

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
RUMPUT KEBAR (*Biophytum sp.*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA  
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



**Oleh:  
NUR LAILLI FITHRIYAH  
NIM. 11620046**

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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
RUMPUT KEBAR (*Biophytum sp.*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA  
ANTI BAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Satphylococcus aureus***

**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:  
NUR LAILLI FITHRIYAH  
11620046**

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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
RUMPUT KEBAR (*Biophytum sp.*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA  
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:  
**NUR LAILLI FITHRIYAH**  
NIM. 11620046

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

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

  
**M. Mulhija Fahrudin, M.Si**  
NIPT. 201402011409

Tanggal, 29 Oktober 2015  
Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



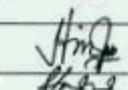
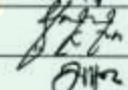
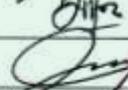
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
RUMPUT KEBAR (*Biophytum sp.*) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA  
ANTI BAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN  
*Satphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Nur Lailli Fithriyah**  
**11620046**

Telah dipertahankan di Depan Dewan penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 05 November 2015

Penguji Utama :	Ir. Liliek Harianie, M.P NIP. 19620901 19903 2 001	
Ketua Penguji :	Anik Maunatin, M.P NIPT. 20140201 2 412	
Sekretaris Penguji :	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji :	M. Mukhlis Fahrudin, M.Si NIPT. 20140201 1 409	

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



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

### PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Lailli Fithriyah  
NIM : 11620046  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi

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

Malang, 29 Oktober 2015  
Yang membuat pernyataan,



Nur Lailli Fithriyah  
NIM. 11620046

**مَدَّ يَدَا**

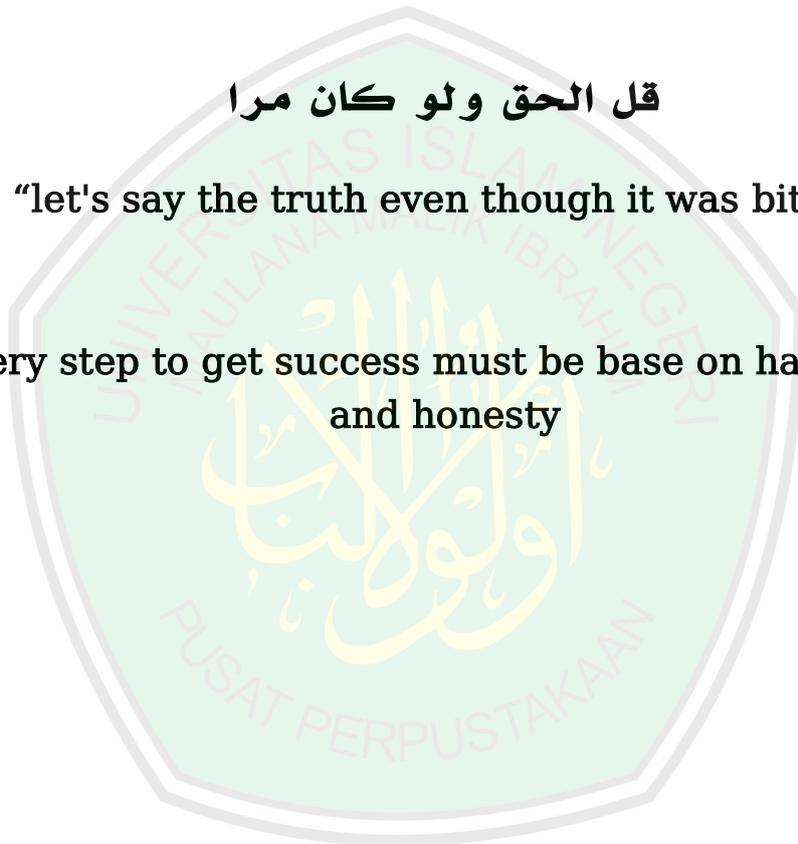
**من جد و جد**

**“who is earnest, he will success”**

**قل الحق ولو كان مرا**

**“let's say the truth even though it was bitter”**

**Every step to get success must be base on hard work  
and honesty**



# *PERSEMBAHAN*

*I dedicate this effort for*

*All of you who always love and support me*



*Without love, I'm nothing.....*



## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb*

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir / skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapkan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Allah SWT
2. Ayah dan ibu tercinta serta kakak tersayang yang senantiasa memberikan doa dan semangat kepada penulis dalam mencari ilmu dan menyelesaikan skripsi ini
3. Prof. dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
4. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dekan fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si dan, selaku dosen pembimbing skripsi yang banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
7. Semua laboran (mas basyar, mbak retno, mbak zaim, mas ismail, mas zulfan dan mbak lil) dan seluruh sivitas akademika Jurusan biologi, terutama seluruh bapak ibu dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya
8. Teman-teman seperjuangan bimbingan ibu Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si, (atik, mumut, izzah, yani, zaenal, mayang, weni, purwa dan nadia) dan anak-anak mikro (tyas, aizah, rinda, risa, betty, vina, afif, shinta, ifa, yanti, yudrik, luci, hasan) yang selalu meramaikan lab mikro. Juga mbak faiz, dan mbak hana, trimakasih untuk nasehat, saran dan bantuannya.

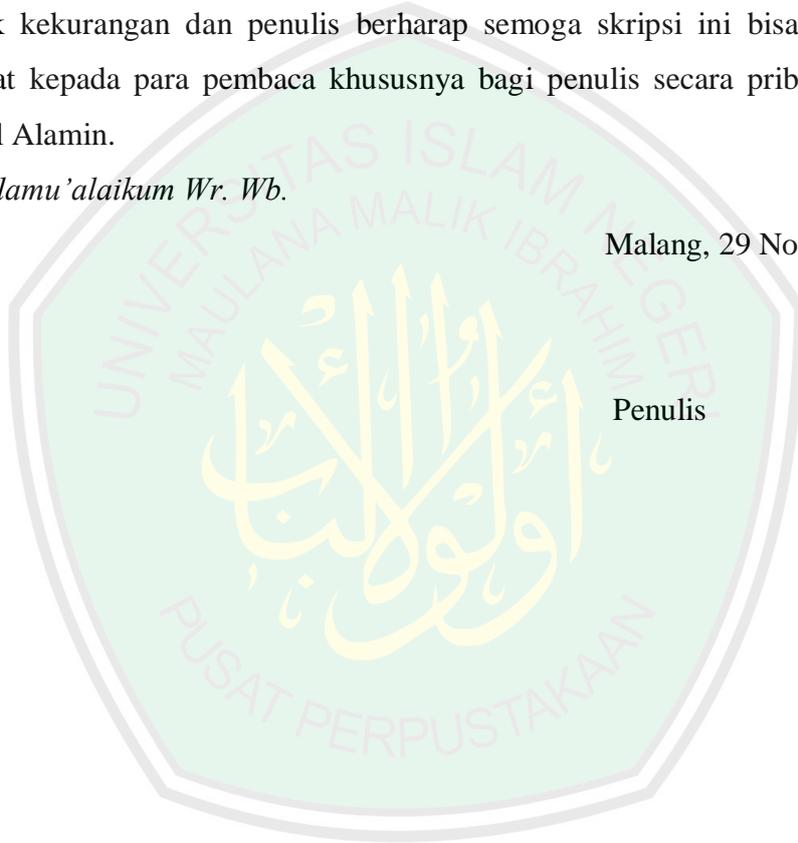
9. Semua teman-teman Biologi angkatan 2011, B-Minor (idris, kipli, albert, yogi, mufti, juned, saipul, rahman, uun, rudin, fina, agustin, fikriyah). Arek kontrakan (fikriyah, yuk tin, umik dyah, mumut, anggie) yang selalu membuat suasana menjadi lebih menyenangkan.
10. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materi dan moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. Amin ya Rabbal Alamin.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 29 November 2015

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	
<b>HALAMAN PENGAJUAN</b>	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b>	
<b>MOTTO</b>	
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b>	
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>خلاصة</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
1.5 Batasan Masalah .....	8
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b>	
2.1 Rumput Kebar ( <i>Biophytum sp.</i> ) .....	10
2.2 Kandungan Rumput Kebar .....	14
2.3 Manfaat Rumput Kebar .....	16
2.4 Mikroba Endofit .....	19
2.5 Antimikroba .....	23
2.6 Metabolit Sekunder .....	24
2.6.1 Metabolit Primer .....	24
2.6.2 Metabolit Sekunder .....	26
2.7 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri .....	27
2.8 <i>Escherichia coli</i> .....	30
2.9 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
2.10 Uji Sensitifitas Terhadap Mikroba .....	36
2.11 Pewarnaan Gram .....	37
2.12 Uji Biokimia .....	40

