

**ISOLASI DAN SKRINING FITOKIMIA BAKTERI ENDOFIT DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh:

RIKA AMALIA

NIM. 16620023



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**ISOLASI DAN SKRINING FITOKIMIA BAKTERI ENDOFIT DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh:

RIKA AMALIA

NIM. 16620023

Diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

**ISOLASI DAN SKRINING FITOKIMIA BAKTERI ENDOFIT DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh:

RIKA AMALIA

NIM. 16620023

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal: 2 Juni 2021

Pembimbing I



Bayu Agung Prahardika, M.Si
NIP. 199008072019031011

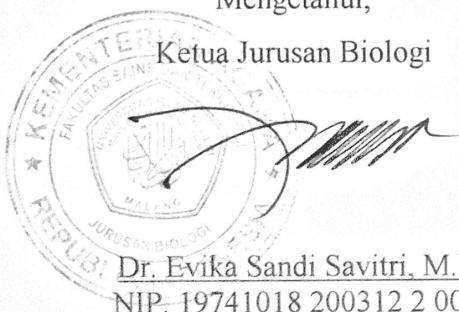
Pembimbing II



Mochamad Imamudin, M.A
NIP. 197406022009011010

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PENGESAHAN
ISOLASI DAN SKRINING FITOKIMIA BAKTERI ENDOFIT DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI

SKRIPSI

Oleh:

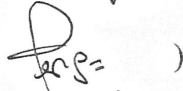
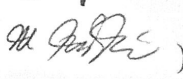
RIKA AMALIA

NIM. 16620023

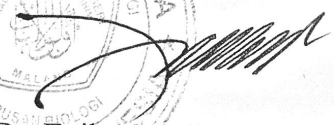
telah dipertahankan

di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

tanggal: 2 Juni 2021

Penguji Utama	: Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si NIP. 196505091999032002	()
Ketua Penguji	: Prilya Dewi Fitriarsi, M.Sc NIP. 19900428201608012062	()
Sekretaris Penguji	: Bayu Agung Prahardika, M.Si NIP. 199008072019031011	()
Anggota Penguji	: Mochamad Imamudin, M.A NIP. 197406022009011010	()

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah saya panjatkan atas terselesainya karya tulis ini. Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya tercinta, Bapak Kusaeri dan Ibu Siti Musamah yang tidak henti-hentinya mendoakan disetiap langkah saya. Kakak-kakak saya Sri Wahyuni, Agus Budiono, Eliya Rosah dan pasangan. Serta tak lupa kepada ponakan saya Adinda, Andra, Roy dan Rio Deandra yang selalu menghibur dan menjadi pelipur lara dikala saya jenuh. Kepada semua teman-teman yang selalu ada dan menjadi penyemangat selama proses pengerjaan skripsi ini. Semua peneliti di Laboratorium Mikrobiologi, teman-teman ABIO dan GP Biologi'16 yang telah mewarnai perjuangan masa kuliah selama ini. Dan semua pihak-pihak yang telah membantu yang tidak bisa disebutkan satu per satu. Terimakasih atas semuanya dan semoga Allah selalu melindungi dan meridhloi disetiap langkah kita. *Aamiin ya Robbal 'Alamiin.*

MOTTO

“Jangan Pernah Menyerah!!! Karena Disaat Kamu Menyerah, Kamu Akan Mulai Mencari Alasan. Tetapi Jika Kamu Berfikir Bisa Melakukannya, Kamu Akan Menemukan Jalannya”

“Tentukan Prioritas dan Lakukan hingga Tuntas”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rika Amalia

NIM : 16620023

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Februari 2021

Yang membuat pernyataan,



Rika Amalia

NIM. 16620023

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri

Rika Amalia, Bayu Agung Prahardika, Mochamad Imamudin

ABSTRAK

Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia, salah satunya untuk bahan antibakteri. Penggunaan daun kelor sebagai bahan antibakteri diduga berhubungan dengan kandungan metabolit sekundernya. Kandungan metabolit tersebut juga dimiliki oleh mikroorganisme yang hidup pada jaringannya yaitu bakteri endofit. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui keberadaan bakteri endofit pada daun kelor dan kandungan metabolit sekundernya serta potensinya sebagai antibakteri. Jenis penelitian yang digunakan bersifat deskriptif. Bakteri endofit diisolasi menggunakan metode *pour plate* dan hasil isolat dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis berupa pewarnaan Gram dan endospora. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan isolat yang berpotensi diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 9 isolat yang berhasil diisolasi. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan semua isolat termasuk Gram positif dan 8 diantaranya memiliki endospora. Uji skrining fitokimia menunjukkan 2 isolat bakteri endofit yaitu MO.4.B1 dan MO.5.A4 positif mengandung semua senyawa metabolit yang diuji dan isolat MO.3.A2 mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid dan tanin. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan isolat MO.3.A2, MO.5.A4 dan MO.4.B2 mampu menghambat dengan kategori sedang hingga kuat dengan diameter rata-rata secara berurutan yaitu 6,44 mm, 8,22 mm dan 12,63 mm. Sedangkan daya hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara berurutan 15,67 mm, 15,17 mm dan 15,35 mm yang ketiganya termasuk kategori kuat.

Kata Kunci: daun kelor, bakteri endofit, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, metabolit sekunder, antibakteri

Isolation and Phytochemical Screening Endophytic Bacteria of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.) which Potential for Antibacterial

Rika Amalia, Bayu Agung Prahardika, Mochamad Imamudin

ABSTRACT

The leaves of Moringa (*Moringa oleifera* L.) are one of the traditional medicinal plants that are widely used by the Indonesian, one of them as an antibacterial agent. The advantage of Moringa leaves as an antibacterial agent is thought to be related to the content of secondary metabolites. The content of these metabolites is also owned by microorganisms that live in their tissues, namely endophytic bacteria. The purpose of this study was to determine the presence of endophytic bacteria in Moringa leaves and their secondary metabolite content and their potential as antibacterial agent. This type of research is descriptive. Endophytic bacteria were isolated using the *pour plate* method and the results of the isolates were characterized macroscopically and microscopically in the form of Gram stain and endospores. Phytochemical screening was carried out to determine the content of secondary metabolites and isolates that could potentially be tested for their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae* bacteria. The results showed that 9 isolates were isolated. The results of Gram staining showed all isolates including Gram positive and 8 of them had endospores. Phytochemical screening test showed that 2 endophytic bacterial isolates are MO.4.B1 and MO.5.A4, were positive for all tested metabolites and MO.3.A2 isolates contained alkaloids, phenolics, flavonoids and tannins. Antibacterial test results against *Staphylococcus aureus* bacteria showed that MO.3.A2, MO.5.A4 and MO.4.B2 isolates were able to inhibit in the moderate to strong category with an average diameter of 6,44 mm, 8,22 mm and 12,63 mm. While the inhibitory power against *Shigella dysenteriae* bacteria was 15.67 mm, 15.17 mm and 15.35 mm respectively, all of which were in the strong category.

Keywords: *moringa leaves, endophytic bacteria, Staphylococcus aureus, Shigella dysenteriae, secondary metabolites, antibacterial*

العزل والفحص الكيميائي النباتي من البكتيريا الداخلية لأوراق المورينجا (*Moringa oleifera* L.) المحتمل كمضاد للبكتيريا

ريكا عملية، بايو أكونج فرا حرديكاء، محمد إمام الدين

مستخلص البحث

أوراق المورينجا (*Moringa oleifera* L.) هي واحدة من النباتات الطبية التقليدية التي استخدمها شعب إندونيسيا، أحدها مكون مضاد للبكتيريا. يُعتقد أن استخدام أوراق المورينجا كعامل مضاد للبكتيريا مرتبط بمحتوى المستقلبات الثانوية. محتوى هذه المستقلبات مملوك أيضا للكائنات الحية الدقيقة التي تعيش في أنسجتها، وهي البكتيريا الداخلية. الأهداف من هذا البحث هي لمعرفة وجود البكتيريا الداخلية في أوراق المورينجا ومحتوبها الأيضي الثانوي وإمكانيتها كمضاد للبكتيريا. هذا النوع من البحوث الوصفية. تم عزل البكتيريا الداخلية باستخدام طريقة *pour plate* وتم تمييز نتائج العزلات بالعين المجهرية والميكروسكوبية على شكل صبغة غرام والأبواغ. تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي لتحديد محتوى المستقلبات الثانوية والعزلات التي لديها القدرة على اختبار نشاطها المضاد للبكتيريا على بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Shigella dysenteriae*. أظهرت النتائج أن هناك 9 عزلات معزولة. أظهرت نتائج صبغة غرام أن جميع العزلات متضمنة موجبة غرام و 8 عزلات بها أبواغ داخلية. أظهر اختبار الفحص الكيميائي النباتي أن عزلتين بكتيريا الداخلية هما MO.4.B1 و MO.5.A4 كانت موجبة لجميع المستقلبات المختبرة وعزلة MO.3.A2 تتضمن على القلويد وفينول وفلافونويد وتانين. أظهرت نتائج اختبار مضاد للبكتيريا على بكتيريا *Staphylococcus aureus* أن عزلات MO.3.A2 و MO.5.A4 و MO.4.B2 قادرة على التثبيط في الفئة المتوسطة إلى القوية بمتوسط قطر على التوالي 6،44 مم و 8،22 مم و 12،63 مم. في حين أن تثبيط على بكتيريا *Shigella dysenteriae* على التوالي، 15.67 مم و 15.17 مم و 15.35 مم، والتي كانت في الفئة القوية.

الكلمات المفتاحية: أوراق المورينجا، البكتيريا الداخلية، *Staphylococcus aureus*، *Shigella dysenteriae*، المستقلبة الثانوية، المضاد للبكتيريا

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Syukur *Alhamdulillah* penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis yang berjudul “Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada bimbingan kita Nabi Muhammad SAW yang telah menunjukkan kami ke jalan yang diridloi Allah. Selanjutnya penulis ucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak yang telah membantu atas terselesaikannya penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Bayu Agung Prahardika, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi dan Mochamad Imamudin, M.A selaku dosen pembimbing agama yang telah dengan sabar memberi bimbingan dan arahan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi ini
5. Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si dan Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberi nasihat dan saran yang membangun
6. Azizatur Rahmah, M.Sc dan Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P selaku dosen wali yang telah memberi banyak motivasi selama proses perkuliahan
7. Segenap Bapak/ Ibu Dosen, Civitas Akademika dan Laboran Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

8. Bapak ibu tercinta dan semua keluarga yang telah memberikan doa dan semangat sehingga penulis diberikan kelancaran selama proses menuntut ilmu
9. Teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi, khususnya Siti Mifakhul Khoirul Lilla atas semua dukungan, kerjasama dan semangat selama proses penelitian
10. Seluruh teman-teman Biologi Angkatan 2016 dan semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca sehingga dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Aamiin Yaa Rabbal 'Alamiin.*

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Malang, 14 Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
مستخلص البحث.....	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian.....	9
1.4 Hipotesis Penelitian.....	10
1.5 Manfaat Penelitian.....	10
1.6 Batasan Masalah.....	11
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 12
2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	12
2.2 Bakteri Endofit	15
2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	18
2.4 Isolasi Bakteri.....	20
2.5 Identifikasi Bakteri	21
2.5.1 Pewarnaan Gram.....	21
2.5.2 Pewarnaan Endospora	23
2.6 Metabolit Bakteri.....	24
2.6.1 Metabolit Primer	24

2.6.2 Metabolit Sekunder	25
2.7 Bakteri Uji	33
2.7.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	33
2.7.2 <i>Shigella dysenteriae</i>	35
2.8 Antibakteri	38
2.8.1 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri	39
2.8.2 Metode Uji Antibakteri	41
BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1 Jenis Penelitian	44
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	44
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	44
3.3.1 Alat Penelitian	44
3.3.2 Bahan Penelitian	45
3.4 Prosedur Penelitian	45
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	45
3.4.2 Pembuatan Media	46
3.4.2.1 Media NA (<i>Nutrient Agar</i>)	46
3.4.2.2 Media NB (<i>Nutrient Broth</i>)	46
3.4.2.3 Media MHA (<i>Muller Hinton Agar</i>)	47
3.4.3 Isolasi Bakteri Endofit Daun Kelor	47
3.4.3.1 Sterilisasi Daun Kelor	47
3.4.3.2 Isolasi Bakteri Endofit	48
3.4.3.3 Pemurnian Isolat Bakteri Endofit Daun Kelor	48
3.4.4 Identifikasi Bakteri Endofit Daun Kelor	48
3.4.4.1 Identifikasi Morfologi	48
3.4.4.2 Pewarnaan Gram	49
3.4.4.3 Pewarnaan Endospora	49
3.4.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor	50
3.4.6 Skrining Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit Daun Kelor	51
3.4.6.1 Uji Fenolik	51
3.4.6.2 Uji Alkaloid	51
3.4.6.3 Uji Flavonoid	51
3.4.6.4 Uji Tanin	51
3.4.6.5 Uji Saponin	52
3.4.7 Uji Antibakteri	52
3.4.7.1 Pembuatan Kultur Bakteri Uji	52
3.4.7.2 Pemanenan Senyawa Metabolit Isolat Bakteri Endofit	52
3.4.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri	53
3.5 Analisis Data	54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	55
4.1 Isolasi Bakteri Endofit Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	55
4.2 Skrining Fitokimia Isolat Bakteri Endofit Daun Kelor	60
4.2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri	60
4.2.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit	62
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri	67

BAB V PENUTUP	76
5.1 Kesimpulan.....	76
5.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN.....	91

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Skrining Ekstrak Etanol Daun Kelor.....	14
Tabel 2.2 Perbedaan Bakteri Gram Positif dengan Negatif	22
Tabel 2.3 Pewarnaan Gram.....	22
Tabel 4.1 Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit secara Makroskopis	56
Tabel 4.2 Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit secara Mikroskopis	58
Tabel 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit.....	63
Tabel 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Moringa oleifera</i> L.	13
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Flavonoid	28
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Alkaloid	29
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Saponin	30
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Tanin	31
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Fenolik	32
Gambar 2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Gambar 2.8 <i>Shigella dysenteriae</i>	36
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor	60
Gambar 4.2 Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri pada Bakteri <i>S. aureus</i>	69
Gambar 4.3 Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri pada Bakteri <i>S. dysenteriae</i> ..	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Nilai OD Bakteri Uji	91
Lampiran 2. Pengamatan Zona Hambat Antibakteri	91
Lampiran 3. Data Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	92
Lampiran 4. Gambar Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Daun Kelor	94
Lampiran 5. Gambar Pewarnaan Gram Bakteri Uji.....	94
Lampiran 6. Gambar Pewarnaan Endospora Bakteri Endofit Daun Kelor	95
Lampiran 7. Gambar Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor	95
Lampiran 8. Gambar Uji Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit Daun Kelor.....	97
Lampiran 9. Bukti Konsultasi Biologi	99
Lampiran 10. Bukti Konsultasi Agama.....	100

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat melimpah, yaitu terdapat sekitar 30.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi. Terdapat 7000 spesies yang telah berhasil diidentifikasi manfaatnya namun hanya $\pm$ 300 spesies yang dimanfaatkan untuk bahan baku dibidang farmasi. Pada tahun 2008, WHO menyatakan bahwa 80% masyarakat dunia menggantungkan kesehatan mereka pada obat herbal (Mukhriani, 2014). Keanekaragaman tumbuhan juga telah disebutkan dalam Q.S. As-Syu'ara (26):7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”* (Q.S.As-Syu'ara (26): 7).

Kata (إِلَى) di awal ayat ini memiliki arti batas akhir. Kata ini digunakan untuk memperdalam cara pandang sampai pada batas akhir. Artinya, ayat ini mengajak manusia untuk memandang segala sesuatu secara luas sesuai dengan pengetahuannya dalam memahami semua yang ada di muka bumi ini. Pengetahuan tersebut mencakup semua tentang keanekaragaman jenis tumbuhan, tanah dan segala keajaiban yang terdapat pada penciptaan tumbuh-tumbuhan. Kata (زَوْجٍ) memiliki arti pasangan. Pasangan yang dimaksudkan dalam kata tersebut adalah pasangan bagi tumbuhan. Setiap tumbuhan memiliki pasangan masing-masing yang tersebar diseluruh lapisan permukaan bumi yang bertujuan

untuk mempertahankan kelangsungan hidup dan perkembangbiakan tumbuhan tersebut. Kata (كَرِيم) disini berfungsi untuk mengisyaratkan segala hal baik yang terdapat pada kata apapun yang disifatinya. Hal baik dalam ayat ini dirujukkan pada tumbuhan yang baik dan subur, dimana tumbuhan mampu memberi banyak manfaat dan kegunaan (Shihab, 2002). Ayat tersebut menjelaskan tentang penciptaan Allah terkait tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dengan berbagai keajaiban dan manfaatnya. Salah satu manfaat tumbuhan adalah sebagai penghasil senyawa yang memiliki khasiat obat, sehingga sejak zaman dahulu tumbuh-tumbuhan telah digunakan untuk obat tradisional.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk obat tradisional adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Kelor mengandung vitamin A, vitamin B, vitamin C, kalium, protein, kalsium dalam jumlah yang banyak dan mudah dicerna. Selain itu, kelor juga dilaporkan memiliki 539 senyawa yang digunakan untuk obat tradisional di India dan di Afrika juga telah dimanfaatkan untuk mengobati 300 jenis penyakit (Krisnadi, 2015). Daun kelor memiliki aktivitas antibakteri, antikanker, penghambat aktivitas jamur, hipotensif (Dima, Farimawali & Lolo, 2016), menurunkan tekanan darah dan kolesterol (Anwar, *et al.*, 2007), serta mengatasi obesitas, diabetes dan gangguan pencernaan (Oduro, Ellis & Owusu, 2008).

Berdasarkan penelitian Wulandari, Farida & Taurhesia (2020) menunjukkan ekstrak daun kelor mampu menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter yang sama yaitu 14,00 mm pada konsentrasi 10%. Penelitian Agustie & Samsumaharto (2013) menunjukkan

ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan dibuat tiga konsentrasi yaitu 25%, 50% dan 75% yang memiliki daya hambat secara berurutan 15,5 mm, 18,5 mm dan 23,00 mm. Penelitian (Dima, *et al.*, 2016) menunjukkan ekstrak etanol daun kelor mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter masing-masing sebesar 22,66 mm dan 20,50 mm pada konsentrasi 80%. Hasil dari penelitian sebelumnya tersebut digunakan sebagai pembandingan dari penggunaan bakteri endofit daun kelor pada penelitian ini.

Kemampuan ekstrak daun kelor dalam menghambat bakteri patogen dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolitnya. Seperti pada penelitian Agustie & Samsumaharto (2013) yang menunjukkan ekstrak daun kelor yang mengandung senyawa flavonoid dan tanin mampu menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran. Kandungan senyawa metabolit juga dapat diperoleh dari mikroorganisme yang terdapat pada jaringan tumbuhan, salah satunya adalah bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang tinggal pada jaringan tumbuhan tanpa melakukan kerusakan substantif. Bakteri masuk ke dalam jaringan tanaman melalui radikula, akar sekunder, stomata atau akibat dari kerusakan daun (Zinniel, *et al.*, 2002). Bakteri endofit pada tumbuhan dapat bersifat fakultatif atau obligat ketika mengkolonisasi inang. Umumnya pada satu tanaman terdapat beberapa jenis genus dan spesies bakteri endofit (Desriani, dkk., 2014).

Hasil penelitian menunjukkan sekitar 300.000 jenis tanaman telah berhasil diidentifikasi menghasilkan satu atau lebih mikroba endofit baik dari golongan jamur maupun bakteri (Strobel & Daisy, 2003). Adanya mikroba endofit yang mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama atau lebih tinggi dari tanaman inangnya memudahkan dalam mendapatkan senyawa berpotensi karena tidak memerlukan waktu yang sangat lama untuk mendapatkan simplisia dari tanaman aslinya (Radji, 2005).

Keberadaan bakteri endofit dianggap lebih banyak pada jaringan aerial, sehingga pada penelitian ini isolasi dilakukan pada jaringan daun. Hal itu berdasarkan pada penelitian Jalgaonwala, Mohite & Mahajan (2010) yang mengisolasi bakteri endofit dari berbagai jaringan menunjukkan bahwa pada tanaman obat kepadatan bakteri endofit ditemukan lebih banyak pada jaringan di atas (daun, batang) daripada jaringan di bawah tanah (akar). Beberapa tanaman yang digunakan adalah *Azadirachta indica* A Juss., *Eucalyptus globulus* Dehnh., *Musa paradisiaca* L. dan *Pongamia glabra* Vent. Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari *E. globulus* sebanyak 7 isolat pada daun, 5 isolat pada batang dan 4 isolat pada akar. Tanaman *M. paradisiaca* menghasilkan 10 isolat dari daun, 6 isolat dari batang dan 4 isolat dari akar. Sedangkan pada *P. glabra* didapatkan 8 isolat dari daun, 6 isolat dari batang dan 6 isolat dari akar. Begitupun hasil penelitian dari El-Deeb, Fayez & Gherbawy (2013) yang mengisolasi bakteri endofit dari tanaman *Plectranthus tenuiflorus* didapatkan nilai CFU tertinggi pada daun sebanyak $2,9 \times 10^4$, $2,4 \times 10^3$ pada batang dan terendah pada akar yaitu $1,5 \times 10^2$ CFU/g.

Isolasi mikroba endofit pada daun kelor sebelumnya telah dilakukan untuk jenis fungi endofit, sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri endofit. Isolasi fungi endofit dilakukan oleh Kursia, Aksa & Nolo (2018) yang menunjukkan terdapat 3 isolat fungi yang berhasil diisolasi, dari ketiga isolat tersebut diambil satu isolat yang paling aktif menghambat pada uji antagonis untuk diuji aktivitas antibakterinya. Hasilnya menunjukkan isolat tersebut mampu menghambat bakteri *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa* dan *Salmonella typhi* dengan diameter secara berurutan 17,94 mm, 16,88 mm, 14,05 mm dan 14,38 mm pada konsentrasi 3%.

Keberadaan bakteri-bakteri tersebut telah disebutkan dalam Q.S.Yasin (36): 36 di bawah ini:

سُبْحَنَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُثْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ

Artinya: “Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui.” (Yasin (36): 36).

Frasa “dari apa yang tidak mereka ketahui” pada ayat tersebut mengisyaratkan akan keberadaan bentuk kehidupan lain dimana manusia belum mengetahui secara pasti ketika Al-Qur’an diturunkan. Jenis hewan yang telah ada di kehidupan manusia ketika Al-Qur’an diturunkan disandingkan dengan sesuatu hal yang belum atau tidak diketahui manusia, dan Allah menjanjikan akan ada dan diketahui manusia di masa yang akan datang, salah satunya adalah keberadaan mikroorganisme (Kemenag RI & LIPI, 2015).

