

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER
JAMUR ENDOFIT DARI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
YANG BERPOTENSI SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh :
CHOIRUL FUADATI
NIM.11620021



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2015**

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER
JAMUR ENDOFIT DARI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
YANG BERPOTENSI SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
CHOIRUL FUADATI
NIM. 11620021 / S-1**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER
JAMUR ENDOFIT DARI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
YANG BERPOTENSI SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh:
CHOIRUL FUADATI
NIM. 11620021

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si.
NIP. 19650509 199903 2 002

Pembimbing II

Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
NIPT. 201402011409

Tanggal, 29 Oktober 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



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

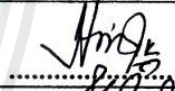
**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF METABOLIT SEKUNDER
JAMUR ENDOFIT DARI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
YANG BERPOTENSI SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI**

SKRIPSI

Oleh:
CHOIRUL FUADATI
NIM. 11620021

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 04 Nopember 2015

Penguji Utama	<u>Ir. Liliek Harianie, A.R, M.P</u> NIP. 1962 0901 1998 03 2 001	
Ketua Penguji	<u>Anik Maunatin, M.P</u> NIPT. 20140201 2 412	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji	<u>Mukhlis Fahrudin, M.S.I.</u> NIPT. 201402011409	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

PERNYATAAN ORIENTALISASI PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Choirul Fuadati

NIM : 11620021

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari
Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi
Sebagai Senyawa Antibakteri

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Oktober 2015

Yang membuat pernyataan,



Choirul Fuadati

NIM. 11620021

MOTTO

“sabar, ikhtiar, tawakkal”

*Terus bergerak ketika mengalami kegagalan
Dan menyerahkan semua kepada Allah SWT*

“Berotak London, Berhati Masjidil Haram”

(Darul 'Ulum)

*Memikirkan, mensyukuri, meyakini, dan mempelajari
apa yang ada di alam untuk kehidupan yang lebih baik
atas ridho Allah SWT*

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُوقِنِينَ ﴿٢٠﴾ وَفِي أَنفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ ﴿٢١﴾

(Adz-Dzariyaat: 20-21)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Hasil dari perjuangan yang luar biasa. Perlahan tapi pasti,
Hingga akhirnya untaian kata tertulis dalam skripsweet ini.
Persembahan yang sesungguhnya tak cukup hanya tertulis dalam kata-kata,
Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan Semesta Alam
Atas segala petunjuk yang telah diberikan,
melalui tanda-tanda kebesaran-Nya.

Shalawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW.

Suri Tauladan bagi Umat Islam untuk selalu menebar kebaikan.
Beribu kasih teruntuk Bapak Ubaidillah Salim dan Ibu Dewi Aisyah,
atas segala pengorbanan dan kucuran doa yang senantiasa mengalir
untuk putra-putrinya.

Ibu Ulfah U. dan bapak Mukhlis F. atas kesabarannya dalam membimbing penulis menyelesaikan skripsi.

Ibu Liliek Harianie AR. Dalam mendampingi penulis selama masa studi
Teman-teman biologi angkatan 2011, terkhusus teman-teman mikrobiologi,
Suka duka perjuangan bersama, baru kita lewati,
Semangat untuk menapaki perjalanan selanjutnya..
Teman-teman LTPLM terima kasih atas dukungannya.

Terima kasih pula Untuk Muhammad Shirooth atas diskusi, dukungan, dan semangatnya.

Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu,
yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini,,

Semoga Allah SWT. melimpahkan Rahmat dan Rahim-Nya kepada mereka semua.

Aamiin Yaa Robbal 'Aalamiin.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu 'alaikum Wr.Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi Sebagai Senyawa Antibakteri”. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada baginda Rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si, sebagai dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar memberikan waktu atas segenap bimbingan, arahan serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT. selalu melimpahkan Rahmat dan Rohim-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
5. Bapak Mukhlis Fakhrudin, M.Si., sebagai dosen pembimbing agama atas kesabaran yang telah diberikan beliau dalam membimbing integrasi agama dan sains kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.

6. Ir. Liliek Harianie, A.R, M.P, dan Anik Maunatin, M.P, sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Ir. Liliek Harianie, A.R, M.P sebagai dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan.
8. Segenap Bapak/Ibu dosen Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi.
9. Bapak Ubaidillah Salim dan Ibu Dewi Aisyah atas kesabaran dan kegigihan dalam mendidik putra-putrinya serta selalu memberikan doa dan kasih sayangnya terhadap penulis.
10. Muhammad Shirooth, S.S.I. yang telah memberikan pelajaran berharga dan bimbingan agamanya dalam terselesaikannya skripsi ini.
11. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2011 terkhusus anak mikrobiologi atas semangat dan bantuannya selama ini.
12. Segenap laboran, mbak Retno, mas Abi, mas Basyar, mbak Zaim, mas Ismail atas segala bentuk bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
13. Seluruh teman-teman santri Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang yang telah banyak memberikan warna kehidupan.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 28 Oktober 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORIENTALISASI PENELITIAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مخلص البحث	xvi
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan	7
1.4. Manfaat	7
1.5. Batasan Masalah	7
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	 9
2.1. Tanaman Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.)	9
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi Temulawak	9
2.1.2. Penyebaran dan Kandungan Temulawak	13
2.1.3. Manfaat Temulawak	19
2.2. Jamur Endofit	20
2.2.1. Pengertian Jamur Endofit	20
2.2.2. Peran Jamur Endofit	22
2.3. Metabolit Sekunder	25
2.3.1. Senyawa Metabolit Sekunder Sebagai Antibakteri	28
2.3.2. Metabolit Sekunder Jamur Endofit Sebagai Antibakteri	32
2.4. Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri	32
2.5. KLT-Bioautografi	35
2.5.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	35
2.5.2. Bioautografi	40
2.6. Bakteri Uji	41
2.6.1. <i>Escherichia coli</i>	41
2.6.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	43
 BAB III. METODE PENELITIAN	 47
3.1. Rancangan Penelitian	47
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	47

3.3. Alat dan Bahan Penelitian	47
3.3.1. Alat Penelitian.....	47
3.3.2. Bahan Penelitian	48
3.3.2.1. Mikroorganisme	48
3.3.2.2. Medium	48
3.3.2.3. Bahan Kimia	48
3.3.2.4. Bahan Habis Pakai	49
3.4. Prosedur Penelitian	49
3.4.1. Pembuatan Media	49
3.4.2. Peremajaan Isolat Jamur Endofit untuk <i>Stock Culture</i>	50
dan <i>Working Culture</i>	
3.4.3. Fermentasi Jamur Endofit	51
3.4.4. Uji Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit	51
3.4.5. Ekstraksi Supernatan Hasil Fermentasi Metabolit	53
Sekunder Jamur Endofit	
3.4.6. Pemisahan Senyawa Antibakteri dengan KLT	53
3.4.7. Bioautografi	54
3.5. Pengolahan dan Analisis Data	55
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	56
4.1. Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Temulawak	58
4.2. Pemisahan Senyawa Antibakteri dengan	64
Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	
4.2.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan Larutan	64
Pengembang kloroform : benzene : etanol 98% (45:45:10)	
4.2.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan Larutan	67
Pengembang N-heksan: etil asetat (10:1)	
4.3. Bioautografi.....	70
BAB V. PENUTUP.....	80
5.1 Kesimpulan	80
5.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN-LAMPIRAN	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Temulawak.....	12
Gambar 2.2 Struktur Kimia Xanthorizol.....	15
Gambar 2.3 Struktur kimia kurkuminoid temulawak	15
Gambar 2.4 Mikroskopik <i>Escherichia coli</i>	42
Gambar 2.5 Mikroskopik <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Gambar 4.1 Hasil pewarnaan plat KLT dengan pereaksi semprot vanillin.	70
Gambar 4.2 Penghambatan senyawa isolat TRP1 eluen	72
KLT kloroform: benzene:etanol 98% (45:45:10) terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	
Gambar 4.3 Penghambatan senyawa isolat TRP1 eluen KLT N-heksan:.....	74
etil asetat (10:1) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	



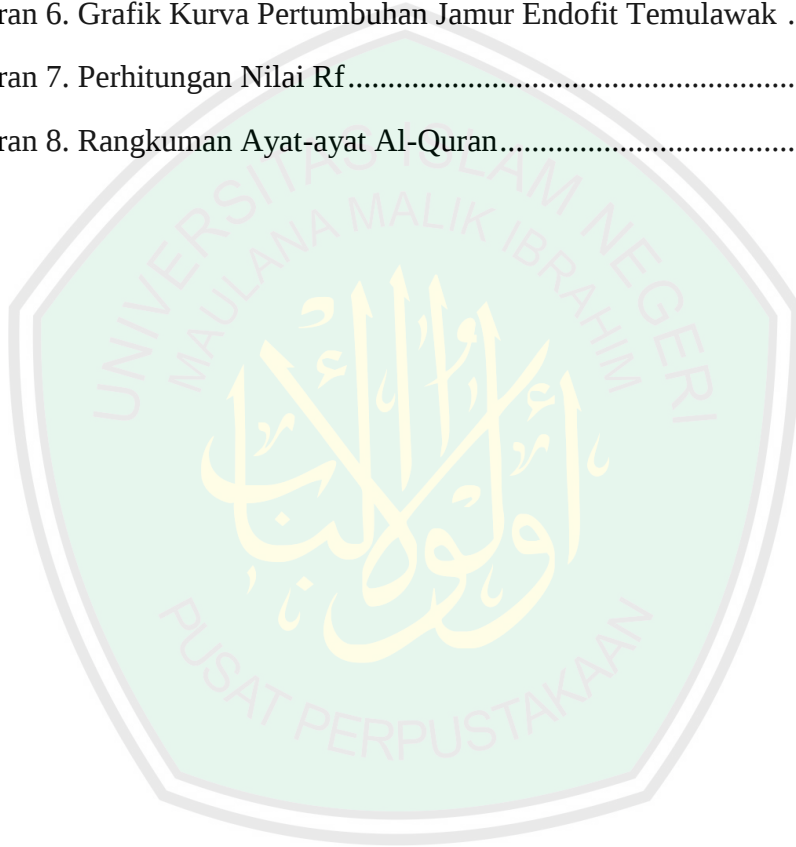
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil analisis serbuk rimpang temulawak.....	14
Tabel 4.1 Uji Senyawa Bioaktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Isolat TRB1 dan TRP1	60
Tabel 4.2 Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang kloroform: benzene: etanol 98% (45:45:10)	64
Tabel 4.3 Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang N-Heksan: Etil asetat (10:1)	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	92
Lampiran 2. Foto Hasil Uji Fitokimia.....	93
Lampiran 3. Foto Hasil KLT	96
Lampiran 4. Foto Hasil Uji Bioautografi	98
Lampiran 5. Tabel Hasil KLT	100
Lampiran 6. Grafik Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit Temulawak	103
Lampiran 7. Perhitungan Nilai Rf.....	104
Lampiran 8. Rangkuman Ayat-ayat Al-Quran.....	106



ABSTRAK

Fuadati, Choirul. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi sebagai Senyawa Antibakteri. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. dan Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci: Temulawak, jamur endofit temulawak , isolat TRB1 dan TRP1, Uji fitokimia, KLT, Bioautografi

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu tanaman obat asli Indonesia yang dijadikan sebagai bahan antibakteri. Dalam temulawak terdapat mikroba endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan kandungan senyawa bioaktif yang mirip atau hampir sama dengan induknya, terutama pada jenis jamur endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksploratif deskriptif kualitatif. Sebanyak 2 isolat jamur endofit terpilih telah diisolasi dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan kemampuan aktivitas antibakteri yang paling tinggi berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, yaitu isolat TRB1 (rimpang dari Batu) dan TRP1 (rimpang dari Purwodadi) dan diidentifikasi senyawa aktif dengan uji fitokimia dilanjutkan dengan pemisahan senyawa aktif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan uji bioautografi kontak untuk mengetahui kemampuan aktivitas senyawa yang telah terpisah melalui KLT dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa metabolit sekunder jamur endofit dari jenis isolat TRB1 dan TRP1 menunjukkan hasil positif pada uji senyawa saponin. Pemisahan senyawa dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis), ekstrak isolat TRB1 dan TRP1 dalam etil asetat dielusi dengan eluen kloroform:benzena:etanol 98% (45:45:10) pada visualisasi UV 365 nm menghasilkan 4 bercak pada isolat TRB1 dan 5 bercak pada isolat TRP1 dan diindikasikan mengandung senyawa kurkuminoid (Kurkumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin). Sedangkan untuk eluen N-heksan:etil asetat (10:1) pada visualisasi UV 254 nm terdeteksi sebagai senyawa xanthorizol dengan nilai R_f 0,56 untuk bercak pada Isolat TRB1 dan R_f 0,55 pada bercak isolat TRP1. Bioautografi dari hasil KLT menunjukkan penghambatan dengan zona iradikal pada isolat TRP1 dengan eluen kloroform: benzena: etanol 98% (45:45:10) pada bercak dengan nilai R_f 0,37 yang diduga senyawa desmetoksikurkumin dan juga penghambatan dengan zona iradikal pada isolat TRP1 dengan eluen N-heksan: etil asetat (10:1) pada bercak dengan nilai R_f 0,55 yang diduga senyawa xanthorizol. Sehingga kandungan kurkuminoid dan xanthorizol yang terdeteksi dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak juga berpotensi sebagai senyawa antibakteri, yang sama seperti tanaman inangnya, yaitu temulawak.

ABSTRACT

Fuadati, Choirul. 2015. Identification Active Compound of Secondary Metabolic Endophytic Fungi from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. as a Potensial Antibacterial Compound. Thesis. Biology Departement, Science and Technology Faculty, Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Supervisors : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. and Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keyword: Temulawak, Endophytic Fungi of *Curcuma* , isolates of TRB1 dan TRP1, Phytochemical test, TLC, Bioautography

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) is one of the medicinal native plants of Indonesia which is used as an antibacterial material. Temulawak inside are present endophytic microbes that can produce secondary metabolites with bioactive compounds that are similar or almost same as its parent, mainly on the type of endophytic fungi. The aims of this study are to determine the active compound contained in the secondary metabolites of endophytic fungus of Temulawak as a potential antibacterial compounds.

The method used in this research is descriptive exploratory qualitative. A total of 2 isolates of endophytic fungi selected has been isolated from the rhizome of Temulawak with the highest ability of the antibacterial activity based on the results of previous studies, which isolates TRB1 (rhizome from Batu) and TRP1 (rhizome from Purwodadi) and identified the active compound with the phytochemical test and followed by separation of the active compound with TLC (*Thin Layer Chromatography*) and contact bioautography test to determine the ability of the activity of compounds that have been separated by TLC in inhibiting the growth of bacteria test.

The result of phytochemical test showed that the secondary metabolites of endophytic fungi from isolates of TRP1 and TRB1 showed positive results in the test compound of saponin. Continued separation of compounds by TLC (*Thin Layer Chromatography*), extracts of isolates TRB1 and TRP1 in ethyl acetate eluted with chloroform eluent: benzene: ethanol 98% (45:45:10) at visualization of UV 365 nm showed 4 spots on isolates TRB1 and 5 spots on the TRP1 isolate and contain compounds indicated kurkuminoid (Curcumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin). As for the eluent n-hexane: ethyl acetate (10:1) at visualization of UV 254 nm detected as xanthorizol compound with Rf value of 0.56 for spot of Isolates TRB1 and Rf 0.55 on spot of isolates TRP1. Bioautography of TLC results showed inhibition of iradikal zone in isolates TRP1 with eluent chloroform: benzene: ethanol 98% (45:45:10) on the spot with Rf value of 0.37, which estimated of desmetoksikurkumin compounds and inhibition of iradikal zone in isolates TRP1 with eluent n-hexane: ethyl acetate (10: 1) on the spot with Rf value of 0.55 which estimated of xanthorizol compound. Kurkuminoid and xanthorizol compounds are specific compounds of Temulawak that is also detected in its endophytic fungus, so the content of kurkuminoid and xanthorizol in endophytic fungi from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. as a potential antibacterial compounds.

مخلص البحث

الفؤادة، خير. ٢٠١٥. تحديد النشطة المركبات الثانوية الأيضية من داخلي نباتي الفطريات من كركم (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) المحتملة كمضاد للبكتيريا المركبات. البحث قسم الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج .

المشرف: د. الحاجة ألفة أوتامي، الماجستير ومخلص فخر الدين، الماجستير.

كلمات البحث: الزنجبيل، الزنجبيل الفطريات داخلي نباتي، يعزل 1 TRB و TRP1، المواد الكيميائية النباتية اختبار، KLT، بيوتوجرافي.

كركم (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) هي إحدى النباتات الطبية المحلية في إندونيسيا التي تستخدم كمادة مضادة للجراثيم. في الزنجبيل والميكروبات داخلي نباتي التي يمكن أن تنتج المركبات الثانوية مع المركبات النشطة بيولوجيا التي تشبه أو تقريبا نفس أمها، وبخاصة في نوع فطريات إيندوفت. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد مركب نشط الواردة في المركبات الثانوية للفطر داخلي نباتي الزنجبيل باعتباره المركبات المضادة للبكتيريا المحتملة.

الطريقة المستخدمة في هذا البحث هي طريقة نوعية استكشافية وصفية. تم ما مجموعه ٢ عزلات الفطريات داخلي نباتي اختيارها معزولة عن جذوم الكركم مع القدرة على أعلى النشاط المضاد للبكتيريا بناء على نتائج الدراسات السابقة، الذي يعزل -TRB1- (جذوم من الحجر) و-TRP1- (جذوم من فروودادي) وحددت مركب نشط مع اختبار أعلى النباتية يليه فصل مركب نشط مع -KLT- (اللون بطبقة رقيقة) واختبار الاتصال بيوتوجرافي لتحديد قدرة النشاط من المركبات التي تم مفصولة -KLT- - في تثبيط نمو البكتيريا المختبرة. وأظهرت نتائج الاختبار الكيميائي النباتي أن المركبات الثانوية للفطريات داخلي نباتي من نوع العزلات، TRP1، و-TRB1- أظهرت نتائج إيجابية في اختبار مجمع سابونين. وتفصيل المركبات عن طريق -KLT- (اللون بطبقة رقيقة)، ومقتطفات العزلات، TRB1 و TRP1 في خلاص الإيثيل مزال بشاطف الكلوروفورم: البنزين: الإيثانول ٩٨٪ (١٠:٤٥:٤٥) في 365 نانومتر التصوير UV تنتج أربع نقاط على العزلات TRB1 و خمس نقاط على العزلات TRP1 وأشير أنه تحتوي على المركبات كركمونيدي (الكركمين، ديسميبتوكسيكوركومين، بيسديسميتوكسيكوركومين). أما بالنسبة للشاطف ن الهكسان (N-heksan): خلاص الإيثيل (١:١٠) في 254 نانومتر UV كشف أنه كنفس إكسانثوريزول بقيمة Rf 0.56 للبقع على عزلات TRB1، و 0.55 Rf على بقع عزلات TRP1. وأظهرت بيوتوجرافي من نتائج -KLT- منطقة تثبيط غير متطرف في عزلات TRP1 مع شاطف الكلوروفورم: البنزين: الإيثانول ٩٨٪ (١٠:٤٥:٤٥) على الفور مع قيمة Rf 0.37، التي تزعج أنها المركبات ديسميبتوكسيكوركومين ومنطقة تثبيط غير متطرف في TRP1 المعزولة مع شاطف ن الهكسان (N-heksan): خلاص الإيثيل (١:١٠) على الفور مع قيمة Rf 0.55 يشبه مجمع إكسانثوريزول. كركمونيدي والمركبات إكسانثوريزول هما مُعَرَّفًا مركبات نبات الزنجبيل التي تم الكشف عنها أيضا في فطريات نابت داخلية، وبالتالي فإن ما احتواه الكركمونيدي و إكسانثوريزول في الفطريات داخلي نباتي لها إمكانية لتكون المركبات المضادة للبكتيريا.

ABSTRAK

Fuadati, Choirul. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi sebagai Senyawa Antibakteri. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. dan Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci: Temulawak, jamur endofit temulawak , isolat TRB1 dan TRP1, Uji fitokimia, KLT, Bioautografi

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu tanaman obat asli Indonesia yang dijadikan sebagai bahan antibakteri. Dalam temulawak terdapat mikroba endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan kandungan senyawa bioaktif yang mirip atau hampir sama dengan induknya, terutama pada jenis jamur endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksploratif deskriptif kualitatif. Sebanyak 2 isolat jamur endofit terpilih telah diisolasi dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan kemampuan aktivitas antibakteri yang paling tinggi berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, yaitu isolat TRB1 (rimpang dari Batu) dan TRP1 (rimpang dari Purwodadi) dan diidentifikasi senyawa aktif dengan uji fitokimia dilanjutkan dengan pemisahan senyawa aktif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan uji bioautografi kontak untuk mengetahui kemampuan aktivitas senyawa yang telah terpisah melalui KLT dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa metabolit sekunder jamur endofit dari jenis isolat TRB1 dan TRP1 menunjukkan hasil positif pada uji senyawa saponin. Pemisahan senyawa dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis), ekstrak isolat TRB1 dan TRP1 dalam etil asetat dielusi dengan eluen kloroform:benzena:etanol 98% (45:45:10) pada visualisasi UV 365 nm menghasilkan 4 bercak pada isolat TRB1 dan 5 bercak pada isolat TRP1 dan diindikasikan mengandung senyawa kurkuminoid (Kurkumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin). Sedangkan untuk eluen N-heksan:etil asetat (10:1) pada visualisasi UV 254 nm terdeteksi sebagai senyawa xanthorizol dengan nilai R_f 0,56 untuk bercak pada Isolat TRB1 dan R_f 0,55 pada bercak isolat TRP1. Bioautografi dari hasil KLT menunjukkan penghambatan dengan zona iradikal pada isolat TRP1 dengan eluen kloroform: benzena: etanol 98% (45:45:10) pada bercak dengan nilai R_f 0,37 yang diduga senyawa desmetoksikurkumin dan juga penghambatan dengan zona iradikal pada isolat TRP1 dengan eluen N-heksan: etil asetat (10:1) pada bercak dengan nilai R_f 0,55 yang diduga senyawa xanthorizol. Sehingga kandungan kurkuminoid dan xanthorizol yang terdeteksi dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak juga berpotensi sebagai senyawa antibakteri, yang sama seperti tanaman inangnya, yaitu temulawak.

ABSTRACT

Fuadati, Choirul. 2015. Identification Active Compound of Secondary Metabolic Endophytic Fungi from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. as a Potensial Antibacterial Compound. Thesis. Biology Departement, Science and Technology Faculty, Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Supervisors : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. and Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keyword: Temulawak, Endophytic Fungi of *Curcuma* , isolates of TRB1 dan TRP1, Phytochemical test, TLC, Bioautography

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) is one of the medicinal native plants of Indonesia which is used as an antibacterial material. Temulawak inside are present endophytic microbes that can produce secondary metabolites with bioactive compounds that are similar or almost same as its parent, mainly on the type of endophytic fungi. The aims of this study are to determine the active compound contained in the secondary metabolites of endophytic fungus of Temulawak as a potential antibacterial compounds.

The method used in this research is descriptive exploratory qualitative. A total of 2 isolates of endophytic fungi selected has been isolated from the rhizome of Temulawak with the highest ability of the antibacterial activity based on the results of previous studies, which isolates TRB1 (rhizome from Batu) and TRP1 (rhizome from Purwodadi) and identified the active compound with the phytochemical test and followed by separation of the active compound with TLC (*Thin Layer Chromatography*) and contact bioautography test to determine the ability of the activity of compounds that have been separated by TLC in inhibiting the growth of bacteria test.

The result of phytochemical test showed that the secondary metabolites of endophytic fungi from isolates of TRP1 and TRB1 showed positive results in the test compound of saponin. Continued separation of compounds by TLC (*Thin Layer Chromatography*), extracts of isolates TRB1 and TRP1 in ethyl acetate eluted with chloroform eluent: benzene: ethanol 98% (45:45:10) at visualization of UV 365 nm showed 4 spots on isolates TRB1 and 5 spots on the TRP1 isolate and contain compounds indicated kurkuminoid (Curcumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin). As for the eluent n-hexane: ethyl acetate (10:1) at visualization of UV 254 nm detected as xanthorizol compound with Rf value of 0.56 for spot of Isolates TRB1 and Rf 0.55 on spot of isolates TRP1. Bioautography of TLC results showed inhibition of iradikal zone in isolates TRP1 with eluent chloroform: benzene: ethanol 98% (45:45:10) on the spot with Rf value of 0.37, which estimated of desmetoksikurkumin compounds and inhibition of iradikal zone in isolates TRP1 with eluent n-hexane: ethyl acetate (10: 1) on the spot with Rf value of 0.55 which estimated of xanthorizol compound. Kurkuminoid and xanthorizol compounds are specific compounds of Temulawak that is also detected in its endophytic fungus, so the content of kurkuminoid and xanthorizol in endophytic fungi from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. as a potential antibacterial compounds.