2.13 Identifikasi Spesies Bakteri Menggunakan <i>Microbact 12</i> .....	46
---	----

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Rancangan Penelitian .....	48
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	48
3.3 Alat dan Bahan Penelitian .....	48
3.3.1 Alat Penelitian .....	48
3.3.2 Bahan Penelitian .....	48
3.4 Prosedur Penelitian .....	49
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	49
3.4.2 Isolasi Bakteri Endofit dari Rumput Kebar .....	49
3.4.3 Pemurnian bakteri Endofit .....	50
3.4.4 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit .....	50
3.4.4.1 Pengamatan Makroskopik .....	50
3.4.4.2 Pengamatan Mikroskopik .....	51
3.4.4.2.1 Pewarnaan Gram .....	51
3.5 Uji Bakteri Endofit Penghasil Metabolit Antibakteri .....	52
3.5.1 Persiapan Inokulum Mikroba Endofit Rumput Kebar .....	52
3.5.2 Produktifitas Metabolit Antimikroba .....	52
3.5.3 Uji Aktifitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	53
3.5.3.1 Pembuatan Mikroba Uji .....	53
3.5.3.2 Uji Antibakteri terhadap bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> ....	53
3.6 Pengukuran Zona Hambat .....	54
3.7 Pengumpulan Data .....	55

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Isolasi Bakteri Endofit dari Rumput Kebar ( <i>Biophytum sp.</i> ) .....	56
4.2 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit dari Rumput Kebar ( <i>Biophytum sp.</i> ) .....	58
4.2.1 Isolat KP1 ( <i>Bacillus megaterium</i> ) .....	59
4.2.2 Isolat KP2 ( <i>Staphylococcus saprophyticus</i> ) .....	61
4.2.3 Isolat KP3, KJ1 dan KJ2 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> ) .....	63
4.3 Uji Aktivitas Metabolit Bakteri Endofit dari Rumput Kebar ( <i>Biophytum sp.</i> ) terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> .....	66

### **BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan .....	80
5.2 Saran .....	81

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>82</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>89</b>



## DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
2.1	Hasil skrining fitokimia rumput kebar .....	14
2.2	Identifikasi senyawa aktif rumput kebar .....	16
2.3	Mekanisme penyerapan warna .....	39
4.1	Hasil isolasi bakteri endofit dari rumput kebar .....	57
4.2	Deskripsi bentuk dan warna koloni isolat bakteri endofit .....	57
4.3	Hasil pengamatan bakteri berdasarkan pewarnaan Gram .....	58
4.4	Hasil identifikasi bakteri endofit .....	59
4.5	Diameter zona hambat pada uji aktivitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri <i>E.coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	66



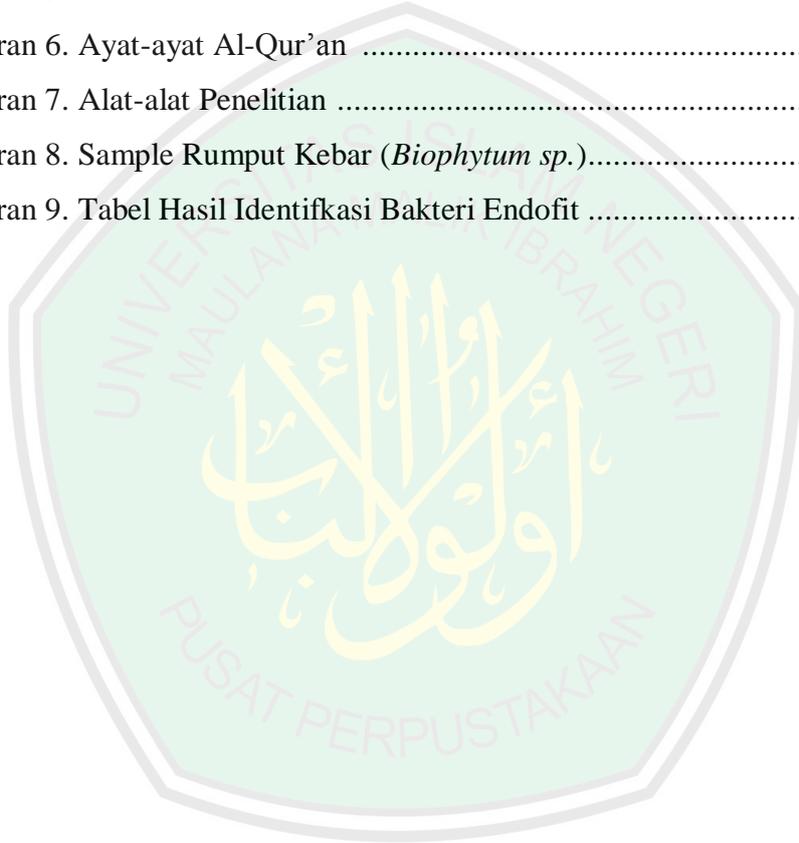
## DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
2.1	Tanaman rumput kebar asal Papua, Jawa Tengah dan Jawa Barat .....	11
4.1	Isolat KP1 .....	60
4.2	Isolat KP2 .....	61
4.3	Isolat KP3, KJ1 dan KJ2 .....	63
4.5	Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	71
4.6	Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	72



## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
Lampiran 1.	Diagram Alir Isolasi .....	89
Lampiran 2.	Flowchart Identifikasi .....	90
Lampiran 3.	Komposisi Media .....	91
Lampiran 4.	Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit .....	92
Lampiran 5.	Diameter Zona Hambat .....	94
Lampiran 6.	Ayat-ayat Al-Qur'an .....	95
Lampiran 7.	Alat-alat Penelitian .....	97.
Lampiran 8.	Sample Rumput Kebar ( <i>Biophytum sp.</i> ).....	99
Lampiran 9.	Tabel Hasil Identifikasi Bakteri Endofit .....	100



## ABSTRAK

Fithriyah, Nur Lailli., 2015, **Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Rumput Kebar (*Biophytum Sp.*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malam. Dosen Pembimbing: Dr. Hj. Ulfa utami, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.SI

**Kata Kunci** : bakteri endofit, rumput kebar (*Biophytum Sp.*), antibakteri, *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*

Rumput kebar (*Biophytum sp.*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang belum banyak diketahui di Indonesia. Rumput kebar diketahui berpotensi sebagai antibakteri, hipoglikemik, apoptosis, antiinflamasi, antitumor dan biosintesis prostaglandin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari rumput kebar yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini menggunakan metode eksplorasi dan eksperimen. Tahapan penelitian meliputi sterilisasi alat dan bahan, isolasi bakteri endofit, pemurnian bakteri endofit, identifikasi bakteri endofit (pengamatan makroskopik dan mikroskopik (*Microbact*)), produksi metabolit sekunder bakteri endofit, uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode Kirby-Bauer dan pengukuran zona hambat. Bakteri uji yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi UIN Malang.

Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 5 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari rumput kebar (*Biophytum sp.*) yaitu 3 isolat dari Papua dan 2 isolat dari Jawa Timur. Sebanyak 5 isolat ditemukan 3 bakteri endofit yang berbeda yaitu *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus saprophyticus* dan *Enterobacter gergoviae*. Zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri uji *Eschericia coli* adalah 5.08 mm untuk *Bacillus megaterium*, 4.08 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 2.92 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.45 mm dari Jawa Timur. Zona hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* didapat 2.37 mm untuk *Bacillus megaterium*, 2.1 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 3.34 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.49 mm dari Jawa Timur.

## ABSTRACT

Fithriyah, Nur Lailli. 2015. **The Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from Kebar Grass (*Biophytum Sp.*) as a Producer of Antibacterial Compounds Counter to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus***. Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

**Keywords:** endophytic bacteria, Kebar grass (*Biophytum Sp.*), antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

Kebar grass (*Biophytum sp.*) is one of the medicinal plants which are not widely known yet in Indonesia. Kebar grass is potentially known as an antibacterial, hypoglycemic, apoptotic, anti-inflammatory, antitumor and prostaglandin biosynthesis. The aims of the research to isolate endophytic bacteria from Kebar grass that have potential as a producer of antibacterial compounds against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

This research employs the methods of exploration and experimentation. Stages of research include the sterilization of equipment and materials, the isolation of endophytic bacteria, the purification, identification of endophytic bacteria (macroscopic and microscopic observation (*Microbact*), with production of secondary metabolites of endophytic bacteria, test the antibacterial activity against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using Kirby-Bauer method and measurement of inhibitory zone. Bacteria used test obtained from the Microbiology laboratory State Islamic university of Maulana Malik Ibrahim Malang.

The results shows that there are five isolates of endophytic bacteria were successfully quarantined from Kebar grass (*Biophytum sp.*) which are 3 isolates from Papua and 2 isolates from East Java. A total of 5 isolates found three different endophytic bacteria, namely *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus saprophyticus* and *Enterobacter gergoviae*. Inhibition zone which is formed against bacteria test sample *Escherichia coli* is 5.08 mm for *Bacillus megaterium*, 4.08 mm for *Staphylococcus saprophyticus* mm, 2.92 mm for *Enterobacter gergoviae* of Papua and 3.45 mm of East Java. Zone of inhibition against the bacteria obtained *Staphylococcus aureus* test for *Bacillus megaterium* 2.37 mm, 2.1 mm for *Staphylococcus saprophyticus*, 3.34 mm for *Enterobacter gergoviae* of Papua and 3.49 mm from East Java.

## مستخلص البحث

فطرية، نور ليلي. 2015. عزلة وتحديد جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" منتجا للمركبات مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس". البحث الجامعي قسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتور الفي اوتامي الماجستير، والمشرف الثاني: مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات الأساسية: جرثوم "اندوفيت" ،عشب "كبار" ، مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس".