Keberadaan jasad renik (bakteri endofit) juga disebutkan dalam Q.S.Saba'

(34):22 berikut ini:

قُلْ أَدْعُوا الَّذِينَ رَعَيْتُمْ مِنْ دُونِ اللَّهِ ۖ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا لَهُمْ فِيهِمَا مِنْ شِرْكٍَ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مَنِ ظَهِيرٍ

Artinya: “Katakanlah: Serulah mereka yang kamu anggap (sebagai tuhan) selain Allah, mereka tidak memiliki (kekuasaan) seberat zarrah-pun di langit dan di bumi, dan mereka tidak mempunyai suatu sahampun dalam (penciptaan) langit dan bumi dan sekali-kali tidak ada di antara mereka yang menjadi pembantu bagi-Nya” (Q.S.Saba’(34):22).

Kata “zarrah” di dalam ayat tersebut diartikan sebagai sesuatu yang sangat kecil. Apabila dilihat dari segi penglihatan manusia maka sesuatu tersebut masuk ke dalam mikroorganisme atau atom. Berdasarkan ayat tersebut Allah mengajarkan kepada manusia tentang kekuasaan-Nya yang mampu mengatur segala kehidupan pada dunia mikroorganisme dengan sangat rinci. Kehidupan mikroorganisme ‘tersembunyi’ dari manusia, dan manusia juga tidak mempunyai kuasa atas kehidupan mikroorganisme yang sangat kecil, seperti bakteri yang memiliki ukuran sekitar 0,2-0,5 mikron (Kemenag RI & LIPI, 2015).

Bakteri endofit dapat memproduksi senyawa metabolit berupa zat aktif yang kemampuannya sama atau mirip dengan tumbuhan inangnya. Penggunaan bakteri endofit dinilai lebih efektif dan mudah karena siklus hidup relatif pendek, mudah dikembang biakkan dan mampu menghasilkan zat bioaktif dengan jumlah yang banyak (Yandila, Putri & Fifendy, 2018; Zulkifli, dkk., 2016). Selain itu, pemanfaatan bakteri endofit sebagai bahan baku obat juga dapat mengurangi kerusakan alam akibat pengambilan tanaman obat secara besar-besaran (Sinaga,

Noverita & Fitria, 2009). Oleh karena itu penggunaan bakteri endofit sebagai bahan baku obat memiliki peluang yang sangat besar dalam bidang kesehatan.

Secara ekonomis, penggunaan bakteri endofit juga dianggap lebih efisien daripada penggunaan tanaman obat secara langsung. Karena untuk memproduksi senyawa metabolitnya tidak membutuhkan lahan yang besar dan waktu berbulan-bulan. Produksinya juga dapat dilakukan dengan skala besar dan biaya yang digunakan relatif lebih sedikit dibandingkan dengan merawat tanaman obat pada kebun yang luas (Sinaga *et al.*, 2009). Diriwayatkan pada suatu hadis, Rasulullah bersabda,

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَ جَلَّ

Artinya: *“Setiap penyakit mempunyai penyembuh, dan ketika penyembuh yang tepat digunakan pada penyakit tersebut, maka dengan izin Allah, penyakit itu akan sembuh.”* (Riwayat Muslim dan Jabir).

Hadis di atas menyatakan bahwa Allah yang menciptakan penyakit, dan Allah pula yang menciptakan atau menyediakan obatnya. Penyakit dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Beberapa penyakit infeksi umumnya disebabkan oleh jasad renik patogen (*pathogenic microbes*), yaitu jasad renik penyebab penyakit. Jasad renik patogen dapat berupa virus, bakteri, maupun jamur. Obat untuk infeksi ini dikenal dengan nama obat antibiotik. Antibiotik atau antibakteri dapat menghancurkan atau mematikan jasad renik patogen atau bakteri patogen dalam tubuh manusia. Hampir semua jenis antibiotik yang dikenal dalam dunia pengobatan dihasilkan oleh jasad renik non patogen (Kemenag RI & LIPI, 2015).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang menjadi salah satu penyebab infeksi tertinggi di dunia. Tingkat infeksiya bermacam-macam, mulai dari kecil pada kulit, infeksi pada *traktus respiratorius* dan urinarius, hingga infeksi mata dan *Central Nervous System* (CNS) (Afifurrahman, *et al.*, 2014). *S. aureus* merupakan penyebab infeksi kulit dan jaringan lunak. Selain itu, juga dapat mengakibatkan infeksi invasif seperti bakteremia, sepsis, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, dll (Nair, *et al.*, 2013).

Selain *S. aureus*, kasus infeksi juga banyak disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit disentri basiler. Menurut Hasanah & Dori (2019) disentri yaitu penyakit kronis dengan gejala diare, demam, muntah, nyeri perut dan mual. Menurut WHO (2016) setiap tahun terjadi kasus diare di negara-negara berkembang yang disebabkan bakteri *S. dysenteriae* hingga mencapai angka 165 juta kasus. Tahun 2013 angka kematian mencapai 28.000 sampai 48.000 yang didominasi oleh anak-anak balita. Data di Indonesia menurut Nafianti & Sinuhaji, (2005) menyatakan 29% terjadi kematian akibat diare pada anak usia 1 hingga 4 tahun yang dikarenakan disentri basiler.

Metode yang digunakan dalam menentukan aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. Metode *Kirby-Bauer* termasuk metode yang paling mudah dan sering digunakan dalam pengujian aktiitas mikroba. Metode ini tidak membutuhkan alat khusus dan biayanya relatif lebih murah (Pelczar & Chan, 2013). Hasil dari metode ini adalah terbentuknya zona bening yang menjadi

indikator kepekaan mikroba terhadap zat antimikroba yang digunakan (Rastina, Sudarwanto & Wientarsih, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa masalah infeksi semakin meningkat sehingga diperlukan alternatif penggunaan bahan-bahan alami. Salah satunya adalah penggunaan senyawa metabolit pada bakteri endofit daun kelor yang berpotensi sebagai antibakteri. Selain itu, golongan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri juga belum diketahui sehingga dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada isolat bakteri endofit. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang potensi bakteri endofit daun kelor sebagai antibakteri dan kandungan senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik makroskopik dan mikroskopik isolat bakteri endofit yang ditemukan pada daun kelor (*Moringa oleifera* L.)?
2. Apa saja metabolit sekunder yang terkandung pada isolat bakteri endofit daun kelor?
3. Apakah bakteri endofit daun kelor dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri endofit yang ditemukan pada daun kelor (*Moringa oleifera* L.).

2. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder isolat bakteri endofit pada daun kelor (*Moringa oleifera* L.).
3. Untuk mengetahui potensi bakteri endofit daun kelor dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Karakteristik isolat bakteri endofit secara makroskopis memiliki warna putih, bentuk bulat, tepi rata dan permukaan datar, sedangkan secara mikroskopis bakteri endofit merupakan Gram positif yang berspora.
2. Bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung beberapa senyawa metabolit seperti alkaloid, tanin, flavonoid dan fenolik.
3. Bakteri endofit daun kelor memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai karakteristik bakteri endofit pada daun kelor yang memiliki aktivitas antibakteri.
2. Memberikan informasi mengenai kandungan senyawa metabolit yang terdapat pada isolat bakteri endofit.

3. Memberikan informasi studi untuk dikembangkan sebagai alternatif bahan obat untuk penyakit yang disebabkan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus aureus*.

1.6 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri endofit pada penelitian ini diisolasi dari daun kelor sehat yang berasal dari Kecamatan Lowokwaru, Malang.
2. Isolat bakteri patogen yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Media pertumbuhan yang digunakan adalah media *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB) dan media untuk uji antibakteri adalah *Muller Hinton Agar* (MHA).
4. Kertas saring yang digunakan untuk difusi senyawa pada uji antibakteri adalah kertas saring Whatman nomer 1.
5. Skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit ekstrak bakteri endofit terdiri dari uji fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.
6. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah morfologi bakteri endofit secara makroskopis dan mikroskopis, perubahan warna ekstrak untuk skrining fitokimia dan diameter zona hambat pada cawan petri untuk aktivitas antibakteri. Data yang didapatkan tidak dianalisis secara biostatistik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Moringa oleifera Lam. diperkirakan berasal dari Oudh dan Agra yang berada di bagian barat dari laut India, bagian selatan daerah pegunungan Himalaya. Kata “*Shigon*” untuk tanaman kelor telah tertulis di dalam kitab “*Shushruta Sanhita*” sejak awal abad Masehi. Terdapat bukti yang menunjukkan budidaya kelor dari ribuan tahun lalu di India. Masyarakat India kuno memanfaatkan biji-bijian kelor sebagai obat karena diketahui memiliki kandungan minyak nabati (Krisnadi, 2015). Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama di seluruh dunia, diantaranya pohon stik drum, benzolive, marango, pohon horseradish, kelor, mlonge, mulangay, sajna, saijihan dan nébéday (Fahey, 2005; Moyo, *et al.*, 2011).

Tanaman kelor merupakan salah satu spesies dari famili Moringaceae. Tanaman kelor memiliki tinggi sekitar 5-10 m. Tanaman ini termasuk tanaman liar atau dapat dibudidayakan di daerah dataran, terutama di halaman rumah. Umumnya dapat tumbuh baik di daerah iklim tropis dan disepanjang hamparan sungai. Tanaman ini juga mampu mentolerir kondisi yang panas dan kekurangan air atau kering dengan syarat curah hujan tahunan minimum 250 mm dan maksimum lebih dari 3000 mm dengan pH 5,0-9,0 (Anwar, *et al.*, 2007).



Gambar 2.1. Morfologi *Moringa oleifera* L. (Isnain & Nurhaedah, 2017)

Daun kelor merupakan tipe daun majemuk menyirip ganda 2-3 dengan posisi yang menyebar. Tidak memiliki daun penumpu atau daun penumpunya telah bermetamorfosis menjadi kelenjar di pangkal tangkai daun. Jenis bunga termasuk *hermaphroditus*, terbentuk dalam malai pada ketiak daun, zigomorf, dasar bangun berbentuk mangkuk, kelopak tersusun atas lima helai, mahkota sebanyak lima daun mahkota, memiliki lima benang sari, bakal buah dan banyak bakal biji. Buahnya termasuk buah kendaga terbuka dengan tiga katup memanjang sekitar 30 cm, biji tanpa endosperm, bersayap, lembaga lurus, dan berukuran besar (Rollof, *et al.*, 2009). Penampakan pohon kelor ditunjukkan pada Gambar 2.1.

Menurut ITIS (2011) klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Brassicales
Familia	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lam.

Daun kelor memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi, diantaranya protein (27%), kalsium, fosfor, vitamin A dan C serta zat besi. Daun, bunga dan akar dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit rematik, antihipertensi, antitumor, antidiabetik, antiinflamasi, antijamur, antibakteri, antioksidan, jantung, menurunkan kolesterol dan hepatoprotektif. Biji kelor juga dilaporkan berguna untuk aktivitas immunosupresan. Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada kelor adalah moringin, alkaloid, vitamin C dan flavonoid seperti kaempferol, quercetin, tokoferol (Gaikwad, Krishna & Reddy, 2011). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Putra, Dharmayudha & Sudimartini, (2016) hasil skrining ekstrak etanol daun kelor tersaji pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Hasil skrining ekstrak etanol daun kelor

No	Jenis Uji Fitokimia	Hasil Uji
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	+
3.	Saponin	-
4.	Fenolat	+
5.	Triterpenoid/Steroid	+
6.	Tannin	+

Sumber: (Putra, *et al.*, 2016)

Moringa oleifera L. dikenal sebagai ‘sahabat ibu’ di Filipina karena dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produksi susu ibu dan terkadang juga diresepkan untuk anemia (Anwar, *et al.*, 2007; Estrella, *et al.*, 2000). Menurut (Sudarwati & Woro, 2016) daun kelor bermanfaat sebagai salep untuk luka, kompres untuk demam, obat pencakar, sakit tenggorokan, bronhitis, kudis,

penyakit selesma, mata merah dan infeksi telinga. Jus kelor juga diyakini mampu mengatasi pembengkakan kelenjar dan mengontrol kadar gula.

2.2 Bakteri Endofit

Kata endofit merupakan bahasa Yunani, yaitu “*endo*” artinya di dalam dan “*fit*” (*phyte*) artinya tumbuhan. Bakteri endofit tumbuh di dalam jaringan vaskuler tanaman namun tidak memberikan dampak negatif. Hubungan bakteri endofit dengan inangnya termasuk hubungan mutualisme yang memungkinkan bakteri dapat memproduksi senyawa metabolit yang sama dengan tumbuhan inangnya (Barbara & Christine, 2006). Hal itu diduga terjadi akibat adanya transfer genetik atau akibat koevolusi (Tan & Zou, 2001).

Bakteri endofit adalah salah satu mikroba yang semua atau sebagian fase kehidupannya terdapat pada jaringan hidup inangnya (Wathan & Imaningsih, 2019). Bakteri endofit adalah bakteri yang diperoleh melalui proses isolasi dari tanaman dimana telah dilakukan sterilisasi pada permukaan tanaman atau dapat pula diekstrak untuk memperoleh sel bakteri yang tumbuh pada jaringan tanaman. Bakteri endofit mampu bertahan pada fase tertentu tanpa menimbulkan efek negatif bagi tanaman inangnya (Listya, Sagita & Nur, 2017).

Bakteri endofit dapat ditemukan pada biji, umbi, batang, akar, buah dan daun baik di bagian intrasel maupun intersel serta pada pembuluh konduksi. Mikroorganisme ini mampu menembus jaringan tanaman melalui lubang alami (seperti stomata, hidatoda atau lentisel), atau luka yang disebabkan oleh munculnya akar sekunder atau gesekan akar yang tumbuh di tanah serta disebabkan pula oleh serangga atau jamur (Souza, *et al.*, 2016). Bakteri endofit

umumnya berada pada akar yang selanjutnya menyebar melalui pembuluh xilem menuju organ-organ tumbuhan yang lain (Yandila, *et al.*, 2018).

Keberadaan bakteri atau jasad renik telah dijelaskan dalam Q.S.Al-Baqarah (2): 26 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka tahu bahwa itu kebenaran dari Tuhan. Tapi mereka yang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang dibiarkan-Nya sesat, dan dengan itu banyak (pula) orang yang diberi-Nya petunjuk. Tetapi tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu selain orang-orang fasik.*” (Q.S.Al-Baqarah (2): 26).

Allah menurunkan ayat ini sebagai sanggahan kepada kaum kafir, yaitu ketika mereka mengingkari perumpamaan-perumpamaan yang dikemukakan Allah. Jadi pembuatan perumpamaan ini dari Allah. Kata مَا pada firman-Nya مَا بَعُوضَةً (berupa nyamuk) adalah sesuatu yang tidak jelas, yakni karena ketidakjelasan yang dimasukkan padanya sehingga menjadi lebih umum daripada yang ada padanya, dan kata ini kebanyakan digunakan secara tersendiri. Abu Al Fath mengatakan kemungkinan kata مَا berperan sebagai kata tanya, sehingga seolah-olah Allah mengatakan مَا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا (ada apa dengan nyamuk atau yang lebih rendah dari itu) sehingga tidak bisa dibuatkan perumpamaan dengannya?

Bahkan sebenarnya yang lebih kecil dari itu pun dapat dibuat perumpamaan (Asy-Syaukani, 2008).

Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang sesuai dengan inangnya dapat dimanfaatkan dan menjadi peluang sebagai penghasil metabolit sekunder pengganti tanaman. Hasil penelitian menunjukkan sekitar 300.000 macam tanaman di bumi ini telah berhasil diidentifikasi menghasilkan satu atau lebih mikroba endofit baik dari golongan jamur maupun bakteri (Strobel & Daisy, 2003). Sehingga dengan adanya mikroba endofit yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama atau lebih tinggi dari tanaman inangnya memudahkan dalam mendapatkan senyawa berpotensi. Karena tidak membutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkan simplisia dari tanaman aslinya (Radji, 2005).

Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dari mikroba endofit diantaranya *Cryptocandin* yang dihasilkan mikroba endofit *Cryptosporiopsis quercina* dari tanaman *Tripterigeum wilfordii* sebagai antifungi (Strobel, *et al.*, 1999), *cytonic acid* A dan B yang dihasilkan jamur endofit *Cytonaema* sp. sebagai antivirus (Guo, *et al.*, 2000), *Paclitaxel* yang dihasilkan oleh endofit *Pestalotopsis microspora* dari tanaman *Taxus* sp. sebagai antikanker (Strobel, 2002), *artemisinin* yang dihasilkan endofit *Colletotrichum* sp. dari tanaman *Artemisia annua* sebagai antimalaria (Lu, *et al.*, 2000), *pestacin* dan *isopestacin* dari endofit *P. microspora* dari tanaman *Terminalia morobensis* sebagai antioksidan (Strobel, 2002), dan *subglutininol* A dan B yang diproduksi

endofit *Fusarium subglutinol* dari tanaman *T. wilfordii* sebagai immunosupresif (Lee, *et al.*, 1995).

Mikroba endofit memberikan keuntungan bagi inangnya dengan meningkatkan resistensi inang terhadap fitopatogen atau herbivora yang memakannya dan meningkatkan toleransi tumbuhan inang terhadap stress lingkungan (kondisi yang tidak menguntungkan). Selain itu, mikroba endofit juga mampu menghalangi inangnya dari serangan mikroba patogen lainnya (Tan & Zou, 2001).

2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan mikroorganisme merupakan kurva yang menunjukkan perubahan kepadatan sel mikroorganisme pada rentang waktu tertentu (Spellman & Stoudt, 2013). Pertumbuhan bakteri bukan mengenai pertambahan ukuran sel melainkan kenaikan jumlah sel bakteri. Bakteri dikatakan bertumbuh apabila jumlah selnya bertambah dan terakumulasi menjadi suatu koloni yang terdiri dari miliaran sel bakteri. Bentuk koloni bakteri tersebut dapat dilihat secara langsung tanpa menggunakan mikroskop. Jumlah populasi bakteri dapat bertambah banyak dalam waktu singkat (Radji, 2009).

Bakteri yang telah diinokulasikan pada medium cair dapat dihitung jumlah populasinya pada interval waktu yang telah ditentukan. Sehingga dapat dibuat kurva pertumbuhan yang terdiri dari fase lag, log, stasioner dan kematian (Pratiwi, 2008):

a. Fase lag

Fase ini merupakan fase adaptasi dimana bakteri melakukan penyesuaian pada kondisi lingkungan yang baru. Fase ini belum terjadi pertambahan jumlah sel, melainkan hanya pertambahan ukuran sel. Lama fase lag ditentukan oleh jumlah awal sel bakteri dan kondisi lingkungan (media) baru.

b. Fase logaritmik (fase eksponensial)

Fase ini merupakan fase pertumbuhan dimana bakteri membelah dengan kecepatan maksimum. Kecepatan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor genetik, kondisi pertumbuhan dan sifat media. Sel memiliki laju pertumbuhan yang konstan dan massa sel bertambah secara eksponensial. Salah satu hal yang dapat menjadi penghambat pertumbuhan adalah ketersediaan nutrisi yang kurang pada media pertumbuhan, sehingga sisa metabolisme yang toksik dapat tertimbun dan mempengaruhi atau menghambat pertumbuhan.

c. Fase stasioner

Fase ini merupakan fase stabil karena nutrisi untuk pertumbuhan telah habis digunakan untuk fase log. Fase stasioner terjadi akumulasi hasil buangan yang bersifat racun. Tingkat pertumbuhan pada fase ini mulai melambat karena jumlah kematian seimbang dengan jumlah pembentukan sel baru.

d. Fase kematian

Fase ini merupakan fase akhir pertumbuhan dimana jumlah kematian sel semakin meningkat. Faktor yang mempengaruhi kematian adalah ketidaktersediaan sumber nutrisi pada kultur dan terakumulasinya hasil buangan yang bersifat racun.

Perhitungan mikroorganisme dapat dilakukan melalui 2 metode, yaitu secara langsung (*direct count*) dan tidak langsung atau OD (*optical density*). *Direct count* adalah cara perhitungan mikroorganisme secara langsung dengan melihat dan menghitung jumlah mikroorganisme menggunakan mikroskop. Sedangkan metode tidak langsung atau OD dilakukan dengan mengukur tingkat kekeruhan kultur mikroba menggunakan spektrofotometer (turbidometer) (Madigan, *et al.*, 2012).

Pengukuran turbidometer berdasarkan pada jumlah cahaya yang ditransmisikan atau dilewati kultur mikroba dalam larutan yang diuji. Persentase cahaya yang dilewatkan tersebut menunjukkan perbandingan dari jumlah sel mikroba yang dinyatakan dengan nilai OD (*Optical Density*). Panjang gelombang yang biasa digunakan untuk mengukur tingkat kekeruhan kultur adalah 480 nm (biru), 540 nm (hijau), 600 nm (oranye) dan 660 nm (merah). Umumnya pada pengukuran turbidometer tidak terjadi kerusakan pada sampel yang diuji. Sehingga metode ini efektif digunakan untuk mengetahui waktu generasi, tingkat pertumbuhan dan membuat kurva pertumbuhan (Madigan *et al.*, 2012).

2.4 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri endofit tidak terlepas dari proses sterilisasi permukaan organ tumbuhan inangnya. Proses tersebut berfungsi untuk membunuh dan menghilangkan mikroba epifit pada permukaan tumbuhan tersebut sehingga mikroba yang terisolasi hanyalah yang terdapat dalam jaringan tumbuhan tersebut (Larran, Mónaco & Alippi, 2001).

Proses sterilisasi permukaan umumnya menggunakan proses perendaman dalam alkohol dan larutan *natrium hipoklorit* (NaOCl) (Radu & Kqueen, 2002). Alkohol dapat mendenaturasi protein dan melarutkan lipid sehingga mampu merusak membran pada dinding sel bakteri yang menyebabkan lisis. Pada umumnya alkohol yang digunakan adalah pada konsentrasi 70% dikarenakan efektif untuk memecah protein pada mikroorganisme (Adji, Zuliyanti & Herny, 2007). Sedangkan NaOCl termasuk senyawa klorin yang dapat menghambat atau merusak pertumbuhan sel mikroba dengan mengganggu oksidasi dari berbagai enzim yang terkait. Sehingga proses metabolisme selnya terganggu dan mengakibatkan kematian (Valera, *et al.*, 2009).