مخلص البحث

الفؤادة، خير. ٢٠١٥. تحديد النشطة المركبات الثانوية الأيضية من داخلي نباتي الفطريات من كركم (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) المحتملة كمضاد للبكتيريا المركبات. البحث قسم الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج .

المشرف: د. الحاجة ألفة أوتامي، الماجستير ومخلص فخر الدين، الماجستير.

كلمات البحث: الزنجبيل، الزنجبيل الفطريات داخلي نباتي، يعزل 1 TRB و TRP1، المواد الكيميائية النباتية اختبار، KLT، بيوتوجرافي.

كركم (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) هي إحدى النباتات الطبية المحلية في إندونيسيا التي تستخدم كمادة مضادة للجراثيم. في الزنجبيل والميكروبات داخلي نباتي التي يمكن أن تنتج المركبات الثانوية مع المركبات النشطة بيولوجيا التي تشبه أو تقريبا نفس أمها، وبالأخص في نوع فطريات إيندوفت. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد مركب نشط الواردة في المركبات الثانوية للفطر داخلي نباتي الزنجبيل باعتباره المركبات المضادة للبكتيريا المحتملة.

الطريقة المستخدمة في هذا البحث هي طريقة نوعية استكشافية وصفية. تم ما مجموعه ٢ عزلات الفطريات داخلي نباتي اختيارها معزولة عن جذمور الكركم مع القدرة على أعلى النشاط المضاد للبكتيريا بناء على نتائج الدراسات السابقة، الذي يعزل -TRB1- (جذمور من الحجر) و-TRP1- (جذمور من فروودادي) وحددت مركب نشط مع اختبار أعلى النباتية يليه فصل مركب نشط مع -KLT- (اللون بطبقة رقيقة) واختبار الاتصال بيوتوجرافي لتحديد قدرة النشاط من المركبات التي تم مفصولة -KLT- - في تثبيط نمو البكتيريا المختبرة. وأظهرت نتائج الاختبار الكيميائي النباتي أن المركبات الثانوية للفطريات داخلي نباتي من نوع العزلات، TRP1، و-TRB1- أظهرت نتائج إيجابية في اختبار مجمع سابونين. وتفصيل المركبات عن طريق -KLT- (اللون بطبقة رقيقة)، ومقتطفات العزلات، TRB1 و TRP1 في خلاص الإيثيل مزال بشاطف الكلوروفورم: البنزين: الإيثانول ٩٨٪ (١٠:٤٥:٤٥) في 365 نانومتر التصوير UV تنتج أربع نقاط على العزلات TRB1 و خمس نقاط على العزلات TRP1 وأشار أنه تحتوي على المركبات كركمنويد (الكركمين، ديسميبتوكسيكوركومين، بيسديسميتوكسيكوركومين). أما بالنسبة للشاطف ن الهكسان (N-heksan): خلاص الإيثيل (١:١٠) في 254 نانومتر UV كشف أنه كنفس إكسانثوريزول بقيمة R_f 0.56 للبقع على عزلات TRB1، و 0.55 R_f على بقع عزلات TRP1. وأظهرت بيوتوجرافي من نتائج -KLT- منطقة تثبيط غير متطرف في عزلات TRP1 مع شاطف الكلوروفورم: البنزين: الإيثانول ٩٨٪ (١٠:٤٥:٤٥) على الفور مع قيمة R_f 0.37، التي تزعم أنها المركبات ديسميبتوكسيكوركومين ومنطقة تثبيط غير متطرف في TRP1 المعزولة مع شاطف ن الهكسان (N-heksan): خلاص الإيثيل (١:١٠) على الفور مع قيمة R_f 0.55 يشبه مجمع إكسانثوريزول. كركمويد والمركبات إكسانثوريزول هما مُعرِّفًا مركبات نبات الزنجبيل التي تم الكشف عنها أيضا في فطريات نابت داخلية، وبالتالي فإن ما احتواه الكركمويد و إكسانثوريزول في الفطريات داخلي نباتي لها إمكانية لتكون المركبات المضادة للبكتيريا.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai salah satu dari 7 negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua setelah Brazil (Radji, 2005), sehingga sangat berpotensi dalam pengembangan obat herbal berbasis pada tanaman obat tradisional (Elfina *et al.*, 2013). Salah satu jenis tanaman yang banyak digunakan masyarakat sebagai bahan baku obat-obatan tradisional adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dari suku *Zingiberaceae*. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan tanaman obat asli Indonesia yang dimanfaatkan untuk penyembuhan berbagai jenis penyakit dengan klaim khasiat cukup banyak. (Raharjo dan Ajijah, 2007).

Selain itu temulawak merupakan salah satu spesies dari genus *Curcuma* yang banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba karena kandungan senyawa aktifnya mampu mencegah pertumbuhan mikroba. Bagian yang berkhasiat dari temulawak adalah rimpangnya yang mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tannin. Minyak atsiri (xanthorizol) dan kurkuminoid (kurkumin dan desmetoksikurkumin) merupakan komponen utama temulawak yang bersifat antimikroba (Afifah, 2005; Siagian, 2006).

Menurut Jawetz *et al.* (2005), rimpang *Curcuma* sp. sering digunakan dalam pengobatan tradisional, termasuk dari spesies *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. diantaranya untuk mengobati keputihan, obat diare, obat jerawat dan gatal-gatal. Menurut Padiangan (2010), pada penelitian sebelumnya ekstrak tanaman

Curcuma xanthorriza mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Penicilium sp.* dan *Rhizopus oryzae*.

Penelitian yang dilakukan oleh Adila *et al.* (2013) mengenai uji efektifitas ekstrak segar rimpang *Curcuma* spp. dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji menunjukkan bahwa dari keenam jenis *Curcuma*, maka temulawak (*Curcuma xanthorriza*) lebih sensitif dalam menghambat pertumbuhan ketiga mikroba uji dibandingkan dengan *Curcuma* lain terutama pada bakteri *E. coli*. Bahkan diameter zona hambat yang dibentuk melebihi diameter kontrol positif khlorampenikol (29 mm). Meilisa (2009) juga menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang temulawak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Beberapa mikroorganisme yang bersifat patogen terhadap manusia adalah bakteri *Escherichia coli* penyebab penyakit infeksi diare dan kontaminasi enterotoksin *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab keracunan makanan. Keduanya merupakan permasalahan kesehatan yang menyerang saluran pencernaan, sering ditemukan di berbagai kalangan masyarakat dan merupakan mikroorganisme uji yang umum digunakan (Adila *et al.*, 2013).

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah kuasa dan kehendak Allah SWT. dalam menurunkan penyakit. Allah Maha Adil dan Bijaksana dalam segala hal, Dia menurunkan penyakit sekaligus menciptakan penyembuhnya (obat). Qayyim Al Jauziyah (1994) mengatakan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya adalah bersifat umum, mencakup segala penyakit dan segala macam obat yang dapat menyembuhkan penderita, karena sesungguhnya Allah telah menyiapkan segala macam obat penyakit baik penyakit ringan maupun

penyakit yang membahayakan, salah satu contohnya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, yang mulai resisten terhadap beberapa obat antimikroba sekalipun, sehingga kita tidak lantas menyerah begitu saja dengan hal tersebut, tetap berusaha keras dalam penemuan obat alternatif lain seperti pencarian antibiotik baru.

Langkah-langkah untuk mendapatkan jenis antibiotik baru misalnya melalui penemuan isolat mikrobial baru (Tscherter dan Dreyfus, 1992) atau lebih dikenal dengan mikrobiota endofit sudah mulai banyak mendapat perhatian dan yang paling umum ditemukan adalah dari jenis jamur endofit (Strobel dan Daisy, 2003). Jamur endofit merupakan salah satu mikrobiota endofit yang tinggal dan hidup di dalam jaringan tanaman seperti daun, bunga, ranting, ataupun akar tanaman (Schulz dan Boyle, 2006) yang akan memberikan keuntungan bagi tanaman, yaitu ketahanan tanaman terhadap berbagai cekaman (Wulandari *et al.*, 2014).

Pemanfaatan mikrobiota endofit seperti jamur endofit memiliki kelebihan sebagai sumber senyawa bioaktif, karena mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar. Karena jamur endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder dengan senyawa bioaktif yang sama atau mirip dengan inangnya, maka isolasi senyawa bioaktif tersebut tidak harus menebang tanaman inang sebagai simplisianya. Sehingga biodiversitas tanaman tersebut di alam akan tetap terjaga (Tan dan Zou, 2000).

Devi dan Wahab (2012) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa metabolit bioaktif yang diisolasi dari jamur *Penicillium* sp. pada tanaman obat

Camellia sinensis dapat dijadikan sebagai sumber agen antibakteri. Oleh sebab itu penelitian-penelitian untuk mengeksplorasi keanekaragaman jenis serta kandungan zat bioaktif yang diproduksi oleh mikroba endofit khususnya dari jenis jamur endofit dalam jaringan tanaman tersebut sangat perlu dilakukan (Sinaga *et al.*, 2009). Sebagaimana firman Allah SWT. dalam surat As-Syu'araa' ayat 7-8 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman.*

Basyir (2011: 664) dalam tafsir Al-Muyassar menjelaskan bahwa dalam firman Allah yang artinya “*pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik*” dimaknai oleh para ulama' dengan arti berbagai macam tumbuhan yang indah lagi bermanfaat, tumbuh-tumbuhan tersebut menjadi bukti atas kodrat Allah SWT., sedangkan hal itu masih banyak didustakan oleh orang-orang yang tidak beriman. Ayat tersebut sangat berkaitan erat dengan penelitian ini yang memanfaatkan tumbuhan sebagai obat tradisional. Apabila diteliti lebih dalam maka didalam tumbuhan tersebut terdapat mikroba endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan senyawa-senyawa aktifnya yang dapat dikembangkan sebagai obat berbagai penyakit.

Penelitian ini memanfaatkan jamur endofit dalam tanaman temulawak, untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji, seperti halnya

penelitian Imawati (2015) yang menunjukkan keberhasilan isolasi dari 4 isolat bakteri endofit rimpang temulawak, yaitu spesies *Actinomyces viscosus* dan *Pseudomonas stutzeri* dari Batu, *Actinomces viscosus* dan *Bacillus brevis* dari Purwodadi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Sehingga pemanfaatan jamur endofit temulawak tersebut dapat digunakan senyawa bioaktif yang berasal dari metabolit sekunder sebagai senyawa antibakteri yang terdiri dari berbagai komponen. Komponen-komponen senyawa tersebut dapat diidentifikasi melalui uji fitokimia dan pemisahan senyawa dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan senyawa dengan menggunakan kromatografi lapis tipis ini mempunyai banyak keuntungan, yaitu membutuhkan waktu yang lebih cepat, mudah dilakukan, membutuhkan penyerap dan sampel dalam jumlah yang sedikit, serta menghasilkan pemisahan yang lebih baik (Sastrohamidjojo, 1991).

Beberapa penelitian yang menggunakan metode KLT antara lain identifikasi komponen aktif rimpang temulawak oleh Deasywaty (2011) melalui uji fitokimia serta KLT dengan n-heksan:etil asetat (14:1) sebagai fase gerak dengan hasil dugaan mengandung senyawa terpenoid yaitu xanthorizol. Metode KLT juga digunakan oleh Herdiyanto (2014); Asriani (2010); dan Hwang *et al.* (2000) dalam isolasi xanthorizol pada rimpang temulawak dengan eluen n-heksan:etil asetat (10:1). Stahl (1985) juga menggunakan metode KLT dalam pemisahan senyawa pada rimpang temulawak dengan eluen

kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) dan berhasil mengidentifikasi senyawa kurkuminoid.

Berdasarkan hasil penelitian dari metode KLT tersebut maka dilakukan pemisahan senyawa xanthorizol dan kurkuminoid pada metabolit sekunder jamur endofit rimpang temulawak dengan metode KLT. Hal ini menjadi sangat penting dikarenakan dua senyawa tersebut merupakan senyawa khas dari temulawak. Hasil KLT, namun demikian, tidak memberikan informasi mengenai komponen aktif pada senyawa antibakteri dari metabolit sekunder jamur endofit, sehingga perlu dikombinasikan dengan metode bioautografi (Sudirman, 2005).

Metode bioautografi menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respons dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu sampel yang dapat berupa antibakteri, antikapang, dan antiprotozoa (Kusumaningtyas *et al.*, 2008). Bioautografi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bioautografi kontak karena mudah untuk dilakukan dan hasil dapat terlihat jelas tanpa menggunakan larutan pewarna seperti MTT pada bioautografi *agar-overlay*. Penelitian ini diharapkan menjadi acuan penggunaan jamur endofit terhadap bahan alam dengan senyawa aktifnya dalam penanggulangan penyakit infeksi dalam pencernaan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apa saja jenis senyawa aktif yang terkandung dalam metabolit sekunder jamur endofit dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)?

2. Apakah senyawa aktif dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*)?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengidentifikasi jenis senyawa aktif yang terkandung dalam metabolit sekunder jamur endofit dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
2. Untuk mengetahui kemampuan jenis senyawa aktif dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*).

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemanfaatan jamur endofit dalam tanaman akan menjadikan biodiversitas tanaman tersebut tetap terjaga.
2. Memberikan informasi mengenai jenis senyawa metabolit sekunder dari jamur endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang dapat berperan sebagai sumber antibakteri yang dapat dikembangkan menjadi obat antibiotik baru.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Isolat jamur endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang digunakan merupakan koleksi isolat jamur endofit dari laboratorium Mikrobiologi UIN

Malang yang mempunyai aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari penelitian sebelumnya.

2. Bakteri patogen uji yang digunakan yaitu dari spesies bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari laboratorium Bakteriologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
3. Identifikasi senyawa aktif meliputi uji fitokimia ekstrak kasar metabolit sekunder hasil fermentasi jamur endofit yang meliputi uji senyawa terpenoid/steroid, uji alkaloid, uji fenolik, uji flavonoid, dan uji saponin dan juga pemisahan senyawa aktif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
4. Hasil pemisahan senyawa dengan KLT dilanjutkan dengan Bioautografi kontak untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif yang sudah terpisah dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

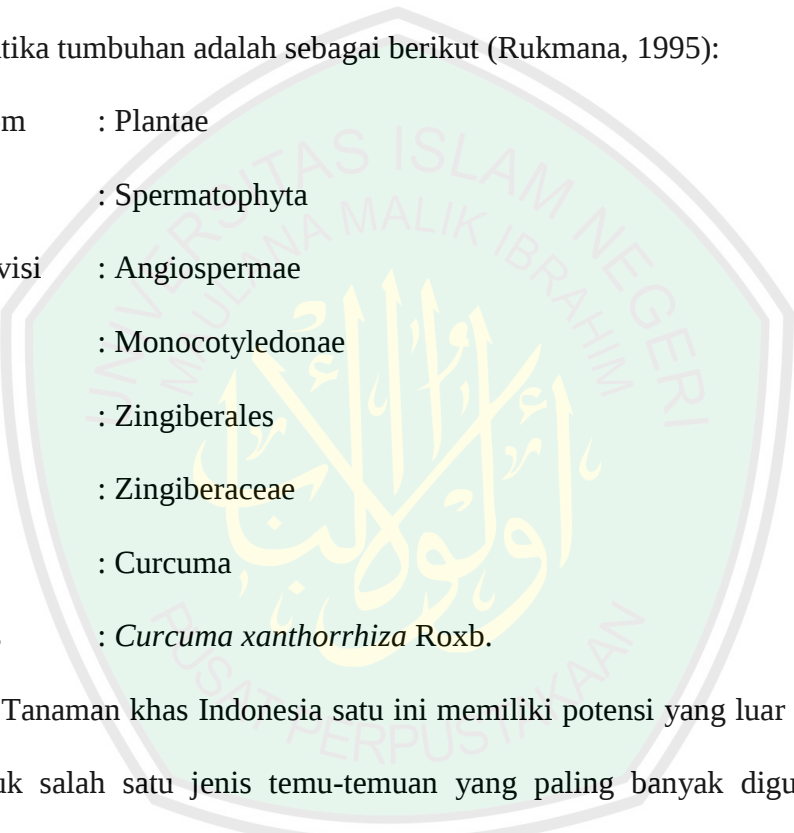
BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Temulawak

Klasifikasi rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut (Rukmana, 1995):



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.

Tanaman khas Indonesia satu ini memiliki potensi yang luar biasa, karena termasuk salah satu jenis temu-temuan yang paling banyak digunakan orang sebagai tanaman obat-obatan, bahkan konon tanaman ini memiliki kegunaan setara dengan ginseng Korea. Oleh karenanya masyarakat Indonesia beranggapan bahwa temulawak sebagai ginseng Indonesia (Kunia, 2007). Setiap tumbuhan yang diciptakan Allah SWT. mempunyai bentuk, rasa, dan manfaat masing-masing. Sebagaimana Allah SWT. berfirman dalam surat Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ^{١١} أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ^{١٢} إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿١١﴾

Artinya: Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.

Berdasarkan tafsir Al-Muyassar ayat di atas menerangkan bahwa:

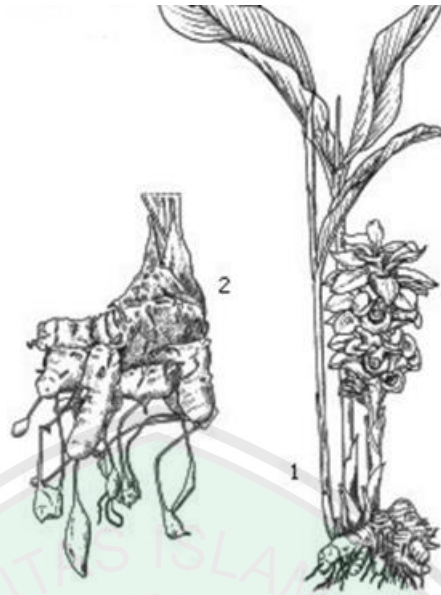
Hanya Allah semata yang menurunkan hujan itu. Dia menumbuhkan segala macam tumbuhan . Dari tumbuhan itu muncul tanaman yang hijau , kemudian darinya Dia mengeluarkan biji-bijian yang sebagian darinya tersusun dengan bagian yang lain, seperti batang tangkai gandum, jewawut dan padi. Dia juga mengeluarkan dari pucuk pohon kurma jenjang-jenjang kurma muda, jenjang-jenjang yang mudah dipetik. Allah juga menumbuhkan kebun-kebun anggur. Dia menumbuhkan pohon zaitun, delima yang daunnya mirip namun berbeda buahnya dari sisi bentuk, rasa dan tabiat. Lihatlah wahai manusia kepada buah-buahan dari tumbuhan-tumbuhan ini saat berbuah dan saat ia mulai ranum siap untuk dipetik. Sesungguhnya hal itu wahai manusia mengandung bukti-bukti atau kesempurnaan kodrat Allah sebagai pencipta semua itu, hikmah dan rahmat-Nya bagi kaum yang membenarkan Allah SWT dan menjalankan syariat-Nya (Basyir, 2011: 558).

Penafsiran Al-Muyassar tentang ayat tersebut, para ulama hanya memberikan penafsiran yang tidak jauh berbeda dengan teks ayat, hanya menjelaskan sedikit dari arti kalimat yang jarang digunakan dalam Bahasa Arab. Al-Qur'an merupakan petunjuk bagi tiap umat Islam yang meyakinkannya. Sebagai

sumber dari segala ilmu pengetahuan, Al-Qur'an tidak menyebutkan setiap hal yang ada di dunia ini secara mendetail, namun semua hal itu terkandung di dalam arti global yang disebutkan oleh Al-Qur'an dan hal ini sudah dijamin oleh Allah di dalam Al-Qur'an itu sendiri. Seperti halnya keterkaitan temulawak dalam makna Surat Al-An'am ayat 99 secara global.

Firman Allah dalam surat Al-An'am ayat 99 ini telah menjelaskan begitu banyak jenis tumbuhan yang ada di bumi dan bagaimana Allah menumbuhkannya (tumbuhan) dengan berbagai jenis dengan bentuk, rasa, dan manfaat yang berbeda, seperti halnya Allah menumbuhkan temulawak yang pada rimpangnya keluar tunas dan akan menjulang batang, daun yang hijau serta bunganya yang indah. Demikian pula Allah menciptakan temulawak yang mudah untuk diambil rimpangnya dalam tanah dan kemudian dapat dimanfaatkan manusia sebagai obat tradisional, kosmetik, ataupun lainnya. Hal ini merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah agar manusia senantiasa memikirkan dan mensyukuri ciptaan-Nya.

Temulawak adalah tanaman monokotil yang tidak memiliki akar tunggang, akar yang dimiliki berupa rimpang yang terdiri dari rimpang utama (induk) dan rimpang samping (cabang). Rimpang induk atau rimpang utama berbentuk jorong atau gelendong, sedangkan rimpang samping atau rimpang cabang berupa akar yang menggembung pada ujungnya membentuk umbi. Rimpang samping atau cabang yang dihasilkan setiap kali pemanenan jumlahnya hampir sama dengan rimpang utama, tetapi rimpang cabang ini selalu dibuang karena dianggap tidak mempunyai khasiat obat (Prasetyorini *et al.*, 2011).



Gambar 2.1. Morfologi temulawak. 1) tanaman temulawak terdiri atas rimpang, batang, bunga, dan daun. 2) rimpang temulawak (Wardiyono, 2015)

Batang tanaman temulawak berupa batang semu yang merupakan metamorfosis atau penjelmaan dari daun tanaman, temulawak tumbuh merumpun dengan batang semu yang tumbuh dari rimpangnya. Batang semu berasal dari pelepah-pelepah daun yang saling menutup membentuk batang. Tinggi tanaman ini dapat mencapai 2-2,5 meter dengan warna hijau atau cokelat gelap. Mulai dari pangkalnya sudah memunculkan tangkai daun yang panjang berdiri tegak (Muhlisah, 1999).

Panjang daun sekitar 31-84 cm dan lebar 10-18 cm, berwarna hijau tua atau cokelat keunguan dengan garis-garis cokelat di bagian tulang daunnya dan pada bagian ibu tulang daun (bagian tengah daun) berwarna ungu. Sedangkan panjang tangkai termasuk helaian daun sekitar 43-80 cm. Pada sisi kiri dan kanan tulang daun terdapat semacam pita memanjang berwarna merah keunguan, pertulangan daun menyirip berwarna hijau, daun pelindung banyak, yang

panjangnya melebihi atau sebanding dengan mahkota bunga dan berbentuk corong, pelepah daunnya saling menutupi membentuk batang (Mursito, 2002).

2.1.2 Penyebaran dan Kandungan Temulawak

Kawasan Indo-Malaysia merupakan tempat dari mana temulawak (*C. xanthorriza*) menyebar ke seluruh dunia. Temulawak adalah tumbuhan asli Indonesia sehingga mudah sekali tumbuh dan berkembang biak di negara kita, yang mana persebarannya hanya terbatas di Jawa, Maluku, dan Kalimantan. (Sidik, 1997). Tempat tumbuhnya sangat mempengaruhi terhadap kualitas dari rimpang temulawak yang dihasilkan. Bila temulawak ditanam di dataran rendah maka patinya lebih tinggi dibanding di dataran rendah, sedangkan temulawak yang ditanam di daerah dataran tinggi minyak atsirinya lebih besar dibanding di dataran rendah (Tjitrosoepomo, 2005). Rimpangnya dipanen jika bagian tanaman yang ada di atas tanah sudah mulai kering dan mati, biasanya sekitar 9-24 bulan. (Dalimartha, 2006).

Bagian yang berkhasiat dari temulawak adalah rimpangnya yang mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tannin (Afifah, 2005; Siagian, 2006 dalam Deasywaty, 2011). Berdasarkan hasil analisis kimia, kandungan utama temulawak terdiri dari pati (48,18-59,64%), serat (2,58-4,83%), minyak atsiri (*phelandren*, *kamfer*, *tumerol*, *sineol*, *borneol*, dan *xanthorhizol*) (1,48-1,63%) serta kurkuminoid (kurkumin dan desmetoksikurkumin) (1,6-2,2%) (Taryono *et al.*, 1987; Afifah, 2005; Siagian, 2006).

Fraksi pati dalam temulawak mempunyai kandungan kimia terbesar tergantung dari ketinggian tempat tumbuh. Hayani (2006) melaporkan pula dalam

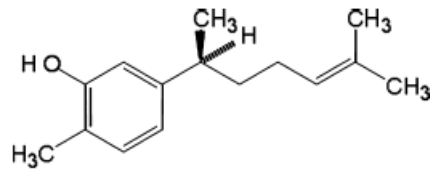
penelitiannya bahwa hasil analisis secara kuantitatif serbuk rimpang temulawak dapat diketahui kadar pati merupakan hasil yang tertinggi yang mempunyai harapan dapat dikembangkan sebagai bahan baku industri makanan dan dalam bidang farmasi sebagai bahan pembantu industri tablet.

