahwa (Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan batil) dengan main-main. (Yang demikian itu) yakni penciptaan hal tersebut tanpa hikmah (adalah anggapan orang-orang kafir) dari penduduk Mekah (maka neraka Waillah) Wail adalah nama sebuah lembah di neraka (bagi orang-orang yang kafir karena mereka akan masuk neraka.).

Maha benar Allah dengan segala firman-Nya. Ketiga tafsir menjelaskan bahwa segala yang Allah tuangkan dalam Al – Qur'an adalah kebenaran sebagai ilmu bagi umat-Nya yang mau memahami. Allah SWT telah menunjukkan kebesaran-Nya dengan segala ciptaan-Nya yang sempurna dan masing – masing memiliki kegunaan. Sebagaimana tanaman yang terhampar di muka bumi ini sangat beragam dan memiliki manfaat yang dapat digunakan untuk manusia sebagai obat menyembuhkan

segala penyakit yang ada. Obat – obatan dari tanaman lebih baik digunakan dari pada berupa bahan kimia yang menimbulkan efek samping. Demikianlah kesempurnaan ciptaan Allah SWT. yang tak ada bandingannya.

Hadits dari kitab fathul bari' nomor 5688 menjelaskan tentang obat alami dari tanaman yang diterapkan pada zaman rasulullah SAW.:

عُقَيْلٌ عَنْ ابْنِ شَهَابٍ قَالَ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلْمَةَ وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ : (فِي الْحَبَّةِ السُّودَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ) قَالَ ابْنُ شَهَابٍ : وَالسَّامُ : الْمَوْتُ ، وَالْحَبَّةُ السُّودَاءُ الشُّونِيزُ .

Artinya: Ibnu syihab berkata : mengabarkan kepadaku abu salamah dan said bin musayyab bahwa abu hurairoh mengabarkan kepada keduanya, sesungguhnya dia mendengar Rasulullah berkata : dalam habbatus sauda' terdapat obat dari segala penyakit kecuali kematian. Ibnu syihab berkata : As-saam adalah kematian, habbatus sauda' adalah syuniz. (Asqolani, Ibnu Hajar, 2004)

Zaman rasulullah sudah diajarkan untuk memanfaatkan tanaman sebagai obat. Dalam hadits disebutkan “Habbatus sauda' As - syuniz”. Habbatus sauda' adalah syuniz. bila di telusuri Asy - syuniz adalah buthm. Buthm adalah butiran – butiran hitam yang dimanfaatkan sebagai obat. Pada zaman rasulullah tanamannya disebut Ad- Dhir. Ad – Dhir masa sekarang dikenal dengan tanaman pistacia yang langka dan biasa ditanam di daerah kering di Iran, Turkmenistan dan Azerbaijan barat.

Mursi dari Universitas Kairo melakukan penelitian yang dipublikasikan tahun 2000 untuk mengetahui pengaruh habbatus sauda' terhadap bakteri. Ia meneliti 16 jenis bakteri gram negatif dan 6 jenis bakteri gram positif. Sebagian dari bakteri-

bakteri itu terkena pengaruh dari ekstrak habbatus sauda'. Peneliti dari Universitas Aga Khan Pakistan sengaja menjangkiti tikus-tikus percobaan dengan jamur *Candida albicans* dan kemudian diobati dengan ekstrak habbatus sauda'. Para peneliti menemukan bahwa perkembangan jamur tersebut sangat terhambat. Sama halnya dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu menghambat mikroorganisme patogen dengan memanfaatkan apa yang ada pada tanaman. Sama- sama memanfaatkan tanaman, namun tidak menggunakan ekstraknya melainkan dengan mengisolasi bakteri endofit yang ada pada jaringan tanaman.

4.2 Hasil BLAST Enzim Penghasil Kurkumin dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Hasil yang diperoleh adalah hasil dari program BLAST protein dan BLAST nukleotida untuk lebih memastikan berdasarkan kesamaan protein dan nukleotida. Enzim yang diBLAST adalah enzim kurkumin sintase dan fenilpropanoil asetil koenzim A sintase. Berdasarkan *pathway* biosintesis kurkumin substrat utama feruloil koenzim A dikonversi enzim fenilpropanoil asetil koenzim A sintase menjadi feruloil diketida koenzim A yang kemudian dikonversi oleh enzim kurkumin sintase menjadi kurkumin (Katsuyama, 2013). Hasil BLAST dinilai dari persentase *query cover* dan *identity*. *Query cover* adalah bagian sekuens yang bisa diBLAST dan *identity* adalah bagian sekuens yang homolog dari hasil BLAST (Narita, 2012).