ان عشب "كبار" هو احد من النبات لأدوية عشب "كبار" الذي لم يعرف في بلد اندونيسيا. واما تعرف عشب "كبار" امكانية باعتباره مضادة للجراثيم، هيفوكليكميك، امنومودولطور، كوموفروتوكتيف، هيفوكولستروولوميك، افوفطوسيس، ضد انفلاماسي، ضد ورم والحوي فرويغلاندين. واستخراج العشب "كوبار" تبين ان تمنع في نمو للجرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس". واما البحث عن جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" لم توجد حتى الآن حتي هذا البحث يهدف لبعزلة جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" منتجا للمركبات مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس".

واما المدخل المستخدم في هذا البحث وهو البحث التجريبي و استكشافي. واما البحث استكشافي بطريقة عزلة جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" التي تحصل من مكانين مختلفين وهما من فافووا و جاوى الشرقية بمالانج. والبحث التجريبي بقياس عزلات من جرثوم "اندوفيت" على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس". واما المرحلة في هذا البحث وهي من تعقيم الأدوات والمواد، عزلة جرثوم "اندوفيت"، تحديد جرثوم "اندوفيت"، اختبار النشاط من ضد للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوربوس" باستخدام الطريقة "kirby- baurei" وقياس منطقة التثبيط. واما الجراثيم المستخدمة المخصصة من مختبر ميكروبيولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

واما النتائج من هذا البحث تدل على ان مجموعة خمسة عزلات من جرثوم "اندوفيت" تم يعزل من الشعب وهي ثلاثة عزلات من فافووا وعزلتين جاوى الشرقية بمالانج وتوجد من خمسة عزلات ثلاثة جراثيم "اوندوفيت" المختلفة وهم باجلوس مواتيريوم، سفروفيتجوس و انتوروبكتير. واما منطقة التثبيط المبنء على جرثوم في اختبار " اسجريسيا جولي" وهو 5,08 mm لباجلوس مواتيريوم، و 4,08 mm لستفيلوجوجوس سفروفيتجوس، 2,92 mm لانتوروبكتير من فافووا و 3,45 mm من جاوى الشرقية. واما لمنطقة التثبيط على منطقة التثبيط "ستفيلوجوجوس اوربوس" تنال 2,37mm لباجلوس مواتيريوم و 2,1 mm لستفيلوجوجوس سفروفيتجوس، 3,34 لانتوروبكتير من فافووا و 3,49 mm من جاوى الشرقية.

## مستخلص البحث

فطرية، نور ليلي. 2015. عزلة وتحديد جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" منتجا للمركبات مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس". البحث الجامعي قسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتور الفي اوتامي الماجستير، والمشرّف الثاني: مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات الأساسية: جرثوم "اندوفيت" ،عشب "كبار" ، مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس".

ان عشب "كبار" هو احد من النبات لأدوية عشب "كبار" الذي لم يعرف في بلد اندونيسيا. واما تعرف عشب "كبار" امكانية باعتباره مضادة للجراثيم، هيفوكليكميك، امنومودولاطور، كوموفروتوكتبف، هيفوكولسترومولوميك، افوطوسيس، ضد انفلاماسي، ضد ورم والحويوي فرويتغلاندين. واستخراج العشب "كوبار" تبين ان تمنع في نمو للجرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس". واما البحث عن جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" لم توجد حتى الآن حتى هذا البحث يهدف ليعزلة جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" منتجا للمركبات مضادة للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس".

واما المدخل المستخدم في هذا البحث وهو البحث التجريبي و استكشافي. واما البحث استكشافي بطريقة عزلة جرثوم "اندوفيت" من عشب "كبار" التي تحصل من مكانين مختلفين وهما من فافوا و جاوى الشرقية بمالانج. والبحث التجريبي بقياس عزلات من جرثوم "اندوفيت" على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس". واما المرحلة في هذا البحث وهي من تعقيم الأدوات والمواد، عزلة جرثوم "اندوفيت"، تحديد جرثوم "اندوفيت"، اختبار النشاط من ضد للجراثيم على جرثوم " اسجريسيا جولي" و "ستفيلوجوجوس اوريوس" باستخدام الطريقة "kirby- bauer" وقياس منطقة التثبيط. واما الجراثيم المستخدمة المخضولة من مختبر مكرولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

واما النتائج من هذا البحث تدل على ان مجموعة خمسة عزلات من جرثوم "اندوفيت" تم يعزل من الشعب وهي ثلاثة عزلات من فافوا وعزلتين جاوى الشرقية بمالانج وتوجد من خمسة عزلات ثلاثة جراثيم "اوندزفيت" المختلفة وهم باجلوس مواتيريوم، ستفيلوجوجوس سفروفيتجوس وانتورويكتير. واما منطقة التثبيط المبناء على جرثوم في اختبار " اسجريسيا جولي" وهو 5,08 mm لباجلوس مواتيريوم، و 4,08 mm لستفيلوجوجوس سفروفيتجوس، و 2,92 mm لانتورويكتير من فافوا و 3,45 mm من جاوى الشرقية. واما المنطقة التثبيط على منطقة التثبيط "ستفيلوجوجوس اوريوس" تنال 2,37mm لباجلوس مواتيريوم و 2,1 mm لستفيلوجوجوس سفروفيتجوس، و 3,34 mm لانتورويكتير من فافوا و 3,49 mm من جاوى الشرقية.

## ABSTRAK

Fithriyah, Nur Lailli., 2015, **Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Rumput Kebar (*Biophytum Sp.*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malam. Dosen Pembimbing: Dr. Hj. Ulfa utami, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.SI

**Kata Kunci :** bakteri endofit, rumput kebar (*Biophytum Sp.*), antibakteri, *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*

Rumput kebar (*Biophytum sp.*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang belum banyak diketahui di Indonesia. Rumput kebar diketahui berpotensi sebagai antibakteri, hipoglikemik, apoptosis, antiinflamasi, antitumor dan biosintesis prostaglandin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari rumput kebar yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini menggunakan metode eksplorasi dan eksperimen. Tahapan penelitian meliputi sterilisasi alat dan bahan, isolasi bakteri endofit, pemurnian bakteri endofit, identifikasi bakteri endofit (pengamatan makroskopik dan mikroskopik (*Microbact*)), produksi metabolit sekunder bakteri endofit, uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode Kirby-Baurer dan pengukuran zona hambat. Bakteri uji yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi UIN Malang.

Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 5 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari rumput kebar (*Biophytum sp.*) yaitu 3 isolat dari Papua dan 2 isolat dari Jawa Timur. Sebanyak 5 isolat ditemukan 3 bakteri endofit yang berbeda yaitu *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus saprophyticus* dan *Enterobacter gergoviae*. Zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri uji *Eschericia coli* adalah 5.08 mm untuk *Bacillus megaterium*, 4.08 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 2.92 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.45 mm dari Jawa Timur. Zona hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* didapat 2.37 mm untuk *Bacillus megaterium*, 2.1 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 3.34 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.49 mm dari Jawa Timur.

## ABSTRACT

Fithriyah, Nur Lailli. 2015. **The Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from Kebar Grass (*Biophytum Sp.*) as a Producer of Antibacterial Compounds Counter to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus***. Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr. Hj. Ulfa Utami, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

**Keywords:** endophytic bacteria, Kebar grass (*Biophytum Sp.*), antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

Kebar grass (*Biophytum sp.*) is one of the medicinal plants which are not widely known yet in Indonesia. Kebar grass is potentially known as an antibacterial, hypoglycemic, apoptotic, anti-inflammatory, antitumor and prostaglandin biosynthesis. The aims of the research to isolate endophytic bacteria from Kebar grass that have potential as a producer of antibacterial compounds against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

This research employs the methods of exploration and experimentation. Stages of research include the sterilization of equipment and materials, the isolation of endophytic bacteria, the purification, identification of endophytic bacteria (macroscopic and microscopic observation (*Microbact*), with production of secondary metabolites of endophytic bacteria, test the antibacterial activity against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using Kirby-Bauer method and measurement of inhibitory zone. Bacteria used test obtained from the Microbiology laboratory State Islamic university of Maulana Malik Ibrahim Malang.

The results shows that there are five isolates of endophytic bacteria were successfully quarantined from Kebar grass (*Biophytum sp.*) which are 3 isolates from Papua and 2 isolates from East Java. A total of 5 isolates found three different endophytic bacteria, namely *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus saprophyticus* and *Enterobacter gergoviae*. Inhibition zone which is formed against bacteria test sample *Escherichia coli* is 5.08 mm for *Bacillus megaterium*, 4.08 mm for *Staphylococcus saprophyticus* mm, 2.92 mm for *Enterobacter gergoviae* of Papua and 3.45 mm of East Java. Zone of inhibition against the bacteria obtained *Staphylococcus aureus* test for *Bacillus megaterium* 2.37 mm, 2.1 mm for *Staphylococcus saprophyticus*, 3.34 mm for *Enterobacter gergoviae* of Papua and 3.49 mm from East Java.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Keanekaragaman tumbuhan Indonesia merupakan kekayaan alam yang patut disyukuri. Tumbuhan merupakan salah satu sumber daya alam yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan masyarakat. Hingga saat ini menurut perkiraan badan kesehatan dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih menggantungkan dirinya pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan obat yang berasal dari tumbuhan (Radji, 2005).