Tabel 2.1. Hasil analisis serbuk rimpang temulawak (Hayani, 2006)

No.	Jenis Analisis	Nilai (%)
1	Kadar air	13,98
2	Kadar minyak atsiri	3,81
3	Pati	41,45
4	Serat	12,62
5	Abu	4,62
6	Abu tak larut asam	0,56
7	Sari dalam alkohol	9,48
8	Sari dalam air	10,90
9	Kurkumin	2,29

Minyak atsiri dan kurkuminoid merupakan komponen utama temulawak yang bersifat antimikroba (Afifah, 2005; Siagian, 2006). Berdasarkan laporan Koswara *et al.* (2012) kandungan minyak atsiri dalam temulawak merupakan yang paling tinggi diantara jenis *Curcuma*. Kandungan minyak atsiri pada temulawak sekitar 8% dan warna kuning merupakan warna dari kurkumin.

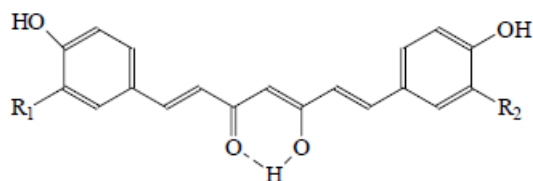
Komponen khas minyak atsiri pada rimpang temulawak adalah xanthorizol, yang termasuk ke dalam kelompok sesquiterpen. Xanthorizol memiliki rumus molekul $C_{15}H_{22}O$ dengan bobot molekul sebesar 218.335 g/mol. Nama IUPAC-nya 5-(1,5-dimetilheks-4-enil)-2-metilfenol (Sutisna, 2012), struktur kimia xanthorizol dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur kimia xanthorizol (Choi *et al.*, 2005)

Minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* juga menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, sementara kurkuminoid *Curcuma xanthorrhiza* mempunyai daya hambat yang lemah (Oei, 1986). Penelitian sebelumnya xanthorizol juga menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Streptococcus mutans* sebagai penyebab karies gigi dan juga antibakteri terhadap *Actinomyces viscosus* dan *Porphyromonas gingivalis* (Hwang *et al.*, 2000).

Sedangkan komponen utama lain temulawak adalah fraksi kurkuminoid mempunyai aroma yang khas, tidak toksik, terdiri dari dua komponen yaitu, kurkumin dan desmetoksikurkumin (Sidik, 2006; Parahita, 2007). Rumus kimia kurkumin adalah $C_{21}H_{20}O_6$. Kurkumin dikenal sebagai warna kuning alami dan termasuk ke dalam kelompok senyawa polifenol yang dapat mengubah permeabilitas membran sehingga menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri (Rahman, 2009).



Gambar 2.3. Struktur kimia kurkuminoid temulawak. 1) kurkumin: $R_1(OMe)$ dan $R_2(OMe)$, 2) Desmetoksikurkumin: $R_1(H)$ dan $R_2(OMe)$ (Cahyono *et.al.*, 2011)

Kurkumin pun memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas yaitu antibakteri yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif, antivirus, dan penginduksi apoptosis sel (antitumor) (Rahman, 2009). Aktivitas antibakteri kurkumin telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis* yang dapat menyebabkan penyakit TBC (Cikrici, 2008). Selain itu kurkumin juga dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* penyebab ruam pada kulit, *Escherichia coli* penyebab diare akut (Tajbakhsh *et al.*, 2008).

Kandungan xanthorizol dan kurkumin ini yang menyebabkan temulawak sangat berkhasiat (Taryono *et al.*, 1987), diantaranya dapat menghambat pertumbuhan organisme terutama jamur dan bakteri, karena sifat inilah maka dapat dipakai sebagai bahan pengawet benih. Menurut Koswara *et al.* (2012) menambahkan bahwa daya antiseptik ringan dalam temulawak dapat membantu membersihkan kulit terhadap kuman dan radang jerawat. Temulawak juga dapat bermanfaat sebagai penambah nafsu makan.

Kandungan kurkumin dan xanthorizol yang khas pada temulawak ini merupakan bukti Allah SWT. dalam menciptakan segala yang ada di alam semesta ini dan telah menentukan pula kadar cipataan-Nya. Sebagaimana Firman Allah SWT. dalam surat Al-Hijr ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya: Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.

Makna ayat di atas secara umum berdasarkan tafsir Al-Aisar, secara konteks masih menyebutkan tentang bukti-bukti kekuasaan dan ke-Esaan Allah SWT. yang menuntut manusia agar beriman kepada-Nya. Firman Allah Ta'ala, *“dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran...”*. Lafadz *“Mauzuun”* yang berarti ukuran adalah karena dengan timbangan dapat diketahui ukuran sesuatu. Sesuatu yang ditimbang dari perkataan dan yang lainnya adalah yang tidak memiliki dikurangi atau ditambah. Berdasarkan penafsiran Al-Aisar, maksud Allah pada ayat ini adalah bahwa apa yang telah Allah tumbuhkan di bumi ini dari segala jenis tanam-tanaman, barang tambang berupa emas atau perak, kuningan, timah, atau yang lain-lain semuanya dapat ditakar dan ditimbang (Al-Jazairi, 2007: 142). Termasuk tanaman-tanaman yang dapat diukur kandungan senyawa di dalamnya.

Berdasarkan tafsir Al-Maraghi menambahkan penjelasan dari ayat tersebut bahwa sesungguhnya penafsiran setiap tumbuh-tumbuhan benar-benar telah ditimbang dan diukur, maksudnya ialah satu unsur tumbuh-tumbuhan berbeda dengan unsur tumbuhan lain dengan penyerapan makanan dari akar-akar yang menembus tanah dan naik ke batang, dahan, daun dan bunga. Yang membatasi perbedaan ini ialah kelopak-kelopak rambut yang terdapat pada kulit akar. Lubang setiap tumbuh-tumbuhan hanya cukup memuat unsur yang telah ditetapkan baginya. Selain itu akan diusirnya, karena tidak sesuai dengannya. Ia telah dibuat dalam bentuk tertentu, sehingga hanya akan menelan ukuran-ukuran itu saja (Al-Maraghi, 1987: 22).

Hal-hal semacam ini sebenarnya akan tercapai keyakinan dan dengan memikirkannya maka sendi-sendi agama akan semakin kokoh dan kuat (Al-Maraghi, 1987), sebagaimana firman Allah Ta'ala dalam surat Adz-Dzariyaat ayat 20-21:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِلْمُوقِنِينَ ﴿٢٠﴾ وَفِي أَنْفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ ﴿٢١﴾

Artinya: *Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin. Dan (juga) pada dirimu sendiri, maka Apakah kamu tidak memperhatikan?*

Segala puji bagi Allah, yang telah menjadikan segala sesuatu didalam hidup ini ditimbang dengan ukuran tertentu, agar manusia dapat memikirkan tatanan hidup ini, sehingga mengetahui kekuasaan Pencipta alam dan bahwa Dia tidak menciptakan sesuatu didalamnya tanpa pertimbangan (Al-Maraghi, 1987).

Allah menumbuhkan segala sesuatu di bumi ini telah terukur dengan batasan-batasan pengetahuan yang diketahui manusia. Ketentuan dan kadar masing-masing yang diciptakan Allah di bumi inilah yang membuat tumbuhan bervariasi sehingga tercipta pula keadaan, karakter dan fungsi masing-masing tumbuhan sesuai dengan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut, seperti pada temulawak dengan kandungan kurkumin tertinggi dari semua jenis *Curcuma* dan senyawa khas *xanthorizol* yang berkhasiat untuk pemenuhan hidup manusia (minuman, kosmetik, obat, dan lain sebagainya).

Penelitian yang dilakukan oleh Adila *et al.* (2013) mengenai uji efektifitas ekstrak segar rimpang *Curcuma spp.* yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji menunjukkan bahwa dari keenam jenis *Curcuma* diantaranya *C. xanthoriza* (temulawak), *C. domestica* (kunyit), *C. mangga* (temu

mangga), *C. zedoaria* (temu putih), *C. heyneana* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu hitam), berdasarkan kategori daya hambatnya, maka temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) lebih sensitif dalam menghambat pertumbuhan ketiga mikroba uji dibandingkan dengan *Curcuma* lain terutama pada bakteri *E. coli*. Bahkan diameter zona hambat yang dibentuk melebihi diameter kontrol positif khlorampenikol (29 mm) dibandingkan dengan *S. aureus* dan *C. albicans*.

2.1.3 Manfaat Temulawak

Temulawak mempunyai khasiat laktagoga (perangsang air susu), kolagoga (perangsang empedu), antiinflamisasi, tonikum (obat kuat), dan deuretik (peluruh kencing). Aktivitas kolagoga (perangsang empedu) rimpang temulawak ditandai dengan meningkatnya produksi dan sekresi empedu dilakukan oleh fraksi kurkuminoid. Dengan meningkatnya pengeluaran cairan empedu maka partikel padat dalam kandung empedu berkurang. Hal ini akan mengurangi kolik empedu, perut kembung, dan menurunkan kadar kolesterol yang tinggi (Dalimartha, 2006). Temulawak mengandung zat gizi antara lain karbohidrat, protein, dan lemak serta zat serat juga kalium (K), natrium (N), magnesium (Mg), zat besi (Fe), mangan (Mn) dan kadmium (Cd) (Sampurno, 2004).

Manfaat temulawak ini dapat dijadikan acuan dalam pengembangan alternatif obat baru, sebagaimana Sabda Rasulullah SAW. yang diriwayatkan oleh Abu Dawud dalam *Sunan-nya (Kitab Ath-Thibb)*:

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالذَّوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ

Artinya: Sesungguhnya Allah menurunkan penyakit dan menciptakan obat bagi setiap penyakit, maka berobatlah kalian namun jangan berobat dengan yang haram. (HR. Abu Dawud) (An-Najjar, 2006)

Menurut Qardhawi (1998), menerangkan bahwa Ibnu Qayyim menulis dalam *Zadul-Ma'ad* bahwa sabda Rasul “Untuk setiap penyakit itu ada obatnya”, merupakan penguat bagi setiap orang dan merupakan dorongan untuk terus mencari obat untuk penyakit itu dan memungkinkan bagi dirinya untuk mencarinya dan menelitinya.

Penjelasan hadits tersebut memberikan pesan kepada manusia untuk meyakini bahwa Allah menurunkan penyakit begitu pula dengan obatnya, sehingga sebagai umat Islam, disamping terus beriman kepada Allah SWT. juga harus berusaha mencari obat dari penyakitnya bahkan melakukan penelitian terhadap sesuatu yang berpotensi sebagai obat, sebagaimana manfaat temulawak yang dapat dijadikan sebagai obat. Diantara manfaat lain dari rimpang temulawak adalah ekstrak eter temulawak secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan jamur *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, dan *Trichophyton violaceum* (Oehadian *et al.*, 1985).

2.2 Jamur Endofit

2.2.1 Pengertian Jamur Endofit

Sekitar 300.000 spesies tanaman diketahui merupakan inang endofit (Strobel *et al.*, 2004). Mikroba endofit dapat berupa bakteri atau jamur, tetapi saat ini yang lebih banyak dieksplorasi adalah jamur-jamur endofit (Strobel dan Daisy, 2003). Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat di dalam suatu sistem jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Berbagai senyawa fungsional dapat dihasilkan oleh jamur endofit. Senyawa yang dihasilkan jamur endofit tersebut dapat berupa senyawa anti kanker, antivirus,

antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain-lain (Strobel *et al.*, 2004).

Selain itu, pencarian jamur endofit yang banyak terdapat pada tumbuhan dilakukan untuk menambah atau memperkaya koleksi mikroba. Selanjutnya mikroba tersebut perlu diidentifikasi untuk mengetahui sifat pertumbuhan dan jenisnya, sehingga lebih lanjut dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan. Mengingat kebutuhan bahan baku obat yang semakin meningkat baik jumlah maupun macamnya maka potensi sumber daya alam Indonesia khususnya jamur endofit perlu digali dan dikembangkan (Noverita *et al.*, 2009).

Jamur endofitik mempunyai hubungan mutualistik dengan tanaman inangnya yaitu proteksi terhadap herbivor, serangan serangga atau jaringan yang patogen (Clay, 1988). Dikatakan oleh Petrini (1992), bahwa jamur endofitik yang hidup di dalam tanaman tidak merugikan inangnya. Telah diketahui pula bahwa hubungan antara mikrobia endofitik dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikrobia yang memiliki berbagai jenis bioaktif (Melliawati *et al.*, 2006).

Menurut Noverita *et al.* (2009), fungi endofit yang dihasilkan dari tumbuhan inang dapat menghasilkan jenis isolat yang berbeda-beda dan jumlahnya bervariasi, hal ini merupakan mekanisme adaptasi dari endofit terhadap mikroekologi dan kondisi fisiologis yang spesifik dari masing-masing tumbuhan inang. Bahkan dari satu jaringan hidup suatu tumbuhan dapat diisolasi lebih dari 1 jenis fungi endofit, seperti yang diperoleh dalam penelitian Kaitu *et al.* (2013) yang berhasil memperoleh empat isolat fungi endofit dari tanaman Jahe merah

(*Zingiber officinale* var. *rubrum*). Aly *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa isolasi jamur endofit dari berbagai jenis tanaman yang tumbuh mulai dataran rendah hutan tropik Panama sampai hutan semi kutub (borealis) di Quebec diperoleh sekitar 1202 isolat jamur endofit.

2.2.2 Peran Jamur Endofit

Peran jamur pada jaman dahulu telah disebutkan dalam sabda Rasulullah SAW. yang diriwayatkan oleh Imam Bukhori:

الْكُمَاةُ مِنَ الْمَنِّ وَ مَاؤُهَا شِفَاءٌ لِلْعَيْنِ

Artinya: *Cendawan termasuk anugerah, dan airnya dapat menyembuhkan (sakit) mata* (HR. Bukhori) (An-Najjar, 2006).

Menurut Al-Najjar (2010), dari hadits tersebut Rasulullah menyebutkan *Kam'ah* sebagai “*Manna*” mengandung makna bahwa jamur itu tumbuh karena keistimewaan dan *minnah* (anugerah) dari Allah SWT. karena ia tidak ditanam dan tidak membutuhkan perawatan. Karena itu, *Kam'ah* merupakan *minnah* dari Allah SWT. yang tidak membutuhkan benih atau penyiraman. Manusia tidak perlu bersusah payah menancapkan benih dan memeliharanya. Manusia hanya perlu mengambil dan mengumpulkannya. Karena itulah Rasulullah SAW. menyebut *Kam'ah* sebagai “*manna*” atau anugerah.

Berdasarkan hadits tersebut telah dijelaskan tentang peran jamur dalam kehidupan sehari-hari di jaman Rasulullah. Potensi jamur tersebut dapat terus digali dan dimanfaatkan dalam berbagai keperluan hidup manusia, salah satu jenis jamur yang mulai banyak diteliti adalah jamur endofit dari tumbuh-tumbuhan. Diantara peran jamur endofit sebagai berikut:

- a) Meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap tekanan abiotik

Mekanisme endofit dalam merangsang pertumbuhan tanaman belum jelas, kecuali beberapa spesies memiliki kemampuan dalam memproduksi fitohormon seperti etilen, auksin, sitokinin (Bacon dan Hinton, 2002) atau meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap hara (Hallmann *et al.*, 1997).

Tekanan abiotik seperti kekeringan, suhu tinggi, atau salinitas seringkali menyebabkan tanaman tidak dapat bertahan hidup. Namun, simbiosis endofit dengan tanaman mampu memicu inangnya mengaktifkan sistem pertahanannya. Aly *et al.* (2011) menyatakan bahwa ada tiga teori yang menjelaskan hal ini. Pertama, suatu endofit yang menghasilkan senyawa oksigen reaktif untuk mengoksidasi atau denaturasi membran sel inang akan memicu tanaman meningkatkan ketahanannya terhadap tekanan yang menimpanya. Kedua, endofit merupakan mikroorganisme yang paling banyak menghasilkan berbagai macam antioksidan, asam fenol dan derivatnya. Senyawa-senyawa tersebut berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan luar. Lodewyckx *et al.* (2002) menyatakan bahwa beberapa bakteri endofit menghasilkan enzim deaminase asam 1-aminosiklopropane-1-karboksilik. Enzim tersebut berperan dalam pembentukan etilen pada tanaman. Etilen pada tanaman disintesa ketika tanaman menghadapi tekanan lingkungan, baik biotik maupun abiotik. Ketiga, simbiosis endofit dengan tanaman mampu

meningkatkan adaptasi tanaman terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Sebagai contoh, keberadaan jamur *Neotyphodium coenophialum* pada sistem perakaran tanaman memicu pertumbuhan dan perkembangan akar ke dalam untuk memperoleh hara dan air sehingga tanaman mampu bertahan dalam kondisi kering dan cepat pulih jika mengalami stres air (Yulianti, 2012).

b) Sebagai agensia pengendali hama dan penyakit

Endofit biasanya hidup di dalam jaringan tanaman yang sama dengan bakteri atau jamur penyebab penyakit sehingga sangat cocok sebagai agen pengendali hayati. Kelompok jamur endofit yang berperan sebagai agen pengendali hayati antara lain adalah *Fusarium solani*, *Acremonium zeae*, *Verticillium* sp., *Phomopsis cassiae*, *Muscodora albus*, *Periconia* sp., *Ampelomyces* sp., *Neotyphodium lolii* (Gao et al., 2010).

Mekanisme endofit kelompok jamur dalam melindungi tanaman terhadap serangan patogen ataupun serangga meliputi: (1) penghambatan pertumbuhan patogen secara langsung melalui senyawa antibiotik dan enzim litik yang dihasilkan. Rumput *Festuca prantesis* merupakan tanaman yang kebal atau tidak disukai oleh herbivora termasuk serangga akibat adanya senyawa alkaloid loline, yang merupakan insektisida dengan spektrum luas. Belakangan diketahui bahwa senyawa tersebut dihasilkan oleh jamur endofit *Neotyphodium uncinatum*; (2) penghambatan secara tidak langsung melalui perangsangan endofit terhadap tanaman dalam pembentukan metabolit sekunder seperti asam salisilat, asam jasmonat,

dan etilen yang berfungsi dalam pertahanan tanaman terhadap serangan patogen atau yang berfungsi sebagai antimikroba seperti fitoaleksin; (3) perangsangan pertumbuhan tanaman sehingga lebih kebal dan tahan terhadap serangan patogen; (4) kolonisasi jaringan tanaman sehingga patogen sulit penetrasi; dan (5) hiperparasit (Gao *et al.*, 2010).

Sumber inokulum jamur endofit umumnya spora yang terbang di udara, namun bisa juga ditularkan melalui biji atau vektor serangga (Ghimire dan Hyde, 2004). Bellone dan Silvia (2012) melaporkan bahwa baik bakteri endofit *Azospirillum brasiliense* maupun mikoriza *Glomus* masuk ke dalam jaringan tanaman tebu melalui akar lateral yang baru tumbuh, kemudian berkembang di dalam jaringan dan merubah dinding sel untuk memfasilitasi endofit lain mengkolonisasi.

2.3 Metabolit Sekunder

Tanaman temulawak merupakan salah satu dari jenis tanaman obat yang banyak memberikan manfaat bagi manusia. Allah menciptakan segala yang ada di langit dan di bumi dengan beranekaragam, baik jenis maupun manfaatnya. Sebagaimana firman Allah SWT. dalam surat An-Nahl ayat 11:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.

Penjelasan berdasarkan tafsir Al-Maraghi dari ayat tersebut bahwa Allah-lah yang menumbuhkan dengan air yang diturunkan dari langit itu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur, dan buah-buahan lain yang mempunyai berbagai bentuk, warna, ciri khas dan tabiat masing-masing sebagai rezeki dan makanan pokok bagi kalian agar menjadi nikmat bagi kalian dan hujjah atas orang yang kafir kepada-Nya (Al-Maraghi, 1987:106).

Menurut penjelasan tafsir lain, ayat tersebut disebut pula:

Segala macam buah-buahan, agar manusia dapat mengetahui kekuasaan-Nya yang tidak terbatas yaitu dari air yang sama Allah SWT. berkuasa menumbuhkan tanam-tanaman yang beraneka ragam dan mengeluarkan buah-buahan yang beraneka bentuk, warna dan rasanya. Segala macam tumbuh-tumbuhan yang menghasilkan bahan pemenuhan kebutuhan hidup mereka, adalah nikmat yang diberikan oleh Allah dan sekaligus sebagai bukti keEsaan Tuhan bagi orang yang mengingkari Nya (Kementerian Agama Republik Indonesia, 1991: 343).

Segala macam tumbuh-tumbuhan yang diciptakan Allah sebagai penghasil pemenuhan kebutuhan hidup manusia memiliki manfaat tersendiri berdasarkan kandungan zat aktif yang terkandung di dalamnya. Di dalam tanaman mungkin terkandung puluhan atau lebih dari jenis bahan kimia, sehingga sulit untuk menentukan jenis dan fungsi atau manfaat setiap jenis kandungan bahan aktif tersebut (Nasih, 2010). Dikenal suatu kelompok bahan aktif yang disebut “Produk Metabolit Sekunder” (*Secondary Metabolic Products*), dimana fungsinya bagi tumbuhan tersebut dalam metabolismenya kurang jelas. Namun, kelompok ini dikenal berperan dalam hal berinteraksi atau berkompetisi, termasuk menjadi bahan untuk melindungi diri dari gangguan pesaingnya (Kardinan, 2003).

Metabolit sekunder tanaman obat merupakan salah satu sumber bahan baku obat. Sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang

digunakan sebagai obat atau bahan obat adalah merupakan metabolit sekunder. Secara *in vitro* produksi metabolit sekunder ini dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Produksi metabolit sekunder beberapa tanaman obat melalui kultur jaringan telah banyak dilakukan. Beberapa diantaranya adalah produksi solasodine yang diisolasi dari kultur kallus *Solanum eleagnifolium* dan alkaloid pyrrolidine dari kultur akar tanaman *Senecio spp.* Alkaloid cephaelin dan emetine dapat diisolasi dari kultur callus tanaman *Cephaelis ipecacuanha* (Radji, 2005).

Produk metabolit pada tumbuhan dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Senyawa yang tergolong metabolit primer adalah polisakarida, protein, lemak, dan asam nukleat. Metabolit primer merupakan senyawa-senyawa utama penyusun tanaman (makhluk hidup) yang diperlukan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan (Radji, 2005). Sedangkan menurut Ahmad (2004), senyawa golongan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid.

Menurut Tan dan Zou (2000), mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya. Pemanfaatan mikroba endofit memiliki kelebihan sebagai sumber senyawa bioaktif, karena mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi. Karena mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama atau mirip dengan inangnya, maka isolasi senyawa bioaktif tersebut tidak harus menebang tanaman inang sebagai simplisianya. Dengan demikian biodiversitas tanaman tersebut di alam akan tetap terjaga. Bahkan, ketika tanaman

inangnya pun telah mati atau punah, mikroba endofit yang telah diisolasi dari tanaman tersebut masih dapat dimanfaatkan untuk berbagai tujuan.

Mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya. Keunggulan lain yang ditawarkan mikroba endofit adalah siklus hidup mikroba endofit yang singkat dan senyawa-senyawa yang dihasilkan dapat diproduksi dalam skala besar melalui proses fermentasi. Isolasi senyawa bioaktif dari tumbuhan banyak menemui kendala dikarenakan jumlahnya yang terbatas dan siklus hidup tumbuhan yang relatif lama. Oleh karena itu, mikroba endofit memiliki prospek yang baik dalam penemuan senyawa-senyawa baru (Djabat, 2012).

2.3.1 Senyawa Metabolit Sekunder Sebagai Antibakteri

Kajian fitokimia menurut Harborne (1987), meliputi aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologi (bioassay).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik siklik yang mengandung nitrogen dengan bilangan oksidasi negatif, yang penyebarannya terbatas pada makhluk hidup. Alkaloid juga merupakan golongan zat metabolit sekunder yang terbesar, yang pada saat ini telah diketahui sekitar 5500 buah.

Alkaloid pada umumnya mempunyai keaktifan fisiologi yang menonjol, sehingga oleh manusia alkaloid sering dimanfaatkan untuk pengobatan (Rustaman *et al.*, 2000).