2.5 Identifikasi Bakteri

2.5.1 Pewarnaan Gram

Teknik pewarnaan Gram dikenalkan sekitar tahun 1884 oleh seorang ahli bakteriologi dari Denmark yang bernama H. Christian Gram. Teknik pewarnaan Gram ini dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri gram negatif atau gram positif berdasarkan struktur penyusun dinding selnya. Pewarnaan Gram sangat berguna dalam mengidentifikasi jenis bakteri. Salah satunya yaitu untuk mengidentifikasi suatu penyakit yang disebabkan bakteri patogen (Novel, Wulandari & Safitri, 2010).

Tabel 2.2 Perbedaan bakteri gram positif dengan negatif (Novel, dkk., 2010)

No	Gram Positif	Gram Negatif
1.	Memiliki Mg ribonukleat	Tidak memiliki Mg ribonukleat
2.	Sangat sensitif pada pewarna trifenilmetan	Kurang sensitif pada pewarna trifenilmetan
3.	Sensitif terhadap zat penisilin	Sensitif terhadap zat streptomisin
4.	Tidak larut KOH 1%, tahan basa	Larut pada KOH 1%, sensitif basa
5.	Umumnya coccus atau silinder berspora kecuali Cyanobacterium & Lactobacillus	Umumnya silinder non spora kecuali Neisseria
6.	Tahan terhadap asam	Tidak tahan terhadap asam
7.	Kisaran isoelektrik pada pH 2,5-4	Kisaran isoelektrik pada Ph 4,5-5,5

Pengecatan Gram diawali dengan proses fiksasi yang selanjutnya ditambahkan beberapa larutan yaitu *crystal violet*, larutan iodin, alkohol dan safranin atau pewarna lain yang cocok sebagai tandingan. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat warna dari kristal ungu sehingga akan tampak berwarna ungu tua. Sedangkan bakteri Gram negatif tidak mampu mempertahankan warna kristal ungu saat ditambahkan alkohol dan akan terwarnai oleh zat pewarna tandingan safranin sehingga akan tampak berwarna merah (Pelczar & Chan, 2013).

Tabel 2.3. Pewarnaan Gram (Pelczar & Chan, 2013)

No.	Larutan & Urutan Penggunaanya	Reaksi dan Tampang Bakteri	
		Gram Positif	Gram Negatif
1.	Ungu Kristal (UK)	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2.	Larutan Yodium (Y)	Kompleks UK-Y terbentuk dalam sel (sel berwarna ungu)	Kompleks UK-Y terbentuk dalam sel (sel berwarna ungu)
3.	Alkohol	Dinding sel dehidrasi, pori-pori menciut, UK-Y tidak dapat keluar dari sel (sel tetap ungu)	Lipid terekstrasi dari dinding sel, pori-pori mengembang, UK-Y keluar dari sel (sel tidak berwarna)
4.	Safranin	Sel tidak terpengaruh (sel tetap ungu)	Sel menyerap warna safranin (sel berwarna merah)

2.5.2 Pewarnaan Endospora

Teknik pewarnaan endospora dilakukan untuk mengamati keberadaan spora pada suatu bakteri. Bakteri yang memiliki spora biasanya berbentuk batang atau bulat. Spora pada bakteri merupakan suatu alat pertahanan yang dikeluarkan ketika kondisi lingkungan kurang baik. Spora ini umumnya dinamakan endospora karena letaknya di dalam tubuh bakteri tersebut. Pengamatan mengenai endospora pada bakteri ini menjadi penting karena berdasarkan literatur, beberapa bakteri yang berspora cukup berbahaya terhadap sekitarnya, baik pada tumbuhan, hewan maupun manusia. Selain itu, adanya endospora pada bakteri dapat melindungi dirinya dari senyawa antibakteri (Novel, dkk., 2010).

Struktur penyusun endospora terdiri atas (Radji, 2009):

- a. Core, merupakan sitoplasma yang di dalamnya terdapat segala unsur yang mendukung kehidupan bakteri, seperti enzim, ribosom, DNA, RNA dalam jumlah sedikit dan beberapa senyawa lainnya.
- b. Dinding spora, merupakan lapisan terdalam endospora yang tersusun atas peptidoglikan.
- c. Korteks, merupakan lapisan tebal pada endospora.
- d. Coat, merupakan lapisan berkeratin yang mampu melindungi spora dari kondisi lingkungan yang buruk.
- e. Eksosporium, merupakan membran lipoprotein pada lapisan terluar endospora.

Spora berdasarkan letaknya dapat dibedakan menjadi 3 yaitu: (1) sentral, apabila letaknya berada di tengah sel, (2) terminal, apabila letaknya di ujung sel, dan (3) sub terminal, apabila letaknya di tengah dan ujung sel. Bentuk spora

lonjong atau bulat. Bakteri yang memiliki spora umumnya berasal dari Famili Bacillaceae, yaitu dari Genus *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina*. Dalam kondisi berspora, bakteri tidak makan maupun melakukan pembiakan. Dinding spora akan pecah apabila kondisi lingkungan telah membaik dan bakteri akan aktif kembali (Novel, dkk., 2010).

2.6 Metabolit Bakteri

2.6.1 Metabolit Primer

Metabolit primer merupakan senyawa metabolit yang vital dan dasar dalam proses kehidupan. Biosintesis metabolit primer dapat menghasilkan suatu senyawa esensial yang menjadi dasar dalam reaksi kimiawi kehidupan. Seperti pembentukan gula (karbohidrat) sebagai penghasil energi, asam amino sebagai biokatalis dan pembangun jaringan, serta asam lemak sebagai cadangan energi dan pembangun dinding sel. Tanpa adanya metabolit primer maka tidak akan ada dasar kehidupan dan produksi metabolit sekunder (Saifudin, 2014). Sehingga metabolit primer sangatlah penting dalam kehidupan dan pertumbuhan makhluk hidup tetapi hanya diproduksi dalam jumlah sedikit (Nofiani, 2008).

Umumnya metabolit primer diproduksi secara terbatas atau tidak berlebihan. Karena pada beberapa mikroorganisme apabila metabolit primer berlebihan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat menyebabkan kematian pada mikroorganisme tersebut. Metabolit primer dihasilkan bersamaan dengan proses pembentukan sel-sel baru dan kurva pertumbuhannya berbanding lurus dengan kurva pertumbuhan secara paralel (Pratiwi, 2008).

Ciri-ciri metabolit primer mikroorganisme adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2008):

- a. Dibentuk melalui proses metabolisme primer
- b. Mempunyai manfaat yang jelas dan esensial untuk proses hidup suatu organisme
- c. Berhubungan erat dengan proses pertumbuhan organisme yang menghasilkannya
- d. Tidak spesifik (hampir terdapat pada semua organisme)
- e. Diproduksi dan disimpan secara intraseluler
- f. Hasil akhir dari proses metabolisme energi berupa etanol

Metabolit primer termasuk senyawa dengan berat molekul tinggi dan memiliki struktur relatif sama pada semua makhluk hidup yang terdiri dari karbohidrat, protein, asam nukleat, lemak dan vitamin. Metabolit primer merupakan bahan yang dihasilkan oleh alam, namun tidak dikenal sebagai bahan alami melainkan lebih dikenal sebagai bahan pangan atau nutrisi. Metabolit ini dipelajari dalam ilmu biokimia sebagai bahan biosintesis beberapa golongan senyawa metabolit sekunder (Nugroho, 2017).

2.6.2 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis melalui proses biosintesis dan digunakan dalam menunjang kehidupan tetapi tidak vital (Saifudin, 2014). Metabolit sekunder berasal dari metabolit primer yang umumnya diproduksi dalam kondisi stres dan tidak digunakan dalam proses pertumbuhan (Nofiani, 2008). Metabolit sekunder dapat diproduksi oleh

mikroorganisme endofit seperti bakteri dan jamur. Mikroorganisme pada habitat aslinya umumnya membentuk koloni pada jaringan tanaman (Zulkifli, dkk 2016).

Fungsi metabolit sekunder diantaranya adalah sebagai atraktan dalam proses penyerbukan, menghalangi sinar UV, agen alelopati dan menjadi molekul sinyal di dalam nodul akar untuk membentuk nitrogen pada jenis kacang-kacangan. Selain itu, metabolit ini juga dapat digunakan sebagai obat-obatan, serat, lilin, parfum, pewarna, agen penyedap, perekat dan minyak (Croteau, Kutchan & Lewis, 2000). Metabolit sekunder juga dapat digunakan untuk mempertahankan kehidupan mikroba saat berkompetisi dengan makhluk hidup lainnya karena dapat menjadi alat pertahanan alternatif (Tabarez, 2005).

Metabolit sekunder dalam proses pembentukannya bergantung pada kecepatan pertumbuhan, nutrisi, induksi enzim, inaktivasi enzim dan *feedback control*. Penurunan pertumbuhan dan keterbatasan nutrisi dapat menghasilkan sinyal untuk meregulasi sehingga mengakibatkan perbedaan morfologi (morfogenesis) dan perbedaan kimia (metabolit sekunder). Sinyal tersebut merupakan konduser bermolekul rendah yang berfungsi sebagai kontrol negatif sehingga dalam kondisi yang tidak normal (penurunan pertumbuhan dan keterbatasan nutrisi) dapat menstimulasi morfogogenesis dan membentuk metabolit sekunder (Nofiani, 2008).

Ciri-ciri metabolit sekunder adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2008):

- a. Diproduksi melalui metabolisme sekunder
- b. Dihasilkan pada fase stasioner

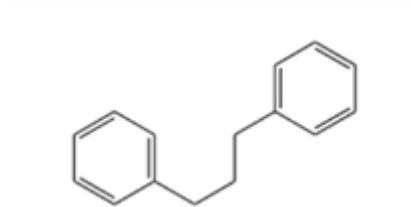
- c. Fungsinya belum diketahui, diduga tidak terkait dengan pertumbuhan maupun sintesis komponen suatu sel
- d. Diproduksi dan disimpan di luar sel
- e. Diproduksi secara terbatas oleh spesies tertentu dan termasuk suatu kekhasan bagi spesies penghasil
- f. Biasanya diproduksi oleh bakteri berspora atau fungi berfilamen
- g. Umumnya terkait dengan penghambatan atau pendorongan pertumbuhan, aktiitas antimikroba, sifat farmakologis, dan enzim spesifik

Metabolit sekunder tidak dihasilkan selama fase pertumbuhan cepat (*fase logaritmik*), melainkan diproduksi pada akhir fase pertumbuhan atau fase stasioner ketika populasi sel tetap, yaitu jumlah pertumbuhan dan kematian sel sama. Kondisi ini sel mikroba akan tahan terhadap kondisi ekstrem, seperti radiasi, suhu sangat dingin atau panas, senyawa kimia dan metabolit yang diproduksi sendiri (antibiotik). Metabolit sekunder mulai diproduksi ketika ketersediaan nutrisi pada media pertumbuhan telah habis. Keterbatasan nutrisi tersebut akan mengakumulasi inducer enzim suatu metabolit sekunder dan melepaskan gen-gen sintesis dari represi katabolit (Pratiwi, 2008).

2.6.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan pigmen larut air yang terdapat pada sel-sel vakuola tumbuhan dan dapat dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu antosianin, flavonol dan flavon (Kabera, *et al.*, 2014). Senyawa ini memiliki struktur kimiawi antara lain 15 atom karbon dimana 2 cincin benzen (C_6) terikat dengan rantai propana (C_3)

sehingga membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$ (Lenny, 2006). Struktur senyawa golongan flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.2.



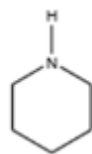
Gambar 2.2 Struktur senyawa flavonoid (Robinson, 1995)

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang banyak ditemui pada semua bagian tumbuhan, seperti buah, sayuran, kacang-kacangan, batang, biji-bijian, bunga dan madu. Flavonoid terlibat dalam proses fotosintesis, hormon pertumbuhan, transfer energi, kontrol respirasi, morfogenesis dan penentuan jenis kelamin. Pada bunga senyawa flavonoid berperan dalam memberikan warna yang menarik bagi penyerbuk tumbuhan. Pada daun senyawa flavonoid berperan dalam kelangsungan hidup tumbuhan karena mampu melindunginya dari serangan jamur patogen maupun radiasi UV-B (Cushnie & Lamb, 2005).

Flavonoid diproduksi sebagai respon akibat adanya infeksi mikroba, sehingga golongan senyawa ini efektif sebagai antibakteri atau antijamur yang mampu membunuh mikroorganisme. Kemampuan golongan flavonoid sebagai antibakteri terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks dengan suatu protein ekstrasel sehingga mengakibatkan protein terdenaturasi dan dinding sel rusak atau dengan mengikat secara adhesin sehingga tidak terjadi penempelan pada sel inang baru (M. M. Cowan, 1999).

2.6.2.2 Alkaloid

Alkaloid disintesis dari asam amino seperti tirosin dan merupakan jenis senyawa metabolit yang memiliki atom nitrogen dasar. Alkaloid diproduksi oleh bermacam-macam organisme, seperti jamur, bakteri, binatang dan tanaman. Sebagian besar dari golongan alkaloid bersifat racun bagi organisme lain tetapi juga memiliki efek farmakologis dan pengobatan. Salah satu turunan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri adalah golongan atropine. Alkaloid dicirikan memiliki keragaman struktural dan tidak ada klasifikasi yang seragam. Klasifikasi awal didasarkan pada sumber umum karena belum tersedia informasi mengenai struktur kimia, sedangkan untuk klasifikasi terbaru didasarkan pada kesamaan kerangka karbon (Kabera, *et al.*, 2014). Struktur senyawa golongan alkaloid ditunjukkan pada gambar 2.3.



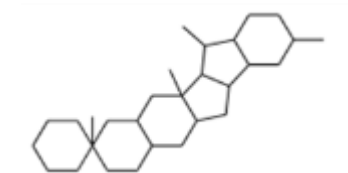
Gambar 2.3. Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Senyawa alkaloid mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu komponen dinding peptidoglikan sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel bakteri tidak sempurna dan sel tersebut akan mengalami kematian (Juliantina, *et al.*, 2010). Selain itu, alkaloid memiliki gugus nitrogen yang akan bereaksi dengan asam amino penyusun DNA pada bakteri. Sehingga akan terjadi

perubahan pada susunan dan struktur asam amino yang mengakibatkan perubahan susunan genetik pada DNA dan akhirnya bakteri akan mati (Gunawan, 2009).

2.6.2.3 Saponin

Saponin merupakan zat aktif kuat yang dapat menghasilkan busa apabila dikocok dengan air karena bersifat deterjen. Saponin dapat menyebabkan iritasi dan bersin pada lender serta mempunyai rasa yang pahit. Senyawa ini dapat bersifat toksik yang dapat menyebabkan hemolisis pada darah dan menghancurkan butir darah. Saponin juga dapat bersifat sangat toksik pada ikan apabila dalam bentuk sangat encer sehingga tumbuhan yang memiliki kandungan saponin telah banyak dimanfaatkan untuk racun ikan (Robinson, 1995). Struktur senyawa golongan saponin ditunjukkan pada Gambar 2.4.



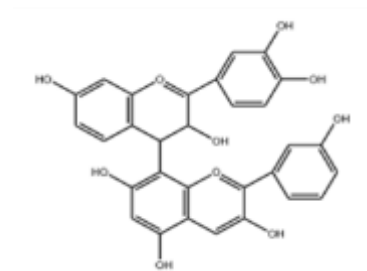
Gambar 2.4. Struktur senyawa saponin (Robinson, 1995)

Saponin merupakan senyawa glikosida yang diduga berada pada banyak tanaman. Saponin memiliki efek membranolitik, artinya dapat membentuk suatu kompleks dengan kolesterol pada membran sel protozoa. Kemampuan saponin sebagai antibakteri terkait dengan terganggunya aktivitas bakteri karena adanya gugus monosakarida dan turunannya (Cheeke, 2001). Saponin dapat merusak membran sel bakteri yang mengakibatkan komponen penting sel keluar dan

mencegah komponen penting lainnya untuk masuk ke dalam sel. Kerusakan pada membran sel bakteri itulah yang dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Monalisa, Handayani & Sukmawati, 2011).

2.6.2.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik yang mengendapkan protein dan tersusun atas beragam kelompok oligomer dan polimer. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein, selulosa, pati dan mineral. Senyawa ini disintesis melalui jalur asam sikimat yang juga dikenal sebagai jalur fenilpropanoid. Jalur tersebut juga mengarah ke pembentukan senyawa fenolik lain, seperti kumarin, isoflavon, lignin dan asam amino aromatik. Tanin digunakan sebagai obat-obatan nabati, seperti astringen untuk melawan diare, adiuretik terhadap perut dan antiinflamasi (Kabera, *et al.*, 2014). Struktur senyawa golongan tanin ditunjukkan pada Gambar 2.5.



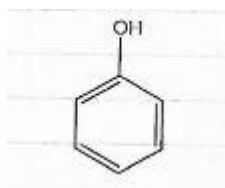
Gambar 2.5. Struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)

Tanin tidak dapat larut pada pelarut non polar, seperti kloroform, benzena dan eter. Umumnya dapat larut pada aseton, air, alkohol dan dioksan serta sedikit larut pada etil asetat (Anggraeni & Saputra, 2016). Senyawa ini memiliki aktivitas

antioksidan dan antibakteri. Kemampuan tanin sebagai antibakteri karena senyawa ini mampu menyebabkan kerut pada dinding atau membran sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibatnya aktivitas kehidupan sel akan terganggu dan dapat menyebabkan kematian (Ajizah, 2004).

2.6.2.5 Fenolik

Senyawa fenolik dapat digolongkan menjadi komponen yang larut seperti phenylpropanoids, kuinon, asam fenolik, flavonoid dan komponen yang tidak larut contohnya lignin. Nama senyawa ini diambil dari nama senyawa induknya yaitu fenol. Struktur senyawa fenolik terdapat cincin aromatik yang memiliki satu atau lebih OH (gugus hidroksi) dan beberapa gugus lainnya. Kebanyakan dari senyawa fenol memiliki lebih dari satu gugus hidroksi sehingga sering disebut sebagai polifenol (Indrawati & Razimin, 2013). Struktur senyawa golongan fenolik ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Struktur senyawa fenolik (Robinson, 1995)

Fenolik pada tumbuhan umumnya berupa aglikon yang memiliki 15 atom C dengan dua cincin benzene yang berhubungan pada rantai linier, dimana rantai tersebut memiliki 3 atom C_6 dan 3 atom karbon yang menjadikan strukturnya menjadi $C_6-C_3-C_6$. Masing-masing atom C_6 adalah cincin benzen yang

dihubungkan pada tiga karbon (C_3) rantai alifatik yang akan menjadi bentuk cincin ketiga. Susunan tersebut akan membentuk tiga macam struktur, yaitu 1,1-diarilpropan (neoflavonoid), 1,2-diarilpropan (isoflavonoid) dan 1,3-diarilpropan (flavonoid) (Illing, Safitri & Erfiana, 2017).

2.7 Bakteri Uji

2.7.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus tersusun atas 2 kata, yaitu *staphyle* yang artinya kelompok buah anggur dan *coccus* yang artinya benih bulat. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam golongan gram positif yang berdiameter antara 0,8-1,0 mikron, *non-motil*, berbentuk bulat dan tidak berspora. Morfologi bakteri *S. aureus* ditunjukkan pada Gambar 2.7. Diantara jenis bakteri yang tidak berspora, *S.aureus* termasuk memiliki pertahanan yang paling kuat. Memiliki kisaran suhu 15-40 °C dan optimum pada suhu 35 °C, termasuk bakteri anaerob fakultatif yang dapat tumbuh dengan melakukan fermentasi (respirasi aerob) untuk memproduksi asam laktat (Radji, 2009).



Gambar 2.7. *Staphylococcus aureus* (Syahrurachman, dkk., 1993)

Menurut ITIS (2012) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria
 Phylum : Firmicutes
 Class : Bacilli
 Order : Bacillales
 Family : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Species : *Staphylococcus aureus* Rosenbach.

Staphylococcus aureus termasuk salah satu flora normal pada manusia, umumnya ditemukan pada kulit, saluran pencernaan maupun saluran pernafasan. Flora normal merupakan sekelompok mikroorganisme yang secara alami hidup di permukaan kulit atau mukosa manusia baik yang sehat ataupun sakit. Kehadiran flora normal terkadang mengakibatkan munculnya penyakit akibat terjadinya perpindahan atau perubahan substrat dari yang semestinya (Djumaati, Yamlean & Lolo, 2018; Jawetz & Adelberg, 2005).

Identifikasi bakteri *S. aureus* berdasarkan uji katalase akan memberikan hasil positif. Pada media yang kaya nutrisi bakteri akan membentuk koloni berwarna kuning, sedangkan pada medium agar biasa dengan suhu 37 °C dan suasana aerob tidak menghasilkan warna. Bakteri *S. aureus* mampu bertahan pada media miring hingga berbulan-bulan baik pada suhu kamar maupun dingin. Dalam kondisi kering pada kertas, benang, kain dan nanah bakteri masih mampu bertahan selama ± 6-14 minggu (Radji, 2009).

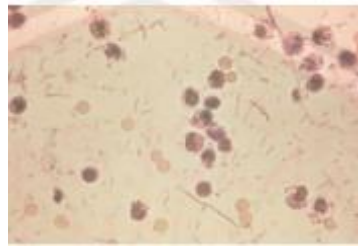
S. aureus termasuk bakteri patogen invasif yang menyebabkan hemolisis, mencairkan gelatin, membentuk koagulasi dan membentuk pigmen emas atau kuning. Bakteri ini mampu menghemolis eritrosit dan memfermentasi manitol. *S. aureus* mengandung protein dan polisakarida yang antigenik. Antigen merupakan suatu kompleks peptidoglikan asam teikhoat yang mampu menghambat mekanisme fagositosis dan merupakan bagian yang diserang oleh bakteriofage. Bakteri ini termasuk lisogenik karena memiliki faga yang mampu melisiskan anggota dari jenis sama namun tidak memberi pengaruh pada diri sendiri (Warsa, 1994).

Penyakit akibat infeksi *S. aureus* diantaranya adalah infeksi nosokomial, infeksi kronis seperti endokarditis dan osteomielitis, infeksi pada kulit seperti furunkulosis dan bisul, infeksi pada saluran urin dan juga mengakibatkan keracunan makanan (Radji, 2009). Selain itu juga dapat menyebabkan penyakit meningitis dan pneumonia. Beberapa antibiotik yang umum digunakan untuk mengatasi infeksi *S. aureus* adalah penisilin, kloksasilin, vankomisin, ampisilin, tetrasiklin, sefalosporin dan metisilin (Jawetz & Adelberg, 2005).