Tanaman merupakan sumber kekayaan alam yang potensial di Indonesia. Salah satu manfaat yang dapat diambil dari tanaman adalah khasiat sebagai obat dari bagian tanaman seperti daun, bunga, biji atau buah, kulit pohon, dan akar. Pendayagunaan obat asal tanaman akan memberikan keuntungan yang besar bagi masyarakat dibandingkan dengan obat-obat sintetis, karena biaya pengobatan akan lebih murah (Gholib, 2009). Tanaman obat dapat diolah menjadi produk jamu yang bermanfaat untuk meningkatkan daya tahan tubuh, pencegahan penyakit, penyembuhan penyakit, pemulihan kesehatan dan juga dapat sebagai penyubur kandungan (Soediby, 2000).

Penggunaan tanaman obat dengan cara mengambil bagian atau keseluruhan dari tanaman induknya secara terus-menerus tanpa disertai upaya pelestariannya dikhawatirkan nantinya akan merusak sumberdaya hayati yang tersedia. Sumberdaya hayati yang telah diciptakan Allah SWT pada dasarnya diperuntukkan bagi manusia untuk diolah dan dimanfaatkan bukan untuk dieksploitasi secara besar-besaran. Semua kekayaan di bumi ini tidak sia-sia

diciptakan oleh Allah SWT, namun mengandung manfaat demi kemaslahatan dan kesejahteraan manusia. Dalam Q.S Al-Baqarah ayat 29, Allah SWT berfirman:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ ۗ  
 وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu.* (Q.S Al-Baqarah : 29)

Ayat di atas menjelaskan bahwa kekayaan alam ini diperuntukkan bagi manusia dengan penuh makna yaitu agar manusia dapat menikmati dan memanfaatkan kekayaan alam dengan sebaik-baiknya. Salah satu kekayaan alam tersebut adalah rumput kebar (*Biophytum sp.*), rumput kebar tersebut mempunyai banyak manfaat yang sangat penting untuk manusia. Pemanfaatan kekayaan alam harus secara bijaksana dan tidak berlebihan dengan memperhatikan aturan-aturan konservasi lingkungan.

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman dan berkoloni pada daerah ruang interseluler dan sistem vascular. Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, dan daun. Tanaman mendapat manfaat dengan adanya bakteri endofit seperti memacu pertumbuhan tanaman karena bakteri endofit mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan hormon pertumbuhan. Bakteri endofit juga mampu meningkatkan resistensi tanaman terhadap berbagai macam mikroba patogen dengan cara menginduksi ketahanan tanaman yang dikenal dengan *induced systemic resistance* (ISR) sehingga mampu bertahan terhadap serangan penyakit tanaman (Hallman dan Berg, 2006).

Berdasarkan sifat kerjanya bakteri endofit melawan mikroba pathogen dengan cara mengganggu metabolisme sel, menghambat sintesis dinding sel, mengganggu permeabilitas dan menghambat sintesis protein dalam sel (Syarmalina, 2008).

Selain mikroba endofit mudah untuk ditumbuhkan dan memiliki siklus hidup yang pendek, salah satu sumber senyawa bioaktif mikroba endofit ini dapat dimanfaatkan sebagai obat. Strobel (2000) beberapa mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif sebagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki daya antimikroba, antimalaria, antikanker dan sebagainya. Radji (2005), mikroba endofit yang terdiri atas bakteri dan jamur merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman dan membentuk koloni tanpa membahayakan inangnya. Tan (2001) dalam Radji (2005) menjelaskan bahwasannya tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sekunder.

Eksplorasi bakteri endofit telah banyak dikaji antara lain Fauzana (2011) memperoleh 15 isolat bakteri endofitik dari daun tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Simamarta (2007) berhasil mengisolasi 38 isolat bakteri dan kapang endofit dari tanaman sambung nyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp, *B. subtilis*, dan *C.albicans*. Sedangkan untuk kapang endofit yang diperoleh mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *C. albicans* dan *B. subtilis*. Isolat bakteri endofit USN

1.1 dan USN 2.3 memperlihatkan zona hambat yang paling signifikan besarnya. Luas zona hambat isolat USN 1.1 terhadap *C. albicans* 2,318 cm<sup>2</sup>, *E. Coli* 0,969 cm<sup>2</sup>, *Pseudomonas* sp 0,796 cm<sup>2</sup> dan *B. subtilis* 0,381 cm<sup>2</sup>. Luas zona hambat isolat USN 2.3 terhadap *C. albicans* 3,01 cm<sup>2</sup>, *E. coli* 0,519 cm<sup>2</sup>, *Pseudomonas* sp. 0,588 cm<sup>2</sup> dan *B. subtilis* 0,83 cm<sup>2</sup>. masing-masing. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dan jamur endofit bisa menjadi sumber yang menjanjikan untuk agen antimikroba.

Kusumawati (2014) telah mengisolasi sebanyak 22 isolat bakteri endofit dari tanaman miana. Miana (*Coleus scutellariodes* [L.] Benth.) merupakan tumbuhan obat yang mengandung senyawa antidiare dan antimikroba. Berdasarkan hasil penelitian, isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* sebanyak 13 isolat dan 15 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan bakteri endofit yang mampu menghambat kedua jenis pathogen tersebut berjumlah 10 isolat.

Pemanfaatan bakteri endofit sebagai agensia *biofactory* berbagai senyawa aktif ini sangat menguntungkan karena siklus hidup mikroba yang lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya sehingga dapat menghemat waktu produksi dan jumlah senyawa antibakteri yang diproduksi dapat dibuat dalam skala besar tanpa menggunakan ruang yang luas. Keuntungan lain yang diperoleh dari pengembangan bakteri endofit penghasil antibakteri adalah dapat menjaga kelestarian tumbuhan obat, terutama jenis tumbuhan yang langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Menurut Strurz dan Christir (1998) dalam Nugroho (2004), hubungan yang terjadi antara inang dan bakteri endofit bukan merupakan hubungan patogenitas. Bakteri endofit yang terdapat dalam tanaman memacu perkecambahan, untuk bertahan dalam kondisi yang kurang menguntungkan, mempercepat pertumbuhan, ketahanan terhadap pathogen lemah dan beberapa kasus yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan lingkungan.

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya yang merupakan peluang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya. Pemanfaatan mikroba endofit dalam memproduksi senyawa aktif memiliki beberapa kelebihan, antara lain: (1) lebih cepat menghasilkan dengan mutu yang seragam, (2) dapat diproduksi dalam skala besar dan (3) kemungkinan diperoleh komponen bioaktif baru dengan memberikan kondisi yang berbeda (Fatiqin, 2009). Disamping hal-hal yang sudah disebutkan di atas, ada keuntungan lain yang diperoleh, yaitu menjaga kelestarian tumbuhan obat, terutama yang termasuk jenis tumbuhan langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch), merupakan salah satu tumbuhan obat yang belum banyak diketahui di Indonesia. Rumput kebar ditemukan di kecamatan Kebar, kabupaten Manokwari, Papua Barat. Berdasarkan tempat ditemukannya yaitu di kecamatan Kebar maka tumbuhan ini dinamakan rumput kebar. Tumbuhan ini percaya oleh masyarakat setempat secara turun

temurun sebagai obat tradisional yang diolah secara sederhana untuk berbagai keperluan kesehatan (Unitly, 2011). Menurut Veldkamp (1976) tumbuhan ini digunakan sebagai obat kumur untuk sariawan, penawar racun gigitan ular dan obat pencuci perut untuk anak.

Komponen lainnya yang terdeteksi pada ekstrak daun rumput kebar berasal dari golongan senyawa alifatik hidrokarbon. Senyawa alifatik sering terdeteksi pada kultur endofit dan memperlihatkan aktivitas biologis sebagai antikapang (Yu *et al.* 2010). Senyawa alkohol merupakan komponen minor yang juga ditemukan pada ekstrak daun rumput kebar. Senyawa alcohol dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan khamir dan kapang (Sacchetti *et al.* 2005).

Penelitian uji antibakteri rumput kebar terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris* dan *Escherichia coli* telah dilakukan oleh Natarajan (2010) dengan menggunakan metode difusi sumur agar. Natarajan menjelaskan bahwa zona hambat dari ekstrak daun rumput kebar yang paling besar adalah pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 22 mm dibandingkan dengan bakteri *Bacillus subtilis* dan lainnya, karena pada rumput kebar terdapat senyawa aktif yang bersifat antibakteri.

Penelitian uji antikapang *Biophytum sp.* terhadap kapang *Aspergillus flavus* pada media model pangan juga dilakukan oleh Lisangan (2015) menjelaskan bahwa daun rumput kebar diekstraksi dengan pelarut heksana, etil asetat, metanol, dan akuades secara tunggal dan bertingkat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bertingkat heksana-etil asetat-metanol (HEM) daun

rumpun kebar pada konsentrasi  $20 \text{ mg /mL}^{-1}$  di media kaya karbohidrat, media kaya lemak, dan media kaya protein menyebabkan hambatan pertumbuhan *Aspergillus flavus* tertinggi dari pada jenis ekstrak lainnya, yaitu berturut-turut 96.2, 100, dan 96.1%.