Alkaloid memiliki efek farmakologi pada manusia dan hewan sebagai zat antibakteri. Hal ini disebabkan karena alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri. Penghambatan kerja enzim ini dapat mengakibatkan metabolisme bakteri terganggu (Sunarintyas *et al.*, 2008). Alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (Juliantina *et al.*, 2009).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok yang termasuk ke dalam senyawa fenol yang terbanyak di alam, senyawa-senyawa flavonoid ini bertanggung jawab terhadap zat warna ungu, merah, biru dan sebagian zat warna kuning dalam tumbuhan. Berdasarkan strukturnya senyawa flavonoid merupakan turunan senyawa induk “flavon” yakni nama sejenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan lazim ditemukan, yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan primula (Putri, 2011).

Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya

terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri membran dan membran tidak berfungsi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat (Sumono dan Wulan, 2008; Santosaningsih, 2011). Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Sabir, 2003). Ion hidroksil secara kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap sel bakteri (Sudirman, 2014).

3. Terpenoid/Steroid

Golongan senyawa ini dapat dipisahkan dari tumbuhan sumbernya melalui destilasi uap atau secara ekstraksi dan dikenal dengan nama minyak atsiri. Beberapa contoh minyak atsiri, misalnya minyak yang diperoleh dari cengkeh, bunga mawar, serai (*sitronela*), cukaliptus, peppermint, kamfer, sedar (tumbuhan *cedrus*) dan terpenin. Senyawa organik bahan alam golongan minyak atsiri sangat banyak digunakan dalam industri wangi – wangian (*perfumery*), makanan dan obat – obatan. Bau harum itu berasal dari senyawa yang terdiri dari 10 dan 15 karbon yang disebut terpenoid (Putri, 2011).

Kandungan terpenoid dalam temulawak diantaranya xanthorrhizol yang merupakan minyak atsiri dari golongan seskuiterpen. Minyak atsiri memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. proses denaturasi protein melibatkan perubahan dalam stabilitas molekul protein dan menyebabkan perubahan struktur protein dan terjadi proses koagulasi.

Protein yang mengalami proses denaturasi akan kehilangan aktifitas fisiologi dan dinding sel akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga akan terjadi kerusakan (Sumono dan Wulan, 2008).

4. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pola glikosida saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Rustaman *et al.*, 2000).

Menurut Mustary *et al.* (2011), senyawa saponin memiliki sifat aktif permukaan yang mampu menghambat pertumbuhan sel mikroba dengan cara menghambat sintesa protein sel mikroba.

5. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa aktif antibakteri. Mekanisme penghambatan senyawa fenolik adalah melalui pembentukan ikatan hydrogen antara gugus hidroksil pada senyawa fenolik dengan protein membrane sel, yang menyebabkan gangguan terhadap permeabilitas membrane, sehingga komponen sel yang esensial keluar dari dalam sel dan menyebabkan kematian bakteri (Sastrohamidjojo, 1995; Deasywaty, 2011).

2.3.2 Metabolit Sekunder Jamur Endofit Sebagai Antibakteri

Jamur endofit yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, membuka peluang untuk menghasilkan metabolit sekunder. Apabila jamur endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu memanen tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk menanamnya (Radji, 2005).

Petrini *et al.* (1992) menambahkan bahwa banyak kelompok jamur endofit yang mampu memproduksi senyawa antibiotik yang aktif melawan bakteri maupun fungi patogenik terhadap manusia, hewan dan tumbuhan, terutama dari genus *Coniothirum* dan *Microsphaeropsis*. Penelitian yang dilakukan oleh Tschertter dan Dreyfuss (1982) menghasilkan suatu kesimpulan bahwa galur-galur endofit *Cryptosporiopsis* pada umumnya merupakan penghasil senyawa antibiotik berspektrum luas. Isolat fungi endofit *Xylaria spp.* juga memiliki potensi besar dan dikembangkan dalam penelitian-penelitian industri farmasi maupun pertanian. Salah satu strain *Xylaria* yang diisolasi dari tumbuhan epifit di Amerika Selatan dan Meksiko dilaporkan dapat menghasilkan suatu senyawa antibiotik baru dari kelompok sitokhalasin.

2.4 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Menurut Pelczar dan Chan (2008), cara kerja zat antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

1. Merusak dinding sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan yang kaku disebut dengan dinding sel. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan menahan sel, dinding sel bakteri tersusun atas lapisan petidoglikan yang merupakan polimer kompleks yang terdiri atas rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat yang tersusun secara bergantian. Keberadaan lapisan petidoglikan ini menyebabkan dinding sel bersifat kaku dan kuat sehingga mampu menahan tekanan osmotik dalam sel yang kaku. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau dengan mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Selanjutnya dijelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi bahan antimikroba akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti.

2. Merubah protein dan asam nukleat

Kelangsungan hidup sel sangat tergantung pada molekul-molekul protein dan asam nukleat. Hal ini berarti bahawa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 2008). Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi proein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut.

3. Merubah permeabilitas sel

Sitoplasma dibatasi oleh selaput yang disebut membrane sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membrane ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membrane sitoplasma berfungsi mengatur keluar masuknya bahan-bahan tertentu dalam sel. Proses pengangkutan zat-zat yang lebih diperlukan baik kedalam maupun keluar sel kemungkinan karena di dalam membrane sitoplasma terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Apabila fungsi membran sel bakteri akan mengalami perubahan, sehingga akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

4. Menghambat kerja enzim

Di dalam sel terdapat enzim protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lain, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relative rendah. Dengan demikian kerja enzim yang terhambat akan menyebabkan proses metabolisme terganggu, sehingga aktifitas sel bakteri akan terganggu, hal ini dapat menyebabkan sel bakteri hancur dan akan mati.

5. Menghambat sintesis DNA, RNA dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik dapat menghambat sintesis protein. Apabila keberadaan DNA,

RNA dan protein mengalami gangguan atau menghambat pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel sehingga proses kehidupan sel terganggu.

2.5 KLT-Bioautografi

2.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu jenis dari kromatografi cair-padat adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia (Stahl, 1985). Prinsip kerja dari KLT adalah perbedaan tingkat kelarutan suatu senyawa diantara dua fase. Metode ini sering digunakan karena murah dan mudah. Fase gerak yang digunakan pada KLT adalah pelarut organik dengan perbandingan tertentu yang tujuannya untuk mengubah kepolaran. Fase diam yang digunakan adalah senyawa yang dapat menahan pergerakan sampel yang dibawa oleh fase gerak karena memiliki kepolaran yang sesuai dengan komponen yang dipisahkan (Rahman, 2009).

Pemisahan pada KLT terjadi karena persaingan antara fase diam dan fase gerak untuk mengikat komponen yang terdapat pada campuran yang akan dipisahkan. Persaingan tersebut disebabkan oleh polaritas yang dimiliki oleh fase diam dan komponen campuran. Komponen yang berpolaritas sama dengan fase diam akan berinteraksi lebih kuat dan akibatnya komponen tersebut terjerap oleh fase diam (Rahman, 2009).

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), eluen atau fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2

pelarut organik, karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Rahman (2009) menambahkan bahwa pemilihan eluen digunakan untuk memisahkan komponen senyawa alam harus ditentukan dengan teliti agar kualitas pemisahan dapat mencapai hasil yang baik. Pemilihan eluen tersebut didasari oleh polaritas atau nilai konstanta dielektrik masing-masing pelarut.

Berikut petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak: fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif; daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan; untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hasil penelitian Herdiyanto (2014) pemisahan senyawa dengan KLT menggunakan eluen terbaik yaitu N-heksan:etil asetat menghasilkan 2 bercak yaitu 0,54 dan 0,68. Hwang *et al.* (2000) dalam isolasi xanthorizol juga menggunakan metode KLT dengan eluen N-Heksan:etilasetat (10:1) dari temulawak dan didapatkan nilai R_f 0,58 dengan kemurnian 99,9%. Standar xanthorizol yang dilakukan Asriani (2010) pada temulawak dengan menggunakan eluen yang sama yaitu N-heksan:etil asetat (10:1) dan memodifikasi metode Hwang didapat bahwa xanthorizol memberikan spot dengan R_f 0.55 dengan kemurnian 99,5 %. Begitu pula Stahl (1985) yang melakukan pemisahan senyawa dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan menggunakan KLT silika gel G

pada larutan pengembang kloroform: benzene:etanol 98% (45:45:10) dalam identifikasi senyawa kurkuminoid dan pengamatan bercak dilakukan dibawah cahaya UV 365 nm.

Pemisahan senyawa sebagai fase diam salah satunya menggunakan plat silika GF₂₅₄. Plat yang digunakan diaktivasi terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 30 menit. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kadar air fase penjerap (Sastrohamidjojo, 2007) dengan demikian pelarut dalam gel akan keluar dan meninggalkan matriks berpori yang siap menarik larutan pengembang dengan efek kapilernya (Wonorahardjo, 2013).

Keakuratan hasil pemisahan dengan metode kromatografi juga bergantung pada pemilihan pelarut yang sesuai sebagai fasa diam, kepolaran pelarut atau pemilihan pelarut yang sesuai sebagai fasa gerak, ukuran kolom relatif terhadap jumlah material yang akan dipisahkan dan laju elusi atau aliran fasa gerak (Harborne, 1987). Pemilihan pelarut tersebut dilakukan saat proses ekstraksi. Salah satu proses ekstraksi adalah ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah.

Proses ekstraksi untuk mendapatkan senyawa antimikroba dari fungi endofit telah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Praptiwi *et al.* (2009) dalam penelitiannya menggunakan pelarut etil asetat dan berhasil mengekstraksi senyawa antimikroba fungi endofit dari tumbuhan kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Hal ini dikarenakan etil asetat merupakan larutan yang bersifat semipolar, sehingga saat proses ekstraksi dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar sampai semipolar (Harborne, 1987).

Pemisahan pada Kromatografi Lapis Tipis yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil mungkin. Sebagaimana dalam prosedur kromatografi yang lain, jika sampel yang digunakan terlalu banyak maka akan menurunkan resolusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penotolan sampel secara otomatis lebih dipilih daripada penotolan secara manual terutama jika sampel yang akan ditotolkan lebih dari 15 μ l. Penotolan sampel yang tidak tepat akan menyebabkan bercak menyebar dan puncak ganda (Gandjar dan Rohman, 2007).

Proses selanjutnya adalah elusi senyawa. Elusi dilakukan dengan menitikberatkan sampel di garis awal di bawah lempeng kemudian lempeng dicelupkan ke pelarut yang akan naik karena gaya kapiler. Pemisahan akan terjadi karena ada perbedaan kecepatan laju beberapa zat terlarut yang berbeda yang dibawa naik oleh eluen (Wonorahardjo, 2013).

Analisis dengan KLT diinterpretasikan melalui nilai *retardation factor* (Rf). Nilai Rf adalah perbandingan jarak yang ditempuh pelarut dengan jarak yang ditempuh komponen sampel. Nilai Rf menunjukkan perbedaan sifat senyawa dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tersebut (Rahman, 2009). Berdasarkan Gandjar dan Rohman (2007), analisis Kualitatif pada KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku. Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai Rf. Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai Rf yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama, sehingga disini dapat dibandingkan nilai Rf yang diperoleh secara praktek dan

secara teori. Selain menghitung nilai R_f , identifikasi senyawa juga dengan mendeteksi bercak yang telah dielusi dengan fase gerak melalui beberapa cara.

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan mengamati lempeng dibawah lampu ultra violet yang dipasang panjang gelombang emisi 254 atau 366 untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Lempeng yang diperdagangkan dapat dibeli dalam bentuk lempeng yang sudah diiberi dengan senyawa fluorezen yang tidak larut ketika dimasukkan ke dalam fase diam untuk memberikan dasar fluorensi atau dapat pula dengan menyemprot lempeng dengan reagen fluorensi setelah dilakukan pengembangan.

Menurut pustaka, warna –warna dari senyawa golongan alkohol dan keton tingkat tinggi akan memberikan warna hijau dan biru, sedangkan untuk golongan steroid, asam organik dan terpen ditunjukkan oleh warna coklat (Bobit, 1963; Dummond, 1960). Untuk minyak atsiri ditunjukkan dengan adanya noda melebar warna ungu sampai ungu jingga (Harborne, 1987).

Hasil KLT, namun demikian, tidak memberikan informasi mengenai komponen yang bersifat aktif pada senyawa antimikroba, sehingga perlu dikombinasikan dengan metode bioautografi (Sudirman, 2005).

2.5.2 Bioautografi

Metode bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respons dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antikapang, dan antiprotozoa (Kusumaningtyas *et al.*, 2008).

Metode bioautografi dibedakan menjadi bioautografi kontak, bioautografi imersi atau bioautografi agar *overlay*, dan bioautografi langsung. Bioautografi kontak dilakukan dengan meletakkan lempeng kromatogram hasil eluasi senyawa yang akan diuji diatas media padat yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Adanya senyawa antimikroba ditandai dengan adanya daerah jernih yang tidak ditumbuhi mikroba. Pada bioautografi agar *overlay*, lempeng kromatografi dilapisi dengan agar yang masih cair yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Setelah agar mengeras, lempeng kromatogram diinkubasi dan diwarnai dengan *tetrazolium dye*. Penghambatan dapat dideteksi dengan terbentuknya pita (*band*). Bioautografi langsung dilakukan dengan menyemprot lempeng kromatogram dengan mikroba uji dan diinkubasi. Zona hambat yang terbentuk divisualisasikan dengan menyemprot lempeng kromatogram dengan *tetrazolium dye* (Kusumaningtyas *et al.*, 2008).

Metode KLT-bioautografi juga digunakan oleh Zheng *et al.* (2005) untuk melakukan penapisan dan identifikasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri laut yang hidup berasosiasi dengan spons *Hymeniacidon perleve*

(Montagu) terhadap *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Agrobacterium tumefaciens* Smith & Townsend dan *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen. Senyawa antimikroba dari bakteri laut yang berhasil dipisahkan dengan KLT tersebut selanjutnya dibioautografi dan menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme uji.

2.6 Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berikut ini adalah penjelasannya.

2.6.1 *Escherichia coli*

2.6.1.1 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Kedudukan taksonomi *Escherichia coli* menurut NCBI (2010), sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia

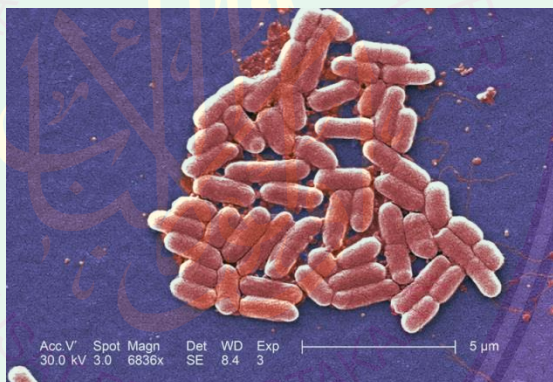
Spesies: *Escherichia coli*

2.6.1.2 Uraian Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah gram negatif berbentuk batang tidak berkapsul. Bakteri ini umumnya terdapat dalam alat pencernaan manusia dan hewan. Sel *Escherichia coli* mempunyai ukuran panjang 2-6 μm dan lebar 1,1-1,5 μm ,

tersusun tunggal , berpasangan dan berflagel. *Escherichia coli* ini tumbuh pada suhu antara 10-45°C, dengan suhu optimum 37 °C, pH optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 7-7,5, pH minimum 4 dan pH maksimum 9. Nilai A_w (kadar air) minimum untuk pertumbuhan *Escherichia coli* adalah 0,96 (Nuraeni *et al.*, 2000).

Escherichia coli termasuk kelompok bakteri berbentuk batang aerob fakultatif gram negatif dengan tebal 0,5 μm , panjang antara 1,0 - 3,0 μm , berbentuk seperti filamen yang panjang, tidak berbentuk spora, bersifat Gram negative (lihat gambar 2.4). *Escherichia coli* merupakan salah satu kelompok bakteri yang dihindari kehadirannya dalam manusia (Anggraini *et al.*, 2013).



Gambar 2.4. Mikroskopik *Escherichia coli* (www.gov.mb.ca)

Bakteri ini memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa, yang dapat dilihat dari indikator merah metal, memproduksi indol, tetapi tidak memproduksi asetoin dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. *Escherichia coli* ini dapat menyebabkan diare pada manusia disebut Entropatogenik *Escherichia coli* (EEG). Inveksi dari EEG dapat menyebabkan penyakit seperti kolera dan desentri pada anak-anak dan orang dewasa. Masa inkubasinya 8-44 jam (Faridz *et al.*, 2007). Menurut Djaja (2008), tingkat kontaminasi oleh *E.*

coli adalah 65.5% dan prevalensi penyakit diare sebanyak 116.075 kasus tahun 1995 dan Kejadian Luar Biasa (KLB) keracunan makanan juga masih tinggi yaitu 31.919 kasus tahun 1997, dengan angka kematian kasus 0.15%.

Infeksi oleh *E. coli* dapat diobati menggunakan sulfonamida, ampisilin, sefalosporin, kloramfenikol, tetrasiklin dan aminoglikosida. Aminoglikosida kurang baik diserap oleh gastrointestinal, dan mempunyai efek beracun pada ginjal. Jenis antibiotik yang paling sering digunakan adalah ampisilin (Kusuma, 2010).

Khotimah (2009) telah meneliti fase pertumbuhan *E.coli* dengan menggunakan metode turbidimetri pada medium *Nutrient Broth*, diketahui fase adaptasi berlangsung dari menit ke-0 sampai menit ke-210, selanjutnya diikuti dengan fase logaritmik berlangsung dari menit ke-210 sampai menit ke-450. Setelah itu, bakteri berada pada fase stasioner dimana jumlah sel yang tumbuh hamper sama dengan jumlah sel yang mati dan akhirnya bakteri mengalami penurunan jumlah sel, hal ini diakibatkan oleh nutrisi yang semakin berkurang atau terakumulasinya limbah metabolisme.

2.6.2 *Staphylococcus aureus*

2.6.2.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

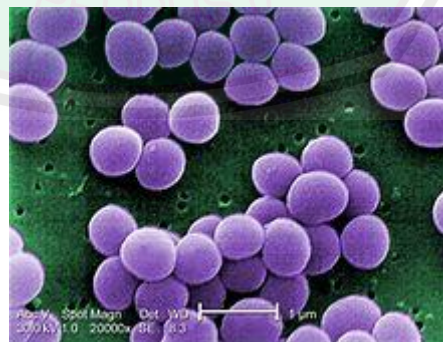
Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Puji, 2011):

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Coccus
 Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus

Spesies: *Staphylococcus aureus*

2.6.2.2 Uraian Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3 (Todar, 2005). Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).



Gambar 2.5. Mikroskopik *Staphylococcus aureus* (Todar, 2005)

Staphylococcus aureus membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning

keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25° C). Pigmen tidak dihasilkan pada biak anaerobik atau pada kaldu. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada banyak pembenihan bakteri. Berbagai tingkat hemolisis dihasilkan oleh *S. aureus* dan kadang-kadang oleh spesies bakteri lain (Jawetz *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus pada media *mannitol salt agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuan memfermentasi mannitol. Jika bakteri tidak mampu memfermentasi mannitol, maka akan tampak zona (Dewi, 2013).

Sebagian bakteri Stafilokokus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Jawetz *et al.*, 2005). Menurut BPOM (2013), tahun 2013 Kejadian Luar Biasa (KLB) keracunan pangan di Indonesia mencapai 36% dengan 48 kejadian yang berasal dari 34 propinsi. Jumlah orang terpapar sebesar 6.926 orang dengan

AR 24,40% (1.690 kasus) dan CFR 0,71% (12 kasus), dan salah satu penyebab infeksi tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

Fase pertumbuhan *S. aureus* dengan menggunakan metode turbidimetri pada medium *Nutrient Broth*, diketahui fase adaptasi berlangsung dari menit ke-0 sampai menit ke-360, selanjutnya diikuti dengan fase logaritmik berlangsung dari menit ke-360 sampai menit ke-600. Setelah itu, bakteri berada pada fase stasioner dimana jumlah sel yang tumbuh hampir sama dengan jumlah sel yang mati dan akhirnya bakteri mengalami penurunan jumlah sel, hal ini dikaibatkan oleh nutrisi yang semakin berkurang atau terakumulasinya limbah metabolisme (Khotimah, 2009).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif kualitatif, yaitu uji kandungan senyawa aktif ekstrak fermentasi metabolit sekunder dari isolat jamur endofit pada hasil aktivitas antibakteri terbaik dan pemisahan senyawa dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilanjutkan bioautografi kontak.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan mulai bulan Juni – Oktober 2015 di dua tempat, yaitu:

- 1) Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk fermentasi metabolit sekunder jamur endofit dan bioautografi kontak.
- 2) Laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang, untuk uji senyawa kimia dan pemisahan senyawa kimia metabolit sekunder jamur endofit melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu, timbangan analitik, autoklaf, lemari pendingin, *Laminar Air Flow/ LAF*, hot plate dan stirrer, inkubator, shaker incubator, sentrifuge dingin, vortex, jarum ose, aluminium foil,

bunsen, pinset, pipet, tabung sentrifuse, mikropipet, tips mikropipet, gelas ukur, gelas beaker, erlenmeyer, cawan petri steril, corong, pengaduk, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipa kapiler, chamber kecil, corong pisah, lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm.

3.3.2 Bahan Penelitian

3.3.2.1 Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah isolat-isolat jamur endofit terpilih yang disolasi dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) asal kota Batu dengan kode isolat TRB1 dan kota Pasuruan dengan kode isolat TRP1 yang didapatkan dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi UIN Malang. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* yang termasuk bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* dari bakteri gram positif yang diperoleh dari laboratorium Bakteriologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

3.3.2.2 Medium

Medium *Malt Extract Agar* (MEA) digunakan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan isolat kapang endofit. Medium *Potato Dextrose Yeast* (PDY) digunakan untuk fermentasi metabolit sekunder jamur endofit. Medium *Natrium Agar* (NA) digunakan untuk pertumbuhan bakteri uji dan medium uji bioautografi.

3.3.2.3 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan untuk uji senyawa kimia adalah Kloroform (CHCl_3), asam sulfat (H_2SO_4) 2N, reagen Mayer, reagen Dragendorff, reagen wagner, reagen Lieberman-Burchard, serbuk magnesium, asam klorida pekat

(HCl) , etanol 70%, larutan besi (III) klorida (FeCl_3), akuades. Pada proses ekstraksi fermentasi metabolit sekunder jamur endofit, pelarut yang digunakan adalah etil asetat. Eluen yang digunakan dalam pengujian KLT adalah kloroform:benzena:etanol 98% = 45:45:10 dan juga N-heksan:etil asetat = 10:1 serta pereaksi semprot vanillin- H_2SO_4 . NaCl 0,9% untuk media suspensi bakteri uji, serta standar kekeruhan McFarland 0,5 (kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$) (komposisi: 0,5 ml larutan BaCl_2 1% ditambah dengan 9,5 ml larutan H_2SO_4 1%).

3.3.2.4 Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai yang digunakan adalah plastik tahan panas [Petromax], masker, hand gloves, tissue gulung, kasa, kapas steril, aluminium foil, plastik wrap, karet gelang, Swab, spirtus, alkohol 70%, kertas saring halus, pelat KLT Silica Gel 60 F₂₅₄ .

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media

3.4.1.1 Pembuatan Media *Malt Extract Agar* (MEA)

Pembuatan media MEA mengikuti modifikasi Sinaga *et al.* (2009) dengan penambahan ekstrak bagian tumbuhan inang yang digunakan. Media tersebut dibuat dengan cara menimbang MEA 17,75 gram ditambah dengan serbuk bagian tumbuhan sebanyak 7,5 gram, Bacto agar 2,5 gram, dan kloramfenikol 0,1 gram. Seluruh bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades sampai 500 ml dan dipanaskan sampai mendidih. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 30 menit. Setelah disterilisasi media

disimpan pada suhu 4°C dalam lemari pendingin. Dan media dipanaskan terlebih dahulu menggunakan hot plate apabila hendak digunakan.

3.4.1.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Yeast* (PDY)

Media PDB sebanyak 13,25 gram dan YE sebanyak 1 gram dicampur dan dilarutkan dengan 500 ml aquades dalam erlenmeyer 1000 ml. Media tersebut dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan hot plate dan stirrer. Media tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.4.1.3 Pembuatan Media *Natrium Agar* (NA)

Media NA sebanyak 11,5 gram dilarutkan dengan 500 ml aquades pada erlenmeyer 1000 ml. Dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan hot plate dan stirrer. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.4.2 Peremajaan Isolat Jamur Endofit untuk *Stock Culture* dan *Working Culture*

Peremajaan isolat jamur endofit yaitu dengan pembuatan *stock culture* (kultur stok) dan *working culture* (kultur kerja) yang dilakukan dengan menginokulasi setiap koloni tunggal biakan isolat jamur endofit masing-masing ke dalam 2 tabung reaksi berisi medium agar miring. Medium yang digunakan adalah medium MEA (*Malt Extract Agar*). Inokulasi biakan isolat jamur endofit dengan metode streak menggunakan jarum ose. Kedua tabung reaksi berisi masing-masing biakan diinkubasi pada suhu ruang (25°C) selama 4-7 hari (hingga terjadi sporulasi). Setiap isolat jamur endofit, satu tabung biakan digunakan sebagai *working culture* dan disimpan pada suhu ruang, sedangkan satu tabung

lainnya digunakan sebagai *stock culture* dan disimpan pada suhu 4°C dalam lemari pendingin.