4.2.1 Hasil BLAST Protein Enzim Kurkumin Sintase dan Fenilpropanoil asetil-koenzim A Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Tabel 4.2 Hasil BLAST Protein Enzim Kurkumin Sintase dan Penilpropanoil Asetil Koenzim A dengan Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Enzim	Bakteri endofit	Query cover	identity
Kurkumin sintase	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0%	0%
	<i>Bacillus brevis</i>	0%	0%
	<i>Actinomyces viscosus</i>	0%	0%
Fenilpropanoil asetil Koenzim A	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0%	0%
	<i>Bacillus brevis</i>	0%	0%
	<i>Actinomyces viscosus</i>	0%	0%

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa protein Enzim kurkumin sintase diBLAST dengan protein bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) tidak bisa dikatakan homolog. Hasil BLAST protein menunjukkan tidak adanya kemiripan sekuen karena persentase *query cover* maupun *identity* 0% yang artinya tidak memenuhi standart homolog pada hasil BLAST. Hasil BLAST menunjukkan adanya beberapa enzim yang memiliki nilai persentase pada *query cover* dan *identity* namun, tidak ada untuk enzim kurkumin sintase (Lampiran 8).

Fenilpropanoil asetil koenzim A sintase yaitu enzim yang mengubah substrat utama Feruloil koenzim A yang menghasilkan substrat Feruloil diketida koenzim A dan nantinya diubah oleh enzim kurkumin sintase menjadi kurkumin. Enzim fenilpropanoil asetil koenzim A sintase juga diBLAST protein dengan bakteri endofit. Hasilnya sama dengan hasil BLAST kurkumin sintase yaitu tidak bisa dikatakan

homolog antara enzim Fenilpropanoil asetil koenzim A sintase dengan bakteri endofit karena persentase *query cover* dan *identity* 0 %. Hasil BLAST dikatakan memiliki kesamaan apabila persentase dari query cover ≥ 80 % dan identity ≥ 30 %. Identity ≥ 30 % dinyatakan kedua sekuen hasil BLAST memiliki kemiripan struktur protein (Narita, 2012).

4.2.2 Hasil BLAST Nukleotida Enzim Kurkumin Sintase dan Fenilpropanoil Asetil Koenzim A Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Tabel 4.3 Hasil BLAST Nukleotida Enzim Kurkumin Sintase dan Fenilpropanoil Asetil Koenzim A Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Enzim	Bakteri endofit	Query cover	Ident	Region Genome
Kurkumin sintase	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	59%	84%	41835 to 41876 4503683 to 4503709 [CP000304.1]
	<i>Bacillus brevis</i>	21%	95%	Region 4744117 to 4744138 Region 6039667 to 6039687 [AP008955.1]
	<i>Actinomyces viscosus</i>	0%	0%	-
Penilpropanoil asetil Koenzim A	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	55%	96%	<u>3837831 to 3837855.....</u> <u>4333905 to 4333920</u> <u>CP000304.1</u>
	<i>Bacillus brevis</i>	11%	95%	<u>1704823 to 1704843</u> <u>[AP008955.1]</u>
	<i>Actinomyces viscosus</i>	0%	0%	-

Berdasarkan hasil BLAST protein antara kedua enzim yang berhubungan dengan kurkumin belum didapatkan hasil yang cocok atau homolog dengan protein spesies bakteri yang diduga memiliki senyawa kurkumin. Untuk melihat hasil lain

dengan mencoba BLAST nukleotida antara enzim dengan spesies bakteri. Hasil dari BLAST nukleotida enzim kurkumin dengan bakteri endofit masih belum bisa dikatakan homolog.

Hasil BLAST dengan *query cover* hanya 21 % walaupun *ident* 95 % sehingga, memang tidak bisa dikatakan homolog. Hasil BLAST ini bisa memperlihatkan kesamaan dari kedua sekuens secara singkat dan lebih efisien. BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) merupakan suatu alat pencari yang dapat menyesuaikan dan mencari sekuens yang mirip dengan sekuens yang kita miliki melalui perbandingan sekuens melalui *Genbank* DNA database dalam waktu singkat (Prasetyo, 2011).

Hasil yang diperoleh dari BLAST nukleotida enzim kurkumin sintase dengan *Pseudomonas stutzeri*, *query cover* memang mencapai 59 % namun, belum bisa dikatakan homolog karena kurang dari 80 %. Kesamaannya masih sangat kecil walaupun dengan *ident* 84 %. Hasil BLAST enzim kurkumin sintase dengan *Bacillus brevis* *query cover* 21 % dan *identity* 95 % tidak bisa dinyatakan homolog karena *query cover* yang sangat kecil yaitu 21 %. Hasil BLAST enzim kurkumin sintase dengan *Actinomyces viscosus* sama sekali tidak terdapat kesamaan sehingga tidak terbaca pada hasil BLAST NCBI.

Hasil BLAST dari nukleotida enzim fenilpropanoil asetil koenzim A sintase dengan spesies bakteri *Bacillus brevis* menunjukkan *query cover* yang sangat rendah yaitu 11 % dan *ident* yg tinggi 95 % . Hasil ini menyatakan kedua sekuens tidak bisa dikatakan homolog. Bisa dikatakan bahwa spesies bakteri tersebut tidak memiliki

enzim penghasil kurkumin. Hasil BLAST yang terakhir adalah BLAST nukleotida dari enzim fenilpropanoil asetil-Koenzim A sintase dengan *Pseudomonas stutzeri*. Hasil dari *query cover* yang tertinggi 55 % dengan *identity* 96 %. Hasil ini menyatakan kedua sekuens tidak bisa dikatakan homolog karena *query cover* yang masih kurang dari 80 %. Hasil BLAST nukleotida enzim fenilpropanoil asetil koenzim A sintase dengan *Actinomyces viscosus* tidak menunjukkan adanya kesamaan, dinyatakan dengan persentase *query cover* dan *identity* 0%.