Isolasi bakteri endofit dari rumput kebar ini sangat penting dilakukan karena dalam pemanfaatan rumput kebar yang terus menerus akan mengakibatkan kepunahan dan juga kerusakan. Pemanfaatan yang besar-besaran tersebut harus diimbangi dengan pembudidayaan yang baik, sedangkan jika pembudidayaan rumput kebar tersebut memerlukan lahan/tempat yang luas. Sehingga isolasi bakteri endofit sangatlah diperlukan dalam menghemat waktu, biaya dan tenaga.

Penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari tanaman kebar sebagai penghasil senyawa antimikroba ini belum banyak dilakukan, sehingga penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai jenis-jenis bakteri endofit pada tanaman kebar yang berpengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah jenis bakteri endofit yang dapat diisolasi dari rumput kebar (*Biophytum sp*)?
2. Apakah senyawa aktif yang dihasilkan bakteri endofit mempunyai kemampuan sebagai anti bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jenis bakteri endofit apakah yang dapat diisolasi dari tanaman kebar (*Biophytum sp*)
2. Untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif yang dihasilkan bakteri endofit sebagai antibakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

1. Memberikan informasi pada masyarakat umum tentang adanya bakteri endofit pada tanaman kebar (*Biophytum sp*).
2. Memperbanyak pengetahuan di bidang mikrobiologi ataupun bidang lainya, khususnya bakteri endofit yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri
3. Senyawa antibakteri yang didapat, diharapkan nantinya dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari seluruh bagian tanaman kebar (*Biophytum sp*) yang diperoleh dari Papua dan Jawa Timur (Malang).

2. Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang
3. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat/jernih yang tumbuh di sekitar paper disk
4. Pada pengujian aktivitas antibakteri, peneliti tidak memperhitungkan kadar konsentrasi dari senyawa antibakteri tersebut



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rumput Kebar (*Biophytum sp.*)

Kebar merupakan salah satu dari 29 kecamatan yang ada di Kabupaten Manokwari Provinsi Papua Barat, dengan ketinggian >500 m dpl dan padang rumput alam seluas 743.5 ha (Macap, 1997 dalam Sawen, 2012). Rumput kebar dalam bahasa lokalnya disebut "banondit" merupakan famili Oxalidaceae (belimbing) telah dikenal sejak dulu oleh masyarakat Papua terutama di daerah pegunungan Arfak khususnya Kebar.

Masyarakat Papua (Manokwari), menyebutnya sebagai "rumput kebar" walaupun spesies ini bukan termasuk famili Poaceae (rumput-rumputan). Sebenarnya spesies ini termasuk semak dengan batang yang kecil atau pendek, jarang yang mencapai tinggi 15 cm (Veldkamp 1976). Berdasarkan pengamatan di lapangan, spesies ini hidup berasosiasi dengan alang-alang (*Imperata cylindrica*). Selain itu secara turun temurun telah dimanfaatkan sebagai obat kesuburan bagi wanita (Sawen, 2012).

Banondit (*Biophytum sp.*) merupakan bahasa lokal yang digunakan oleh masyarakat Kebar untuk menyebutkan tumbuhan herbal rumput kebar. Tumbuhan ini sudah umum dimanfaatkan oleh masyarakat baik di Papua maupun di Indonesia. Banondit telah dikenal secara turun temurun oleh masyarakat Kebar sebagai obat kesuburan untuk meningkatkan fertilitas baik untuk manusia maupun untuk ternak sebagaimana dikemukakan oleh Velkamp (1976) dan Sawen (2011). Di alam, tumbuhan ini tumbuh secara alamiah di padang rumput alam dengan

luasan 622,2 ha dimana padang ini didominasi oleh alang-alang (*Imperata cylindrica*) (Sawen, 2011).

Sampai sekarang telah ditemukan rumput kebar yang berasal dari 3 tempat yang berbeda, yaitu rumput kebar asal Papua, Jawa Tengah dan Jawa Barat (Sembiring, 2014) :



Gambar 2.1 Tanaman rumput kebar asal Papua (A), Jawa Tengah (B) dan Jawa Barat (C).

Menurut Sembiring dan Irens (2013), kedudukan rumput kebar (*Biophytum sp.*) dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Class : Dicotyledoneae
- Ordo : Oxalidales
- Famili : Oxalidaceae
- Genus : *Biophytum*
- Spesies : *Biophytum sp.*

Rumput kebar memiliki penampilan yang cantik, ramping, menyerupai tanaman kelapa karena hanya memiliki satu batang tanpa ada cabang, tinggi tanaman sekitar 10-12 cm, daun letaknya mengumpul dipucuk serta berpasangan (Veldkamp, 1976).

Penciptaan alam semesta beserta isinya sesuai kehendak Allah SWT bertujuan untuk kemaslahatan manusia, untuk melayani manusia dan kebaikan masyarakat. Ajaran islam yang paling menarik adalah ajaran akan etika atau pemanfaatan dari alam semesta itu sendiri. Ajaran tersebut menekankan bahwa keberadaan alam adalah sebagai kemaslahatan manusia, seperti dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 29:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ ۗ  
وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu (Q.S Al-Baqarah: 29).*

Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar menafsirkan ayat di atas yakni Allah Ta'ala mengadakan segalanya, berupa potensi alam yang ada di muka bumi ini, seluruhnya untuk manusia agar manusia dapat memanfaatkannya dalam kehidupan ini karena ketergantungan hidup mereka padanya, dan menciptakan tujuh lapis langit. Namun demikian, ilmu pengetahuan Allah meliputi segala sesuatu itu (Al-Jazairi, 2006 ; hal 79-80).

Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur menafsirkan ayat di atas yakni Allahlah yang menjadikan segala sesuatu yang ada di muka bumi maupun di perut

bumi ini untuk kemaslahatan manusia, supaya dengan beragam cara manusia bisa mengambil kenikmatan untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Allah juga menjelaskan tanda-tanda kekuasaan-Nya yang terdapat dalam diri manusia dengan menerangkan awal kejadian mereka dan kesudahannya. Tanda-tanda kekuasaan Allah pada jagad raya yang menunjukkan kepada kemahakuasaan-Nya pada semua hal dan menunjukkan kepada nikmat-Nya yang terus-menerus tercurah kepada hamba-Nya, yaitu menciptakan segala sesuatu di bumi untuk dimanfaatkan oleh manusia (Ash-Shiddieqy, 1995; hal 69-70).

Tafsir Al-Asas menafsirkan ayat di atas yaitu Allah menjadikan yang ada di bumi demi kepentingan dunia, maka jelas sekali bahwa manusia membutuhkan semua ini untuk kepentingan kehidupan. Sedangkan untuk kepentingan agama dapat pula dipahami bahwa dengan mengamati semua yang ada di dunia ini, manusia akan mengenal Allah dan mengingat akhirat. Berbagai kenikmatan dan kesenangan dunia, mengingatkan manusia kepada pahala yang akan diterimanya kelak di akhirat. Begitu juga berbagai kesusahan dan kepahitan dunia, mengingatkan manusia kepada kesusahan dan kepahitan akhirat (Hawwa, 2000 ; hal 125).

Berdasarkan beberapa pendapat dari ulama' yang berbeda maka dapat dijelaskan secara singkat bahwa ayat di atas menjelaskan tentang alam semesta beserta isinya diciptakan Allah SWT secara kompleks untuk makhluknya terutama manusia, sedangkan makhluk yang diciptakanNya terdiri dari berbagai jenis baik tumbuhan maupun hewan.

## 2.2 Kandungan Rumput Kebar

Menurut Sembiring dan Ireng (2014), hasil penapisan fitokimia menunjukkan simplisia aksesori rumput kebar baik yang berasal dari Papua, Jawa Barat maupun Jawa Tengah semuanya mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, alkaloid, diterpenoid, tanin, glikosida, steroid, saponin dan fenolik.

Tabel 2.1 Hasil skrining fitokimia rumput kebar (Sembiring dan Ireng, 2014)

Parameter	Kebar Rumput		
	Papua	Jawa Barat	Jawa tengah
Alkaloid	++++	++++	++++
Saponin	+	+	+
Tanin	++++	+++	++++
Fenolik	++	+	++
Flavonoid	++++	++++	++++
Triterpenoids	+++	+++	+++
Steroid	++	+	+
Glikosida	+++	++	++

Keterangan:

++++ : Sangat kuat

+++ : Kuat

++ : Sedang

+

: Lemah

Beberapa dari golongan senyawa tersebut dapat bermanfaat untuk kesehatan yaitu steroid, flavonoid, fenolik, saponin (Robinson, 1995). Selain itu flavonoid juga ampuh untuk mencegah sekaligus mengatasi serangan kanker. Mekanisme kerja flavonoid dalam mengatasi kanker dengan menginaktivasi karsinogen, penghambatan siklus sel, dan induksi apoptosis (Pavlovic *et al.*, 2005).

Komponen lainnya yang terdeteksi pada ekstrak daun rumput kebar berasal dari golongan senyawa alifatik hidrokarbon. Senyawa alifatik sering

terdeteksi pada kultur endofit dan memperlihatkan aktivitas biologis sebagai antikapang (Yu *et al.* 2010). Senyawa alkohol merupakan komponen minor yang juga ditemukan pada ekstrak daun rumput kebar. Senyawa alkohol dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan khamir dan kapang (Sacchetti *et al.* 2005).