3.4.3 Fermentasi Jamur Endofit

Fermentasi jamur endofit dilakukan dengan menggunakan media PDY (*Potatoes Dextrose Yeast*), yang bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder dari isolat jamur endofit. Koloni jamur endofit isolat TRB1 dan TRP1 pada media MEA yang telah bersporulasi, kemudian dipotong dan diambil 3 potongan berukuran $\pm 1 \times 1$ cm. Potongan jamur tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam media fermentasi cair PDY sebanyak 20 mL dalam labu erlenmeyer ukuran 100 mL. Labu erlenmeyer yang berisi media fermentasi cair PDY dan potongan kultur jamur endofit difermentasi goyang menggunakan rotary shaker dengan kecepatan 130 rpm (kocokan/menit), dilakukan pada suhu ruang (25 °C) selama 6 hari untuk isolat TRB1 dan 7 hari untuk isolat TRP1(kurva pertumbuhan pada lampiran 6.). Setelah itu medium cair hasil fermentasi tersebut dimasukkan ke dalam tabung sentrifus ukuran 15 mL yang sebelumnya telah disterilisasi terlebih dahulu, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm, suhu 4°C, selama 20 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan disaring menggunakan kertas saring. Supernatan ini kemudian digunakan untuk uji selanjutnya (Sinaga *et al.*, 2009; Noverita *et al.*, 2009).

3.4.4 Uji Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder jamur endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui golongan

senyawa yang terkandung didalamnya, meliputi uji terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik, dan saponin.

1. Uji terpenoid/steroid

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder dari isolat terpilih dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampur kloroform beramoniak kemudian ditambahkan H_2SO_4 2 N ke dalam tabung dan dikocok kuat. Campuran didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform (bawah). Lapisan kloroform diletakkan di plat tetes dan dibiarkan menguap lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Burchard). Apabila terbentuk warna hijau-biru menandakan adanya senyawa steroid dan warna merah menandakan adanya senyawa terpenoid (Elita *et al.*, 2013).

2. Uji alkaloid

Lapisan asam diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Hasil dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga setelah penambahan pereaksi Dragendorff dan warna putih setelah penambahan pereaksi Mayer (Elita *et al.*, 2013).

3. Uji fenolik

Ekstrak kasar fermentasi metabolit sekunder dari isolat terpilih diletakkan di atas plat tetes dan ditambahkan larutan besi (III) klorida (FeCl_3). Hasil positif dinyatakan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi biru-hitam (Elita *et al.*, 2013).

4. Uji flavonoid

Ekstrak kasar fermentasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan etanol 70% dan dipanaskan. Campuran ditambahkan lempeng logam magnesium dan setetes asam klorida pekat. Hasil positif mengandung flavonoid bila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda (Elita *et al.*, 2013).

5. Uji saponin

Akuades ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak kasar fermentasi dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian larutan dikocok kuat dan apabila terbentuk busa yang stabil selama ± 10 menit maka sampel dinyatakan mengandung saponin (Elita *et al.*, 2013).

3.4.5 Ekstraksi Supernatan Hasil Fermentasi Metabolit Sekunder Jamur

Endofit

Ekstraksi supernatan hasil fermentasi metabolit sekunder jamur endofit ini dilakukan berdasarkan Inamandar dan Paliit (2003), yaitu supernatan hasil fermentasi isolat terpilih, isolat TRB1 dan TRP1, diekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah selama 20 menit. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan penambahan N₂ untuk digunakan pada uji selanjutnya.

3.4.6 Pemisahan Senyawa Antibakteri dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan golongan senyawa antibakteri dari ekstrak senyawa jamur endofit dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak senyawa jamur endofit yang dipisahkan komponennya adalah ekstrak senyawa isolat TRB1 dan TRP1 dalam etil asetat. Kromatografi senyawa antibakteri

menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada pelat silika gel 60F₂₅₄ sebagai fase diam berdasarkan Listiandiani (2011). Pelat KLT dipotong berukuran panjang 10 cm dan lebar 1 cm. Bagian bawah pelat ditandai dengan jarak 1 cm untuk batas bawah, dan 1 cm untuk batas atas dengan menggunakan pensil.

Ekstrak etil asetat fermentasi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri terpilih ditotolkan sebanyak 15 totolan pada setiap titik menggunakan pipa kapiler. Fase gerak dengan perbandingan eluen yang digunakan berdasarkan Stahl (1985) dengan perbandingan eluen kloroform:benzena:etanol 98% = 45:45:10 dan Asriani (2010) dengan eluen N-heksan:etil asetat = 10:1. Setiap pelat kemudian dimasukkan ke dalam bejana KLT berisi eluen selama beberapa menit hingga eluen mencapai batas atas, kemudian dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 365 nm. Pola bercak pada pelat diamati dan digambar, nilai Rf (*retention factor*) dihitung berdasarkan Sherma dan Fried (2003) dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

3.4.7 Bioautografi

Pengujian bioautografi menggunakan metode kontak berdasarkan Yulianty *et al.* (2011). Bioautografi kontak dilakukan dengan menempatkan pelat hasil KLT di permukaan media yang telah dicampur dengan suspensi bakteri uji, yaitu sebanyak 5 µl suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan ±10 ml medium *Nutrient Agar* (NA) yang masih dalam keadaan cair (suhu 45°C) dan dihomogenkan. Pelat KLT dibiarkan menempel diatas media yang berisi suspensi bakteri uji selama 60 menit, setelah itu diangkat dan

dipindahkan pelat KLT tersebut. Lalu media yang telah ditemplei pelat KLT diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diindikasikan dengan terbentuknya zona hambat pada sekitar bercak hasil KLT.

3.5 Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil penelitian berupa data kualitatif yang disusun dalam bentuk tabel dan gambar. Data kualitatif meliputi hasil pengamatan uji senyawa kimia ekstrak fermentasi jamur endofit, hasil pengamatan visualisasi KLT, dan hasil pengamatan bioautografi. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jamur endofit temulawak merupakan salah satu mikroba endofit yang terdapat dalam jaringan tumbuhan temulawak yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu pengobatan masalah diare atau pencernaan melalui senyawa aktif yang terkandung dalam jamur endofit tersebut. Pemanfaatan jamur endofit temulawak ini merupakan bukti Allah dalam menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia di bumi ini sebagaimana firman Allah SWT dalam surat Thahaa ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَنْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: *Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.*

Berdasarkan tafsir Al-Misbah maksud dari ayat “Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”, yaitu dengan perantara air hujan itu tumbuh bermacam-macam jenis, bentuk, rasa, warna, dan manfaatnya. Itu semua Allah ciptakan untuk manusia dan juga binatang-binatang. Allah menurunkan air dari langit berupa air hujan, dan juga mata-mata air dan sungai-sungai serta lautan, lalu ditumbuhkan dari air itu aneka macam dan jenis tumbuhan lalu Allah SWT. Memberi hidayah kepada manusia untuk memakannya dan itu semua merupakan ayat-ayat yakni tanda-

tanda tentang hidayah dan rububiyah/ Ketuhanan dan pemeliharaan Allah SWT.

Hal-hal tersebut harus dicamkan oleh kaum yang berakal (Shihab, 2002).

Al-Maraghi juga memberikan penafsiran yang serupa dalam ayat tersebut, bahwa:

Allah menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Dia mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti halnya pada temulawak dan juga buah-buahan, baik yang masam maupun yang manis. Juga mengeluarkannya dengan berbagai manfaat, warna aroma dan bentuk; sebagiannya cocok untuk manusia dan sebagian lainnya cocok untuk hewan. Di sini terdapat penjelasan tentang nikmat-nikmat Allah yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui hujan yang melahirkan berbagai manfaat itu (Al-Maraghi, 1987:213).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa banyak jenis tumbuhan yang mampu tumbuh di muka bumi ini melalui perantaraan air hujan. Berbagai jenis tumbuhan dengan berbagai manfaat yang bisa diambil oleh manusia dalam kehidupannya, seperti tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat berbagai penyakit, termasuk tanaman temulawak yang dapat dimanfaatkan sebagai obat berbagai penyakit melalui mikroba endofit salah satunya jamur endofit. Hal ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan seperti disebutkan pula firman-Nyadalam surat Al-Qashash ayat 57:

وَقَالُوا إِن نَّبْعِ أَهْدَىٰ مَعَكَ نَتَّخِطْفَ مِنْ أَرْضِنَا ۖ أَوْلَمْ نُمْكِنْ لَهُمْ حَرَمًا ءَامِنًا يُجْبَىٰ إِلَيْهِ
ثَمَرَاتُ كُلِّ شَيْءٍ رِّزْقًا مِّن لَّدُنَّا وَلَٰكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ ﴿٥٧﴾

Artinya : Dan mereka berkata: "Jika Kami mengikuti petunjuk bersama kamu, niscaya Kami akan diusir dari negeri kami". dan Apakah Kami tidak meneguhkan kedudukan mereka dalam daerah Haram (tanah suci) yang aman, yang didatangkan ke tempat itu buah-buahan dari segala macam (tumbuh- tumbuhan) untuk menjadi rezki (bagimu) dari sisi Kami?. tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.

Berdasarkan tafsir al-Maraghi, sesungguhnya ayat ini diperuntukkan bagi penghuni tanah haram yang ragu untuk mengikuti ajaran Allah karena takut diusir dari negerinya, dan Allah pun memberikan jawaban melalui ayat ini. Adapun makna dari ayat “*didatangkan ke tempat itu buah-buahan dari segala macam (tumbuh- tumbuhan) untuk menjadi rezki (bagimu) dari sisi Kami?*”, bahwa Allah telah melimpahkan karunia pada mereka dan memberi makan bagi mereka segala bebuahan, yang didatangkan dari segenap penjuru bumi dan tempat perdagangan , serta barang-barang dagangan dari segenap negeri sebagai rezki dari-Nya bagi mereka penghuni tanah haram (Al-Maraghi, 1987).

Meskipun mempunyai makna demikian, sebagai umat Islam dengan Al-quran sebagai pedoman dan petunjuk kehidupan, ayat tersebut juga dapat mengisyaratkan kepada seluruh manusia agar kita mencari dan mempelajari berbagai tumbuhan yang menjadi rezeki yaitu yang memberikan manfaat bagi kehidupan (Savitri, 2008). Penelitian jamur endofit temulawak yang diidentifikasi jenis senyawa aktifnya dan potensinya dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus* ini juga merupakan bagian ikhtiar dalam mempelajari tumbuhan yang menjadi rezeki umat manusia terutama dalam hal pengobatan.

4.1 Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Temulawak

Identifikasi senyawa aktif metabolit sekunder jamur endofit temulawak ini menggunakan skala kualitatif dengan uji fitokimia. Kajian fitokimia menurut Harborne (1987) meliputi aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta

metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologi (bioassay).

Penelitian ini menggunakan ekstrak kasar media fermentasi jamur endofit temulawak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari penelitian sebelumnya (belum dipublikasi) yaitu isolat TRB1 dan TRP1 dan dilakukan uji fitokimia pada waktu optimum produksi antibakteri untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Uji fitokimia terhadap ekstrak kasar fermentasi jamur endofit temulawak merupakan langkah awal yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam masing-masing isolat.

Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna. Penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari masing-masing ekstrak kasar isolat jamur endofit dan dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin yang tersaji pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Uji Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit Isolat TRB1 dan TRP1

No.	Uji Fitokimia	Jenis Isolat		Reaksi Positif
		TRB1	TRP1	
1.	Terpenoid/ steroid	-	-	Perubahan warna merah menjadi hijau-biru
2.	Alkaloid			
	a. Dragendorf	-	+	Jingga
	b. Meyer	+	-	Putih
	c. Wagner	-	-	Endapan coklat
3.	Flavonoid	-	-	Merah muda
4.	Fenolik	-	-	Biru-hitam
5.	Saponin	+	+	Buih putih yang stabil $\pm$ 10 menit

Keterangan : “+” = terdeteksi, “-” tidak terdeteksi

a. Uji Terpenoid dan Steroid

Reaksi positif dari uji Terpenoid dan steroid dengan penambahan pereaksi Liebermen burchard yaitu dengan terbentuknya warna merah untuk terpenoid dan biru-hitam untuk steroid (Elita *et al.*, 2013; Fajrullah *et al.*, 2014). Uji golongan terpenoid dan steroid pada ekstrak kasar jamur endofit temulawak baik isolat TRB1 dan TRP1 ini menunjukkan hasil negatif dengan terbentuknya warna putih keruh pada isolat TRB1 dan TRP1 setelah penambahan dengan pereaksi Liebermen burchard (lampiran 2.).

b. Uji Alkaloid

Identifikasi golongan alkaloid pada ekstrak kasar jamur endofit isolat TRB1 dan TRP1 menunjukkan hasil negatif. Hal ini dikarenakan dari ketiga penambahan pereaksi (Dragendorf, Meyer, dan Wagner) hanya menunjukkan satu reaksi positif dari masing-masing isolat. Menurut Deasywaty (2011), Ekstrak tumbuhan dikatakan mengandung alkaloid jika terbentuk reaksi positif dari dua golongan larutan percobaan. Reaksi positif uji alkaloid teridentifikasi dari jenis

isolat TRB1 pada penambahan pereaksi Meyer dan jenis isolat TRP1 pada penambahan reagen Dragendorf.

Sedangkan pada penambahan pereaksi Dragendorf pada isolat TRB1 menunjukkan hasil negatif dengan terbentuknya warna kuning dan endapan kuning serta hasil negatif pada penambahan pereaksi wagner yang menunjukkan perubahan warna menjadi jingga kecoklatan (gambar di lampiran 2.). Ekstrak kasar isolat TRP1 juga menunjukkan hasil negatif pada penambahan pereaksi Meyer dengan hasil reaksi menunjukkan warna putih kuning keputihan dan hasil negatif pada penambahan pereaksi wagner dengan hasil uji yang menunjukkan perubahan warna jingga (gambar di lampiran 2.).

c. Uji Flavonoid

Identifikasi golongan flavonoid dengan penambahan Mg dan HCl pekat tidak memperlihatkan hasil positif pada ekstrak kasar isolat TRB1 dan TRP1. Hal ini terlihat reaksi negatif dengan terbentuknya warna putih keruh dan berbuih pada ekstrak kasar isolat TRB1 serta warna kuning dan berbuih banyak pada ekstrak kasar isolat TRP1 (gambar di lampiran 2.). Menurut Elita *et al.* (2013) uji golongan flavonoid dikatakan positif jika pada ekstrak sampel terjadi perubahan warna menjadi merah muda.

d. Uji Fenolik

Hasil identifikasi golongan fenolik pada ekstrak kasar jamur endofit temulawak pada kedua isolat, yaitu TRB1 dan TRP1 menunjukkan reaksi negatif. Hal ini dapat dilihat adanya perubahan warna menjadi kuning orange pada ekstrak kasar isolat TRB1 dan orange keruh pada ekstrak kasar isolat TRP1 (lihat gambar pada lampiran 2.). Menurut Elita *et al.* (2013), hasil positif pada uji fenolik

ditunjukkan pada perubahan warna menjadi biru-hitam pada ekstrak sampel. Begitu pula menurut Sastrawan *et al.* (2013), hasil positif pada identifikasi senyawa fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

e. Uji Saponin

Hasil positif pada uji saponin dari kedua isolat, yaitu TRB1 dan TRP1 ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama ± 10 menit setelah dikocok (seperti pada gambar lampiran 2.). Elita *et al.* (2013) dan juga Sastrawan *et al.* (2013) mengatakan bahwa hasil positif uji saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih putih yang stabil selama ± 10 menit. Hal ini dikarenakan saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis darah (Harborne, 1987). Metode identifikasi dengan pengocokan dan melihat terbentuknya busa stabil pada uji saponin digunakan karena metode ini mudah dilakukan, cepat serta tidak memerlukan peralatan dan bahan yang rumit.

Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, mengubah struktur dan fungsi membran, dan akhirnya menyebabkan membran sel akan rusak dan lisis (Arabski *et al.*, 2012).

Hasil positif uji saponin pada jamur endofit temulawak ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam jamur endofit ini sama atau mirip dengan senyawa yang terkandung dalam tanaman inangnya, yaitu temulawak. Hal ini diperkuat dengan literatur bahwa rimpang temulawak mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tannin (Afifah, 2005; Siagian, 2006; Deasywaty, 2011).

Menurut Tan dan Zou (2000), mikroba endofit memang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya. Contohnya adalah senyawa Oleandrin sebagai senyawa anti-kanker, selain dihasilkan oleh tanaman *Nerium indicum*, ternyata juga dihasilkan oleh mikroba endofit yang diisolasi dari daun *Nerium indicum* (Prihatiningtias, 2006). Endofit juga memiliki kemampuan untuk mentransformasi komponen kimia dalam tanaman inangnya (Agusta, 2009) seperti bakteri endofit *Bacillus polymixa* yang diisolasi dari tumbuhan *Artemisia annua* dengan kemampuan untuk memproduksi senyawa biotransformasi artemisinin sebagai senyawa bioaktif antimalaria (Simanjuntak *et al.*, 2004).

Menurut Siagian (2006), menyatakan bahwa temulawak mengandung alkaloid dan terpenoid. Hal yang sama dilakukan Mangunwardoyo *et al.* (2012), bahwa hasil identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70% temulawak menunjukkan hasil positif pada senyawa alkaloid, kuinon, terpenoid dan steroid. Hasil identifikasi uji fitokimia pada senyawa yang tidak terdeteksi, mungkin dikarenakan sampel yang digunakan dalam uji ini masih berupa ekstrak kasar dari fermentasi metabolit sekunder jamur endofit temulawak, sehingga kemungkinan masih terdapat zat-zat pengotor lain yang ketika diuji dengan pereaksi suatu senyawa menghasilkan reaksi yang negatif.

Oleh karena mikroba endofit terutama jamur endofit pada temulawak juga dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang mirip dengan tanaman induknya, maka kemungkinan komponen aktif lain yang tidak terdeteksi seperti terpenoid, alkaloid, fenolik, dan flavonoid yang terdapat dalam jamur endofit temulawak

mengalami transformasi menjadi struktur kimia yang lain oleh jamur endofit isolat TRB1 dan TRP1. Menurut Lu *et al.* (1995), biotransformasi adalah perubahan suatu senyawa menjadi senyawa turunannya yang strukturnya berbeda dari senyawa asalnya akibat aktivitas metabolisme suatu mikroba.

4.2 Pemisahan Senyawa Antibakteri dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

4.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan Larutan Pengembang kloroform : benzene : etanol 98% (45:45:10)

Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) pada ekstrak isolat dalam etil asetat dilakukan dua kali pengukuran ulangan. Ekstrak isolat TRB1 dalam etil asetat menghasilkan 4 bercak dan 5 bercak pada ekstrak isolat TRP1 dengan nilai Rf tersaji pada tabel 4.2 dan lampiran 5.

Tabel 4.2. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10)

Jenis isolat	Rf (UV ₂₅₄)	Rf (UV ₃₆₅)	Warna (UV ₃₆₅)	Rf Standard (Stahl, 1985)
TRB1	0,31	0,33	Hijau	0, 40- 0,45 (Kurkumin)
	0,41	0,40	Ungu	
	0,51	0,48	Ungu kehijauan	
	0,57	0,56	Hijau kekuningan	0, 35- 0, 40 (Desmetoksi- kurkumin)
TRP1	0,13	0,21	Kelabu pucat	
	0,20	0,30	Biru	0, 25- 0,35 (Bisdesmetoksi- Kurkumin)
	0,27	0,37	Biru kehijauan	
	0,31	0,46	Kelabu pucat	
	0,37	0,56	Kelabu pucat	

Nilai Rf yang tertera pada tabel tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran KLT. Hasil yang diperoleh pada jenis isolat TRB1 dengan menggunakan visualisasi lampu UV₂₅₄ adalah 0,31; 0,41; 0,51; dan 0,57; sedangkan visualisasi dengan lampu UV₃₆₅ didapatkan nilai Rf 0,33, 0,40, 0,48, 0,56. Nilai Rf pada isolat TRP1 dengan visualisasi lampu UV₂₅₄ yaitu 0,13; 0,2; 0,27; 0,31; 0,37. Nilai Rf isolat TRP1 dengan visualisasi lampu UV₃₆₅ menghasilkan 0,21; 0,30; 0,37; 0,46; 0,56.

Identifikasi senyawa pada bercak hasil pemisahan dengan KLT tersebut dapat dibandingkan dengan nilai Rf standard, seperti halnya pada literatur Stahl (1985) yang melakukan pemisahan senyawa dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan menggunakan KLT silica gel G pada larutan pengembang yang sama, yaitu kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) dan pengamatan bercak dilakukan dibawah cahaya UV 365 nm, dengan hasil yang tertera pada tabel 4.2. Perbandingan nilai Rf pada bercak hasil KLT dalam penelitian ini dengan nilai Rf standard maka dapat diindikasikan adanya golongan senyawa kurkuminoid pada bercak yang teramati pada visualisasi UV 365 baik itu kurkumin, desmetoksikurkumin, maupun bisdesmetoksikurkumin.

Adapun komponen kurkumin dapat terdeteksi pada jenis isolat TRB1 pada bercak ke-2 dengan hRf 40, dan untuk jenis isolat TRP1 senyawa kurkumin dapat dilihat pada bercak ke-4 ulangan 2 dengan hRf 46. Fraksi desmetoksikurkumin dapat terdeteksi pada isolat TRP1 pada bercak ke-3 dengan hRf 37. Sedangkan bisdesmetoksikurkumin dapat dilihat pada jenis isolat TRB1 di bercak ke-1

dengan hRf 33, dan untuk isolat TRP1 senyawa bisdesmetoksikurkumin dapat terlihat pada bercak ke-2 dengan hRf 30.

Berdasarkan hasil KLT tersebut fluoresensi terlihat jelas dengan warna pada pengamatan di bawah lampu UV 365 nm. Fluoresensi yang dihasilkan tampak berwarna ungu, hijau, sampai kelabu. Hal ini diperkuat oleh literatur dari Stahl (1985) yang menyatakan bahwa dalam analisis pemisahan senyawa temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan menggunakan KLT dan eluen yang sama dengan penelitian ini, yaitu kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) dibawah cahaya UV ₃₆₅, fluoresensinya berwarna kuning-kelabu pucat. Hal yang sama juga terlihat pada penelitian Azizah dan Salamah (2013) dalam profil KLT standar kurkumin menggunakan konsentrasi yang berbeda, yaitu 1.6; 1.4; 1.2; 0.8; 0.4 dan 0.2 µg/µl menghasilkan warna bercak yang berbeda pula, mulai dari bercak berwarna kuning, kuning kehijauan sampai kelabu.

Warna fluoresensi kelabu pucat tersebut diduga karena kadar senyawa yang ada dalam ekstrak isolat terlalu kecil, sehingga dalam proses pemisahan senyawa dengan KLT pun menghasilkan bercak yang tipis. Menurut Azizah dan Salamah (2013) pengamatan yang dilakukan pada kunyit untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa kurkumin dengan KLT menggunakan UV 366 nm, deteksi tidak menggunakan pereaksi semprot karena kurkumin sudah berwarna jika dilihat pada UV 366 nm.

Berdasarkan hasil KLT tersebut menunjukkan adanya indikasi senyawa bisdesmetoksikurkumin dalam pemisahan senyawa dalam jamur endofit temulawak. Sedangkan Menurut Sidik (2006) dan Parahita (2007) fraksi

kurkuminoid dalam temulawak mempunyai aroma yang khas, tidak toksik, terdiri dari dua komponen yaitu, kurkumin dan desmetoksikurkumin. Munculnya senyawa bisdesmetoksikurkumin tersebut dimungkinkan adanya biotransformasi jamur endofit isolat TRB1 dan TRP1 dalam fraksi kurkuminoid. Menurut Lu *et al.* (1995), biotransformasi adalah pengubahan suatu senyawa menjadi senyawa turunannya yang strukturnya berbeda dari senyawa asalnya akibat aktivitas metabolisme suatu mikroba.