2.7.2 *Shigella dysenteriae*

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan Famili dari Enterobacteriaceae yang berbentuk batang dan bersifat anaerob. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif yang menjadi penyebab diare akut. Penyebaran bakteri *S. dysenteriae* dapat melalui makanan, tinja, jari dan lalat (Rahayu, 2016). Memiliki ukuran 0,5-0,7 μm , tidak memiliki spora dan tidak berflagel sehingga tidak bisa bergerak

(Heyman, 2009). Struktur morfologi bakteri *S. dysenteriae* ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8. *Shigella dysenteriae* (Barsyaif, 2018)

Klasifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* menurut Engelkrik (2011) sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae (*Bacteria*)
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Shigella*
Species : *Shigella dysenteriae*

Sifat morfologi bakteri *S. dysenteriae* mirip dengan bakteri *Salmonella*, yang membedakan keduanya adalah uji serologi dan proses fermentasi. Bakteri *S. dysenteriae* lebih rentan dengan bahan kimia dan tidak dapat membentuk gas ketika proses fermentasi. *S. dysenteriae* umumnya memiliki koloni yang mengkilap, halus dan tidak berspora. Bakteri ini termasuk jenis aerob atau anaerob fakultatif. Memiliki pH optimum untuk pertumbuhannya pada 6,4-7,8,

suhu optimum pada 37 °C dan dapat mati pada suhu 55 °C. Tetapi bakteri ini mampu hidup pada kelembapan dan suhu rendah, yaitu dapat bertahan $\pm$ 2 bulan di dalam es. Di kondisi alam bebas, jenis bakteri ini dapat bertahan hidup $\pm$ 2-5 bulan pada air laut (Radji, 2009).

Shigella termasuk bakteri patogen pada usus yang menyebabkan penyakit disentri. Spesies *Shigella* masuk pada *tribe Escherichiae* karena berhubungan dengan sifat genetiknya, tetapi berada pada genus tersendiri karena memiliki gejala klinik yang khas yaitu genus *Shigella*. Genus ini terdapat 4 spesies, yaitu *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, dan *Shigella boydii* (Karsinah, Lucky & Suharto, 1994). *S. sonnei* dan *S. boydii* umumnya hanya mengakibatkan infeksi yang lebih ringan dibandingkan *S. flexneri* dan *S. dysenteriae* yang dapat mengakibatkan diare berdarah dan berlendir (WHO, 2005).

S. dysenteriae menginfeksi dengan masuk dan menembus sel-sel epitel lapisan permukaan usus di dalam kolon dan ileum terminal. Setelah berhasil menembus lapisan mukosa, *S. dysenteriae* memperbanyak diri dan mengakibatkan sel yang mati mengelupas dan menjadi tukak di mukosa usus. Reaksi ini menimbulkan penderita demam dan umumnya infeksi ini hanya terbatas pada usus dan jarang terdapat kasus pada organ lain. Gejala yang muncul dari infeksi ini adalah demam, nyeri, diare dan perut kejang. Penyakit diare akibat *S. dysenteriae* dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu diare berair, diare klasik dan diare kombinasi dari keduanya (Radji, 2009).

3.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan obat atau zat kimia yang berguna untuk membunuh atau menghilangkan bakteri, terlebih pada bakteri yang patogen terhadap manusia. Beberapa istilah yang sering digunakan untuk upaya membunuh bakteri adalah bakterisid, antiseptik, germisid, bakteriostatik dan desinfektan (Pelczar & Chan, 1988). Faktor-faktor yang dapat berpengaruh terhadap keefektifan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya 1) konsentrasi senyawa antibakteri, 2) waktu, 3) kondisi bakteri diantaranya jumlah, jenis, keadaan dan umur bakteri, 4) suhu, 5) sifat kimia dan fisik media pertumbuhan diantaranya pH, kadar air, jenis dan jumlah komponennya (Todar, 2005).

Prinsip kerja dari senyawa antibakteri adalah toksisitas selektif, dimana senyawa tersebut bersifat lebih toksik (racun) terhadap mikroba daripada sel inangnya. Hal itu dikarenakan pengaruh obat yang bersifat selektif terhadap mikroba atau dikarenakan obat lebih unggul terhadap sel parasit pada suatu reaksi penting biokimia. Selain itu, hospes (manusia) juga memiliki struktur sel yang berbeda dengan mikroorganisme (Djide & Sartini, 2008).

Luas zona hambat yang terbentuk dapat dikategorikan sesuai dengan standar daya hambat bakteri. Apabila diameter <5 mm maka termasuk kategori lemah, diameter 5-10 mm maka termasuk kategori sedang, diameter 10-20 mm maka termasuk kategori kuat dan apabila daya hambat >20 mm maka termasuk kategori sangat kuat (Davis & Stout, 2009).

Aktivitas senyawa antibakteri dapat dibedakan berdasarkan daya toksisitas selektifnya (Brooks, Butel & Morse, 2005):

- a. Bakteriostatik, adalah antibakteri yang dapat menghambat aktivitas bakteri patogen sehingga kadar atau jumlah sel yang hidup tetap sama. Namun apabila pemberian obat dihentikan dapat mengakibatkan pertumbuhan bakteri lagi.
- b. Bakterisidal, adalah antibakteri yang mampu membunuh sel bakteri dengan merusak dinding selnya (lisis), sehingga apabila pemberian obat dihentikan tidak akan mengaktifkan kembali pertumbuhan sel bakteri.

2.8.1 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri

Cara kerja zat antibakteri dalam membunuh bakteri diantaranya adalah (Pelczar & Chan, 1988):

- a. Kerusakan dinding sel

Dinding sel merupakan lapisan terluar yang kaku dan berfungsi untuk melindungi dan mempertahankan konsistensi sel. Struktur dinding sel pada bakteri terdiri atas peptidoglikan, yaitu suatu polimer kompleks yang tersusun dari rangkaian asam N-asetilmuramat dan asam N-asetilglukosamin yang tersusun berselang-seling. Adanya lapisan peptidoglikan mengakibatkan struktur dinding sel menjadi kuat dan kaku sehingga dapat menahan adanya tekanan osmotik pada sel. Dinding sel bakteri dapat dihancurkan dengan mengganggu proses pembentukannya atau merusaknya setelah dibentuk. Zat antimikroba dalam konsentrasi rendah dapat mengganggu pembentukan dinding sel dengan menghambat proses pembentukan ikatan-ikatan glikosida. Sedangkan zat

antimikroba dalam konsentrasi tinggi dapat menghentikan pembentukan dinding sel dengan mengganggu ikatan glikosida.

b. Perubahan pada permeabilitas sel

Membran sel yang membatasi sitoplasma bersifat permeabilitas selektif yang tersusun atas komponen protein dan fosfolipid. Membran sitoplasma bertugas dalam memelihara proses keluar masuknya suatu zat dalam sel. Membran juga mampu menjaga integritas komponen seluler dan merupakan situs reaksi-reaksi enzimatik. Adanya gangguan pada membran sel akibat bahan antimikroba dapat mengakibatkan perubahan pada permeabilitas sel dan menyebabkan penghambatan atau kematian sel.

c. Perubahan pada asam nukleat dan molekul protein

Asam nukleat dan molekul protein merupakan komponen penting untuk mempertahankan hidupnya. Apabila terjadi perubahan atau proses denaturasi pada protein dan asam nukleat maka dapat merusak sel yang bersifat *irreversible* (tidak dapat kembali). Adanya denaturasi dapat dipengaruhi oleh kepekatan konsentrasi dan suhu tinggi pada beberapa zat kimia.

d. Penghambatan kerja suatu enzim

Sel terdiri atas ratusan enzim yang berbeda-beda dan umumnya menjadi sasaran bekerjanya suatu zat penghambat. Zat-zat kimia diketahui telah banyak mengganggu aktivitas biokimiawi, seperti logam berat, perak, tembaga, air raksa yang umumnya memiliki aktivitas antimikroba dalam konsentrasi rendah. Terhambatnya kerja enzim tersebut dapat mengganggu proses metabolisme sel yang mengakibatkan kematian sel.

e. Penghambatan sintesis RNA, DNA, dan protein

RNA, DNA dan protein merupakan komponen penting dalam kehidupan sel bakteri. Adanya hambatan atau gangguan pada ketiga komponen tersebut dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel.

2.8.2 Metode Uji Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan melalui beberapa cara meliputi:

1. Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua macam, yaitu dilusi cair (*broth dilution test*) dan dilusi padat (*solid dilution test*).

a. Metode dilusi cair

Metode ini digunakan untuk mengetahui nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari senyawa antimikroba. Prinsip penggunaan metode ini adalah penggunaan satu set tabung reaksi berisi media cair dan suspensi bakteri yang akan diuji. Kemudian tabung reaksi tersebut ditambahkan bahan antimikroba dengan beberapa tingkat pengenceran. Tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C dan diamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tingkat pengenceran. Ditentukan nilai konsentrasi terendah yang memiliki hasil biakan jernih (tidak terdapat pertumbuhan bakteri) sebagai kadar hambat minimum. Hasil biakan pada semua tabung yang jernih dibiakkan dalam media agar dan diinkubasi selama 1 hari. Diamati pertumbuhan bakteri pada masing-masing media pertumbuhan. Ditentukan konsentrasi terendah yang tidak

menunjukkan pertumbuhan bakteri dan dinyatakan sebagai kadar bunuh minimum (Tortora, 2001).

b. Metode dilusi padat

Metode ini prinsipnya hampir sama dengan dilusi cair, hanya saja pada metode ini menggunakan medium padat. Keunggulan dari metode ini adalah beberapa mikroba uji yang digunakan dapat diuji hanya dengan satu konsentrasi bahan antimikroba yang sama (Pratiwi, 2008).

2. Metode Difusi

Prinsip dari metode difusi adalah terjadinya difusi atau perpindahan senyawa antibakteri pada media agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Hasil dari metode ini adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan berupa zona bening yang mengelilingi cakram (Balouiri, Sadiki, & Ibnsouda, 2016). Metode difusi dapat dibedakan menjadi beberapa teknik, yaitu:

a. Metode *disc diffusion*

Metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer) digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Kertas cakram yang telah jenuh dengan zat antimikroba ditempelkan di permukaan media agar yang telah ditambahkan mikroba uji sehingga terjadi difusi pada medium agar. Zona jernih menunjukkan adanya aktivitas penghambatan oleh zat antimikroba (Pratiwi, 2008).

b. Metode E-test

E-test dilakukan untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum). Metode ini menggunakan

strip yang telah jenuh dengan zat antimikroba dengan konsentrasi paling rendah hingga paling tinggi kemudian ditempelkan di atas permukaan medium agar yang berisi mikroba uji. Hasil pengamatan yaitu terbentuknya zona bening pada masing-masing kadar penghambatan pada medium agar (Pratiwi, 2008).

c. Metode Sumuran

Suspensi koloni bakteri sebesar 10^8 cfu/mL dicampurkan pada media padat kemudian dibuat sumuran (lubang) dan dibatasi dengan suatu garis tertentu. Larutan antibakteri yang akan diujikan ditambahkan ke dalam sumuran. Waktu inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37 °C. Hasil positif berupa terbentuknya zona bening disekitar sumuran (Jawetz & Adelberg, 2005).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bersifat kualitatif dan kuantitatif. Eksperimental kualitatif dengan cara isolasi dan identifikasi bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang didapat dari Kecamatan Lowokwaru, Malang, serta skrining fitokimia metabolit bakteri endofit. Sedangkan eksperimental kuantitatif dengan pengujian potensi bakteri endofit daun kelor sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Oktober 2020 sampai Maret 2021 yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Genetika di Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari autoklaf, oven, freezer, cawan petri, spidol permanent, jarum ose, botol selai, bunsen, penyangga kaki tiga, kawat ram, korek api, gunting, penjepit, mikroskop, kaca preparat, pinset, Laminar Air Flow (LAF) kabinet, inkubator, shaker inkubator, destruk, timbangan analitik, hotplate, stirer, mortar alu, nampan, mikropipet, tip biru, tip kuning, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung eppendorf, gelas ukur, beaker

glass, spatula, spatula drigalski, tabung erlenmeyer, pipet tetes, jangka sorong, vorteks, spektrofotometer, kuvet, *centrifuge* dan kamera.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari daun kelor (*Moringa oleifera* L.), media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), media MHA (*Muller Hinton Agar*), bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya, kertas label, kertas *whatman*, *aluminium foil*, plastik, karet, spirtus, kapas, kassa, etanol 70%, larutan NaOCl 5,25%, akuades, larutan kristal ungu, larutan iodin, larutan safranin, larutan *malachite green*, minyak immersi, tisu, NaCl 0,9%, plastik wrap, larutan kloramfenikol, methanol, serbuk logam Mg, larutan HCl pekat, larutan FeCl₃ 1%, pereaksi *Wagner*.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat gelas dan bahan dilakukan dengan membungkus alat-alat dengan kertas kemudian dimasukkan dalam plastik tahan panas. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf selama 15-20 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) (Prasaja, Darwis & Astuti, 2014). Sedangkan untuk alat lain seperti pinset dan ose disterilkan dengan dibakar langsung menggunakan bunsen.

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 Media NA (*Nutrient Agar*)

Serbuk NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 28 gram dilarutkan dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan dan distirer pada *hotplate* hingga mendidih. Dibuat media agar miring dengan memasukkan media pada tabung reaksi sebanyak 5-10 mL dan ditutup menggunakan *aluminium foil* atau kapas (proses ini dilakukan di dekat nyala api). Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi. Ditunggu hingga memadat selama ± 30 menit pada kemiringan 30 °C dan media dapat digunakan untuk perbanyakan bakteri (Jutono, dkk., 1973; Tanuwijaya, Siharta & Sinung, 2015). Pembuatan media untuk inokulasi dilakukan dengan menuangkan media NA cair yang telah disterilkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 10-15 mL. Ditunggu hingga memadat dan media dapat disimpan pada suhu 4 °C (Ngajow, Abidjulu & Kamu, 2013).

3.4.2.2 Media NB (*Nutrient Broth*)

Serbuk NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 13 gram dilarutkan dalam 1000 mL akuades di dalam *erlenmeyer* dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Kemudian dipanaskan dan distirer pada *hotplate* hingga larut. Kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm di suhu 121 °C selama 15 menit (Jutono, dkk., 1973; Tanuwijaya, Siharta & Sinung, 2015).

3.4.2.3 Media MHA (*Muller Hinton Agar*)

Serbuk MHA (*Muller Hinton Agar*) sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1000 mL akuades di dalam *erlenmeyer* dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Kemudian dipanaskan dan distirer pada *hotplate* hingga larut. Kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm di suhu 121 °C selama 15 menit (Mahmudah & Atun, 2017).

3.4.3 Isolasi Bakteri Endofit Daun Kelor

3.4.3.1 Sterilisasi Daun Kelor

Daun yang digunakan untuk penelitian adalah daun yang sehat, tidak ada kerusakan dan tua (berwarna hijau pekat). Sterilisasi dilakukan dengan mencuci beberapa helai daun kelor menggunakan air mengalir sekitar ± 10 menit. Kemudian dilakukan sterilisasi permukaan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan secara berturut-turut direndam dalam 10 mL etanol 70% selama 1 menit dan dikocok perlahan, 10 mL *natrium hipoklorit* (NaOCl) 5,25% selama 5 menit dan 10 mL etanol 70% selama 30 detik (Yati, Sumpomo & Candra, 2018). Kemudian daun kelor dicuci dengan akuades sebanyak 4 kali. Hasil pencucian terakhir diinokulasikan pada media NA untuk mengkonfirmasi efektifitas sterilisasi permukaan. Apabila menunjukkan pertumbuhan mikroba maka sampel tidak dapat digunakan dan harus diulang proses sterilisasi permukaannya (Sulistiyani, Ardyati & Winarsih, 2016).

3.4.3.2 Isolasi Bakteri Endofit

Daun sebanyak 1 gram yang telah disterilisasi kemudian dihaluskan menggunakan mortar alu dan dilakukan pengenceran dengan menambahkan 9 ml akuades steril. Serial pengenceran dibuat hingga pengenceran 10^{-5} dengan mengambil 1 ml suspensi yang sudah divortex dan ditambahkan dalam tabung berisi 9 ml akuades steril. Diambil 100 μ l dari masing-masing pengenceran (10^{-3} – 10^{-5}) kemudian dituang pada media NA baru dengan metode *pour plate* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam (Hung & Annapurna, 2004).

3.4.3.3 Pemurnian Isolat Bakteri Endofit Daun Kelor

Pemurnian bertujuan untuk memisahkan koloni bakteri endofit dengan koloni lain sehingga didapatkan isolat murni. Setiap bakteri yang tumbuh dan memiliki ciri morfologi berbeda harus dimurnikan dengan mengambil 1 ose bakteri dan dipindahkan pada media NA dengan metode *streak* kuadran. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Kasi, dkk, 2015). Hal ini dilakukan berulang kali hingga didapatkan koloni murni, kemudian koloni murni dipindahkan pada media miring NA yang baru dan disimpan dan suhu 4 °C untuk dijadikan kultur stok.

3.4.4 Identifikasi Bakteri Endofit Daun Kelor

3.4.4.1 Identifikasi Morfologi

Pengamatan morfologi dilakukan tanpa menggunakan alat bantu mikroskop. Diambil 1 ose isolat bakteri endofit dan ditanam pada media NA dalam cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan yang dilakukan meliputi antara lain warna, bentuk, tepi dan

permukaan koloni, kemudian dibandingkan dengan panduan identifikasi makroskopis *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Bergey's, 2005).

3.4.4.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri secara mikroskopis. Diambil 1 ose isolat bakteri endofit dan digoreskan pada permukaan kaca preparat yang steril. Difiksasi dengan melewatkannya pada nyala bunsen. Ditambahkan 1 tetes kristal violet pada permukaan kaca preparat selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir hingga warna luntur. Ditambahkan 1 tetes larutan iodine pada permukaan preparat dan didiamkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Ditetaskan alkohol pada permukaan preparat selama 30 detik dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian yang terakhir ditambahkan 1 tetes safranin selama 1 menit dan dibilas kembali dengan air mengalir. Preparat dikering anginkan terlebih dahulu sebelum diamati menggunakan mikroskop. Ditetaskan minyak immersi pada permukaan preparat dan diamati dengan perbesaran 1000x. Apabila sel bakteri endofit berwarna ungu berarti termasuk dalam bakteri gram positif, sedangkan apabila berwarna merah muda maka termasuk dalam bakteri gram negatif (Utami, dkk., 2018).

3.4.4.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mewarnai struktur pasif bakteri yaitu spora. Diambil 1 ose bakteri endofit dan digoreskan pada permukaan kaca preparat yang steril dan difiksasi. Siapkan air mendidih dalam *beaker glass* dan diletakkan kawat ram di atasnya. Preparat bakteri diletakkan di atas kawat ram dan ditutup dengan tisu. Ditambahkan larutan *malachite green* pada permukaan

preparat hingga basah selama 5-6 menit. Apabila tissu mengering dapat ditambahkan kembali tetesan *malachite green*. Preparat dipindahkan dan tissu dibuka hingga dingin kemudian dibilas dengan air mengalir selama 30 detik. Ditambahkan 1 tetes safranin selama 90 detik dan dibilas kembali dengan air mengalir selama 30 detik. Preparat dikering anginkan kemudian diamati menggunakan mikroskop. Spora bebas dan endospora akan berwarna hijau dan sel vegetatif akan berwarna merah (Utami, dkk., 2018).

3.4.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor

Kultur murni bakteri endofit daun kelor harus dilarutkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk pembuatan kurva pertumbuhan. Diambil 1 ose bakteri endofit dari media NA dan diinokulasikan dalam 5 mL media NB (*Nutrient Broth*). Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Rachmawati, Agung & Endang, 2017). Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri berdasarkan penelitian (Sulistijowati, 2012) yang dimodifikasi. Bakteri endofit yang telah diinkubasi 24 jam kemudian diinokulasikan sebanyak 2,5 mL ke dalam 25 mL media NB dan dishaker selama 32 jam dengan kecepatan 150 rpm. Penentuan waktu 0 jam dimulai sejak inokulum dicampurkan pada media NB dan dilakukan pengukuran setiap 2 jam sekali. Pengukuran waktu pertumbuhan menggunakan metode *optical density* (OD), yaitu dengan mengukur nilai kerapatan bakteri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

3.4.6 Skrining Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit Daun Kelor

Sampel yang digunakan untuk uji skrining fitokimia adalah isolat bakteri endofit pada fase stasioner. Hasil dari skrining fitokimia ini digunakan sebagai dasar pemilihan isolat untuk diuji aktivitas antibakterinya, dimana hanya bakteri yang mengandung empat sampai lima metabolit yang akan digunakan untuk uji antibakteri. Berikut masing-masing langkah kerja untuk uji skrining fitokimia (Pratama, Sarjono & Mulyani, 2015):

3.4.6.1 Uji Fenolik

100 μ L ekstrak bakteri endofit dalam tabung reaksi ditambahkan 5 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau atau hitam pekat.

3.4.6.2 Uji Alkaloid

100 μ L ekstrak bakteri endofit dalam tabung reaksi ditambahkan 3-5 tetes pereaksi Wagner. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi coklat atau kemerahan.

3.4.6.3 Uji Flavonoid

100 μ L ekstrak bakteri endofit dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL methanol panas, kemudian ditambahkan serbuk logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga.

3.4.6.4 Uji Tanin

100 μ L ekstrak bakteri endofit dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL akuades panas, kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

3.4.6.5 Uji Saponin

100 μ L ekstrak bakteri endofit dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL akuades panas kemudian dikocok kuat. Hasil positif apabila muncul busa stabil selama ± 10 menit.

3.4.7 Uji Antibakteri

3.4.7.1 Pembuatan Kultur Bakteri Uji

Bakteri yang akan digunakan untuk uji antibakteri harus dilakukan peremajaan, yaitu dengan menginokulasi bakteri kultur primer (murni) ke media yang baru. Caranya dengan menggoreskan satu ose bakteri murni ke dalam media NA (*Nutrient Agar*) miring yang dilakukan secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, bakteri dapat disimpan pada suhu 5 °C hingga digunakan uji (Ningsih, *et al.*, 2016). Hasil peremajaan kemudian diambil 1-2 ose dan dimasukkan ke dalam 5 mL NaCl 0,9%. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks. Dipindahkan 1 mL larutan ke dalam kuvet dan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer λ 625 nm hingga nilai OD= 0,08-0,1 yang sesuai dengan standar *Mc Farland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Mubarak, Chismirina & Daulay, 2016).

3.4.7.2 Pemanenan Senyawa Metabolit Isolat Bakteri Endofit

Diambil 1 ose isolat bakteri endofit terpilih dari media NA dan diinokulasikan pada 5 mL media NB, kemudian dishaker inkubator selama 21 jam. Waktu 21 jam tersebut berdasarkan pada fase akhir stasioner, dimana pada fase tersebut terakumulasi metabolit sekunder pada isolat bakteri endofit. Hal tersebut sesuai dengan Iqlima, *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa

pengambilan metabolit sekunder bakteri endofit dilakukan pada akhir fase stasioner karena metabolit telah banyak diproduksi sebagai bentuk pertahanan diri bakteri endofit. Kemudian isolat bakteri endofit disentrifus dengan kecepatan 3800 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C. Hasil supernatan kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Elita, *et al.*, 2013).