Rumput kebar diketahui berpotensi sebagai antibakteri, hipoglikemik, imunomodulator, kemoprotektif, hipokolesterolemik, apoptosis, antiinflamasi, antitumor dan biosintesis prostaglandin, mempengaruhi ekspresi COX-2, menstimulasi sel-sel sistem kekebalan tubuh (Inngjerdigen dkk., 2008), dan mempengaruhi apoptosis sel-sel B16F-10 dan penghambatan produksi NO dan sitokin yang berperan dalam pembentukan tumor (Natarajan *et al.*, 2010),

Biosintesa metabolit sekunder atau pembentukan senyawa kimia dalam suatu tanaman mempunyai ciri adaptif, spesifik dan variatif. Ciri adaptif adalah biosintesis metabolit sekunder dari proses adaptasi tanaman terhadap rangsangan-rangsangan dari lingkungan tumbuh. Sedangkan spesifik adalah senyawa aktif yang terbentuk dan disintesis hanya ada pada tanaman tersebut (Jamaran, 1992).

Berdasarkan hasil identifikasi komponen kimia bahwa rumput kebar asal Papua diperoleh 15 komponen dan 14 komponen rumput kebar asal Jawa. Jenis senyawa kimia yang dikandung antara lain vit E, heksadecanoic acid, 9,17-Octadecadienal, ergost-5-en-3-ol, stigmast-5-en-3-ol, phenol (Tabel 2). Selain itu juga terdapat vitamin B12, asam folat, vitamin C dan E (Sembiring dan Ireng, 2014).

Tabel 2.2 Identifikasi senyawa aktif rumput kebar (Sembiring dan Ireng, 2014)

Komponen Kimia	Jumlah (%)	
	Papua	Jawa
Vitamin E	3,25	3,22
9,17-Octadecadienal	23,37	22,61
Octadecanoic acid	3,36	3,97
Hexadecanoic acid	9,87	15,67
Ergost-5-en-3-ol	2,50	2,21
1,1-Biphenyl	3,55	3,73
N-(2,4,6-tris (t-butyl)phenyl	5,00	-
Phenol,3-phenyl	-	2,76
(23S)-etylocholest-5-en-3.beta	7,36	-
Trans-stigmasta	-	1,76
Stigmast-5-en-3-ol	-	13,45
1 beta, Acetoxy-3 beta, hydrocylup	-	2,70
Phytol	-	2,53
Neophytadiene	-	5,88
Spiro (2H-1-benzopyran-2	-	1,68
Epi-psi,-Taraxastanonol	-	2,30
Otochilone	1,79	-
Myrtifolic acid	2,34	-
Mangiferolic acid	1,96	-
9,19-Cyclolanostan-3-ol	3,36	-
D:C-friedo-oleana-7,9 (11)-diene-3	1,89	-
1-etyl-1-isopropenylcyclohexane	3,43	-
1-(fur-3-yl)-1-(3 acetoxy-4-met	2,14	-

### 2.3 Manfaat Rumput Kebar

Rumput kebar dapat dimanfaatkan sebagai obat kumur, sariawan, penawar racun bekas gigitan ular, obat cuci perut untuk anak-anak, peningkat stamina, mengatasi demam, nyeri pada tulang, dan malaria (Veldkamp, 1976). Selain itu,

dengan mengkonsumsi air rebusan simplisia rumput kebar dapat menormalkan siklus haid dari 14 hari menjadi 28-30 hari. Pemberian ekstrak rumput kebar dapat meningkatkan perkembangan folikel karena mengandung saponin yang merupakan bahan dasar untuk sintesis hormon steroid yang dapat memperbaiki kinerja sistem reproduksi. Penggunaan ekstrak rumput kebar melalui air minum dapat meningkatkan berat ovarium, menstimulir perkembangan folikel, serta meningkatkan daya tetas telur dan motilitas spermatozoa pada ayam buras (Wajo, 2005) dalam (Sembiring, 2014).

Vitamin A yang terdapat dalam rumput kebar memiliki peran dalam pembentukan sel telur serta melindunginya dari serangan radikal bebas yang juga merupakan sumber antioksidan. Sedangkan vitamin E berfungsi untuk mencegah keguguran, menjaga kesehatan dinding rahim, plasenta, meningkatkan kemampuan sperma membuahi sel telur dan berperan dalam pembentukan hormone testosteron. Kandungan zat aktif seperti zat as.amino, zat besi, vitamin C, E, B6, B12, as.folat, selenium, kalsium dan lain-lain, semua ini berpengaruh terhadap pertumbuhan sekaligus kesuburan (Senior, 2009). Menurut Kasmiran (2011), untuk meningkatkan nilai gizi suatu substrat dapat dilakukan pengolahan yaitu melalui proses fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak kesempatan mikroorganismenya untuk merombak zat makanan yang ada pada substrat, seperti bahan kering dan bahan organik. Fermentasi dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan kadar unsur mineral serbuk rumput kebar.

Pemberian ekstrak rumput kebar kepada tikus memberikan gambaran positif yaitu terjadi penebalan pada dinding rahim tikus. Dinding rahim yang tebal

dapat memudahkan sperma menempel sekaligus memudahkan proses kehamilan (Senior, 2009). Menurut Sadsoeitoeboen (2005) pemberian ekstrak rumput kebar sebesar 0,135 mg/g bobot badan kepada mencit putih betina, dapat memperpendek siklus estrus, memperpanjang lama estrus, meningkatkan jumlah embrio, menambah bobot badan induk, jumlah anak dan bobot lahir anak.

Tumbuhan sendiri terdapat berbagai fenomena alam diantaranya sebagai obat yang banyak memberikan manfaat bagi manusia yang menunjukkan tanda-tanda kekuasaan-Nya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S Abasa ayat 27-32:

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٢٩﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣٠﴾ وَفِكَهَةً ﴿٣١﴾ وَأَبًّا ﴿٣٢﴾ مَّتَعًا لَكُمْ وَلَا تَعْمَلُونَ

Artinya: *Lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu, anggur dan sayur-sayuran, zaitun dan kurma, kebun-kebun (yang) lebat, dan buah-buahan serta rumput-rumputan, untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu (Q.S ‘Abasa: 27-32).*

Menurut Al-utsaimin (2005), menyatakan bahwa Allah telah menumbuhkan biji-bijian seperti biji gandum, beras, biji dzurrah, biji sya’ri dan biji-bijian lainnya. ‘Inab adalah jenis buah yang sudah dikenal dengan nama anggur. Adapun ‘qadhba’ ada yang mengatakan bahwa artinya adalah tumbuh-tumbuhan sejenis sayuran. Kemudian zaitun dan pohon kurma yang sudah dikenal luas. Kemudian kebun-kebun yang banyak pepohonannya. Dan berbagai jenis buah-buahan yang biasa dimakan manusia juga sejenis rerumputan yang dikenal oleh orang Arab sebagai makanan unta. Allah menyediakan semua itu untuk

kesenangan manusia. Dengan nikmat tersebut hewan-hewan ternak dapat bekerja dan agar manusia dapat menikmati nikmat-nikmat tersebut (Al-utsaimin, 2005 : 128-129).

Ayat di atas menjelaskan bahwa tumbuhan juga memiliki keanekaragaman jenis yang tersebar luas diseluruh permukaan bumi. Keanekaragaman jenis tumbuhan juga diikuti dengan manfaatnya bagi kehidupan manusia, seperti tumbuhan sebagai makanan pokok, bahan bangunan, bahan obat dan potensi lainnya yang masih belum diketahui dengan baik.

#### **2.4 Mikroba Endofit**

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tumbuhan dan dapat dijumpai pada bagian akar, daun serta batang tumbuhan. Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai antimikrobia, anti malaria, antikanker, dan juga dapat digunakan dalam dunia pertanian dan industri. Mikroba endofit memiliki prospek yang baik dalam penemuan sumber-sumber senyawa bioaktif yang dalam perkembangannya lebih lanjut dapat dijadikan sebagai sumber penemuan obat untuk berbagai macam penyakit (Prihatiningtias, 2006). Bakteri endofit merupakan mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman inang tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman (Desriani, 2014).

Menurut Tan dan Zou (2001) dalam Elfita (2011) menyatakan bahwa mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat

mengandung beberapa mikroba endofitik yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inangnya ke mikroba endofitik.

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria dan antiimunopresif (Strobel and Daisy, 2003). Bakteri endofit juga mampu meningkatkan resistensi tanaman terhadap berbagai macam mikroba patogen dengan cara menginduksi ketahanan tanaman yang dikenal dengan *induced systemic resistance* (ISR) sehingga mampu bertahan terhadap serangan penyakit tanaman (Nursulistyarini, tanpa tahun).

Hampir semua tanaman vaskular memiliki endofit. Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman. Bakteri menembus jaringan tanaman di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka (Carrol, 1988). Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman tanpa merusak jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Bakteri endofit gram positif dan gram negatif telah banyak diisolasi dari beberapa jaringan tanaman. Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar dan bagian tanaman lain yang terpapar udara luar seperti bunga, batang, dan kotiledon dapat juga dilalui. Secara khusus, bakteri masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata, maupun jaringan yang rusak (Zinniel *et al.*, 2002).