4.2.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan Larutan Pengembang N-Heksan : Etil asetat (10:1)

Larutan pengembang n-heksan:etil asetat merupakan larutan yang bersifat semipolar, sehingga bercak yang terlihat pada kromatogram KLT dapat terpisah dengan baik karena larutan pengembang yang digunakan dapat menarik senyawa yang bersifat polar sampai semipolar (Harborne, 1987). Keakuratan hasil pemisahan dengan metode kromatografi bergantung pada pemilihan pelarut yang sesuai sebagai fasa diam, kepolaran pelarut atau pemilihan pelarut yang sesuai sebagai fasa gerak, ukuran kolom relatif terhadap jumlah material yang akan dipisahkan dan laju elusi atau aliran fasa gerak (Harborne, 1987). Hasil pemisahan senyawa isolat TRB1 dan TRP1 dalam etil asetat menggunakan eluen N-Heksan : Etil asetat (10:1) tersaji dengan nilai R_f pada tabel 4.3 dan Lampiran 5.

Tabel 4.3. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang N-Heksan : Etil asetat (10:1)

Jenis isolat	Rf (UV ₂₅₄)	Rf (UV ₃₆₅)	Warna (UV ₃₆₅)	Rf Standard Xanthorizol
TRB1	0,22	0,21	Ungu	0, 54 (Herdiyanto, 2014)
	0,56			0, 55 (Asriani, 2010)
	0,75			
TRP1	0,55	0,15	Biru Kehijauan	0, 58 (Hwang <i>et al.</i> , 2000)
	0,83			

Pemisahan komponen senyawa dengan KLT menggunakan eluen N-heksan:etil asetat (10:1) pada isolat TRB1 dengan visualisasi UV 254 menghasilkan 3 bercak yaitu dengan nilai Rf 0,22; 0,56; dan 0,75. Sedangkan pada visualisasi UV 365 menghasilkan 1 bercak yaitu dengan Rf 0,21. Pada isolat TRP1 dengan visualisasi UV 254 menghasilkan 2 bercak, yaitu dengan nilai Rf 0,55 dan 0,83. Visualisasi menggunakan lampu UV 365 menghasilkan satu bercak, yaitu dengan nilai Rf 0,15.

Identifikasi senyawa pada bercak tersebut kemudian dibandingkan dengan nilai Rf standar dengan penggunaan eluen yang sama. Berdasarkan hasil penelitian Herdiyanto (2014), pemisahan senyawa dengan KLT menggunakan eluen terbaik yaitu N-heksan:etil asetat menghasilkan 2 bercak yaitu 0,54 dan 0,68. Karakterisasi senyawa menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, Infra Red dan KG-MS memberikan hasil bahwa bercak pada nilai Rf 0,54 tersebut merupakan senyawa xanthorizol dengan kadar kemurnian 87,4%.

Menurut Hwang *et al.* (2000) penelitian yang dilakukan dalam isolasi xanthorizol dari temulawak didapatkan nilai Rf 0,58 dengan kemurnian 99,9%.

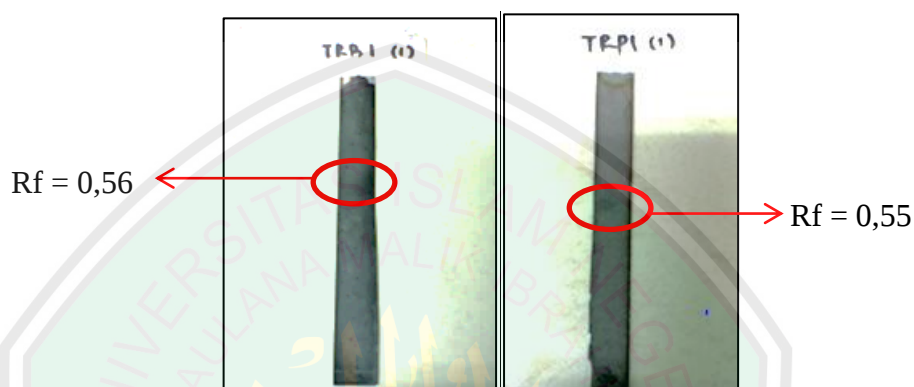
Standar xanthorizol yang dilakukan Asriani (2010) pada temulawak dengan menggunakan eluen yang sama yaitu N-heksan:etil asetat (10:1) dan memodifikasi metode Hwang didapat bahwa xanthorizol memberikan spot dengan Rf 0.55 dengan kemurnian 99,5 %, selain itu pemisahan senyawa xanthorizol didapat dengan Rf 0,86.

Perbedaan standar nilai Rf pada literatur tersebut tidak membuat rumit deteksi nilai Rf yang ada dalam sampel uji isolat TRB1 dan TRP1. Hal ini dikarenakan apabila dua bercak memiliki nilai Rf yang hampir sama, maka kemungkinan besar komponen tersebut berasal dari kelompok senyawa yang sama (Margino, 2008).

Berdasarkan standar Rf dalam literatur tersebut, maka nilai Rf yang didapat pada pemisahan senyawa isolat TRB1 dan TRP1, yaitu 0,55 dan juga 0,56 pada visualisasi lampu UV 254 dari kedua isolat dan mengindikasikan bahwa bercak tersebut merupakan senyawa xanthorizol. Menurut Herdiyanto (2014), dalam pemisahan senyawa dengan KLT menggunakan eluen yang sama, yaitu N-heksan: etil asetat (10:1), pengujian spot dilakukan dengan lampu UV 254 nm dan penyemprotan dengan pereaksi vanillin.

Selain perbandingan nilai Rf, untuk mempertegas warna bercak agar lebih mudah dikenali dalam deteksi warna, maka pelat KLT yang sudah diamati dibawah UV dan juga dari pengujian bioautografi kemudian disemprot dengan pereaksi semprot vanillin dan dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C selama 10 menit. Menurut Setiabudi (1995 *dalam* Kusumaningtyas *et al.*, 2008), plat KLT yang sudah disemprot dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama lebih

kurang 10 menit. Pemanasan diperlukan untuk pembentukan warna yang optimum terutama untuk pereaksi warna yang menggunakan asam. Hasil penyemprotan tersebut memberikan warna ungu pada bercak dengan Rf 0,56 pada isolat TRB1 dan untuk isolat TRP1 juga memberikan warna ungu pada bercak dengan Rf 0,55. Hasil dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Hasil pewarnaan plat KLT dengan pereaksi semprot vanillin

Warna ungu yang dihasilkan pada pelat KLT baik isolat TRB1 dan TRP1 tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian Herdiyanto (2014), bahwa pelat KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi vanilin dan memberikan warna ungu untuk spot dengan Rf 0.55. Hal tersebut juga diperkuat dengan literatur dari Gibbons (2006), warna yang diberikan minyak atsiri (xantorizol) ketika diwarnai dengan pereaksi vanilin adalah merah-biru.

4.3 Bioautografi

Hasil pemisahan senyawa dengan KLT kemudian diuji dengan bioautografi untuk mengetahui kemampuan aktivitas senyawa yang telah terpisah melalui KLT dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Bioautografi ini dilakukan pada pelat KLT yang mengandung ekstrak senyawa antibakteri dari isolat TRB1 dan TRP1 (ekstrak dalam etil asetat) yang telah dipisahkan.

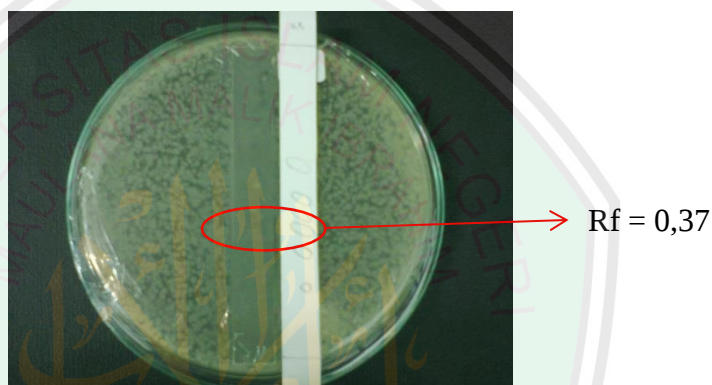
Bioautografi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bioautografi kontak, yaitu dengan meletakkan plat KLT hasil eluasi senyawa yang akan diuji di atas media padat yang sudah diinokulasi dengan suspensi bakteri uji.

Suspensi bakteri sebanyak 5 μ L dicampur dengan ± 10 ml media NA. Setelah media agar memadat, lempeng KLT diletakkan pada lapisan permukaan media agar terjadi kontak senyawa dengan media dan bakteri uji. Pada pelaksanaan kadang-kadang ada beberapa gelembung udara yang terjebak antara lempeng KLT dengan permukaan media agar, keadaan ini dapat menghambat proses kontak dan menimbulkan kesulitan dalam pengamatan zona jernih yang terbentuk. Untuk mencegah hal ini lempeng KLT diletakkan perlahan-lahan dimulai dari pangkal ke ujung lempeng KLT dan diusahakan tidak merusak media agar (Hamburger & Cordel, 1987). Lempeng KLT kemudian ditekan perlahan agar benar-benar bersentuhan dengan media. Lempeng KLT dibiarkan 60 menit di atas media untuk memberi kesempatan komponen kimia berdifusi masuk ke dalam media, setelah itu lempeng KLT diangkat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Senyawa antibakteri ditandai dengan adanya daerah jernih yang tidak ditumbuhi bakteri (Kusumaningtyas *et al.*, 2008). Menurut Yulianty *et al.* (2011), adanya aktifitas antibakteri atau antijamur ditandai dengan terbentuknya zona hambatan yang bersifat radikal atau iradikal. Zona radikal tampak berupa daerah yang jernih tanpa terlihat pertumbuhan mikroba uji, sedangkan zona iradikal masih ada pertumbuhan mikroba tetapi dihambat atau pertumbuhan itu lebih kecil dibanding pertumbuhan yang tidak dihambat, oleh karena itu zona iradikal berupa

zona yang keruh tetapi masih lebih jernih dibandingkan pertumbuhan disekitarnya.

Hasil bioautografi ekstrak isolat TRP1 dengan eluen kloroform: benzene: etanol 98% (45:45:10) menunjukkan penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan satu bercak pada Rf 0,37 seperti yang terlihat pada gambar 4.2. Nilai Rf 0,37 termasuk ke dalam senyawa bisdesmetoksikurkumin yang merupakan golongan kurkuminoid.



Gambar 4.2. Penghambatan senyawa isolat TRP1 eluen KLT kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) terhadap bakteri *Escherichia coli*

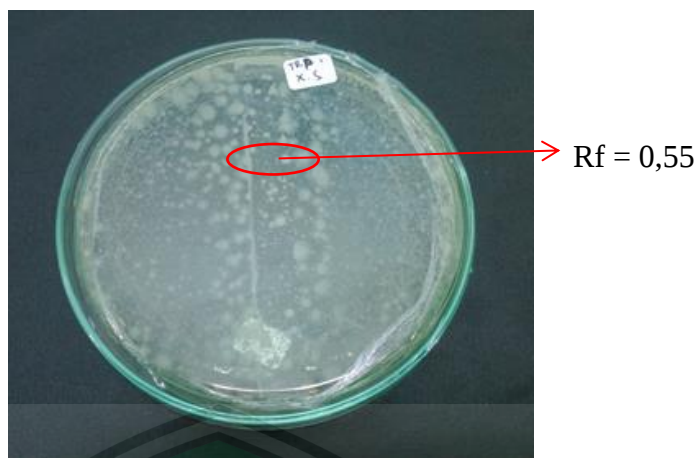
Secara kimiawi, kurkuminoid pada rimpang temulawak merupakan turunan dari diferuloilmetan yakni senyawa dimetoksi diferuloilmetan (kurkumin) dan monodesmetoksi diferuloilmetan (desmetoksikurkumin). Menurut Sidik (2006), kandungan kurkuminoid dalam rimpang temulawak kering berkisar 3,16%. Sedangkan kadar kurkumin dalam kurkuminoid rimpang temulawak sekitar 58–71 % dan desmetoksikurkumin berkisar 29–42 %.

Kurkumin dikenal sebagai warna kuning alami dan termasuk ke dalam kelompok senyawa polifenol yang dapat mengubah permeabilitas membran sehingga menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri (Rahman, 2009).

Menurut Ananggia dan Murnah (2007) dalam penelitiannya, kurkumin yang terdapat dalam rimpang temulawak efektif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi 100% dalam uji Kadar Hambat Minimum (KHM). Selain itu Tajbakhsh *et al.* (2008) menyebutkan pula bahwa kurkumin dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* penyebab ruam pada kulit dan *Escherichia coli* penyebab diare akut.

Mekanisme penghambatan kurkuminoid yang juga termasuk senyawa fenol adalah melalui pembentukan ikatan hydrogen antara gugus hidroksil pada senyawa fenol dengan protein membran sel, yang menyebabkan gangguan terhadap permeabilitas membran, sehingga komponen sel yang esensial keluar dari dalam sel dan menyebabkan kematian bakteri (Sastrohamidjojo, 1995; Deasywaty, 2011).

Selain penghambatan pada senyawa isolat TRP1 eluen KLT kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) terhadap bakteri *Escherichia coli* juga terdapat penghambatan dengan zona iradikal pada isolat TRP1 dengan eluen N-heksan:etil asetat (10:1) pada bercak dengan nilai Rf 0,55 (lihat gambar 4.3). Dari hasil identifikasi bercak hasil KLT, maka diduga senyawa tersebut merupakan senyawa xanthorizol. Sehingga senyawa xanthorizol yang terpisah dari hasil KLT memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 4.3. Penghambatan senyawa isolat TRP1 eluen KLT N-heksan:etil asetat (10:1) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Penelitian sebelumnya xanthorizol juga menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Streptococcus mutans* sebagai penyebab karies gigi dan juga antibakteri terhadap *Actinomyces viscosus* dan *Porphyromonas gingivalis* (Hwang *et al.*, 2000). Xanthorizol adalah komponen khas minyak atsiri pada rimpang temulawak yang termasuk ke dalam kelompok sesquiterpen. Xanthorizol memiliki rumus molekul $C_{15}H_{22}O$ dengan bobot molekul sebesar 218.335 g/mol (Sutisna, 2012).

Minyak atsiri memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara proses denaturasi protein yang melibatkan perubahan dalam stabilitas molekul protein pada bakteri dan menyebabkan perubahan struktur protein dan terjadi proses koagulasi. Protein yang mengalami proses denaturasi akan kehilangan aktifitas fisiologi dan dinding sel akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga akan terjadi kerusakan pada sel bakteri (Sumono dan Wulan, 2008).

Pengujian pada plat KLT sampel lain tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada bioautografi kontak. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa antibakteri yang telah dipisahkan berupa bercak hasil KLT tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tidak adanya aktivitas antibakteri terlihat dari tidak terbentuknya zona hambat baik radikal maupun iradikal di sekitar bercak pada pelat KLT. Hal itu diduga karena konsentrasi komponen aktif pada bercak pelat KLT sangat rendah, sehingga tidak mampu menunjukkan kemampuannya dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Metode bioautografi juga dilakukan dalam penelitian Rante *et al.* (2013), yaitu ekstrak etil asetat fungi endofit cabai kotokkon hasil KLT pada isolat DC-1 diuji lanjut dengan metode bioautografi agar-*overlay*. Hasil uji menunjukkan noda dengan Rf sebesar 0,54 cm aktif terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 18,3mm, yang menunjukkan penghambatan yang besar dan diduga merupakan golongan senyawa terpenoid dan alkaloid.

Yulianty *et al.* (2011) dalam skrining dan analisis KLT-bioautografi senyawa antimikroba beberapa ekstrak spons asal perairan laut di Pulau Barrang Lompo, Sulawesi Selatan, menunjukkan bahwa hasil bioautografi kontak ekstrak isolat BRLP-009 terdapat satu bercak pada Rf 0,57 yang menunjukkan zona jernih (iradikal) terhadap bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhii*. Hasil positif pada seluruh bakteri uji mengindikasikan bahwa senyawa aktif tersebut berspektrum luas untuk bakteri gram positif maupun gram negatif.

Berdasarkan hasil dari penelitian tentang identifikasi senyawa metabolit sekunder jamur endofit temulawak ini dan juga potensinya sebagai senyawa antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, maka banyak pelajaran yang mengingatkan kita akan bukti kekuasaan Allah dalam dunia ini bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh-Nya tidak ada yang sia-sia. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.*

Menurut tafsir Ibnu Katsir, firman Allah yang berbunyi “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi*” yakni ihwal ketinggian dan keluasan langit, ihwal kerendahan dan ketebalan bumi, serta tanda-tanda kekuasaan kekuasaan yang besar yang terdapat pada keduanya, baik tanda-tanda yang bergerak maupun yang diam, lautan, hutan, pepohonan, barang tambang, serta berbagai jenis makanan, warna, dan bau-bauan yang bermanfaat. “Serta silih bergantinya malam dan siang” yang pergi dan datang serta susul menyusul dalam hal panjang, pendek, dan sedang. Semua itu merupakan penetapan dari Yang Maha Perkasa lagi Maha Mengetahui. Oleh karena itu, Allah Ta’ala berfirman, “Benar-benar

terdapat tanda-tanda kekuasaan bagi orang yang berakal”, artinya terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, yaitu sempurna dan bersih yang dapat memahami hakikat berbagai perkara, bukan seperti orang-orang yang tuli dan bisu yang tidak dapat memahami (Ar-Rifa’i, 1999).

Tafsir Al-Aisar juga menguatkan keterangan pada ayat-ayat ini bahwa:

Allah SWT menyebutkan beberapa tanda-tanda kekuasaan-Nya pada alam semesta sebagai bukti kemahakayaan-Nya ketergantungan para makhluk kepada-Nya. Kebesaran Allah di alam semesta merupakan bukti rububiyah-Nya atas semua makhluk dan hanya dia yang mengatur serta mengawasi kehidupan mereka. Tidak ada tuhan bagi makhluk selain dia, dialah satu-satunya tuhan yang mereka sembah, tak ada yang berhak disembah selain dia. Akan tetapi, hal ini kurang dipahami kecuali oleh orang-orang yang memiliki mata hati yang jernih dan akal yang cemerlang (Al-Jazairi, 2007: 286).

Berdasarkan penjelasan surat Ali Imran ayat 190-191 dari kedua tafsir tersebut, terdapat pelajaran yang sangat berguna bagi manusia. Allah menciptakan langit dan bumi dengan berbagai tanda-tanda kekuasaan yang ada di dalamnya, melalui perantaraan air hujan Allah menumbuhkan banyak jenis tumbuh-tumbuhan seperti yang telah dijelaskan dalam Surat Thaha ayat 53 dan juga An-Nahl ayat 11. Setiap tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT. mempunyai bentuk, rasa, dan manfaat yang berbeda (QS. Al-An’am: 99), seperti halnya Allah menumbuhkan temulawak yang pada rimpangnya keluar tunas dan akan menjulang batang, daun yang hijau serta bunganya yang indah. Demikian pula Allah menciptakan temulawak yang mudah untuk diambil rimpangnya dalam tanah dan kemudian dapat dimanfaatkan manusia. Satu unsur tumbuh-tumbuhan berbeda dengan unsur tumbuhan lain dengan penyerapan makanan dari akar-akar yang menembus tanah dan naik ke batang, dahan, daun dan bunga (QS. Al-Hijr: 19).

Subhanallah, begitu rincinya Allah mengatur apa yang ada di alam ini. Akan tetapi apa yang harus kita pelajari dari tanda-tanda kekuasaan Allah tersebut tidak berhenti sampai di situ saja. Dalam tumbuhan tersebut kita masih dapat menemukan ciptaan Allah lagi seperti mikroba endofit. Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya, salah satunya jamur endofit yang terdapat dalam temulawak.

Hasil penelitian ini pun didapatkan bahwa dalam jamur endofit masih kita temukan lagi tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. yaitu kandungan senyawa aktif dalam metabolit sekunder jamur endofit seperti saponin dari hasil uji fitokimia, kurkumin dan xanthorizol dari hasil pemisahan senyawa dengan KLT. Kandungan kurkumin dan xanthorizol yang ditemukan dalam jamur endofit tersebut sama dengan yang terkandung dalam tumbuhan inangnya, yaitu temulawak.

Senyawa kurkumin dan xanthorizol itulah yang menjadi senyawa penciri dalam temulawak. Sebagaimana Allah telah menjelaskan melalui firman-Nya dalam Surat Al-Hijr ayat 19 bahwa ketentuan dan kadar masing-masing yang diciptakan Allah di bumi inilah yang membuat tumbuhan bervariasi sehingga tercipta pula keadaan, karakter dan fungsi masing-masing tumbuhan sesuai dengan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut, seperti halnya dengan jamur endofit dari temulawak itu sendiri. Adanya senyawa yang terdapat dalam metabolit sekunder jamur endofit temulawak tersebut juga berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri inilah yang apabila dipelajari lebih dalam akan menjadi sumber pengobatan baru, misalnya antibiotik. Adanya tumbuhan temulawak inilah Allah memberikan suatu rezki melalui jamur endofit

yang ada di dalamnya sebagai salah satu sumber obat seperti yang telah tertulis dalam firman Allah SWT dalam surat Al-Qashash ayat 57.

Berdasarkan penjelasan tersebut ada keterkaitan antara apa yang sudah tertulis dalam Al-Quran dengan sains. Melalui makna tersiratnya Allah telah memberikan tanda-tanda kekuasaan-Nya yang ada di alam ini. Al-Qur'an merupakan petunjuk bagi tiap umat Islam yang meyakini. Sebagai sumber dari segala ilmu pengetahuan, Al-Qur'an tidak menyebutkan setiap hal yang ada di dunia ini secara mendetail, namun semua hal itu terkandung di dalam arti global yang disebutkan oleh Al-Qur'an dan hal ini sudah dijamin oleh Allah di dalam Al-Qur'an itu sendiri. Sungguh banyak sekali tanda-tanda kekuasaan Allah yang ada di dunia ini, tinggal kita mau memikirkan, mensyukuri, meyakini, dan mempelajari hal tersebut untuk kehidupan yang lebih baik atas ridho Allah SWT (QS. Ali Imran: 190-191) (QS. Adz-Dzariyat: 20-21).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Identifikasi senyawa aktif dari metabolit sekunder jamur endofit melalui uji fitokimia pada jenis isolat TRB1 dan isolat TRP1 menunjukkan hasil positif terhadap senyawa saponin. Sedangkan hasil pemisahan senyawa melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan eluen kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) pada visualisasi 365 nm menghasilkan 4 bercak pada isolat TRB1 dan 5 bercak pada isolat TRP1, dan di duga sebagai senyawa kurkuminoid, dengan hRf 40-45 sebagai senyawa kurkumin, 35-40 sebagai senyawa desmetoksikurkumin, dan hRf 25-35 sebagai senyawa bisdesmetoksikurkumin. Sedangkan untuk eluen N-heksan:etil asetat (10:1) pada visualisasi UV 254 nm terdeteksi sebagai senyawa xanthorizol dengan nilai Rf 0,56 untuk bercak pada Isolat TRB1 dan Rf 0,55 pada bercak isolat TRP1.
2. Bioautografi kontak dari Bercak hasil pemisahan senyawa dengan KLT menunjukkan aktivitas antibakteri pada isolat TRP1 dengan eluen Kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) dengan penghambatan zona iradikal pada nilai Rf 0,37 terhadap bakteri *Escherichia coli* yang merupakan senyawa kurkuminoid, dan dengan eluen N-heksan:etil asetat (10:1) dengan zona iradikal pada bercak dengan nilai Rf 0,55 terhadap

bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan senyawa xanthorizol. Sehingga senyawa kurkuminoid dan xanthorizol yang terdapat pada isolat TRP1 berpotensi sebagai senyawa antibakteri.