3.4.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah metode *Kirby-Bauer* dengan kertas saring *Whatman*. Kertas saring yang akan digunakan harus disterilkan terlebih dahulu dan dimasukkan oven pada suhu 70 °C (Noverita, Fitria & Sinaga, 2009). Bakteri *S. dysenteriae* sebanyak 50 µL dituang pada cawan petri dengan metode *pour plate* kemudian ditambahkan 15 mL media MHA cair (suhu ± 50 °C) dan dihomogenkan dengan diputar membentuk angka 8. Sedangkan untuk bakteri *S. aureus* menggunakan metode *spread plate* dengan dimasukkan 15 mL media MHA pada cawan petri, ditunggu hingga memadat. Setelah itu ditambahkan 50 µL bakteri uji dan diratakan menggunakan spatula drigalski. Sementara itu, kertas saring direndam pada ekstrak bakteri endofit selama ± 1 jam. Setelah itu kertas saring diletakkan pada media MHA secara triplo menggunakan pinset steril. untuk kontrol positif digunakan larutan kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam hingga terbentuk zona hambat pada media MHA (Elita, *et al.*, 2013). Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong secara vertikal kemudian hasilnya dikurangi 6 mm (luas cakram) untuk mengetahui aktivitas antibakteri.

Luas zona hambat dihitung dengan rumus (Simarmata, Lekatompessy & Sukiman, 2007):

$$L_z = L_{av} - L_d$$

Keterangan : L_z : diameter zona hambat (mm)

L_{av} : diameter zona hambat dengan kertas saring (mm)

L_d : diameter kertas saring (mm)

Luas zona hambat yang telah diukur kemudian dibandingkan dengan standar daya hambat bakteri. Apabila diameter <5 mm maka daya hambat lemah, diameter 5-10 mm maka daya hambat sedang, diameter 10-20 mm maka daya hambat kuat dan apabila daya hambat >20 mm maka daya hambat sangat kuat (Davis & Stout, 2009).

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri endofit daun kelor dianalisis secara kualitatif dengan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berupa warna, bentuk, tepi dan permukaan koloni bakteri, sedangkan pengamatan mikroskopis berupa pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora. Sedangkan untuk data yang diperoleh dari aktivitas antibakteri dianalisis secara kuantitatif dengan pengukuran zona hambat disekitar kertas cakram, diameter zona hambat diukur dalam satuan mm. Zona hambat yang terbentuk digunakan sebagai indikator bahwa bakteri endofit menghasilkan senyawa yang bersifat antibakteri.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang sebagian besar jenisnya bermanfaat bagi manusia, hewan maupun tumbuhan. Sedangkan sebagian lainnya dapat memicu penyakit bagi makhluk hidup lainnya. Salah satu cara untuk menentukan peran bakteri dapat melalui proses isolasi dan identifikasi. Hal tersebut telah disebutkan dalam Q.S.Al-Jasiyah (45) : 13 sebagai berikut:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمُوتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat dari pada-Nya), sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir.” (Q.S.Al-Jasiyah (45): 13).

Makna **سَخَّرَ** diartikan dengan sesuatu yang dapat dimanfaatkan. Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini seperti hewan, tanaman, mikroorganisme dan bahkan benda mati-pun dapat bermanfaat. Kutipan kalimat terakhir pada ayat tersebut menyiratkan bahwa manusia diberikan akal agar dapat berfikir tentang apapun yang diciptakan Allah. Berfikir akan ciptaan merupakan salah satu bentuk keyakinan terhadap kekuasaan Allah SWT (Tafsir Jalalain dalam Jalaluddin, 2015). Berfikir tentang ciptaan Allah juga termasuk keberadaan makhluk hidup yang terdapat pada jaringan makhluk hidup lainnya. Bakteri endofit adalah salah satu mikroba yang hidupnya berada pada jaringan

tumbuhan. Keberadaannya dalam tumbuhan tersebut menjadikan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit yang sama dengan tanaman inangnya sehingga potensinya banyak diteliti (Brader, *et al.*, 2014).

Isolat yang ditumbuhkan pada media *nutrient agar* (NA) diamati ciri-ciri morfologinya secara makroskopis, berupa warna, bentuk, tepi dan permukaan koloni. Hasil isolasi dan pemurnian didapatkan 9 isolat bakteri endofit dengan ciri-ciri yang berbeda sebagaimana pada Tabel 4.1. Keragaman jenis bakteri endofit pada masing-masing tanaman berbeda tergantung faktor biotik maupun abiotiknya.

Tabel 4.1 Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Secara Makroskopis

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Warna	Bentuk	Tepi	Permukaan
1.	MO.3.A1	Putih	Bulat	Rata	Cembung
2.	MO.3.A2	Putih	Bulat	Berombak	Datar
3.	MO.3.B1	Putih	Bulat	Berlekuk	Datar
4.	MO.3.C1	Putih	Bulat kecil	Rata	Datar
5.	MO.4.A1	Putih	Bulat	Bergelombang	Cembung
6.	MO.4.B1	Putih	Bulat kecil	Berombak	Datar
7.	MO.4.B2	Krem	Tidak teratur	Bergelombang	Datar
8.	MO.4.C1	Kuning	Bulat	Rata	Cembung
9.	MO.5.A1	Krem	Bulat	Bergelombang	Datar

Keterangan : MO= singkatan dari *Moringa oleifera*
 Angka 3,4,5= tingkat pengenceran
 Huruf A,B,C= pengulangan

Hasil pengamatan morfologi menunjukkan koloni bakteri endofit daun kelor memiliki banyak varian, baik dari segi warna, bentuk, tepi maupun permukaannya. Warna bakteri endofit yang berhasil diisolasi didominasi warna putih dan beberapa berwarna krem serta kuning. Secara umum bakteri endofit berbentuk bulat, ada juga yang berbentuk tidak teratur dan bulat kecil. Bentuk tepi

bakteri endofit beragam, yaitu rata, berombak, berlekuk dan bergelombang. Sedangkan untuk permukaannya ada dua tipe, yaitu datar dan cembung. Hal itu sesuai dengan Bhore & Sathisha (2010) yang menyebutkan bahwa mikroba endofitik pada satu tanaman tidak hanya berasal dari satu marga melainkan terdapat beberapa marga dan spesies. Keanekaragaman bakteri endofit pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama kondisi tanah. Bahkan pada beberapa kasus, tumbuhan dari spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang terkadang berbeda. Ada juga bakteri endofit yang spesifik atau khusus hidup di tumbuhan tertentu.

Seghers, *et al.* (2004) menyatakan bakteri endofit yang hidup pada suatu tanaman dipengaruhi oleh genotip, umur, jaringan yang ditempati dan musim isolasi. Keberadaan bakteri endofit juga dipengaruhi kondisi lingkungan, seperti adanya bahan organik, sifat tanah, budidaya, pemberian pupuk dan pestisida. Pemberian pupuk N dalam jumlah banyak dapat menurunkan jumlah bakteri endofit yang berasosiasi. Hal itu diduga karena pemberian pupuk N yang banyak dapat mengubah fisiologis tanaman yang dapat menurunkan jumlah sukrosa tanaman, dimana sukrosa berfungsi sebagai sumber karbon bagi bakteri endofit.

Bakteri endofit yang berinteraksi dengan tumbuhan merupakan satu bentuk simbiosis. Simbiosis tersebut dapat bersifat netral, komensalisme atau mutualisme (Bacon & Hinton, 2006). Hubungan simbiosis mutualisme, bakteri endofit akan memperoleh nutrisi dari metabolisme tanaman (Simarmata, *et al.*, 2007) dan tanaman inang juga diuntungkan karena bakteri endofit dapat digunakan sebagai pembawa genetik bunga dan agen biologis untuk

meningkatkan kelangsungan hidup inang melawan jamur patogen (Larran, *et al.*, 2001).

Tabel 4.2 Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Secara Mikroskopis

No	Kode Isolat	Morfologi Sel Bakteri		
		Gram	Struktur	Endospora
1.	MO.3.A1	+	Batang	+
2.	MO.3.A2	+	Batang	-
3.	MO.3.B1	+	Bulat	+
4.	MO.3.C1	+	Batang	+
5.	MO.4.A1	+	Batang	+
6.	MO.4.B1	+	Batang	+
7.	MO.4.B2	+	Bulat	+
8.	MO.4.C1	+	Batang	+
9.	MO.5.A1	+	Batang	+

Keterangan: tanda +: memiliki endospora; tanda -: tidak memiliki endospora

Hasil pengamatan pewarnaan Gram menggunakan mikroskop menunjukkan semua isolat termasuk bakteri Gram positif (Tabel 4.2). Bentuk sel lebih didominasi bentuk *bacil* (batang) sebanyak 7 isolat dan bentuk *coccus* (bulat) hanya 2 isolat (Lampiran 4). Bakteri Gram positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu pada masing-masing isolat bakteri endofit. Trivedi, Pandey & Bhadauria (2010) menyatakan bahwa karakteristik bakteri Gram positif mempunyai jumlah peptidoglikan yang lebih banyak pada dinding sel daripada bakteri Gram negatif, yaitu sekitar 40-80% dari total berat kering. Peptidoglikan tersebut ada sekitar 40 bahkan lebih pada lapisan bakteri Gram positif, dimana ketebalan dinding sel sekitar 30-80 nm. Secara umum bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang lebih tipis dan mengandung lebih banyak lipid daripada bakteri Gram positif.

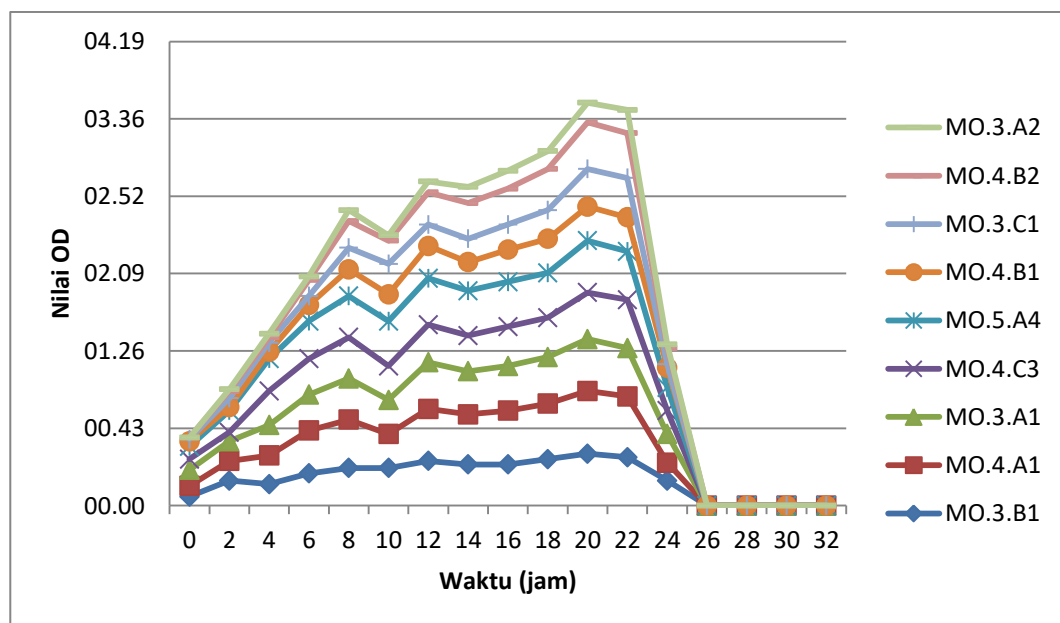
Pengamatan endospora bertujuan untuk mengetahui adanya spora pada bakteri endofit. Hal tersebut berhubungan dengan keberadaan metabolit sekunder pada bakteri endofit. Menurut Pratiwi (2008) ciri-ciri metabolit sekunder diantaranya adalah diproduksi oleh bakteri berspora atau fungi berfilamen. Hasil pewarnaan endospora menunjukkan bahwa 8 isolat bakteri endofit memiliki endospora dan 1 isolat yaitu MO.3.A2 tidak memiliki endospora (Tabel 4.2). Adanya endospora ditandai dengan terbentuknya warna hijau pada sel bakteri setelah dilakukan pewarnaan menggunakan *malachite green* (Lampiran 6). Endospora adalah suatu struktur yang memiliki lapisan dan dinding tebal yang terbentuk di dalam membran sel suatu bakteri (Pratiwi, 2008). Tsuneda & Currah (2004) menyebutkan bahwa endospora yang dimiliki bakteri merupakan suatu alat untuk mempertahankan hidupnya pada keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan. Kondisi tersebut seperti suhu panas, kurangnya air dan juga senyawa beracun.

Spora bakteri dibentuk di dalam sel sehingga disebut sebagai endospora dan hanya ada satu spora dalam setiap sel bakteri. Endospora pada bakteri memiliki ciri-ciri pada susunan kimiawinya. Ciri tersebut salah satunya adalah adanya asam dipikolinat pada endospora bakteri. Asam dipikolinat merupakan suatu substansi yang tidak terdeteksi pada sel vegetatif bakteri yang memenuhi sekitar 5-10% berat kering endospora bakteri. Endospora juga mengandung kalsium dan pada lapisan korteks (lapisan luar spora) diduga tersusun atas Ca^{2+} asam dipikolinat peptidoglikan (Pelczar & Chan, 2013).

4.2 Skrining Fitokimia Isolat Bakteri Endofit Daun Kelor

4.2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Tahap awal yang dilakukan sebelum uji aktivitas antibakteri adalah pembuatan kurva pertumbuhan bakteri endofit. Kurva pertumbuhan berfungsi untuk mengetahui dinamika pertumbuhan bakteri. Menurut Rolfe, *et al.* (2012) pertumbuhan bakteri biasanya terdapat empat fase yang khas, yaitu fase awal dimana belum ada pertumbuhan bakteri (fase lag), kemudian fase berikutnya terjadi pertumbuhan yang sangat cepat (fase log), diikuti fase selanjutnya yang stabil (fase stasioner) dan terakhir fase kematian, dimana terjadi penurunan jumlah sel bakteri.



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan bahwa secara umum bakteri endofit tersebut tidak memiliki fase lag. Hal itu dikarenakan kondisi media sudah sesuai sehingga bakteri dapat langsung membelah. Bakteri langsung memasuki fase log dari jam ke-0 hingga ke-12, dimana terjadi pertumbuhan secara cepat dengan laju yang konstan dan massa menjadi lebih banyak sehingga terjadi kenaikan pada kurva pertumbuhan bakteri. Fase yang terjadi selanjutnya adalah fase stasioner yang terjadi pada jam ke-12 hingga ke-22, dimana pada fase ini terjadi pertumbuhan dan kematian yang seimbang karena ketersediaan nutrisi mulai berkurang. Fase ini juga bakteri melakukan pertahanan diri dengan memproduksi metabolit sekunder sehingga terjadi penumpukan metabolit pada akhir fase stasioner. Sel mulai mengalami kematian pada jam ke-23, dimana jumlah sel yang mati terus bertambah karena nutrisi mulai habis dan mengakibatkan terjadi penurunan pada kurva pertumbuhan bakteri.

Jenis fermentasi yang digunakan adalah jenis *Batch* yang merupakan sistem tertutup. Dimana segala kebutuhan nutrisi yang diperlukan bakteri untuk tumbuh dan menghasilkan produk disediakan dalam media fermentor. Sehingga tidak ada pemberian tambahan nutrisi atau pengambilan hasil produksi selama proses fermentasi. Jenis fermentasi *Batch* dianggap lebih mudah dan kemungkinan terjadinya kontaminasi dapat diminimlisir. Hasil fermentasi selama 21 jam kemudian disentrifus yang bertujuan untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Karena selama proses fermentasi menggunakan shaker inkubator terjadi sekresi metabolit hasil metabolisme ke dalam media fermentor (McNeil & Harvey, 2008).

Metabolit sekunder adalah senyawa yang diproduksi oleh mikroorganisme setelah tahap pertumbuhan cepat selesai, umumnya tidak efektif untuk proses pertumbuhan. Metabolit sekunder biasanya disimpan dan digunakan sebagai nutrisi cadangan untuk mempertahankan kelangsungan hidup. Metabolit sekunder umumnya diproduksi pada fase stasioner, yakni ketika jumlah sel bakteri stabil karena jumlah pertumbuhan dan kematian sama. Fase ini terjadi keterbatasan nutrisi yang mengakibatkan terkumpulnya inducer enzim dari metabolit sekunder dan terjadi pelepasan gen-gen pemicu untuk produksi metabolit sekunder (Suharyono, *dkk.* 2012).

Waktu pertumbuhan antar masing-masing bakteri endofit berbeda-beda yang disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor tersebut diantaranya yaitu kemampuan berkembang biak, pH, suhu, media pertumbuhan, kemampuan mempertahankan hidup, konsentrasi enzim, lama inkubasi, kandungan senyawa metabolit dan ketersediaan nutrisi (Suharyono, *dkk.*, 2012). White (1995) menambahkan bahwa tipe pertumbuhan setiap bakteri bergantung pada kebutuhan karbon dan gen yang dibawa setiap bakteri.

4.2.2 Skrining Fitokimia Isolat Bakteri Endofit

Skrining fitokimia pada isolat bakteri endofit dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit yang dimiliki oleh bakteri endofit. Untuk selanjutnya, adanya senyawa metabolit tersebut memiliki kontribusi terhadap aktivitas antibakteri (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit

No	Isolat	Fenolik	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin
1.	MO.3.B1	-	-	+	+	-
2.	MO.4.A1	+	-	-	-	-
3.	MO.3.A1	-	-	+	+	-
4.	MO.4.C3	-	+	+	-	+
5.	MO.4.B1	+	+	+	+	+
6.	MO.5.A4	+	+	+	+	+
7.	MO.3.C1	+	-	-	-	+
8.	MO.4.B2	-	+	+	+	-
9.	MO.3.A2	+	+	+	+	-

Keterangan: +: mengandung senyawa metabolit

-: tidak mengandung senyawa metabolit

Hasil skrining fitokimia ekstrak bakteri endofit menunjukkan bahwa semua bakteri endofit mengandung senyawa metabolit sekunder. Isolat MO.3.B1 dan MO.3.A1 sama-sama mengandung dua senyawa metabolit, yaitu senyawa flavonoid dan tanin. Isolat MO.3.C1 juga hanya mengandung dua senyawa metabolit yaitu fenolik dan saponin. Isolat MO.4.A1 hanya mengandung senyawa fenolik yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau pekat. Isolat MO.4.C3 mengandung tiga jenis senyawa metabolit yaitu alkaloid, flavonoid dan saponin. Isolat MO.4.B2 juga mengandung tiga jenis senyawa metabolit yaitu alkaloid, flavonoid dan tanin. Isolat MO.3.A2 mengandung empat jenis senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik, alkaloid, flavonoid dan tanin. Untuk isolat MO.4.B1 dan MO.5.A4 mengandung semua senyawa metabolit yang diujikan, yaitu senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Yandila, *et al.* (2018) menyatakan bahwa bakteri endofit dapat memproduksi senyawa metabolit yang kemampuannya sama atau mirip dengan tanaman inangnya. Hasil penelitian

Putra, *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa metabolit seperti alkaloid, flavonoid, fenolat dan tannin.

Aryani, *et al.* (2020) juga mengidentifikasi senyawa metabolit pada bakteri endofit daun alang-alang (*Imperata cylindrica*) dimana keempat ekstrak bakteri tersebut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol dan tanin. Begitupun dengan identifikasi senyawa pada ekstrak daun alang-alang yang positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid dan terpenoid.

Isolat yang mengandung senyawa fenolik ada lima, yaitu MO.4.A1, MO.4.B1, MO.5.A4, MO.3.C1 dan MO.3.A2. Hasil positif dari uji fenolik ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam pekat setelah ditetesi dengan larutan FeCl_3 1%. Perubahan tersebut dikarenakan adanya ikatan kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat dari hasil reaksi gugus fenol dengan pereaksi FeCl_3 1% (Asmara, 2017). Senyawa fenol bersifat sebagai antibakteri karena adanya proses denaturasi protein sehingga struktur protein rusak. Adanya gangguan pada permeabilitas dinding sel mengakibatkan molekul-molekul besar dan ion dalam sel tidak stabil dan sel akan lisis (Rijayanti, 2014).

Isolat yang memiliki kandungan senyawa alkaloid antara lain isolat MO.4.C3, MO.4.B1, MO.5.A4, MO.4.B2 dan MO.3.A2. Adanya senyawa alkaloid pada sampel ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat setelah direaksikan dengan pereaksi Wagner. Pereaksi Wagner tersusun atas kalium iodida (KI) dengan iodin (I_2) yang apabila kedua senyawa tersebut bereaksi akan membentuk I_3^- yang menjadikan perubahan warna menjadi coklat. Endapan coklat tersebut adalah hasil senyawa yang kompleks antara kalium-

alkaloid, dimana endapan tersebut adalah hasil ikatan kovalen koordinat antara ion K^+ dan nitrogen pada alkaloid (Marliana, Suryanti & Suyono, 2005). Prinsip kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah terjadinya gangguan pada komponen yang menyusun dinding peptidoglikan sel bakteri, sehingga membran sel tidak terbentuk sempurna dan menyebabkan kematian sel (Juliantina, *et al.*, 2010).

Isolat yang mengandung senyawa flavonoid antara lain senyawa MO.3.B1, MO.3.A1, MO.4.C3, MO.4.B1, MO.5.A4, MO.4.B2 dan MO.3.A2. Kandungan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi merah atau jingga. Uji *Wilstatter* menggunakan logam Magnesium (Mg) akan mereduksi polihidroksi dari flavonol di dalam larutan asam klorida (HCl). Adanya reaksi tersebut akan terbentuk garam benzopirilium atau flavilium yang menyebabkan terbentuknya buih dan perubahan warna menjadi merah (Zirconia, *et al.*, 2015). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan tiga mekanisme penghambatan, pertama dengan penghambatan pada sintesis asam nukleat melalui cincin B yang berperan pada interkalasi atau ikatan hidrogen dengan cara menumpukkan basa dari asam nukleat sehingga menghambat proses sintesis DNA dan RNA. Kedua, dengan menghambat metabolisme energi melalui penghambatan pada proses respirasi sel yang menyebabkan proses penyerapan metabolit dan sintesis makromolekul terganggu akibat adanya hambatan energi (Cushnie & Lamb, 2005). Ketiga, dengan penghambat pada fungsi membran sel dengan cara berikatan dengan protein ekstrasel yang sifatnya larut sehingga mengakibatkan gangguan pada integritas membran bakteri (Cowan, 1999).