Pemanfaatan bakteri endofit sebagai agensia biofactory berbagai senyawa aktif ini sangat menguntungkan karena siklus hidup mikroba yang lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya sehingga dapat menghemat waktu produksi dan jumlah senyawa antibakteri yang diproduksi dapat dibuat dalam skala besar tanpa menggunakan ruang yang luas. Keuntungan lain yang diperoleh dari pengembangan bakteri endofit penghasil antibakteri adalah dapat menjaga kelestarian tumbuhan obat, terutama jenis tumbuhan yang langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Menurut Strobel (2002) dalam Fatiqin (2009), model interaksi mikroba endofit dengan tanaman inangnya antara lain:

- a. Tanaman inang menyediakan nutrisi bagi mikroba endofit yang ada di dalamnya
- b. Tanaman inang menyediakan substrat dan zat yang penting bagi mikroba endofit untuk menyelesaikan siklus hidupnya, untuk tumbuh, serta untuk pertahanan diri.
- c. Mikroba endofit khususnya jamur berperan melalui proses biodegradasi tanaman inangnya setelah tanaman inang mati. Proses biodegradasi ini memiliki peran sentral di dalam siklus nutrisi.
- d. Ditinjau dari kajian biologi molekuler, interaksi antara mikroba dan tanaman inangnya melibatkan transfer materi genetic. Hal tersebut berdasarkan fakta bahwa zat-zat bioaktif langka yang dihasilkan oleh

tanaman tertentu, dihasilkan pula oleh mikroba-mikroba endofit yang hidup di dalamnya.

Selain mengkaji sumberdaya tumbuhan, Islam juga menganjurkan untuk mengkaji sumberdaya makhluk lain seperti bakteri dan jamur atau hewan dengan ukuran yang sangat kecil lainnya, Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqoroh ayat 26 :

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا .....<sup>ع</sup>

Artinya: *Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu .....(Q.S Al-Baqoroh: 26).*

Ayat di atas *lafadz fama fauqohaa* (“atau yang lebih rendah dari itu”) pada ayat di atas maksudnya yaitu apa yang melebihi nyamuk dari segi makna dan fisik, mengingat nyamuk adalah makhluk kecil dan tidak berarti (Hawwa, 2000 : 121).

Tuhan tidak melihat suatu kekurangan dengan membuat perumpamaan kutu busuk atau dengan perumpamaan makhluk yang derajatnya lebih rendah lagi atau yang lebih tinggi (besar) dari itu. Sebab, Dialah yang menjadikan segala sesuatu, baik yang mulia maupun yang hina (Ash-Shiddieqy, 1995 : 64).

Allah tidak terhalang oleh rasa malu untuk membuat perumpamaan sekecil apapun perumpamaan itu, seperti seekor lalat ataupun yang lebih kecil lagi seperti sayapnya. Untuk membuat sesuatu sebagai permisalan bagi sesuatu yang lain untuk mengungkap sifat dan kondisinya yang baik atau buruknya. Kata *ba'uudhotan* di sini artinya adalah serangga-serangga kecil (semacam kutu) (Al-Jazairi, 2006 : 75-76).

Adapun hewan yang lebih kecil dari pada nyamuk yaitu mikroba. Mikroba walaupun berukuran sangat kecil dan umumnya sangat dibenci orang karena merugikan manusia, tetapi sekali lagi segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di bumi ini tidaklah sia-sia. Mikroba ada yang merugikan tetapi tidak sedikit juga yang dapat member manfaat untuk kehidupan manusia, salah satunya adalah mikroba endofit yang hidup pada jaringan tanaman dan dapat menghasilkan zat antibiotic yang dapat dimanfaatkan sebagai obat.

## 2.5 Antimikroba

Antimikroba alami merupakan suatu produk atau bahan metabolit yang dihasilkan oleh satu jenis mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Antibiotika tersebar di alam bebas, tetapi hanya beberapa yang tidak toksik dipakai dalam pengobatan dan kebanyakan diperoleh dari genus *Bacillus*, *Penicillium* dan *Streptomyces*. Sebagai contoh antibiotika alami adalah penisilin, tetrasiklin dan eritromisin (Tortora *et al.*, 2001).

Senyawa antimikroba didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Beberapa senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah sodium benzoate, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sulfur dioksida, nitrit, senyawa kolagen, dimetil karbonat dan metol askorbat (Volk dan Wheeler, 1993).

Zat antimikroba dalam melakukan efeknya, harus dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membrane sel, enzim-enzim dan protein structural (Umar, 2012). Pelczar (2008) menyatakan bahwa mekanisme kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membrane sel, kerusakan sitoplasma, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan enzim.

## **2.6 Metabolit Bakteri**

Metabolit Terdapat dua bentuk dasar metabolit mikroorganisme yang disebut metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer merupakan salah satu yang dibentuk selama fase pertumbuhan primer mikroorganisme, sedangkan metabolit sekunder merupakan salah satu yang dibentuk menjelang akhir fase pertumbuhan primer mikroorganisme, seringkali menjelang atau fase stationer pertumbuhan (Sudibyo, 2002).

### **2.6.1 Metabolit Primer**

Metabolit primer adalah suatu metabolit atau molekul yang merupakan produk akhir atau produk antara dalam proses metabolisme makhluk hidup, yang fungsinya sangat esensial bagi kelangsungan hidup organisme tersebut, serta terbentuk secara intraseluler. Contohnya adalah protein, lemak dan karbohidrat. Pada umumnya metabolit primer tidak diproduksi berlebihan. Pada sebagian besar mikroorganisme, produksi metabolit yang berlebihan dapat menghambat pertumbuhan, dan kadang-kadang dapat mematikan mikroorganisme tersebut. Proses metabolisme tersebut untuk membentuk metabolit primer disebut metabolisme primer (Sudibyo, 2002).

Mikroorganisme menghasilkan metabolit primer, misalnya protein dan metabolit sekunder, misalnya antibiotik. Metabolit primer diproduksi pada waktu yang sama dengan pembentukan sel baru, dan kurva produksinya mengikuti kurva pertumbuhan populasi secara paralel. Metabolit sekunder mikroorganisme tidak diproduksi hingga sel mikroorganisme menyelesaikan secara lengkap fase pertumbuhan logaritmiknya, dikenal sebagai fase tropofase dan memasuki fase stasioner. Periode selanjutnya, ketika sebagian besar metabolit sekunder dihasilkan, disebut sebagai idiofase. Metabolit sekunder mikroorganisme dapat merupakan konversi dari metabolit primer mikroorganisme (Dewick, 1999).

Fungsi karbohidrat, protein, dan lemak pada makhluk hidup sudah jelas, antara lain karbohidrat sebagai sumber energi dan protein untuk pertumbuhan. Hal tersebut berlaku secara umum pada semua makhluk hidup. Nutrien-nutrien tadi disebut sebagai metabolit primer (Sahidin, 2013).

Ciri-ciri metabolit primer yaitu (Dewick, 1999):

- a. Terbentuk melalui metabolisme primer
- b. Memiliki fungsi yang esensial dan jelas bagi kelangsungan hidup organisme penghasilnya (merupakan komponen esensial tubuh misalnya asam amino, vitamin, nukleotida, asam nukleat dan lemak).
- c. Sering berhubungan dengan pertumbuhan organisme penghasilnya.
- d. Bersifat tidak spesifik (ada pada hampir semua makhluk hidup).
- e. Dibuat dan disimpan secara intraseluler.
- f. Dibuat dalam kuantitas yang cukup banyak

### 2.6.2 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder termasuk antibiotic/antimikrobia dapat diproduksi oleh mikroorganisme endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman (Bills dan Polyshook, 1992). Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi (Strobel, *et al.*, 2003). Mikroorganisme endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman diantaranya biji, ovula, buah, batang, akar, umbi akar dan daun tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut (Altahi, *et al* (2009) dalam Izza (2011)).

Senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikrobia tersebut bermanfaat bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh yang dihasilkan dapat menambah panjang akar, jumlah cabang akar dan rambut akar, berat kering akar maupun panjang batang pada berbagai jenis tanaman. Pertumbuhan akar yang cepat akan segera memantapkan pertumbuhan tanaman muda untuk menyerap air dan nutrisi dari lingkungannya. Hal ini bermanfaat terutama bagi tanaman yang tumbuh di daerah kering dimana air menjadi pembatas utama pertumbuhan. Antimikrobia dan enzim pendegradasi dinding sel yang dihasilkan, dapat membantu mengatasi serangan patogen penyebab penyakit pada tanaman (Hallmann, 2001; Lezin *et al.*, 2001; Patten and Glick, 2002 dalam Listiana, *et al.*, 2012).

Tumbuhan pada saat kena hujan atau panas tidak dapat menghindar atau lari untuk berteduh, tetapi tumbuhan tersebut mengeluarkan atau menghasilkan senyawa tertentu yang dapat melindungi dirinya dari pengaruh hujan atau panas. Senyawa-senyawa yang dimaksud disebut dengan metabolit sekunder ( Sahidin, 2013).