Berdasarkan hasil BLAST protein dan nukleotida enzim penghasil kurkumin dan spesies bakteri endofit tidak homolog. Hasil ini menyatakan bahwa bila dilihat dari enzim penghasil kurkumin masing- masing bakteri endofit tidak memiliki enzim tersebut. Bila dilihat dari enzim penghasil kurkuminnya, spesies bakteri tersebut tidak bisa dikatakan menghasilkan senyawa kurkumin yang sama dengan inangnya.

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri masing – masing metabolit sekunder dari bakteri tersebut memiliki zona hambat. Hal ini bisa dikarenakan ketiga spesies bakteri endofit tersebut juga memiliki senyawa aktif antibakteri lain selain kurkumin. Senyawa aktif antibakteri yang dimiliki tanaman inangnya seperti tannin, saponin, alkaloid, flavonoid (Aulmozi, 2007).

Hasil analisis rmutu rimpang temulawak diperoleh kadar kurkumin 2,29%. Kurkumin merupakan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk rimpang temulawak menunjukkan rimpang tanaman temulawak juga memiliki senyawa antibakteri lain selain kurkumin yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, glikosida (Hayani, 2006).

Pseudomonas merupakan genus bakteri Gram negatif, persebaran genus ini di alam cukup luas. Menurut Ryan *et al.*, (2008), beberapa bakteri endofit merupakan anggota bakteri penghuni tanah, seperti *Pseudomonas*, *Burkholderia* dan *Bacillus*. Genus-genus tersebut diketahui memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibiotik, antikanker, antifungi, antivirus, insektisida.

Bakteri endofit dengan genus *Pseudomonas* juga berperan sebagai agen biokontrol pada tanaman, agen fitoremediasi dan pemacu pertumbuhan tanaman. Miller *et al.*, (1998) berhasil mengisolasi senyawa ecomycin B dan C yang bersifat antifungi dari bakteri endofit *Pseudomonas*. Bakteri endofit tersebut berasal dari sejenis rumput asal Amerika dan Eropa. Bakteri endofit genus *Pseudomonas* juga berhasil diisolasi oleh Jose dan Christy (2013) dari tanaman mangrove. Isolat bakteri endofit genus *Pseudomonas* tersebut telah diteliti memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi patogen, diantaranya *Streptococcus pyogenes* dan *Candida albicans*. Sebagaimana isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman temulawak yaitu *Pseudomonas stutzeri* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan zona hambat 5,6 mm dan *Streptococcus agalactiae* dengan zona hambat 5,5 mm.

Bacillus brevis merupakan bakteri gram positif dan bakteri bersifat aerob yang memberikan hasil positif pada tes manitol, dan tes suhu pada 20 °C-75 °C. *Bacillus brevis* merupakan salah bakteri *Bacillus* yang dapat memproduksi metabolit sekunder *gramicidin* dan *tyrocidin*. Senyawa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik yang baik untuk obat infeksi dari bakteri pathogen (Jamil *et al.*, 2007).

Sebagaimana *Bacillus brevis* yang merupakan isolat bakteri endofit pada penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang menginfeksi ikan yaitu *Aeromonas hydrophilla* dan *Streptococcus agalactiae*.

Beberapa bakteri endofit mampu menghasilkan produk potensial antara lain: bakteri endofit *Bacillus polymixa* hasil isolasi dari tanaman Anuma (*Artemisia annua*) dapat memproduksi senyawa kimia antimalaria artemisinin di dalam media cair sintetik (Simanjuntak *et al.*, 2004). *Streptomyces griseus* dari tanaman *Kandelia candel* menghasilkan asam *paminoacetophenonic* sebagai antimikroba (Guan *et al.*, 2005). *Streptomyces* NRRL 30562 dari tanaman *Kennedia nigricans* menghasilkan *munumbicin* (antibiotik) dan *munumbicin D* (antimalaria), (Castillo *et al.*, 2002). *Serratia marcescens* dari tanaman *Rhyncholacis penicillata* menghasilkan *oocydin A* sebagai antifungi (Strobel *et al.*, 2004). *Paenibacillus polymyxadari* tanaman gandum menghasilkan *fusaricidin A-D* sebagai antifungi (Beck *et al.*, 2003). Hal ini merupakan bukti penelitian bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang bermanfaat sama dengan inangnya. Hal ini merupakan bukti penelitian bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang bermanfaat seperti antibakteri. Hasil dari BLAST memang tidak menunjukkan bahwa bakteri endofit rimpang temulawak memiliki enzim kurkumin sintase untuk menghasilkan kurkumin namun, tidak menutup kemungkinan bakteri endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa antibakteri lain yang juga dimiliki oleh tanaman inangnya.