5.2 Saran

Saran yang perlu dilakukan dari hasil penelitian ini adalah

1. Perlu dilakukan penelitian sejenis untuk uji fitokimia dengan menggunakan pelarut yang sesuai pada ekstrak kasar sehingga identifikasi senyawa aktif pada metabolit sekunder rimpang temulawak dapat lebih maksimal.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk identifikasi golongan senyawa dari hasil KLT dengan menggunakan Spektrofotometri *UV-Vis*, Spektrofotometri *Infra Red* dan KG-MS.
3. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan mikroorganisme patogen yang lain, sehingga dapat mempertegas bahwa jamur endofit temulawak mempunyai kemampuan sebagai zat antibakteri dan antifungi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adila, Rahmi, Nurmiati dan Agustien, Anthoni. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol. 2, No.1, Hal. 1-7
- Afifah, E. 2005. *Khasiat dan Manfaat Temulawak, Rimpang Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Quran Al-Aisar Jilid 4*. Jakarta: Darus sunnah
- Al-Maraghiy, Ahmad Musthafa. *Tafsir Al-Maraghi Juz 14*. Penerjemah Hery Noer Aly, K. Anshori Umar Sitanggal, Bahrin Abubakar. Semarang: Toha Putra
- Al-Najjar, Zaghlul. 2010. *Buku Induk Mukjizat Ilmiah Hadits Nabi*. Penerjemah Yodi Indrayadi dan tim penerjemah Zaman. Jakarta: Zaman
- Aly A. H., A. Debbab, and P. Proksch. 2011. Fungal Endophytes: Unique Plant Inhabitants with Great Promises. *Appl Microbiol Biotechnol*. Vol. 90, Hal. 1829–1845
- Ananggia S. A. dan Murnah. 2007. Profil kromatogram dan aktivitas antibakterial ekstrak etanol rimpang temulawak terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* in vitro. <http://eprints.undip.ac.id/22669/1/Sarlin.pdf>. Diakses tanggal 25 Agustus 2015 pada pukul 15.26 WIB.
- Anggraini, R., Salim, M., dan Mardiah, E. 2013. Uji Bakteri *Escherichia coli* Yang Resistan Terhadap Antibiotik Pada Ikan Kapas-Kapas Di Sungai Batang Arau Padang. *Jurnal Kimia Unand*. Vol. 2, No. 2, Hal. 17-21
- An-Najjar, Zaghlul. 2006. *Pembuktian Sains dalam Sunah, Buku 1*. Penerjemah Zainal Abidin dan Syakirun Ni'am (STP Sabda). Jakarta: Amzah
- Arabski M, Wegierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, & Kaca W. 2012. Effect of Saponin Againsts Clinical *E.coli* Strains and Eukaryotic Cell lines. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol. 20, No. 12, Hal. 1-6
- Ar-Rifa'i, Muhammad Nasib. 1999. *Kemudahan dari Allah: Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir*. Penerjemah Syihabuddin. Jakarta: Gema Insani Press
- Asriani, D. 2010. Isolasi Xantorizol dari Temu Lawak Terpilih Berdasarkan Nomor Harapan. *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Azizah, Barokati dan Salamah. 2013. Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 3, No. 1, Hal. 21-30
- Bacon C.W. and D.M. Hinton. 2002. Endophytic and Biological Control Potential of *Bacillus mojavensis* and Related Species. *Biological Control*. Vol. 23, Hal.274-284
- Basyir, Hikmat. 2011. *Tafsir Al-Muyassar*. Penerjemah Izzudin Karimi, Akhmad Syaikh, Habiburrahim. Solo: An-Naba'
- Bellone C. H. and C de B. Silvia. 2012. Interaction of *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradix* in Sugar Cane Roots. *Indian Journal of Microbiology*. Vol. 52, Hal.70–75
- Cikrici, S., Mozioglu, E., Yilmaz, H. 2008. Biological Activity of Curcuminoids from *Curcuma longa*. *J Nat Prod*. Vol. 2, Hal. 19-24
- Bobit, JM. 1963. *Thin Layer Chromatography*. New York: Reinhold Publishing Co. Hal. 207
- BPOM RI. 2013. *Laporan Tahunan 2013 Badan Pengawas Obat dan Makanan RI*. Jakarta: BPOM RI
- Cahyono, B., Huda, M.D.K., dan Limantara, L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*. Vol. 13, No. 3, Hal. 165-171
- Choi, Min-Ah, Kim, S.H., Chung, Won-Yoon, Hwang, Jae-Kwan, dan Park, Kwang-Kyun. 2005. Xanthorrhizol, a Natural Sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an Anti-Metastatic Potential in Experimental Mouse Lung Metastasis Model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol. 326, Hal. 210–217
- Clay, K. 1988. Fungal Endophytes of Grasses: a Defensive Mutualism Between Plants and Fungi. *Journal of Ecology*. Vol. 69, No. 1, Hal. 10-16
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Jakarta: Puspa Swara
- Deasywaty. 2011. Aktivitas Antimikroba dan Identifikasi Komponen Aktif Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Tesis*. Program Pascasarjana Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok
- Devi, Nameirakpam Nirjanta dan Wahab, Femina. 2012. Antimicrobial Properties Of Endophytic Fungi Isolated From Medicinal Plant *Camellia sinesis*.

International Journal of Pharma and Bio Sciences. Vol.3, No.3, Hal.420-427

- Dewi, Amalia Krishna. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 31, No. 2
- Djabat, Rahma Septiana H.N. 2012. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Antimikroba Senyawa Metabolit Sekunder dari Jamur Endofit Tumbuhan Bratawali (*Tinospora crispa*). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Padang
- Djaja, I Made. 2008. Kontaminasi *E. coli* pada Makanan dari Tiga Jenis Tempat Pengelolaan Makanan (TPM) Di Jakarta Selatan 2003. *Makara Kesehatan*. Vol. 12, No. 1, Hal. 36-41
- Dummond, HM. 1960. Patchouli oil. *Journal of Perfumary and Essential Oil Record*. Vol. 51, No. 9, Hal. 484-492
- Elfina, Dewi, Martina, A., Roza, R.M. 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Fungi Endofit Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- 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*. Vol. 3, No.2, Hal. 56-62
- Fajrullah, A., Irawan, H., dan Pratomo, A. 2014. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Thalassodendron ciliatum* Pada Pelarut Berbeda.
- Faridz, R., Hafiluddin, dan Anshari, M. 2007. Analisis Jumlah Bakteri Dan Keberadaan *Escherichia coli* Pada Pengolahan Ikan Teri Nasi di PT. Kelola Mina Laut Unit Sumenep. *Embryo*. Vol. 4, No.2, Hal. 94-106
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Gao F. K., Ch. Dai, and X. Z. Liu. 2010. Mechanisms Of Fungal Endophytes In Plant Protection Against Pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 4, Hal. 1346-1351.
- Ghimire S.R. and K. D. Hyde. 2004. *Fungal Endophyte*. dalam A.Varma, L. Abbott, D.Werner, R.Hampp (Eds.). *Plant Surface Microbiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Hal. 281-292

- Gibbons S. 2006. An Introduction to Planar Chromatography. Dalam Sarker SD, Latif Z, Gray AI, Natural Products Isolation, 2nd Ed. 77-116. New Jersey: Humana Press
- Hadipoentyanti, Endang dan Syahid, Sitti Fatimah. 2007. Respon Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Hasil Rimpang Kultur Jaringan Generasi Kedua Terhadap Pemupukan. *Jurnal Littri*. Vol.13, No.3, Hal. 106 – 110
- Hallmann, J.A., A. Quadt-Hallmann, W. F. Mahaffee, and J. W. Kloeper. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 43, Hal. 895-914
- Hamburger, M.O., dan Cordell, G.A. 1987. Direct Bioautographic TLC Assay for Compounds Possesing Antibacterial Activity. *Natural Product*. Vol.50, No.1, Hal.19-22
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara dan Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi II*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Hayani, Eni. 2006. Analisis Kandungan Kimia Rimpang Temulawak. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian 2006*
- Herdiyanto. 2014. Pengoptimuman Metode Ekstraksi Dan Isolasi Xantorizol Dari Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Hwang, J.K, J.S. Shim dan Y.R. Pyun. 2000. Antibacterial Activity of Xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* Against Oral Patogens. *Fitoterapia*. Vol. 71, No. 3, Hal. 321-323
- Imawati, Rohana. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang
- Inamandar, A.C. dan Paliit, A. 2003. The Genus *Malassezia* and Human Disease. *Indian J.Dermatol Venereol Leprol*
- Jawetz, E., Adelberg, EA., dan Melniek, J. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Enugroho dan Maulana Edisi ke-20. Jakarta: EGC
- Juliantina FR, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.

- Kaitu, RAM., Sidharta, B.R., Atmodjo, K. 2013. Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. Hal. 1-14
- Kardinan, Agus dan Dhalimi, Azmi. 2003. Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Tanaman Multi Manfaat. *Perkembangan Teknologi*. Vol. 15, No. 1
- Khotimah, F.K. 2009. Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*). *Skripsi*. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Kementerian Agama Republik Indonesia. 2010. *Al-Qur'an dan Tafsirnya*. Yogyakarta: PT. Dana Bhakti Wakaf
- Kunia, Kabelan. 2007. Temulawak dan Pengobatannya. *Http : //www.google.com* Diakses pada tanggal 18 Maret 2015 pukul 09.35 WIB
- Kusumaningtyas, E., Astuti, E., Darmono. 2008. Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan *Agar Overlay* dalam Penentuan Senyawa Antikapang. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 6, No. 2, Hal. 75-79
- Kusuma, Sri Agung Fitri. 2010. *Escherichia coli*. Makalah. Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran. Bandung
- Koswara S., Oktavia C.A, Sumarto. 2012. *Panduan Proses Produksi Temulawak Instan*. Bogor: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Institut Pertanian Bogor
- Listiandiani, Kirana. 2011. Identifikasi Kapang Endofit ES1, ES2, ES3, dan ES4 dari *Broussonetia papyrifera* Vent. dan Pengujian Aktivitas Antimikroba. *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok
- Lodewyckx, C . J. Vangronsveld, F. Porteous, E. R.B. Moore, S. Taghavi, M.Mezgeay, and D. van der Lelie. 2002. Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*. Vol. 21, Hal. 583- 606
- Lu, H., *et al.*1995. New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotricum* sp. an Endophytic Fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci*. Vol. 151, Hal. 67-73
- Mangunwardoyo, W., Deasywaty, Usia, T. 2012. Antimicrobial And Identification Of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Basic and Applied Sciences*. Vol. 12, No. 01
- Meilisa. 2009. Uji Aktivitas Anti Bakteri dan Formulasi dalam Sediaan Kapsul dari Ekstrak Etanol Rimpang Tumbuhan Temulawak (*Curcuma xanthoriza*

- Roxb) Terhadap Beberapa Bakteri. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Melliawati, Ruth , Widyaningrum, D.N., Djohan, A.C., Sukiman, H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas*. Vol. 7, No. 3, Hal. 221-224
- Muhlisah, Fauziah. 1999. *Tanaman Obat Keluarga (Toga): Temulawak*. Cet.2. Jakarta: Penebar Swadaya
- Mursito, Bambang. 2002. *Budidaya Secara Organik Tanaman Obat Rimpang*. Jakarta: Martha Tilaar Innovation Center.
- Mustary, M., Djide, M.N., Mahmud I., Hasyim, N. 2011. Uji Daya Hambat Dan Analisis KLT-Bioautografi Perasan Buah Sawo Manila (*Achras zapota* Linn) Terhadap Bakteri Uji *Salmonella thyposa*. *Jurnal MKMI*. Vol. 7, No.1, Hal. 25-27
- Nasih, Abdullah. 2010. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit pada Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) sebagai Penghasil Senyawa Antifungi Terhadap Jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Noverita, Fitria D, dan Sinaga E. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit dari Daun dan Rimpang (*Zingiber ottensii* Val.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 4, No. 4, Hal. 171 -176
- Nuraeni, K., Y. Wibisono, dan Idrial. 2000. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan dan Pengolahan*. Jember:Politeknik Pertanian Negri Jember.
- Oehadian, H., Sjafiudin, M., Mohamad, E., dan Nuraini. 1985. Efek Antijamur dari *Curcuma xanthorrhiza* terhadap Beberapa Jamur Golongan Dermatopyta dalam Simposium Nasional Temulawak. Bandung: Universitas Padjadjaran. Hal. 180-185
- Oei, B. 1986. Efek Koleretik dan Anti Kapang Komponen *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dan *Curcuma domestica* Val. *Laporan Penelitian*. PT. Darya Varia Laboratoria
- Padiangan, M. 2010. Stabilitas Antimikroba Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Mikroba Patogen. *Media Unika*. Vol. 73, No.4, Hal. 365-373
- Parahita, M.L. 2007. *Curcuma xanthorrhiza* (Temulawak) *Morfologi, Anatomi, Fisiologi*. <http://www.toiusd.multiply.com>. Diakses pada tanggal 1 Februari 2015.

- Pelczar, M.J dan Chan E.C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Terjemahan dari *Elements of Microbiology*, oleh Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Petrini, O., Sieber, TN., Toti, L., Viret, O.1992. Ecology, Metabolite Production and Substrate Utilization in Endophytic Fungi. *Natural Toxins*. Vol.1, Hal. 185-196
- Prasetyorini, Wiendarlina I.Y., Peron A.Y. 2011. Toksisitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Larva Udang (*Artemiasalina* Leach.). *Fitofarmaka*. Vol. 1 No.2 , Hal.50-57
- Prihatiningtias, W. dan Wahyuningsih, M.S.H. 2006. Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif
- Puji. 2011. *Bakteri Staphylococcus aureus, klasifikasi, sifat gram, dan morfologi*. <http://pujipeje.blogspot.co.id/2012/05/bakteri-staphylococcus.html>. Diakses pada tanggal 5 Juni 2015 pukul 16.07 WIB
- Putri, D. U. 2011. Identifikasi Senyawa Organik Bahan Alam pada Tumbuhan Urang-aring (*Tridax procumbens* L.). <http://www.tarmiziblog.blogspot.com>. Diakses pada tanggal 29 Maret 2015 pukul 16.51 WIB
- Qardhawi, Yusuf. 1998. *Sunnah Rasul Sumber Ilmu Pengetahuan dan Peradaban*. Penerjemah Abdul Hayyie Al-Kattanie dan Abduh Zulfidar. Jakarta: Gema Insani Press
- Qayyim Al Jauziyah, Ibnu. 1994. Sistem Kedokteran Nabi: Kesehatan dan Pengobatan Menurut Petunjuk Nabi Muhammad SAW. Diterjemahkan oleh Dr. H. Said Agil Husin Al-Munawwar. Semarang: PT. Karya Toha Putra
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 2, No. 3, Hal. 113-126
- Rahardjo, Mono dan Ajjiah, Nur. 2007. Pengaruh Pemupukan Organik Terhadap Produksi Dan Mutu Tiga Nomor Harapan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) di Cibinong Bogor. *Buletin Balitro*. Vol. XVIII, No. 1, Hal. 29 – 38
- Rahman, M.N., 2009. Aktivitas Antibakteri Senyawa Hasil Biotransformasi Kurkumin oleh Mikroba Endofit Asal Kunyit. *Skripsi*. Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rante, Herlina, Burhanuddin Taebe Dan Soendaria Intan. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba dari Daun Cabai Katokkon

(*Capsicum annum* L. Var. *Chinensis*) Dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 17, No.2 , Hal. 39 – 46

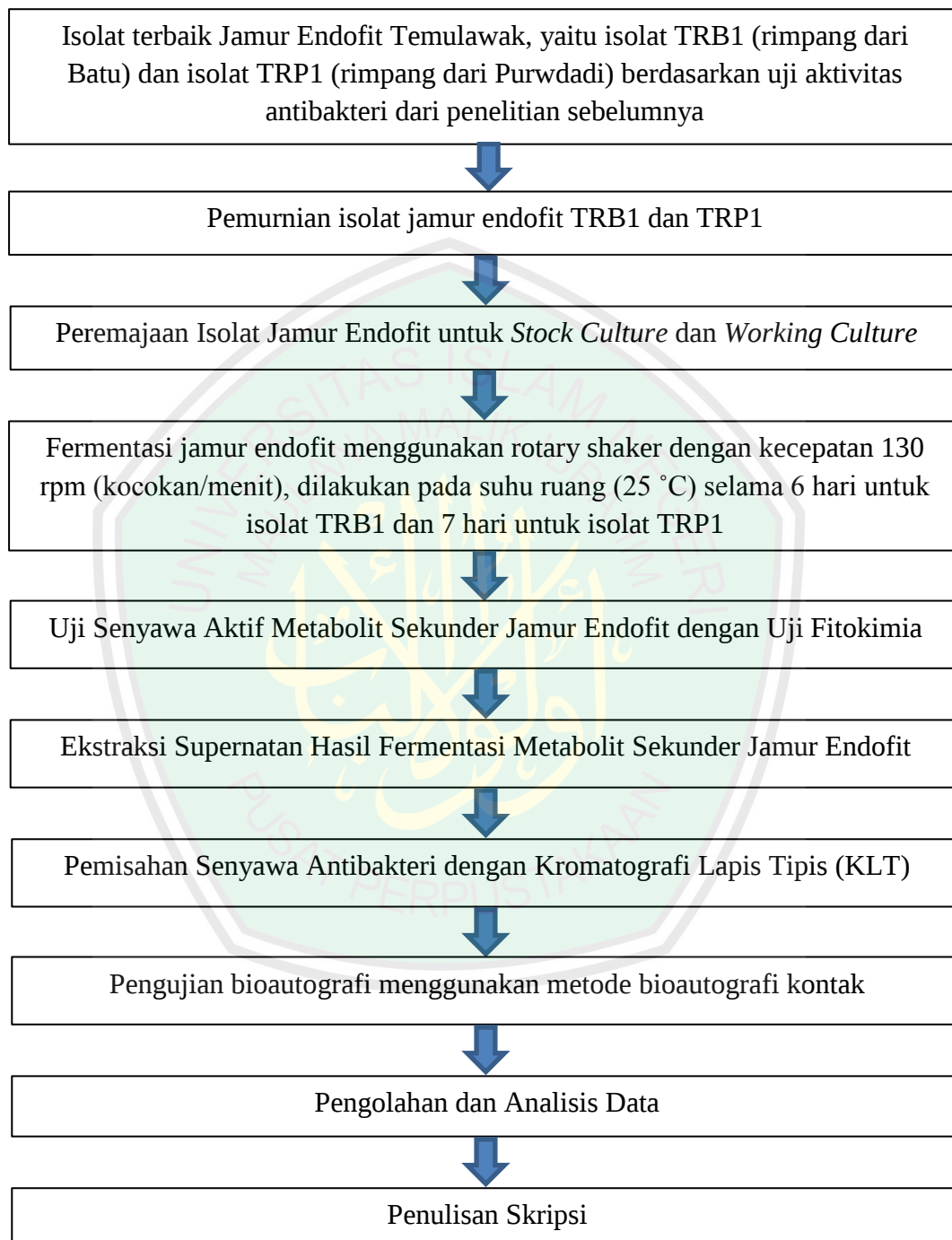
- Rukmana, R. 1995. *Temulawak Tanaman Obat dan Rempah*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Rustaman, Abdurahman, M., Hidayat, A.T. 2006. Analisis Fitokimia Tumbuhan di Kawasan Gunung Simpang sebagai Penelaahan Keanekaragaman Hayati. *Laporan Penelitian*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjadjaran. Bandung
- Sabir, A. 2003. Identifikasi Golongan Flavonoid dalam Propolis *Trigona sp.* dari kabupaten Bulukumba Sulawesi Selatan yang Digunakan pada Perawatan Kaping Pulpa Langsung. *Maj Ked Gigi (Dent J) FKG Unair*. Hal. 59–63
- Sampurno, H. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Volume 1. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Santosaningsih D, Roekistiningsih. 2011. Efek Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm Pada *Staphylococcus aureus* secara in Vitro. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Sastrawan, Idza N., Sangi, Meiske, Kamu, Vanda. 2013. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode Dpph. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 13 No. 2, Hal. 110-115
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta : Penerbit Liberty
- Sastrohamidjojo, H. 1995. *Sintesis Bahan Alam*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty
- Savitri, Evika Sandi. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN-Malang Press
- Schulz B. J. E and C.J.C. Boyle. 2006. *What are endophytes?* dalam Schulz BJE, Boyle CJC & Sieber TN,(eds). *Microbial Root Endophytes*, pp. 1–13. Springer-Verlag, Berlin
- Sherma, J. & B. Fried. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan dan Keresasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati
- Siagian, M.H. 2006. *Temulawak sebagai Tanaman Obat dan Budidayanya secara Intensif*. Bogor: Balitbang Botani, Puslitbang Biologi LIPI

- Sidik, M.W. 1997. *Temulawak, Cucurma xanthorrhiza* (Roxb). Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Alam
- Sidik. 2006. *Gerakan Nasional Minum Temulawak*. http://www.majalahfarmacia.comrubrikone_news/. Diakses tanggal 31 Februari 2015 pukul 14.00 WIB
- Sinaga, Ernawati, Noverita, Dinah Fitria. 2009. Daya Antibakteri Jamur Endofit Yang Diisolasi Dari Daun Dan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* Sw.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 4, No. 4, Hal.161 -170
- Simanjuntak, P. 2004. Biotransformasi Senyawa Alkaloid Kinkona oleh Kapang *Xylaria* sp. menjadi Alkaloid Kinkona N-oksida. *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 13, Hal. 95-100
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro. Bandung: ITB Press
- Strobel G., B. Daisy, U. Castillo and J. Harper. 2004. Natural Products From Endophytic Microorganisms. *Journal of Natural Products*. Vol. 67, Hal. 257-268
- Strobel, G. dan Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 67, No.4, Hal. 491-502
- Sudirman, L.I. 2005. Deteksi senyawa antimikroba yang diisolasi dari beberapa *Lentinus tropis* dengan metode bioautografi. *Hayati*. Vol.12, No.2, Hal.67-72
- Sudirman, Taufik Azhari. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Fakultas Kedokteran Gigi Makassar
- Sumono, A. dan Wulan, A. 2009. Kemampuan air rebus daun salam (*Eugenia polyantha*) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 20, No. 3, Hal. 112-7
- Sunarintyas, S., Siswomihardjo, W., Maryati, N. 2008. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Air dan Etanol Kulit Batang *Azadirachta indica* terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *M. I. Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada*. Vol. 23, No. 4.
- Sutisna, Wina Apriani. 2012. Isolasi dan Pemurnian Xantorizol dari Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Skripsi*. Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor

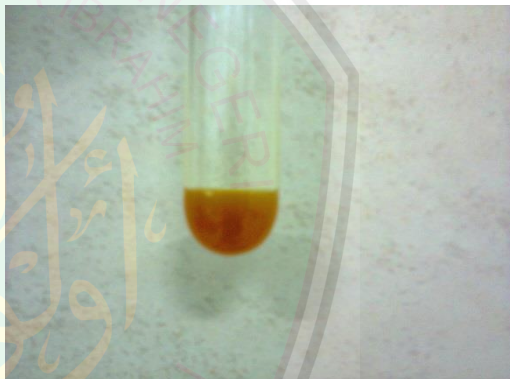
- Tajbakhsh, S., *et al.* 2008. Antibacterial Activity of Indium Curcumin and Indium Diacetylcurcumin. *J Biotechnol.* Vol. 7, Hal. 3832-3835
- Tan, RX. dan Zou, WX. 2000. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep.* Vol.18, Hal. 448-459
- Taryono, E. M. Rahmat, S dan A. Sardina. 1987. Plasma Nutfah Tanaman Temu-temuan. *Edisi Khusus Ballitro.* Vol.3, No.1, Hal.47-56
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tscherter, H. and Dreyfuss., 1992. New Metabolites, Processes for Their Production and Uses. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (PCT). *International Publication.* No. 38 , Hal. 28-45
- Todar, K. 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology, Staphylococcus.* Diakses melalui http://textbookbacteriology.net/stap_2.html [20/4/2014].
- Wardiyono, 2015. <http://www.proseanet.org/florakita/>. Diakses pada tanggal 31 Maret 2015 pukul 09.50 WIB
- Warsa, U.C. 1994. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran.* Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia.* Jakarta: Penerbit Akademia Permata
- Wulandari, Dian, Sulistyowati, Liliek dan Muhibuddin, Anton. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dan Kemampuan Antagonisnya terhadap *Phytophthora infestans*. *Jurnal HPT.* Vol. 2, No.1, Hal.110-118
- www.gov.mb.ca/health/publichealth/ecolifs.html. Diakses pada tanggal 4 Juni 2015 pukul 17.05 WIB
- Yulianti, Titiek. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif.* Vol. 11, No. 2, Hal. 111 – 122
- Yulianty, R., Rante, H., Alam, G. dan Tahir, A. 2011. Skrining dan Analisis KLT-Bioautografi Senyawa Antimikroba Beberapa Ekstrak Spons Asal Perairan Laut Pulau Barrang Lompo, Sulawesi Selatan. *Majalah Obat Tradisional.* Vol.16, No.2, Hal.88– 94

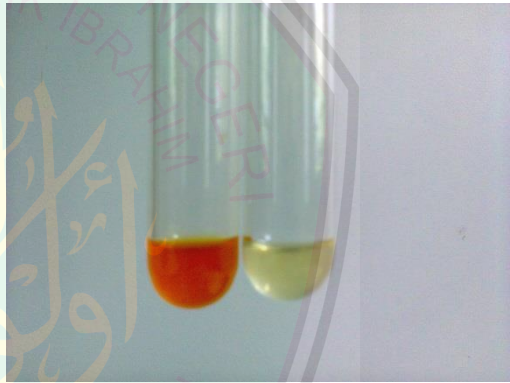
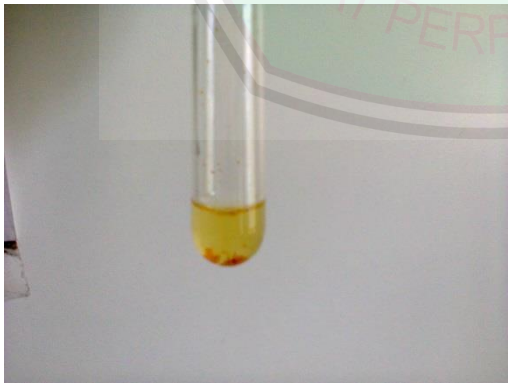
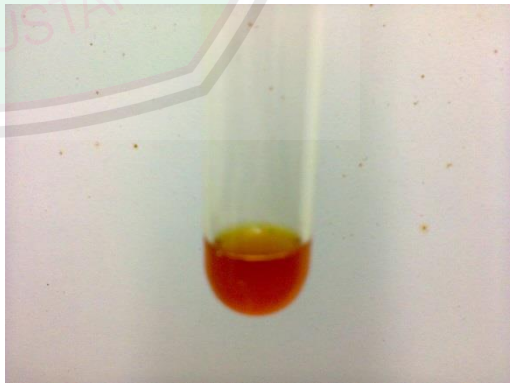
LAMPIRAN