Isolat yang mengandung senyawa tanin adalah MO.3.B1, MO.3.A1, MO.4.B1, MO.5.A4, MO.4.B2 dan MO.3.A2. Adanya senyawa tanin pada sampel ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Larutan FeCl₃ 1% yang ditambahkan berfungsi untuk mengetahui keberadaan gugus fenol pada sampel karena tanin merupakan senyawa turunan dari polifenol. Penambahan larutan FeCl₃ 1% akan membentuk suatu senyawa kompleks antara FeCl₃ dengan senyawa tanin yang menyebabkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Ikalinus, *et al.*, 2015). Prinsip kerja senyawa tanin sebagai antibakteri adalah adanya kerusakan pada membran sel dan pembentukan ikatan ion logam yang kompleks yang diakibatkan oleh sifat toksis tanin. Bakteri aerob membutuhkan zat besi untuk banyak fungsi, salah satunya adalah proses reduksi prekursor ribonukleotida DNA. Ikatan antara zat besi dengan senyawa tanin dapat mengganggu banyak fungsi pada sel bakteri (Akiyama, *et al.*, 2001).

Isolat yang mengandung senyawa saponin adalah isolat MO.4.C3, MO.4.B1, MO.5.A4 dan MO.3.C1. Hasil positif uji saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil selama ± 10 menit. Terbentuknya busa tersebut dikarenakan adanya penguraian senyawa saponin menjadi bentuk glikosida dan lainnya sehingga menimbulkan terbentuknya busa (Marliana, 2005). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme gangguan stabilitas pada lapisan membran yang mengakibatkan komponen penyusun sel bakteri seperti asam nukleat, protein dan nukleotida terlepas sehingga menyebabkan lisis pada sel bakteri (Darsana, Besung & Mahatmi, 2012).

4.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram, yaitu adanya difusi (perpindahan) senyawa antibakteri ke dalam media yang sudah diinokulasikan bakteri uji. Menurut Mawada (2008) kelebihan dari penggunaan metode difusi adalah dapat langsung mengetahui sensitivitas suatu senyawa dalam menghambat antibakteri dengan konsentrasi tertentu dan pengaplikasiannya sangat mudah. Metode difusi cakram dilakukan melalui proses perendaman kertas saring cakram pada senyawa antibakteri selama beberapa menit. Kertas yang sudah jenuh akan senyawa antibakteri ditempelkan diatas media yang sudah diinokulasikan bakteri uji. Penggunaan media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebagai media untuk aktivitas antibakteri berdasarkan rekomendasi dari FDA dan WHO. Hal itu karena kandungan bahan-bahannya seperti sulfonamides, trimethoprim dan tetrasiklin rendah dapat memberikan penghambatan yang baik terhadap pertumbuhan patogen. Alat dan bahan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri juga harus disterilkan agar keberadaan mikroba dan spora dapat dimusnahkan sehingga tidak mempengaruhi hasil pengujian antibakteri (Handayani, *et al.*, 2019).

Isolat yang digunakan untuk uji antibakteri adalah isolat yang paling banyak mengandung beberapa senyawa metabolit berdasarkan hasil skrining fitokima. Isolat tersebut adalah MO.3.A2, MO.4.B1 dan MO.5.A4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

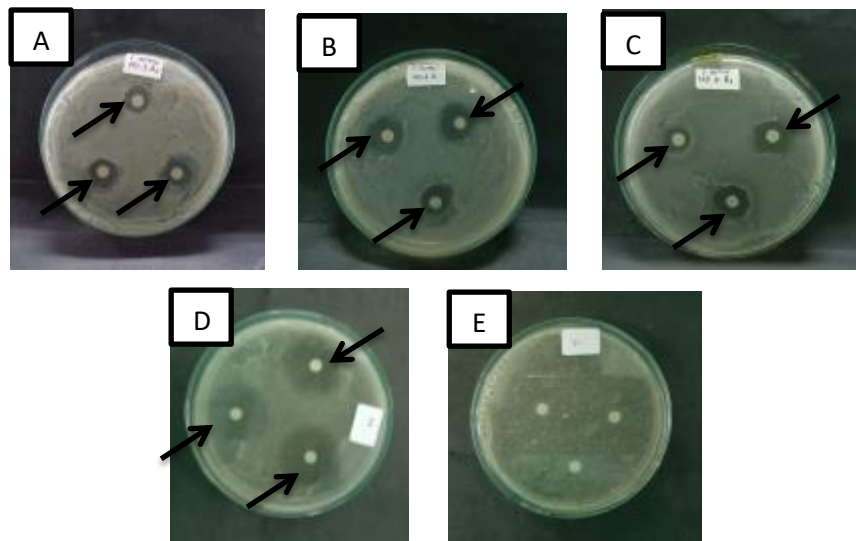
Isolat Bakteri Endofit	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Shigella dysenteriae</i>	
	Rata-rata Diameter (mm)	Kategori	Rata-rata Diameter (mm)	Kategori
MO.3.A2	6,44	Sedang	15,67	Kuat
MO.4.B1	12,63	Kuat	15,35	Kuat
MO.5.A4	8,22	Sedang	15,17	Kuat
K(+)	21,07	Sangat kuat	26,13	Sangat kuat
K(-)	0	Tidak ada	0	Tidak ada

Keterangan: k(+)= kontrol positif (kloramfenikol); k(-)= kontrol negatif (akuades steril)

Hasil aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* menunjukkan semua isolat membentuk zona bening (Gambar 4.3), dimana isolat MO.3.A2 menghasilkan diameter sebesar 6,44 mm, isolat MO.4.B1 dengan diameter 12,63 mm, isolat MO.5.A4 dengan diameter 8,22, dimana diameter tersebut lebih kecil daripada diameter kontrol positif (larutan kloramfenikol) yaitu sebesar 21,07 mm, sedangkan untuk kontrol negatif (akuades steril) tidak menghasilkan zona hambat. Aktivitas penghambatan isolat MO.3.A2 dan MO.5.A4 termasuk kategori sedang, isolat MO.5.A4 termasuk kategori kuat dan untuk kontrol positif termasuk kategori sangat kuat. Hal itu berdasarkan pada Davis & Stout (2009) yaitu diameter <5 mm termasuk kategori lemah, diameter 5-10 mm termasuk kategori sedang, diameter 10-20 termasuk kategori kuat dan diameter >20 mm termasuk kategori sangat kuat.

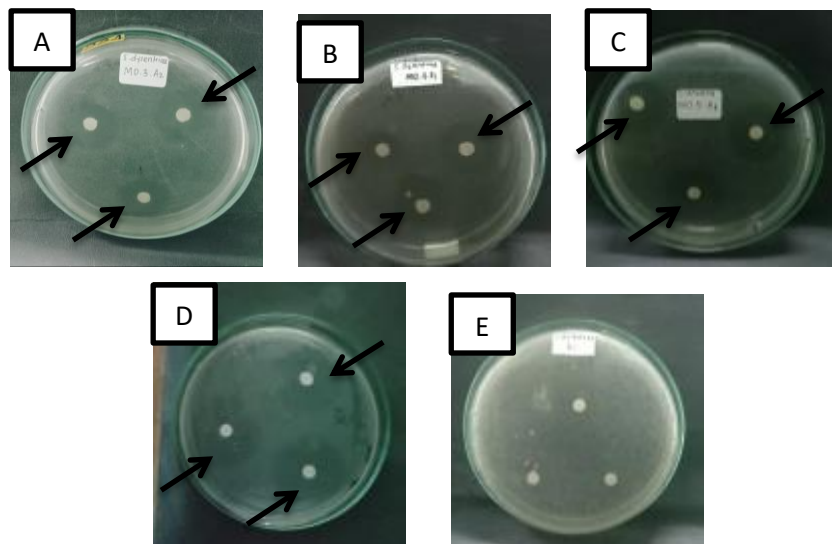
Pengujian aktivitas antibakteri dari bakteri *Shigella dysenteriae* juga membentuk zona bening (Gambar 4.4), dimana isolat MO.3.A2 menghasilkan diameter 15,67 mm, isolat MO.4.B1 dengan diameter 15,35 mm, isolat MO.5.A4 dengan diameter 15,17 mm, dimana ketiga diameter tersebut lebih kecil dibanding diameter kontrol positif yaitu sebesar 26,13 mm dan kontrol negatif tidak

menghasilkan zona hambat. Aktivitas penghambatan ketiga isolat tersebut dikategorikan kuat karena berdiameter antara 10-20 mm, sedangkan kontrol positif dikategorikan sangat kuat dengan diameter >20 mm.



Gambar 4.2 Zona hambat uji aktivitas antibakteri pada bakteri *S.aureus*

Keterangan : A= MO.3.A2; B=MO.4.B1; C=MO.5.A4; D=Kontrol positif(kloramfenikol);
E= Kontrol negatif (akuades steril)



Gambar 4.3 Zona hambat uji Aktivitas antibakteri pada bakteri *S.dysenteriae*

Keterangan: A= MO.3.A2; B=MO.4.B1; C=MO.5.A4; D=kontrol positif (kloramfenikol);
E= kontrol negatif (akuades steril)

Hasil pengamatan menunjukkan aktivitas penghambatan pada bakteri *S. dysenteriae* lebih besar dibandingkan pada bakteri *S. aureus*. Zona hambat terbesar pada *S. dysenteriae* mencapai diameter 15,67 mm pada isolat MO.3.A2 dan ketiga isolat termasuk kategori kuat. Sedangkan zona hambat terbesar pada *S. aureus* yaitu 12,63 mm pada isolat MO.4.B1 dengan kategori kuat dan dua lainnya kategori sedang. Hal itu dikarenakan susunan dinding peptidoglikan pada Gram positif lebih tebal sehingga lebih sulit ditembus senyawa metabolit. Hal itu didukung oleh Malanovic & Lohner (2016) yang menyatakan bakteri Gram positif tersusun atas lapisan dinding yang lebih tebal, yaitu peptidoglikan (PGN) yang tertiri secara bergantian antara unit disakarida *N-asetil glukosamin* dengan asam *N-asetil muramat* (NAM-NAG) yang terhubung menyilang pada rantai samping pentapeptida sekitar 40-80 lapisan dan merupakan senyawa multigigadalton yang mencapai 90% berat kering dari Gram positif. Tebal polisakaridanya sekitar 20-80 nm yang tersusun atas teikoat, asam teikuronat dengan atau tanpa envelope yang merupakan protein dan bermacam-macam polisakarida.

S. aureus memiliki komposisi protein permukaan yang dapat berubah secara signifikan mengikuti pola pertumbuhan dan kebutuhan sel. Struktur peptidoglikan pada *S. aureus* juga memiliki *crosslink* peptida dengan asam amino yang banyak pada rantai glikan yang mengakibatkan ekstrak bakteri endofit sulit memasuki sel bakteri untuk menghambat pertumbuhannya (Silhavy, Daniel & Suzanne, 2010). Bahkan apabila lapisan membran mengalami kerusakan *irreversible*, sel bakteri tidak mudah hancur karena adanya peptidoglikan yang berfungsi untuk mempertahankan kondisi sel untuk waktu yang lama. Sehingga

lapisan dinding sel sangat mempengaruhi aktivitas senyawa metabolit dalam menghambat *S. aureus*.

Perbedaan luas zona hambat yang terbentuk pada setiap bakteri endofit dipengaruhi oleh kemampuan yang berbeda dalam memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga isolat MO.4.B1 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan kategori kuat. Oktavia & Pujiyanto (2018) menyebutkan bahwa diameter zona hambat dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti kandungan metabolit, konsentrasi bakteri uji, konsentrasi bakteri endofit, waktu inkubasi, suhu, pH dan media yang digunakan.

Ketiga isolat bakteri endofit tersebut memiliki spektrum penghambatan yang luas, karena dapat menghambat bakteri uji dari golongan Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif yaitu *Shigella dysenteriae*. Hasil diameter penghambatan menunjukkan isolat bakteri MO.4.B1 memiliki penghambatan yang kuat terhadap kedua bakteri uji. Brooks, *et al.* (2005) menyatakan mekanisme penghambatan antibiotik dikategorikan menjadi dua, *broad spectrum* dan *narrow spectrum*. *Broad spectrum* merupakan jenis antibiotik dengan spektrum luas yang dapat menghambat atau membunuh bakteri Gram Positif dan Gram negatif. Antibiotik dengan *broad spectrum* meliputi tetrasiklin, kloramfenikol dan ampicilin. Sedangkan *narrow spectrum* merupakan jenis antibiotik dengan spektrum sempit karena hanya menghambat salah satu jenis bakteri. Antibiotik dengan *narrow spectrum* meliputi penisilin, basitrasina, streptomisin dan beberapa jenis lainnya.

Adanya aktivitas antibakteri diduga karena kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit. Beberapa jenis metabolit yang dihasilkan tersebut mempunyai aktivitas antibakteri dengan mekanisme penghambatan yang berbeda namun sinergis. Efektivitas senyawa metabolit untuk obat-obatan dikarenakan terjadi sinergitas antar senyawa metabolit sehingga akan menghasilkan aktivitas yang lebih maksimal dan potensi toksisitas pada senyawa tunggal dapat menurun. Sinergitas antar senyawa tersebut juga diklaim mampu mencegah timbulnya resistensi obat dan menurunkan efek samping yang tidak diinginkan (Poongothai & Rajan, 2013).

Adanya zona hambat yang terbentuk menunjukkan terjadinya proses penghambatan pertumbuhan bakteri endofit yang diduga disebabkan adanya senyawa metabolit pada ekstrak kasar bakteri endofit (Abubakar, Fatimawali, & Yamlean, 2019). Antibiotik merupakan senyawa metabolit yang diproduksi oleh mikroorganisme melalui jalur metabolisme atau dikarenakan keberadaan enzim yang tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pertahanan sel tanaman. Antibiotik adalah substansi yang pada konsentrasi sedikit mampu menghambat atau membunuh mikroorganisme lain. Antibakteri yang merupakan antibiotik juga mampu mempertahankan kehidupan mikroba itu sendiri dari lingkungan yang tidak menguntungkan (Schaad & Jones, 2001).

Penggunaan kontrol positif berfungsi sebagai kontrol untuk mengetahui respon penghambatan atau kematian bakteri uji memang benar dikarenakan penggunaan obat kimia (Pollack, *et al.*, 2009). Kontrol positif yang digunakan adalah larutan kloramfenikol dengan konsentrasi 50 mg/ 50 mL akuades steril.

Kloramfenikol merupakan senyawa kimia yang awalnya diproduksi oleh *Streptomyces venezuelae* dan untuk penggunaan sekarang telah diproduksi secara sintetik dan bersifat bakteriostat. Cara kerja kloramfenikol dengan menghambat proses sintesis protein pada mikroorganisme secara kuat. Sehingga dapat mengganggu proses penempelan asam amino pada rantai peptida di unit 50S pada ribosom yang dapat mengacaukan sistem kerja peptidil transferase (Jawetz & Adelberg, 2005). Kloramfenikol memiliki spektrum luas yang dapat menghambat bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Sehingga pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif dan *Shigella dysenteriae* yang merupakan bakteri Gram negatif.

Kontrol negatif berfungsi untuk memastikan bahwa aktivitas penghambatan tidak dipengaruhi oleh senyawa lain yang berasal dari media atau faktor lainnya. Kontrol negatif yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah akuades steril. Hasil kontrol negatif baik untuk bakteri *S. aureus* maupun *S. dysenteriae* tidak menghasilkan zona bening yang mengindikasikan bahwa kontrol yang digunakan tidak mempengaruhi hasil pada uji antibakteri. Handayani, *et al.* (2019) menyatakan bahwa zat yang dapat digunakan sebagai kontrol negatif adalah suatu pelarut yang mampu menjadi pengencer majemuk. Sehingga larutan tersebut dapat digunakan sebagai pembanding yang tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri.

Hasil penelitian tersebut menjadi salah satu proses berfikir terhadap penciptaan Allah. Sebagaimana firman Allah dalam Q.S.Ali-Imran (3):191 sebagai berikut:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ
وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata) “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan ini sia-sia” Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari adzab neraka”. (Q.S.Ali-Imran (3): 19).

Kata *وَيَتَفَكَّرُونَ* artinya *memikirkan* dan kata *فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ* artinya tentang penciptaan langit dan bumi. Ayat tersebut menjelaskan tentang orang-orang yang berfikir dan selalu mengingat Allah dalam kondisi apapun, baik ketika berdiri, duduk maupun berbaring. Mereka yang selalu memikirkan tentang segala ciptaan Allah SWT. Al-Qurthubi (2008) menyebutkan bahwa pada ayat di atas Allah menyerukan setiap makhluknya untuk menyaksikan, menelaah dan mengagumi ciptaan-Nya. Dimana segala apapun yang Allah ciptakan pasti membawa manfaat dan tidak akan menjadi sia-sia. Hal yang dapat disimpulkan dari penjelasan ayat tersebut adalah setiap apapun yang ada di langit maupun bumi dapat dimanfaatkan, termasuk keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tumbuhan yang memiliki senyawa metabolit untuk aktivitas antibakteri.

Imam Bawani (2002) menambahkan secara tekstual, ayat di atas memiliki makna tentang penciptaan alam semesta dengan isinya termasuk hukum-hukum yang tertera di dalamnya memiliki rahasia-rahasia. Apabila dikaitkan dengan adanya mikroorganisme, maka tentunya Allah telah memberikan hikmah dan manfaat atas segala yang Allah ciptakan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diuraikan diatas, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil pengamatan karakteristik secara makroskopis isolat bakteri endofit daun kelor secara umum berwarna putih, berbentuk bulat, bertepi rata dan permukaan datar, sedangkan secara mikroskopis bakteri endofit termasuk bakteri Gram positif dan berspora.
2. Skrining fitokimia ekstrak bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menunjukkan bahwa isolat MO.4.B1 dan MO.5.A4 positif mengandung semua senyawa metabolit yang diuji, yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin dan saponin. Sedangkan untuk isolat lainnya hanya mengandung beberapa senyawa metabolit.
3. Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan isolat MO.3.A2, MO.5.A4 dan MO.4.B2 mampu menghambat dengan kategori sedang hingga kuat dengan diameter rata-rata secara berurutan yaitu 6,44 mm, 8,22 mm dan 12,63 mm. Sedangkan daya hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara berurutan 15,67 mm, 15,17 mm dan 15,35 mm yang ketiganya termasuk kategori kuat.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka saran untuk peneliti selanjutnya adalah:

1. Perlu adanya penelitian lanjut secara molekuler untuk mengetahui jenis isolat bakteri endofit secara spesifik.
2. Perlu adanya penelitian lanjut untuk aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen lainnya.
3. Perlu adanya penelitian lanjut untuk mengetahui nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum).

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, P. M. S., Fatimawali, & Yamlean, P. V. Y. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K . Schum) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson. *Pharmacon*, 8(1), 11–21.
- Adji, D., Zuliyanti, & Herny, L. (2007). Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah, Otoklaf, dan Ozon terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *J. Sain Vet.*, 25(1), 17–24. <https://doi.org/10.22146/jsv.275>
- Afifurrahman, A., Samadin, H. K., & Aziz, S. (2014). Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4), 266–270.
- Agustie, A. W. D., & Samsumaharto, R. A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 6(2).
- Ainurrochmah, A., Ratnasari, E., & Lisdiana, L. (2013). Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *Jurnal LenteraBio*, 2(3), 233–237.
- Ajizah, A. (2004). Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L . *Bioscientiae*, 1(1), 31–38.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), 487–491. <https://doi.org/10.1093/jac/48.4.487>
- Al-Qurthubi. (2008). *Tafsir Al-Qurthubi diterjemahkan oleh Asmuni*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Anggraeni, N., & Saputra, O. (2016). Khasiat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penyembuhan *Acne vulgaris*. *Majoirity*, 5(1), 76–79.
- Anwar, F., Sajid, L., Muhammad, A., & Anwarul, H. G. (2007). *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17–25. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Aryani, P., Kusdiyantini, E., & Supriyadi, A. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Daun Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dan Metabolit Sekundernya yang Berpotensi sebagai Antibakteri. *Jurnal Akademika Biologi*, 9(2), 20–28.

- Asmara, A. P. (2017). Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Metanol Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers). *Al-Kimia*, 5(1), 48–59. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2856>
- Asy-Syaukani, I. (2008). *Tafsir Fathul Qadir (Tahqiq dan Takhrij: Sayyid Ibrahim)*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Bacon, C. W., & Hinton, D. M. (2006). *Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche, Its Occupants and Its Utility* (P.-A. Bacteria, ed.). Netherland: Springer.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barsyaif, U. A. (2018). *Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96%, Etil Asetat, Kloroform, dan N-Heksan Buah Jambu Wer (Prunus persica Zieb&Zuee) terhadap Bakteri Shigella dysenteriae*. UIN Malang.
- Bawani, I. (2002). *Cendekiawan Muslim dalam Perspektif Islam*. Surabaya: PT Bina Ilmu.
- Bergey's. (2005). *Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University.
- Bhore, S. J., & Sathisha, G. (2010). Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-Like Compounds: Crude Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria Is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 345–352.
- Brader, G., Compant, S., Mitter, B., Trognitz, F., & Sessitsch, A. (2014). Metabolic Potential of Endophytic Bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 27, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.012>
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2005). *Medical Microbiology*. New York: McGraw-Hill Companis, Inc.
- Cheeke, P. R. (2001). Actual and Potential Applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* Saponins in Human and Animal Nutrition. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, 13. <https://doi.org/10.2527/jas2000.00218812007700es0009x>
- Cowan, M. M. (1999). *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Oxford: Miami University.
- Cowan, Marjorie Murphy. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>.

- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). *American Society of Plant Physiologists*, 1250–1318.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Darsana, I. G. O., Besung, I. N. K., & Mahatmi, H. (2012). Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara in Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), 337–351.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (2009). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 22(4), 1–7.
- Desriani, D., Safira, U. M., Bintang, M., Rivai, A., & Lisdiyanti, P. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(2), 89–93. Retrieved from <http://jurnal.fk.unand.ac.id/index.php/jka/article/view/33/28>
- Dima, L. L. R. ., Farimawali, & Lolo, W. A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*, 5(2), 282–289.
- Djide, M. N., & Sartini. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbit Unhas.
- Djumaati, F., Yamlean, P. V. Y., & Lolo, W. A. (2018). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk .) dan Uji Aktivitas Antibakterinya terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(1), 22–29.
- El-Deeb, B., Fayez, K., & Gherbawy, Y. (2013). Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from *Plectranthus tenuiflorus* Medicinal Plant in Saudi Arabia Desert and Their Antimicrobial Activities. *Journal of Plant Interactions*, 8(1), 56–64. <https://doi.org/10.1080/17429145.2012.680077>
- Elita, A., Saryono, S., & Christine, J. (2013). Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *J. Ind. Che Acta*, 3(2), 56–62.
- Engelkrik, P. G. (2011). *Burton's Microbiology For The Health Sciences 9th Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T. (2016). Indentifikasi Infeksi Multidrug- Resistant Organisms (MDRO) pada Pasien yang Dirawat Di Bangsal Neonatal Intensive Care Unit (Nicu) Rumah Sakit. *Jurnal Manajemen Dan Pelayanan Farmasi*, 6(3), 243–248.

- Estrella, C. p., Jacinto, B., III, V. M., Grace, Z. D., & Michelle, A. T. (2000). A Double-Blind, Randomized Controlled Trial on The Use of Malunggay (*Moringa oleifera*) for Augmentation of The Volume of Breastmilk Among Non-Nursing Mothers of Preterm Infants. *The Journal of Pediatrics*, 49(1), 3–6.
- Fahey, J. W. J. (2005). *Moringa oleifera*: A Review of The Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. *Trees for Life Journal*, 1(5), 1–15.
- Gaikwad, S. B., Krishna Mohan, G., & Reddy, K. J. (2011). *Moringa oleifera* Leaves: Immunomodulation in Wistar Albino Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(SUPPL. 5), 426–430.
- Gunawan, I. W. A. (2009). *Potensi Buah Pare (Momordica charantia L.) sebagai Antibakteri Salmonella thypimurium*. Universitas Mahasaraswati.
- Guo, B., Dai, J. R., Ng, S., Huang, Y., Leong, C., Ong, W., & Carté, B. K. (2000). Cytonic Acids A and B: Novel Tridepside Inhibitors of hCMV Protease from The Endophytic Fungus *Cytospora* Species. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy*, 63(5), 602–604. <https://doi.org/10.1021/np990467r>
- Handayani, D. S., Pranoto, Saputra, D. A., & Marliyana, S. D. (2019). Antibacterial Activity of Polyeugenol Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 578(1), 13–19. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/578/1/012061>
- Hasanah, N., & Dori, R. S. (2019). Daya Hambat Ekstrak Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Metode Cakram. *Edu Masda Journal*, 3(2), 115–122.
- Heyman, D. L. (2009). *Encyclopedia of Microbiology 3th Edition*. San Diego: State University San Diego.
- Hiremath, P. S., & Bannigidad, P. (2011). Automated Gram-Staining Characterisation of Bacterial Cells Using Colour and Cell Wall Properties. *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*, 7(3), 257–265. <https://doi.org/10.1504/IJBET.2011.043298>
- Hung, P. Q., & Annapurna, K. (2004). Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria in Soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice*, 12, 92–101.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.

- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Indrawati, N. L., & Razimin. (2013). *Bawang Dayak si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Intan, S. (2013). Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annuum* L var. *chinensis*) Dan Profil Klt Bioautografi (Vol. 17).
- Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl.) H. Rob.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *JKK*, 7(1), 36–43.
- Isnan, W., & Nurhaedah, M. (2017). Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Bagi Masyarakat. *Info Teknis EBONI*, 14(1), 63–75.
- ITIS, I. T. I. S. (2011). *Moringa oleifera* L. Retrieved from Taxonomy Serial No 503874 website: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503874#null.
- ITIS, I. T. I. S. (2012). *Staphylococcus aureus*. Retrieved from Taxonomy Serial No 369 website: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null.
- Jalaluddin, M. (2015). *Tafsir Jalalain*. Surabaya: eLBA Fitra Mandiri Sejahtera.
- Jalgaonwala, R. E., Mohite, B. V., & Mahajan, R. T. (2010). Evaluation of Endophytes for Their Antimicrobial Activity from Indigenous Medicinal Plants Belonging to North Maharashtra Region India. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research*, 1(5), 136–141.
- Jawetz, E. J. M., & Adelberg, E. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Juliantina, F. R., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. (2010). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 1(1).
- Jutono, S., Hartadi, J., Kabirun, S., Suhadi, S., & Soesanto. (1973). *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377–392. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)82199-7](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)82199-7)

- Karsinah, Lucky, H. M., & Suharto, M. (1994). *Batang Negatif-Gram dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Bina Aksara.
- Krisnadi, A. D. (2015). Kelor Super Nutrisi. In *Kelor Super Nutrisi*. Blora.
- Kursia, S., Aksa, R., & Nolo, M. M. (2018). *Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.)*. 4(1), 30–33.
- Larran, S., Mónaco, C., & Alippi, H. E. (2001). Endophytic Fungi in Leaves of *Lycopersicon esculentum* mill. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2), 181–184. <https://doi.org/10.1023/A:1016670000288>
- Lee, J. C., Lobkovsky, E., Pliam, N. B., Strobel, G., & Clardy, J. (1995). Subglutinols A and B: Immunosuppressive Compounds from The Endophytic Fungus *Fusarium subglutinans*. *Journal of Organic Chemistry*, 60(22), 7076–7077. <https://doi.org/10.1021/jo00127a001>
- Lenny, S. (2006). *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida; Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Medan: Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, W., Suryanto, D., & Munir, E. (2017). Isolasi dan Uji Antifungal Ekstrak Metanol, Etil Asetat dan N-Heksana Bakteri Endofit dari Akar Tumbuhan Mentigi (*Vaccinium varingaefolium*). *Jurnal Biosains*, 3(3), 167–177. <https://doi.org/10.24114/jbio.v3i3.9794>
- Listya, M., Sagita, D., & Nur, A. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Daun Cendana (*Santalum album* Linn.). *Riset Informasi Kesehatan*, 6(1), 58–63.
- Lu, H., Zou, W. X., Meng, J. C., Hu, J., & Tan, R. X. (2000). New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, 151, 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00199-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00199-5)
- Ma'ruf, M., Mawaddah, G. A., Eriana, N. N. A., Swari, F. I., Aslamiyah, S., & Lutpiatina, L. (2018). Madu Lebah Kelulut (*Trigona* Spp.) dalam Aktifitas terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Resisten. *Jurnal Skala Kesehatan*, 9(1). <https://doi.org/10.31964/jsk.v9i1.151>
- Madigan, M. J., Martinko, D., D, S., & D, C. (2012). *Brock: Biology of Microorganisms 13th Ed*. San Francisco: Pearson Education Inc.
- Mahmudah, F. L., & Atun, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Temukunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(1), 59–66.

- Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Gram-Positive Bacterial Cell Envelopes: The Impact on The Activity of Antimicrobial Peptides. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1858(5), 936–946. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.11.004>
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Mawada, R. (2008). *Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB*. Institute Pertanian Bogor.
- McNeil, B., & Harvey, L. M. (2008). *Practical Fermentation Technology*. England: John Wiley & Sons.
- Monalisa, D., Handayani, T., & Sukmawati, D. (2011). Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elphantopus scaber* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Bioma*, 9(2), 13–20.
- Moyo, B., Patrick, J. M., Arnold, H., & Voster, M. (2011). Nutritional Characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925–12933. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1599>
- Mubarak, Z., Chismirina, S., & Daulay, H. H. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami Dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), 175–186.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367. <https://doi.org/10.24817/jkk.v32i2.2728>
- Munfaati, P. N., Ratnasari, E., & Trimulyono, G. (2015). Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro In Vitro Antibacterial Compound Activity of Meniran Herbs (*Phyllanthus niruri* Extract on the Growth of Shigella. *LenteraBio*, 4(1), 64–71.
- Nafianti, S., & Sinuhaji, A. B. (2005). Resistensi Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*, 7(1), 39. <https://doi.org/10.14238/sp7.1.2005.39-44>.
- Nair, R., Hanson, B. M., Kondratowicz, K., Dorjpurev, A., Davaadash, B., Enkh TUYA, B., Smith, T. C. (2013). Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* from Ulaanbaatar, Mongolia. *PeerJ*, 1, e176. <https://doi.org/10.7717/peerj.176>.

- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2(2), 128–132.
- Ningsih, D. R., Zufahair, & Kartika, D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Molekul*, 11(1), 101–111.
- Nofiani, R. (2008). Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2), 120–125. <https://doi.org/10.31258/jnat.10.2.120-125>
- Novel, S. S., Wulandari, A. P., & Safitri, R. (2010). *Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: CV Trans Info Medika.
- Noverita, Fitria, D., & Sinaga, E. (2009). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 171–176.
- Nugroho, A. (2017). *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Odoro, I., Ellis, W. O., & Owusu, D. (2008). Nutritional Potential of Two Leafy Vegetables: *Moringa oleifera* and *Ipomoea batatas* Leaves. *Scientific Research and Essays*, 3(2), 057–060.
- Oktavia, N., & Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J. Berkala Bioteknologi*, 1(1), 6–12.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Terjemahan Hadioetomo*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2013). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Terjemahan Hadioetomo*. Jakarta: UI Press.
- Pollack, R. A., Lorraine, F., Walter, M. R., & Ronald, M. (2009). *Laboratory Exercises in Microbiology Third Edition*. USA: John Wiley & Sons.
- Poongothai, P., & Rajan, S. (2013). Antibacterial Properties of *Mangifera indica* Flower Extracts on Uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 2(12), 104–111.
- Prasaja, D., Darwis, W., & Astuti, S. (2014). Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Kulit Batang dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Antibakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 12(2), 83–91. <https://doi.org/10.14710/jil.12.2.83-91>.

- Pratama, Y., Sarjono, P. R., & Mulyani, N. S. (2015). Skrining Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Berfungsi sebagai Antidiabetes dari Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 18(2), 73–78. <https://doi.org/10.14710/jksa.18.2.73-78>
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Priharta, A. A. Y. D. (2008). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dalam Batang Tanaman Artemisia annua L. yang Diuji Potensi Antibakterinya terhadap Eschericia coli dan Staphylococcus aureus*. Universitas Sanata Dharma.
- Pringgenies, D., Jumiaty, M., & Ridho, A. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Nudibranch Polka-Dot (*Jorunna funebris*) (Gastropoda: Moluska) terhadap Bakteri Multidrug Resistant (MDR). *Ilmu Kelautan*, 20(4), 195–206. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.195-206>
- Putra, I. W. D. P., Dharmayudha, A. A. G. O., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 464–473.
- Rachmawati, A., Agung, S., & Endang, K. (2017). Identifikasi Senyawa Bioaktif pada Isolat Bakteri Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Agensi Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Biologi*, 6(3), 1–11.
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 113–126. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i3.3388>.
- Radji, M. (2009). *Buku Ajar Mikrobiologi (Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Radu, S., & Kqueen, C. Y. (2002). Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medicinal Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Sciences : MJMS*, 9(2), 23–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22844221> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3406204>.
- Rahayu, S., & Rahayu, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(2), 203–210.
- Rastina, Sudarwanto, M., & Wientarsih, I. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(2), 185–188.
- RI, K., & LIPI. (2015). *Jasad Renik dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.

- Rijayanti, R. P. (2014). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Magnifera foetida L.) terhadap Staphylococcus aureus secara In Vitro*. Universitas Tanjungpura.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A. D. S., Hinton, J. C. D. (2012). Lag Phase is a Distinct Growth Phase that Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. *Journal of Bacteriology*, 194(3), 686–701. <https://doi.org/10.1128/JB.06112-11>
- Saifudin, A. (2014). Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. In *Deepublish*.
- Schaad, N. ., & Jones, J. . (2001). *Plant Pathogenic Bacteria Third Edition*. Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Seghers, D., Wittebolle, L., Top, E. M., Verstraete, W., & Siciliano, S. D. (2004). Impact of Agricultural Practices on the *Zea mays* L. Endophytic Community. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1475–1482. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1475-1482.2004>
- Setiawati, A. (2015). Peningkatan Resistensi Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin Menggunakan Metode Adaptif Gradual. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(3), 190–194.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Silhavy, T. J., Daniel, K., & Suzanne, W. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., & Sukiman, H. (2007). Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berk. Penel. Hayati*, 13(1), 85–90. <https://doi.org/10.23869/bphjbr.13.1.200714>
- Sinaga, E., Noverita, & Fitria, D. (2009). Daya Antibakteri Jamur Endofit yang Diisolasi dari Daun dan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* Sw.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 161–170.
- Soleha, T. U. (2015). Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *JukeUnila*, 5(9), 119–123.

- Souza, I., Napoleão, T., Sena, K., Paiva, P., Araújo, J., & Coelho, L. (2016). Endophytic Microorganisms in Leaves of *Moringa oleifera* Collected in Three Localities at Pernambuco State, Northeastern Brazil. *British Microbiology Research Journal*, 13(5), 1–7. <https://doi.org/10.9734/bmrj/2016/24722>
- Spellman, F. R., & Stoudt, M. L. (2013). *Environmental Sciences: Principles and Practices*. Maryland, Rowman & Littlefield.
- Strobel, G. A. (2002). Microbial Gifts From Rain Forests. *Can. J. Plant Pathol*, 24, 14–20.
- Strobel, G. A., Miller, R. V., Martinez-Miller, C., Condrón, M. M., Teplow, D. B., & Hess, W. M. (1999). Cryptocandin, A Potent Antimycotic from The Endophytic Fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, 145(8), 1919–1926. <https://doi.org/10.1099/13500872-145-8-1919>
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491–502. <https://doi.org/10.1128/mmbr.67.4.491-502.2003>
- Sudarwati, D., & Woro, S. (2016). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Kelor dan Bunga Rosella. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(1), 1–4.
- Suharyono, Rizal, S., Nurainy, F., & Kurniadi, M. (2012). Pertumbuhan *L. casei* pada Berbagai Lama Fermentasi Minuman Sinbiotik dari Ekstrak Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr). *Teknologi Hasil Pertanian*, 5(2), 117–128.
- Sulistijowati, R. (2012). Potensi Filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai Biopreservatif pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. *Ijas*, 2(2012), 58–63.
- Sulistiyan, 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>
- Suriaman, E., & Solikhatul, K. (2017). Skrining Aktivitas Antibakteri Daun Kelor (*Moringa oleifera*), Daun Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Blume), dan Amoxicilin terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biota*, 3(1), 21–25. <https://doi.org/10.19109/biota.v3i1.952>
- Susilowati, D. N., Ginanjar, H., Yuniarti, E., Setyowati, M., & Roostika, I. (2018). Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng sebagai Penghasil Senyawa Steroid dan Antipatogen. *Jurnal Littri*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.21082/littri.v24n1.2018.1-10>

- Syahrurachman, A., Chatim, A., Soebandrio, A., & Karuniawati, A. (1993). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Tabarez, M. R. (2005). *Discovery of The New Antimicrobial Compound 7-O-Malonyl Macrolactin A*. Jerman: Universitat Carolo-Wilhelmina.
- Tan, R. X., & Zou, W. X. (2001). Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat. Prod. Rep*, 16, 448–459.
- Tanuwijaya, V. A., Siharta, B. B. R., & Sinung, P. (2015). Produksi Penisilin oleh *Penicillium chrysogenum* dengan Penambahan Fenilalanin. *Universitas Atma Jaya Yogyakarta*.
- Todar, K. (2005). *Online Textbook of Bacteriology*. Madison: University of Wisconsin-Madison.
- Tortora. (2001). *Microbiology in Introduction (International Edition)*. Banjamin: Cummins, Inc.
- Trivedi, P. C., Pandey, S., & Bhadauria, S. (2010). *Text Book of Microbiology*. India: Aavishkar Publishers.
- Tsuneda, A., & Currah, R. S. (2004). *Knufia Endospora, A New Clematiaceous Hyphomycete from Trembling Aspen*. Canada: Tottori Mycological Institute.
- Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., & Fitriasari, P. D. (2018). *Buku Panduan Praktikum Mikrobiologi Umum*. Malang: Jurusan Biologi UIN Malang.
- Valera, M. C., da Silva, K. C. G., Maekawa, L. E., Carvalho, C. A. T., Koga-Ito, C. Y., Camargo, C. H. R., & e Lima, R. S. (2009). Antimicrobial Activity of Sodium Hypochlorite Associated With Intracanal Medication for *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* Inoculated in Root Canals. *Journal of Applied Oral Science*, 17(6), 555–559. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572009000600003>
- Waheeda, K., & Shyam, K. . (2017). Formulation of Novel Surface Sterilization Method and Culture Media for the Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants and its Antibacterial Activity. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 08(02). <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000399>
- Warsa, U. C. (1994). *Kokus Positif Gram dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran (Edisi Revisi)*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Wathan, N., & Imaningsih, W. (2019). Isolasi Jamur Endofit Dari Akar Tumbuhan Seluang Belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz .). *Jurnal Pharmascience*, 06(01), 68–73.
- White, D. (1995). *The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes*. England: Oxford University Press.

- WHO, (World Health Organization). (2005). *Guidelines For The Control of Shigellosis, Including Epidemics Due to (Shigella dysenteriae) type 1*. Switzerland: WHO Press.
- WHO, (World Health Organization). (2016). *Dysenteriae (Shigellosis)*. Retrieved from http://www.who.int/selection_medicines
- Yandila, S., Putri, D. H., & Fifendy, M. (2018). Kolonisasi Bakteri Endofit pada Akar Tumbuhan Andaleh (*Morus macraura* Miq.). *Bio-Site*, 4(2), 61–67. Retrieved from <https://online-journal.unja.ac.id/BST/issue/view/771>
- Yati, S. J., Sumpomo, & Candra, I. N. (2018). Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit pada Daun *Moringa oleifera* L. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2(1), 82–87.
- Yenny, Y., & Herwana, E. (2007). Resistensi Dari Bakteri Enterik: Aspek Global Terhadap Antimikroba. *Universa Medicina*, 26(1), 46–56. <https://doi.org/10.18051/UNIVMED.V26I1.295>
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Dengan Metode Pereaksi Geser. *Al-Kimiya*, 2(1), 9–17. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.346>
- Zulkifli, L., Jekti, D. S. D., Mahrus, Lestari, N., & Rasmi, D. A. C. (2016). Isolasi Bakteri Endofit dari Sea Grass yang Tumbuh di Kawasan Pantai Pulau Lombok dan Potensinya sebagai Sumber Antimikroba terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(2), 80–93. <https://doi.org/10.29303/jbt.v16i2.226>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Nilai OD Bakteri Uji

Nilai OD bakteri dilihat menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 612 nm

No.	Bakteri Uji	Nilai OD
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,144
2.	<i>Shigella dysenteriae</i>	0,111

Lampiran 2. Pengamatan Zona Hambat Antibakteri

1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Rumus Perhitungan Zona Hambat

$$Lz = L_{av} - L_d$$

Keterangan : L_z : diameter zona hambat (mm)

L_{av} : diameter zona hambat dengan kertas saring (mm)

L_d : diameter kertas saring (mm)

No.	Nama Isolat	Zona Hambat			
		U_1 (cm)	U_2 (cm)	U_3 (cm)	Rata-rata (cm)
1.	MO.3.A2	6,23	7,02	6,07	6,44
2.	MO.4.B1	12,09	14,41	11,40	12,63
3.	MO.5.A4	8,48	10,26	5,93	8,22
4.	K(+)	20,01	21,69	21,52	21,07
5.	K(-)	0	0	0	0

2. Bakteri *Shigella dysenteriae*

No.	Nama Isolat	Zona Hambat			
		U_1 (cm)	U_2 (cm)	U_3 (cm)	Rata-rata (cm)
1.	MO.3.A2	15,18	17,05	14,80	15,67
2.	MO.4.B1	16,10	17,10	12,85	15,35
3.	MO.5.A4	16,07	14,07	15,37	15,17
4.	K(+)	24,93	26,40	27,05	26,13
5.	K(-)	0	0	0	0

Lampiran 3. Data Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

1. Data ulangan ke-1

Jam ke-	MO.3. B1	MO.4. A1	MO.3. A1	MO.4. C3	MO.5. A4	MO.4. B1	MO.3. C1	MO.4. B2	MO.3. A2
0	0.10	0.03	0.08	0.05	0.03	0.02	0.01	0.02	0.00
2	0.13	0.11	0.09	0.04	0.08	0.02	0.03	0.01	0.00
4	0.12	0.12	0.15	0.16	0.14	0.03	0.04	0.02	0.02
6	0.15	0.20	0.18	0.17	0.19	0.06	0.05	0.06	0.01
8	0.20	0.25	0.22	0.20	0.22	0.13	0.10	0.13	0.05
10	0.20	0.17	0.18	0.18	0.20	0.14	0.15	0.13	0.02
12	0.23	0.26	0.23	0.20	0.23	0.15	0.11	0.16	0.05
14	0.22	0.27	0.24	0.20	0.23	0.16	0.12	0.19	0.07
16	0.21	0.28	0.24	0.21	0.24	0.17	0.14	0.20	0.09
18	0.24	0.29	0.25	0.24	0.25	0.18	0.15	0.20	0.10
20	0.28	0.32	0.26	0.21	0.27	0.19	0.20	0.23	0.10
22	0.25	0.33	0.27	0.25	0.26	0.20	0.22	0.24	0.11
24	0.13	0.09	0.14	0.12	0.10	0.11	0.02	0.06	0.02
26	-0.03	-0.06	-0.02	-0.02	-0.03	-0.11	-0.11	-0.10	-0.20
28	-0.03	-0.05	0.00	-0.04	-0.01	-0.10	-0.13	-0.10	-0.19
30	-0.02	-0.04	0.00	0.00	-0.01	-0.10	-0.14	-0.09	-0.20
32	-0.02	-0.05	-0.01	0.00	-0.04	-0.08	-0.15	-0.09	-0.20