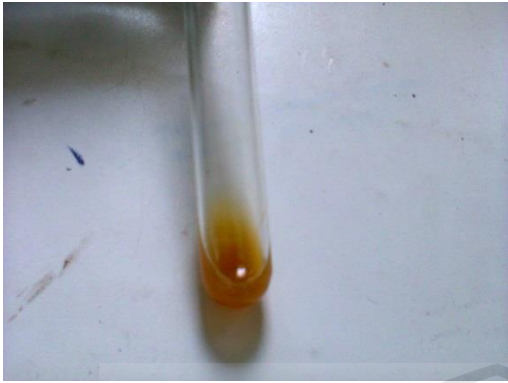
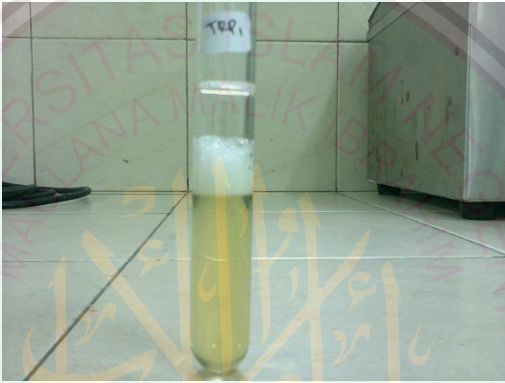
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



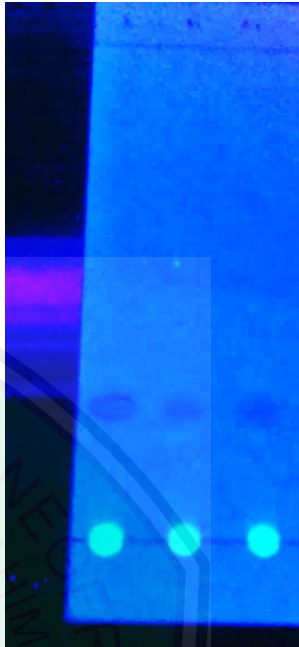
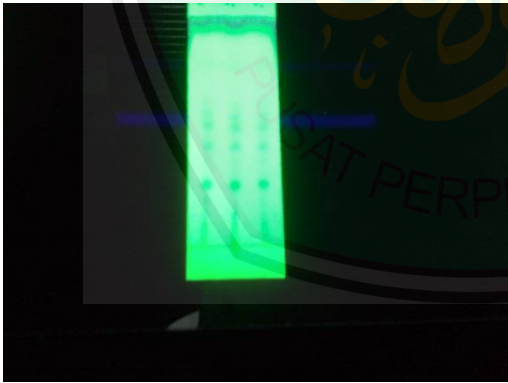
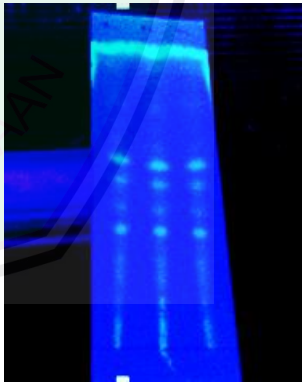
Lampiran 2. Foto Hasil Uji Fitokimia

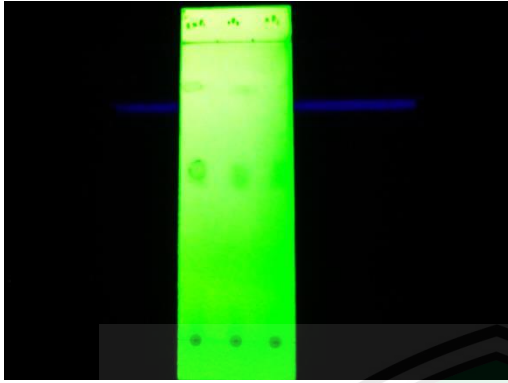
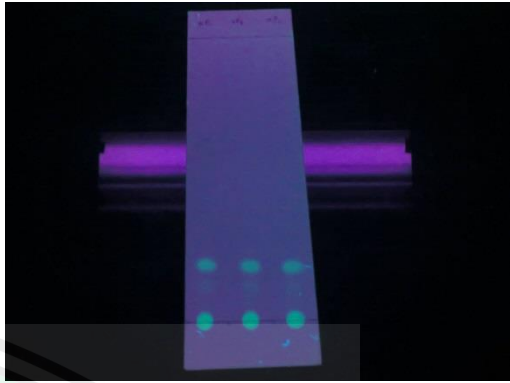
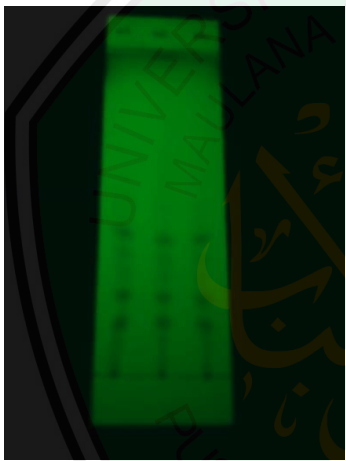
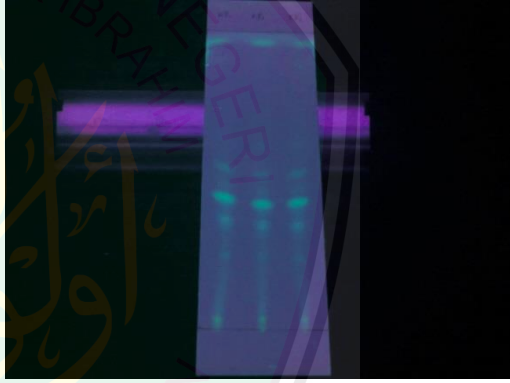
Isolat TRB1	
	
Hasil Uji Terpenoid/Steroid	Hasil Uji Alkaloid: Reagen Meyer
	
Uji alkaloid: Reagen Dragendorf	Uji Alkaloid: Pereaksi Wagner
	
Hasil Uji Fenolik	Hasil Uji Flavonoid

	
Hasil Uji Saponin	Hasil Uji Fitokimia Isolat TRB1
Isolat TRP1	
	
Uji Terpenoid/ Steroid	Uji Alkaloid: Pereaksi Dragendorf
	
Uji Alkaloid: Pereaksi Meyer	Uji Alkaloid: Pereaksi Wagner

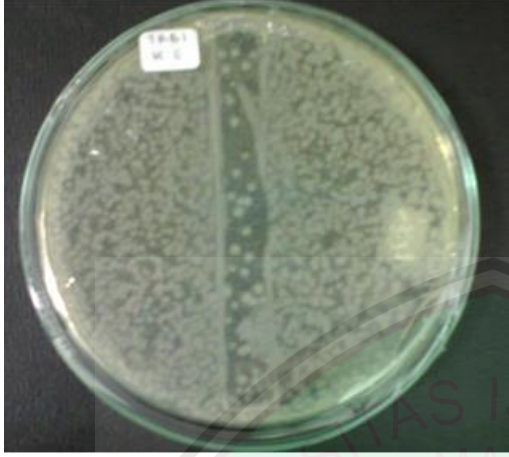
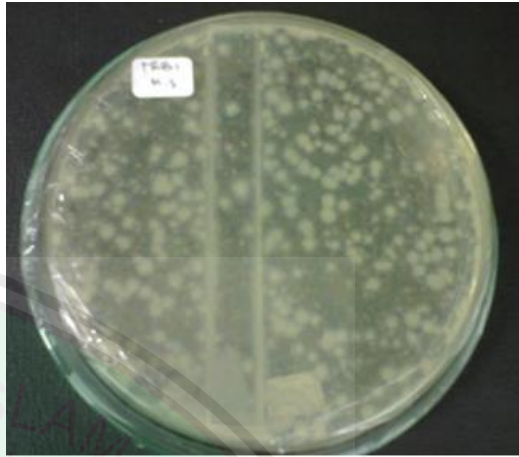
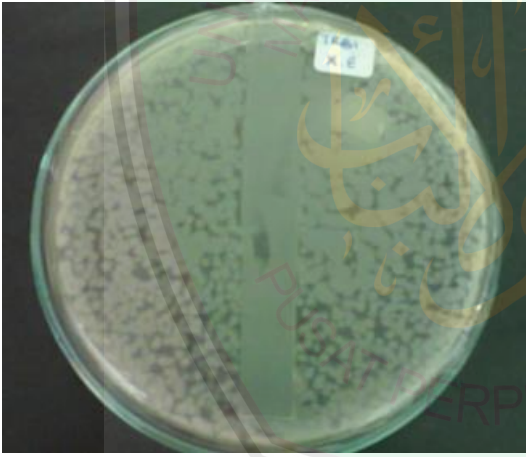
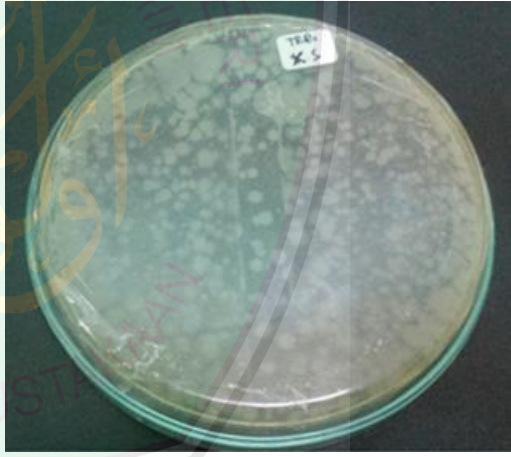
	
Hasil Uji Fenolik	Hasil Uji Flavonoid
	
Hasil Uji Saponin	

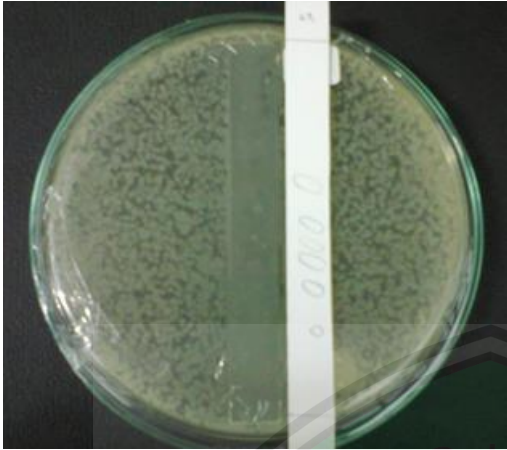
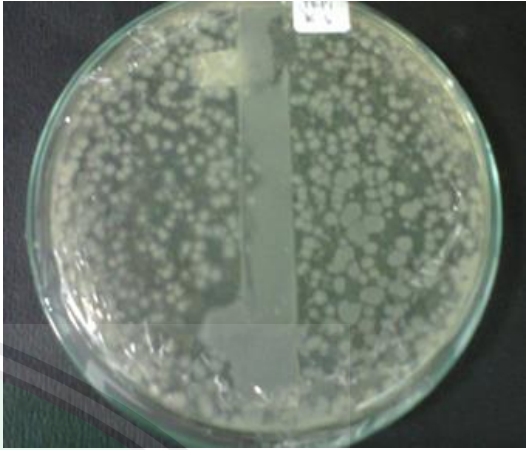
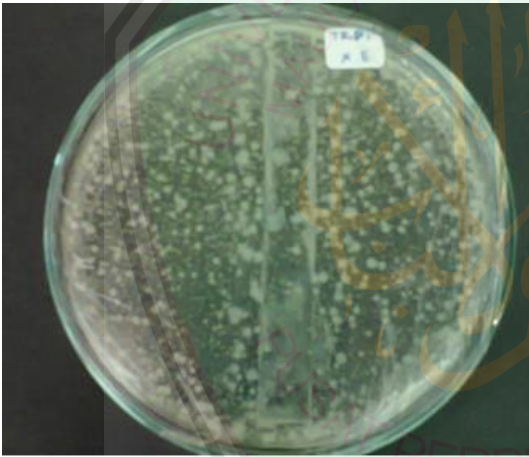
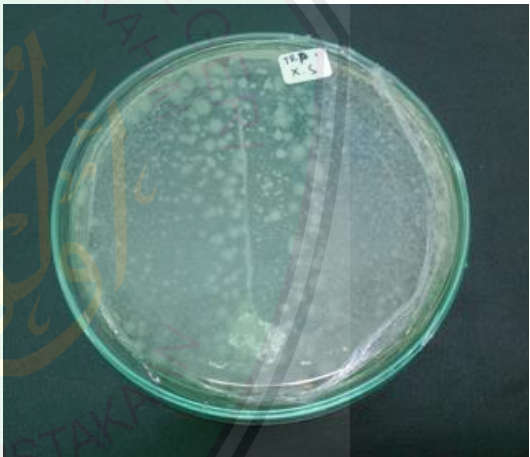
Lampiran 3. Foto Hasil Uji KLT

Isolat TRB1 eluen N-heksan:etil asetat (10:1)	
	
Visualisasi UV 254 nm	Visualisasi UV 365 nm
Isolat TRB1 eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% (45:45:10)	
	
Visualisasi UV 254 nm	Visualisasi UV 365 nm

Isolat TRP1 eluen N-heksan:etil asetat (10:1)	
	
Visualisasi UV 254 nm	Visualisasi UV 365 nm
Isolat TRP1 eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% (45:45:10)	
	
Visualisasi UV 254 nm	Visualisasi UV 365 nm

Lampiran 4. Hasil Uji Bioautografi

Isolat TRB1 eluen kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10)	
	
Bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	Bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>
Isolat TRB1 eluen N-heksan:etil asetat (10:1)	
	
Bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	Bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>

Isolat TRP1 eluen kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10)	
	
Bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	Bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>
Isolat TRP1 eluen N-heksan:etil asetat (10:1)	
	
Bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	Bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>

Lampiran 5. Tabel Hasil KLT

1. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) visualisasi lampu UV 254 nm

Jenis isolat	Ulangan	Rf
TRB1	1	0,31
		0,41
		0,51
		0,57
	2	0,31
		0,41
		0,51
		0,57
TRP1	1	0,13
		0,20
		0,27
		0,31
		0,37
	2	0,13
		0,20
		0,26
		0,31
		0,37

2. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang kloroform:benzene:etanol 98% (45:45:10) visualisasi lampu UV 365 nm

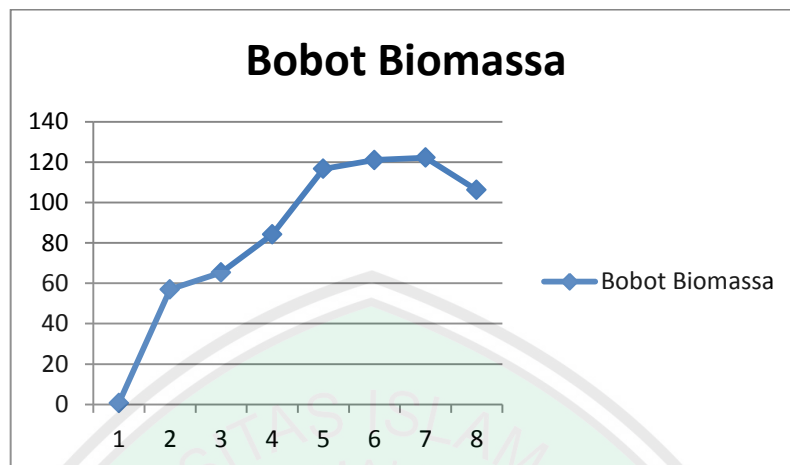
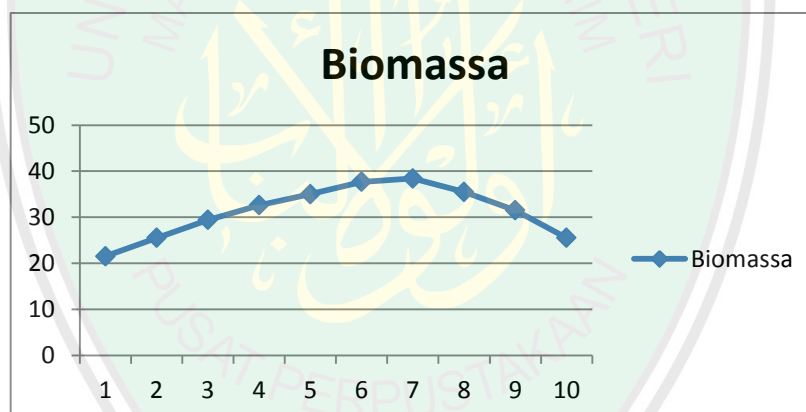
Jenis isolat	Ulangan	Rf	Warna (UV ₃₆₅)
TRB1	1	0,33	Hijau
		0,40	Ungu
		0,48	Ungu kehijauan
		0,56	Hijau kekuningan
	2	0,32	Hijau
		0,40	Ungu
		0,48	Ungu kehijauan
		0,55	Hijau kekuningan
TRP1	1	0,21	Kelabu pucat
		0,30	Biru
		0,36	Biru kehijauan
		0,45	Kelabu pucat
		0,56	Kelabu pucat
	2	0,21	Kelabu pucat
		0,30	Biru
		0,37	Biru kehijauan
		0,47	Kelabu pucat
		0,56	Kelabu pucat

3. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang N-Heksan : Etil asetat (10:1) visualisasi lampu UV 254 nm

Jenis isolat	Ulangan	Rf
TRB1	1	0,22
		0,56
		0,75
	2	0,22
		0,56
		0,75
TRP1	1	0,55
		0,83
	2	0,55
		0,82

4. Hasil analisis KLT ekstrak etil asetat metabolit sekunder jamur endofit dengan larutan pengembang N-Heksan : Etil asetat (10:1) visualisasi lampu UV 365 nm

Jenis isolat	Ulangan	Rf	Warna (UV ₃₆₅)
TRB1	1	0,21	Ungu
	2	0,21	Ungu
TRP1	1	0,15	Biru Kehijauan
	2	0,15	Biru Kehijauan

Lampiran 6. Grafik Kurva Pertumbuhan Isolat Jamur Endofit Temulawak**1. Kurva pertumbuhan jamur endofit Isolat TRB1****2. Kurva pertumbuhan jamur endofit Isolat TRP1**

Lampiran 7. Perhitungan Nilai Rf

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1. Isolat TRB1

1.1 Eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% Visualisasi UV 254

a. Ulangan 1

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

$$\text{Rf bercak 3} = \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,51$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Rf bercak 4} = \frac{4,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57$$

b. Ulangan 2

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

$$\text{Rf bercak 3} = \frac{4,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,51$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{3,3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,41$$

$$\text{Rf bercak 4} = \frac{4,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,57$$

1.2 Eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% Visualisasi UV 365

b. Ulangan 1

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{2,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,33$$

$$\text{Rf bercak 4} = \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,48$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,40$$

$$\text{Rf bercak 5} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

b. Ulangan 2

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{2,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,32$$

$$\text{Rf bercak 4} = \frac{3,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,48$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,40$$

$$\text{Rf bercak 5} = \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55$$

1.3 Eluen N-heksan:etil asetat Visualisasi UV 254

a. Ulangan 1

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,22$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

$$\text{Rf bercak 3} = \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75$$

b. Ulangan 2

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{1,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,22$$

$$\text{Rf bercak 2} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

$$\text{Rf bercak 3} = \frac{6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,75$$

1.4 Eluen N-heksan:etil asetat Visualisasi UV 365

a. Ulangan 1

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

b. Ulangan 2

$$\text{Rf bercak 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

2. Isolat TRP1

2.1 Eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% Visualisasi UV 254

a. Ulangan 1

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,13$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,20$$

$$R_f \text{ bercak 3} = \frac{2,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,27$$

$$R_f \text{ bercak 4} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

$$R_f \text{ bercak 5} = \frac{3,0 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,37$$

b. Ulangan 2

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,13$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{1,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,20$$

$$R_f \text{ bercak 3} = \frac{2,1 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,26$$

$$R_f \text{ bercak 4} = \frac{2,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,31$$

$$R_f \text{ bercak 5} = \frac{3,0 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,37$$

2.2 Eluen Kloroform:Benzen:Etanol 98% Visualisasi UV 365**a. Ulangan 1**

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{2,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,30$$

$$R_f \text{ bercak 3} = \frac{2,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,36$$

$$R_f \text{ bercak 4} = \frac{3,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,45$$

$$R_f \text{ bercak 5} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

b. Ulangan 2

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,21$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{2,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,30$$

$$R_f \text{ bercak 3} = \frac{3 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,37$$

$$R_f \text{ bercak 4} = \frac{3,8 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,47$$

$$R_f \text{ bercak 5} = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

2.3 Eluen N-heksan:etil asetat Visualisasi UV 254**a. Ulangan 1**

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{6,7 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,83$$

b. Ulangan 2

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{4,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55$$

$$R_f \text{ bercak 2} = \frac{6,6 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,82$$

2.4 Eluen N-heksan:etil asetat Visualisasi UV 365**a. Ulangan 1**

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15$$

b. Ulangan 2

$$R_f \text{ bercak 1} = \frac{1,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,15$$

Lampiran 8. Rangkuman Ayat-ayat Al-Quran

1. Surat As-Syu'araa' ayat 7-8 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman.

2. Surat Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya : Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.

3. Surat Al-Hijr ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya: Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.

4. Surat Adz-Dzariyaat ayat 20-21:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِلْمُوقِنِينَ ﴿٢٠﴾ وَفِي أَنْفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ ﴿٢١﴾

Artinya: Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin. Dan (juga) pada dirimu sendiri, maka Apakah kamu tidak memperhatikan?

5. Surat An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.

6. Surat Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

Artinya: Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.

7. Surat Al-Qashash ayat 57:

وَقَالُوا إِن تَتَّبِعِ الْهُدَىٰ مَعَكَ نُتَخَطَّفُ مِنْ أَرْضِنَا أَوَلَمْ نُمْكِنْ لَهُمْ حَرَمًا آمِنًا يُجْبَىٰ إِلَيْهِ ثَمَرَاتُ كُلِّ شَيْءٍ رِّزْقًا مِّن لَّدُنَّا وَلَكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ ﴿٥٧﴾

Artinya : Dan mereka berkata: "Jika Kami mengikuti petunjuk bersama kamu, niscaya Kami akan diusir dari negeri kami". dan Apakah Kami tidak meneguhkan kedudukan mereka dalam daerah Haram (tanah suci) yang aman, yang didatangkan ke tempat itu buah-buahan dari segala

macam (tumbuh- tumbuhan) untuk menjadi rezki (bagimu) dari sisi Kami?. tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.

8. Surat Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya : Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp./ Fax.(0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Choirul Fuadati
NIM : 11620021
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi Sebagai Senyawa Antibakteri
Pembimbing I : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
Pembimbing II : Mukhlis Fahrudin, M.Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	28 Januari 2015	Pengajuan Judul Skripsi	1.
2.	18 Februari 2015	Konsultasi BAB I, II dan III	2.
3.	26 Februari 2015	Revisi BAB I, II dan III	3.
4.	10 Maret 2015	Revisi BAB I, II dan III	4.
5.	26 Mei 2015	Seminar Proposal	5.
6.	20 Oktober 2015	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	6.
7.	23 Oktober 2015	Revisi BAB I, II, III, IV dan V	7.
8.	25 Oktober 2015	Revisi BAB I, II, III, IV dan V	8.
9.	28 Oktober 2015	Acc BAB I, II, III, IV dan IV	9.

Malang, 29 Oktober 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



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



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. /Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Choirul Fuadati
NIM : 11620021
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Jamur Endofit dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Berpotensi Sebagai Senyawa Antibakteri
Pembimbing I : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
Pembimbing II : Mukhlis Fahrudin, M.Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	07 April 2015	Konsultasi Agama BAB I, II dan III	1.
2.	09 April 2015	Revisi Agama BAB I, II dan III	2.
3.	13 April 2015	Revisi Agama BAB I, II dan III	3.
4.	23 Oktober 2015	Konsultasi Agama BAB IV dan V	4.
5.	24 Oktober 2015	Revisi Agama BAB IV dan V	5.
6.	25 Oktober 2015	ACC Agama BAB I, II, III, IV dan V	6.

Malang, 29 Oktober 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi

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