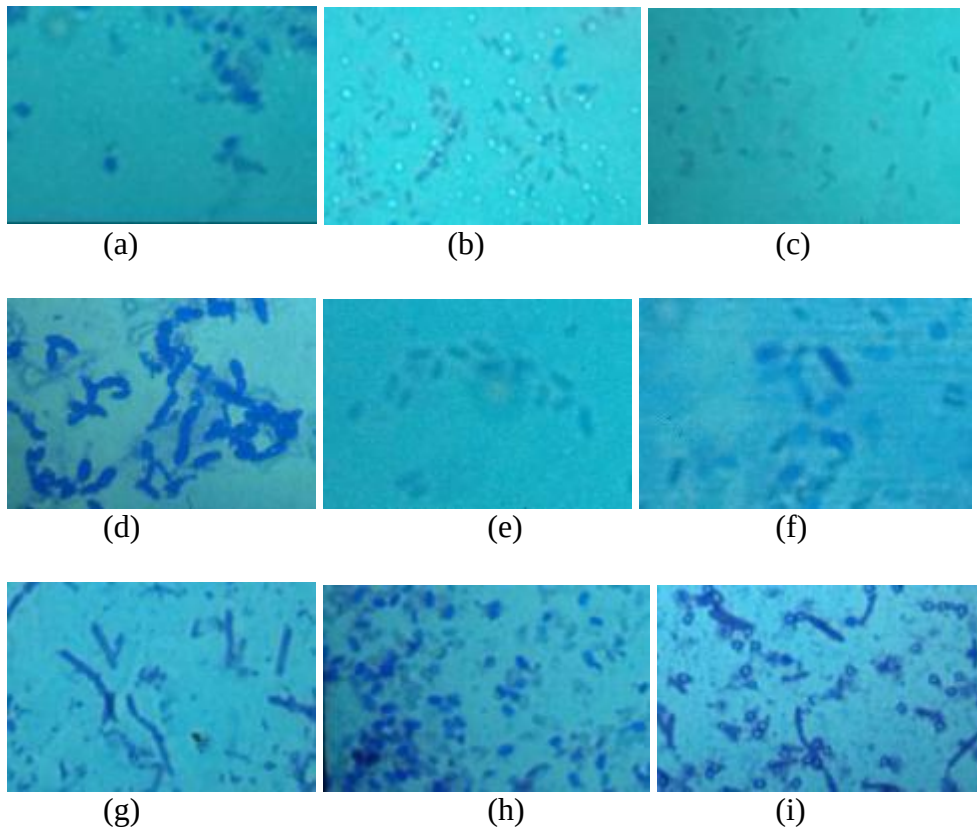
2. Data ulangan ke-2

Jam ke-	MO.3. B1	MO.4. A1	MO.3. A1	MO.4. C3	MO.5. A4	MO.4. B1	MO.3. C1	MO.4. B2	MO.3. A2
0	0.10	0.09	0.10	0.07	0.11	0.04	0.01	0.06	0.00
2	0.14	0.11	0.13	0.06	0.16	0.02	0.07	0.01	0.02
4	0.12	0.20	0.19	0.22	0.22	0.05	0.06	0.04	0.02
6	0.21	0.28	0.22	0.23	0.27	0.12	0.05	0.12	0.03
8	0.22	0.29	0.24	0.26	0.28	0.17	0.14	0.17	0.07
10	0.22	0.21	0.20	0.20	0.22	0.16	0.19	0.13	0.04
12	0.27	0.32	0.29	0.22	0.29	0.21	0.13	0.20	0.07
14	0.24	0.29	0.24	0.20	0.27	0.16	0.14	0.21	0.11
16	0.25	0.32	0.26	0.23	0.26	0.19	0.14	0.20	0.11
18	0.28	0.33	0.27	0.28	0.25	0.20	0.17	0.26	0.10
20	0.30	0.38	0.32	0.23	0.31	0.19	0.22	0.29	0.12
22	0.29	0.35	0.27	0.29	0.28	0.18	0.22	0.26	0.15
24	0.15	0.11	0.18	0.14	0.16	0.11	0.02	0.12	0.02
26	-0.09	-0.08	0.00	-0.02	-0.09	-0.09	-0.19	-0.14	-0.20
28	-0.07	-0.05	0.00	-0.02	-0.05	-0.10	-0.21	-0.12	-0.20
30	-0.02	-0.02	-0.02	0.00	-0.05	-0.08	-0.16	-0.09	-0.24
32	-0.06	-0.04	-0.01	0.00	-0.04	-0.08	-0.17	-0.05	-0.20

3. Data rata-rata

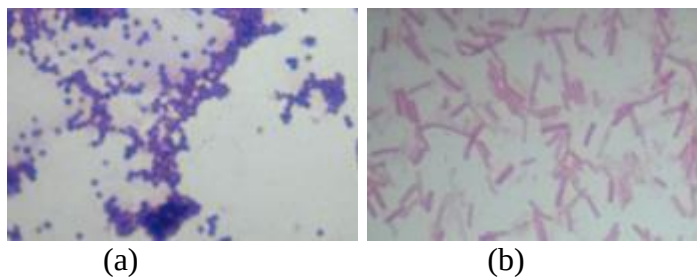
Jam ke-	MO.3. B1	MO.4. A1	MO.3. A1	MO.4. C3	MO.5. A4	MO.4. B1	MO.3. C1	MO.4. B2	MO.3. A2
0	00.05	00.06	00.09	00.06	00.07	00.03	00.01	00.01	00.00
2	00.14	00.11	00.11	00.05	00.12	00.02	00.05	00.04	00.01
4	00.12	00.16	00.17	00.19	00.18	00.04	00.05	00.03	00.02
6	00.18	00.24	00.20	00.20	00.21	00.09	00.05	00.09	00.02
8	00.21	00.27	00.23	00.23	00.23	00.15	00.12	00.15	00.06
10	00.21	00.19	00.19	00.19	00.25	00.15	00.17	00.13	00.03
12	00.25	00.29	00.26	00.21	00.26	00.18	00.12	00.18	00.06
14	00.23	00.28	00.24	00.20	00.25	00.16	00.13	00.20	00.09
16	00.23	00.30	00.25	00.22	00.25	00.18	00.14	00.20	00.10
18	00.26	00.31	00.26	00.22	00.25	00.19	00.16	00.23	00.10
20	00.29	00.35	00.29	00.26	00.29	00.19	00.21	00.26	00.11
22	00.27	00.34	00.27	00.27	00.27	00.19	00.22	00.25	00.13
24	00.14	00.10	00.16	00.13	00.13	00.11	00.02	00.09	00.02
26	-0.06	-0.07	-0.01	-0.02	-0.06	-0.10	-0.15	-0.12	-0.20
28	-0.05	-0.05	-0.00	-0.03	-0.03	-0.10	-0.17	-0.11	-0.18
30	-0.02	-0.03	-0.01	-0.00	-0.03	-0.09	-0.15	-0.09	-0.22
32	-0.04	-0.04	-0.01	-0.00	-0.04	-0.08	-0.16	-0.07	-0.20

Lampiran 4. Gambar Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Daun Kelor



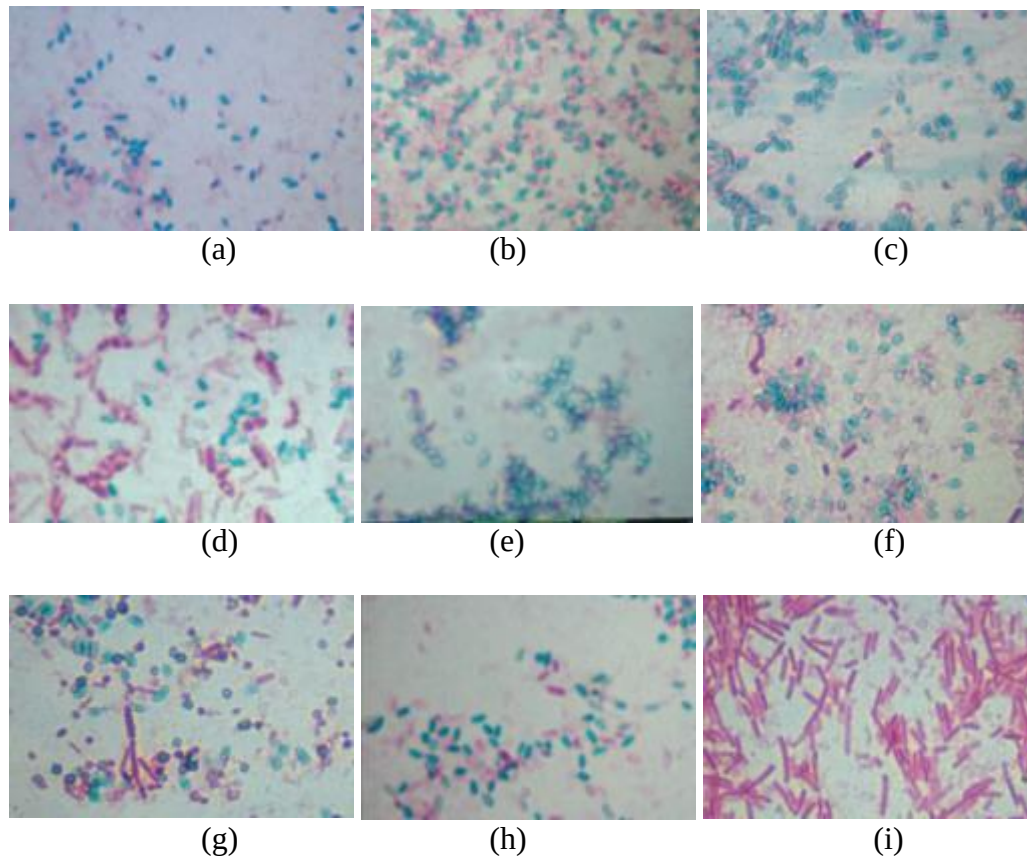
Keterangan: (a) Isolat MO.3.B1; (b) Isolat MO.4.A1; (c) Isolat MO.3.A1;
 (d) Isolat MO.4.C3; (e) Isolat MO.4.B1; (f) Isolat MO.5.A4;
 (g) Isolat MO.3.C1; (h) Isolat MO.4.B2; (i) Isolat MO.3.A2

Lampiran 5. Gambar Pewarnaan Gram Bakteri Uji



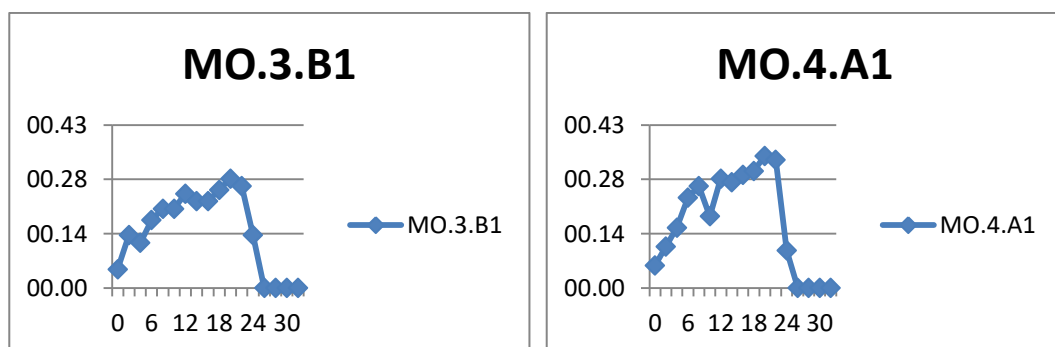
Keterangan: (a) Bakteri *Staphylococcus aureus*; (b) Bakteri *Shigella dysenteriae*

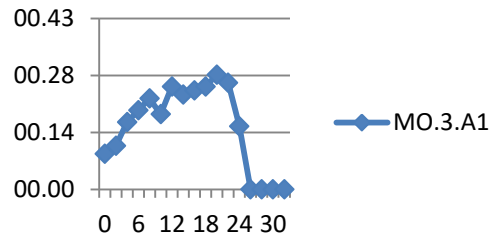
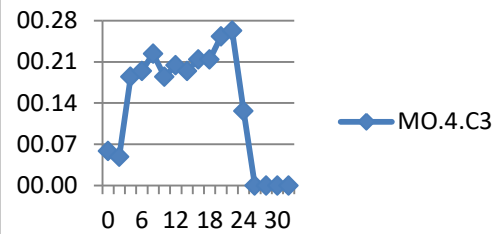
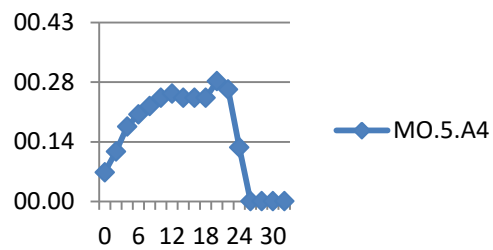
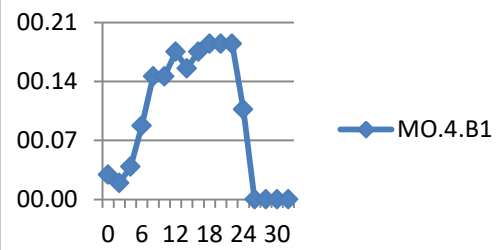
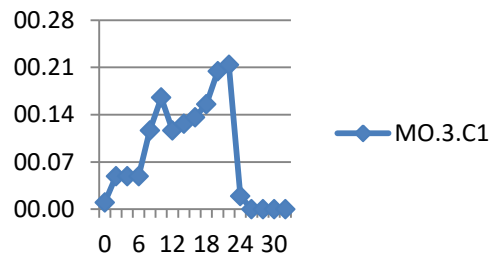
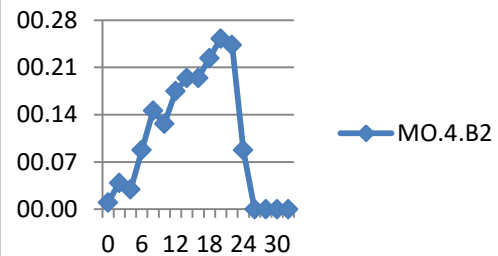
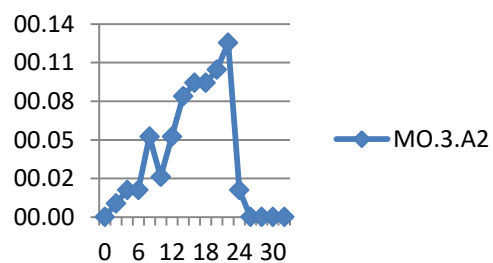
Lampiran 6. Gambar Pewarnaan Endospora Bakteri Endofit Daun Kelor



Keterangan: (a) Isolat MO.3.B1; (b) Isolat MO.4.A1; (c) Isolat MO.3.A1;
 (d) Isolat MO.4.C3; (e) Isolat MO.4.B1; (f) Isolat MO.5.A4;
 (g) Isolat MO.3.C1; (h) Isolat MO.4.B2; (i) Isolat MO.3.A2

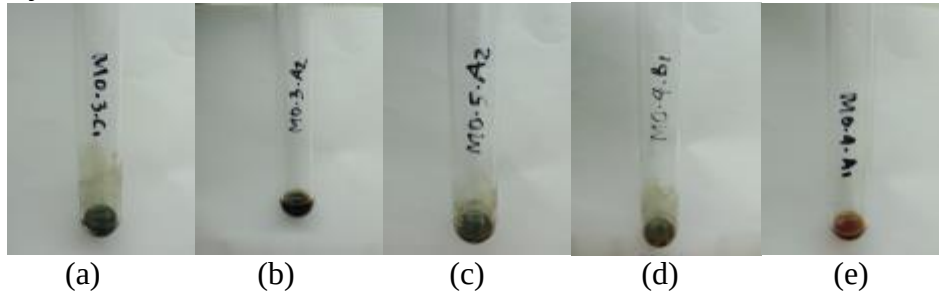
Lampiran 7. Gambar Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Daun Kelor



MO.3.A1**MO.4.C3****MO.5.A4****MO.4.B1****MO.3.C1****MO.4.B2****MO.3.A2**

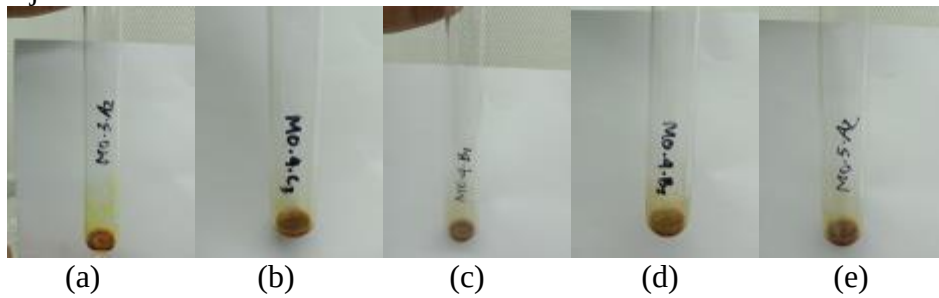
Lampiran 8. Gambar Uji Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit Daun Kelor

1. Uji Fenolik



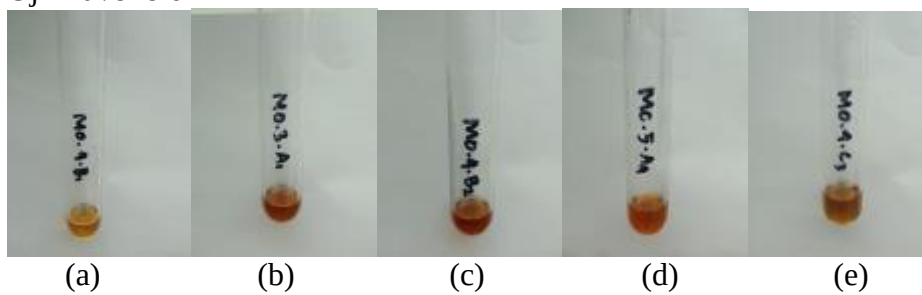
Keterangan: (a) Isolat MO.3.C1; (b) Isolat MO.3.A2; (c) Isolat MO.5.A2; (d) Isolat MO.4.B1; (e) Isolat MO.4.A1

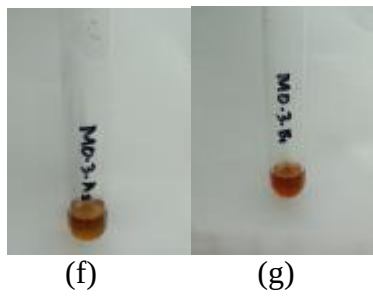
2. Uji Alkaloid



Keterangan: (a) Isolat MO.3.A2; (b) Isolat MO.4.C3; (c) Isolat MO.4.B1; (d) Isolat MO.4.B2; (e) Isolat MO.5.A4

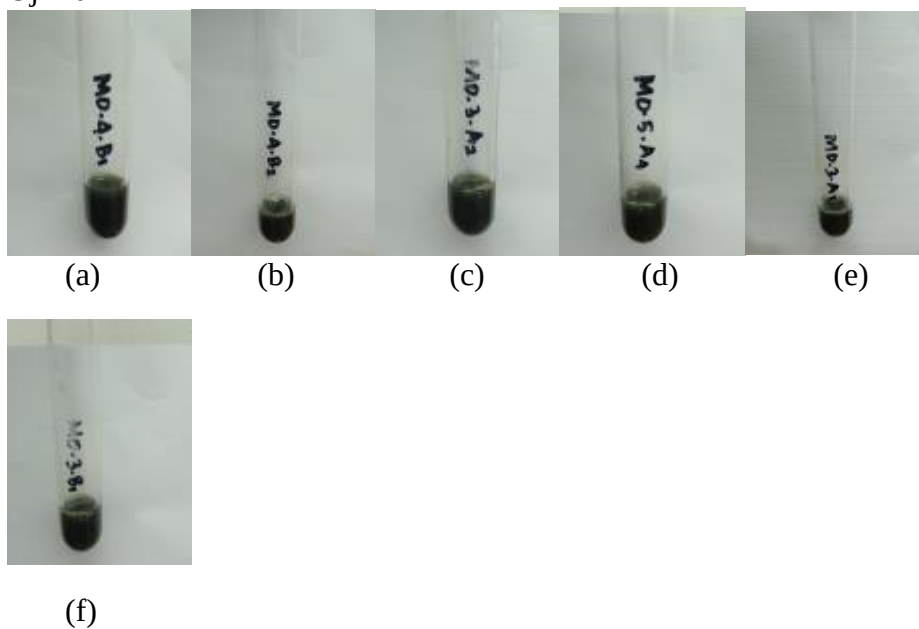
3. Uji Flavonoid





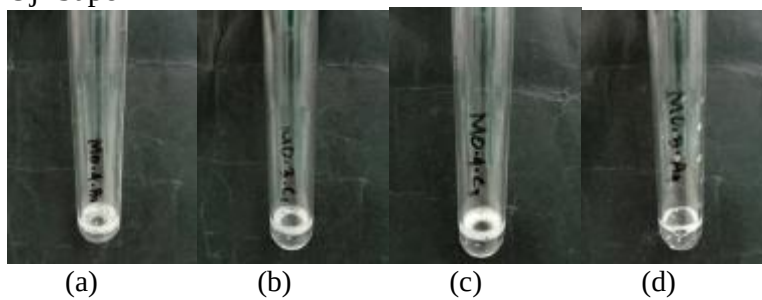
Keterangan: (a) Isolat MO.4.B1; (b) Isolat MO.3.A1; (c) Isolat MO.4.B2
(d) Isolat MO.5.A4; (e) Isolat MO.4.C3; (f) Isolat MO.3.A2;
(g) Isolat MO.3.B1

4. Uji Tanin



Keterangan: (a) Isolat MO.4.B1; (b) Isolat MO.4.B2; (c) Isolat MO.3.A2
(d) Isolat MO.5.A4; (e) Isolat MO.3.A1; (f) Isolat MO.3.B1

5. Uji Saponin



Keterangan: (a) Isolat MO.4.B1; (b) Isolat MO.3.C1; (c) Isolat MO.4.C3;
(d) Isolat MO.3.A2



KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Rika Amalia
NIM : 16620023
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Bayu Agung Prahardika, M.Si
Judul Skripsi : Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	06/12/2019	Judul dan konsep penelitian	Ba
2.	17/01/2020	BAB III	Ba
3.	05/02/2020	Revisi BAB III	Ba
4.	24/02/2020	BAB I	Ba
5.	12/03/2020	Revisi BAB I	Ba
6.	20/03/2020	BAB I, BAB II dan BAB III	Ba
7.	04/04/2020	Revisi BAB I, BAB II dan BAB III	Ba
8.	09/04/2020	Revisi BAB I, BAB II dan BAB III	Ba
9.	16/04/2021	BAB I-V	Ba
10.	03/05/2021	Revisi BAB I-V	Ba
11.	04/05/2021	Revisi BAB I-V	Ba

Pembimbing Skripsi,

Bayu Agung Prahardika, M.Si
NIP. 19900807 201903 1 011

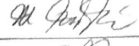
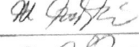
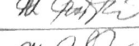
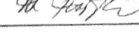
Malang, Mei 2021
Ketua Program Studi,



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP.1974101820033122002

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Rika Amalia
NIM : 16620023
Program Studi : S1 Biologi
Semester : VIII TA 2016
Pembimbing : Mochamad Imamudin, M.A
Judul Skripsi : Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)
yang Berpotensi sebagai Antibakteri

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	03 Februari 2020	Integrasi BAB I dan BAB II	
2	13 Februari 2020	Revisi integrasi BAB I dan BAB II	
3	15 September 2020	Revisi integrasi BAB I dan BAB II	
4	15 September 2020	ACC Integrasi BAB I dan BAB II	
5	22 April 2021	Integrasi BAB I-V	
6	3 Mei 2021	ACC integrasi BAB I-V	

Pembimbing Skripsi,



Mochamad Imamudin, M.A
NIP.1974060220090111010

Malang, 3 Mei 2021
Ketua Jurusan,


Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP.197410182003122002