Ciri-ciri metabolit sekunder adalah (Dewick, 1999) :

- a. Dibuat melalui proses metabolisme sekunder
- b. Diproduksi selama fase stasioner
- c. Fungsi bagi organisme penghasil belum jelas, diduga tidak berhubungan dengan sintesis komponen sel atau pertumbuhan
- d. Dibuat dan disimpan secara ekstraseluler
- e. Hanya dibuat oleh spesies tertentu dan dalam jumlah terbatas
- f. Umumnya diproduksi oleh fungi filamenmtus dan bakteri pembentuk spora
- g. Merupakan kekhasan bagi spesies tertentu

## **2.7 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri**

Menurut pelczar dan chan (1988) cara kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

1. Merusak dinding sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan menahan sel, dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan yang merupakan polimer kompleks yang terdiri atas rangkaian asam N-

asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat yang tersusun secara bergantian. Keberadaan lapisan peptidoglikan 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 mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel yang 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 bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi protein 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 membrane luar. Apabila fungsi membrane sel terganggu oleh adanya bahan antimikroba, maka permeabilitas sel bakteri akan mengalami perubahan, sehingga akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

#### 4. Menghambat kerja enzim

Dalam badan sel terdapat 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 proses kehidupan normal sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotic dapat menghambat proses sintesis protein. Apabila keberadaan DNA, RNA dan protein mengalami gangguan atau hambatan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel sehingga proses kehidupan sel terganggu.

## 2.8 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) termasuk bakteri yang berbentuk batang, gram negatif, fakultatif anaerob dan tidak mampu membentuk spora. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut Bergey's (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bakteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

*E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang ditemukan di danau, sungai dan laut berasal dari tinja manusia dan hewan berdarah panas serta perairan yang terkontaminasi oleh limbah bersifat organik, memiliki ukuran sel dengan panjang 2.0 – 0.6  $\mu\text{m}$  dan lebar 1.1 – 1.5  $\mu\text{m}$ , tidak ditemukan spora bersifat fakultatif aerobik. Bakteri ini memiliki kapsula atau mikrokapsula terbuat dari asam-asam polisakarida, memproduksi maam-macam fimbria atau pili. Fimbria merupakan rangkaian hidrofobik dan mempunyai pengaruh panas atau organ spesifik yang bersifat adhesi, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling sedikit banyak di bawah keadaan anaerob. Pertumbuhan bakteri yang baik terhadap suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber karbon dan nitrogen (Feliatra, 2002).

*Escherichia coli* adalah kuman yang banyak ditemukan di usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak. Di dalam usus kuman ini tidak menyebabkan penyakit, malahan dapat membantu fungsi normal dan nutrisi. Organisme ini menjadi patogen hanya bila mencapai jaringan di luar saluran pencernaan khususnya saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru, peritoneum, atau selaput otak, menyebabkan peradangan pada tempat-tempat tersebut. (Jawetz *et al.*, 1991 dalam Melki, 2011).

*E. coli* mengandung enzim yang peka terhadap penisilin yakni enzim *transpeptidase* dan enzim *D-alanine carboxypeptidase*. Sifat resisten terhadap penisilin disebabkan target kerja yang melibatkan kerusakan dinding sel bakteri yakni dengan menghambat sintesis peptidoglikan. Membrane dalam tersusun oleh peptidoglikan 1 -10% dari dinding sel dan lipoprotein sedangkan membrane luar tersusun atas lipoprotein 30%, fosfolipid 20 - 25%, protein 40 – 45% yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap lingkungan luar terhadap aksi antibiotic sehingga penisilin lebih sulit untuk mencapai target kerja. Resistensi yang terjadi diakibatkan oleh perubahan permeabilitas selubung sel mikroba, mekanisme kerjanya yaitu dengan menghambat sintesis protein pada ribosom, caranya dengan menghambat pemasukan aminoasil t-RNA pada fase pemanjangan (Azizah, 2002).

Menurut Feliatra (2002), *E. coli* menyebabkan diare dapat diklasifikasikan berdasarkan cirri khas menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda, antara lain:

a. *E. Coli Enteropatogenik* (EPEC)

Penyebab penting pada bayi, khususnya di Negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair yang biasanya sembuh sendiri tetapi juga dapat kronik. Diare EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotic. Diare ini terjadi pada manusia, kelinci, anjing, kucing dan kuda. Seperti ETEC, EPEC juga menyebabkan diare tetapi mekanisme molekuler dari kolonisasi dan etiologi adalah berbeda. EPEC sedikit fimbria, ST dan LT toksin, tetapi EPEC menggunakan adhesin yang dikenal sebagai intimin untuk mengikat inang sel usus. Sel EPEC invasive (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang.

b. *E. coli Enterotoksigenik* (ETEC)

Factor kolonisasi ETEC menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus terenggang oleh cairan dan mengakibatkan hipermortilitas serta diare dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotosin yang tidak tahan panas. Ketika timbul diare, pemberian antibiotic dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. Diare tanpa disertai demam ini terjadi pada manusia, babi, kambing, kuda, domba, anjing dan sapi. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel-sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi 2 proteinous enterotoksin yakni dua protein yang lebih besar, LT enterotoksin sama

pada struktur dan fungsi toksin kolera hanya lebih kecil, ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit dan cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. ETEC strains tidak invasive dan tidak tinggal pada lumen usus.

## 2.9 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) berasal dari kata “*Staphele*” yang berarti kumpulan dari anggur dan kata “*aureus*” dalam bahasa latin yang berarti emas. Nama tersebut diberikan berdasarkan dari sel-sel bakteri tersebut jika dilihat di bawah mikroskop dan warna keemasan yang terbentuk jika bakteri tersebut ditumbuhkan pada pertumbuhan suatu agar (Supardi & Sukamto, 1999). Koloni *Staphylococcus* pada perbenihan berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Brooks *et al.*, 1996).

Bakteri *S. aureus* menurut Bergey’s (2005) termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih sederhana, sedangkan klasifikasinya adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Divisi	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri gram positif menurut Pelczar dan Chan (1988), mempunyai struktur dinding sel yang tebal yaitu 15-80 nm dan berlapis tunggal (mono), sedangkan kandungan lipidnya rendah yaitu 1-4%. Lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif ada sebagai lapisan tunggal dengan jumlah lebih dari 50% berat kering.

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul. Berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0.5-1.0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Jawetz et al, 2008).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen terpenting dan berbahaya diantara genus *Staphylococcus*. Bakteri ini sering resisten terhadap berbagai jenis obat, sehingga mempersulit pemilihan antimikroba yang sesuai untuk terapi. Resistensi terhadap beberapa antimikroba umumnya terjadi di rumah sakit, tempat yang paling banyak menggunakan anti mikroba (Dwijoseputro, 2005).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 35-37°C, dengan suhu minimum 6.7°C dan suhu maksimum 45.5°C. bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4.0 – 9.8 dengan pH optimum sekitar 7.0 – 7.5. bakteri ini juga dapat tumbuh pada  $A_w$  rendah dan konsentrasi NaCl yang tinggi (Supardi dan Sukamto, 1999).

Selain memproduksi koagulase, yaitu suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma, *Staphylococcus aureus* juga dapat memproduksi toksin, diantaranya: (1) Eksotoksin –  $\alpha$  yang sangat beracun, (2) Toksin –  $\beta$  yang terdiri dari hemolisin, yaitu suatu komponen yang mampu menyebabkan lisis pada sel darah merah, (3) Toksin F dan S, (4) Hialuronidase, yaitu suatu enzim yang dapat memecah asam hyaluronat di dalam jaringan sehingga mempermudah penyebaran bakteri ke seluruh tubuh, (5) Suatu grup enterotoksin yang terdiri dari protein sederhana (Supardi dan Sukamto, 1999).

*Staphylococcus aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus (Supardi dan Sukamto, 1999).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. *Staphylococcus* dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan infeksi kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Saat bakteri masuk ke peredaran darah bakteri dapat menyebar ke organ lain dan menyebabkan infeksi (Melki, 2011).

## 2.10 Uji Sensitifitas Terhadap Mikroba

Sebelum zat antimikroba digunakan untuk keperluan pengobatan maka perlu diuji dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktifitas antijasad renik diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan potensinya suatu zat sebagai anti jasad renik dalam larutan, konsentrasi zat terhadap jasad renik serta kepekaan suatu jasad renik terhadap konsentrasi-konsentrasi bahan antimikroba yang diberikan (Jawetz, 1986).

Menurut Tortora *et al* (2001), pengujian aktifitas bahan antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan melalui dua cara yaitu:

### 1. Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada medium padat yang ditunjukkan dengan

tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap bakteri uji.

## 2. Metode Difusi Cakram (Uji Kirby-Bauer)

Prinsip dari metode difusi cakram adalah menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan bakteri yang akan diuji. Medium ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar kertas cakram. Daerah jernih yang tampak disekeliling kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Bakteri yang sensitive terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan bakteri yang resisten akan tetap tumbuh pada tepi kertas cakram.

### 2.11 Pewarnaan Gram

Mikroorganisme yang ada di alam ini mempunyai morfologi, struktur dan sifat-sifat yang khas, termasuk bakteri. Bakteri yang hidup hampir tidak berwarna dan kontras dengan air, dimana sel-sel bakteri tersebut disuspensikan. Salah satu cara untuk melihat dan mengamati bentuk sel bakteri dalam keadaan hidup sangat sulit, sehingga untuk diidentifikasi ialah dengan metode pengecatan atau pewarnaan sel bakteri, sehingga sel dapat terlihat jelas dan mudah diamati. Hal tersebut juga berfungsi untuk mengetahui sifat fisiologisnya yaitu mengetahui reaksi dinding sel bakteri melalui serangkaian pengecatan. Oleh karena itu teknik

pewarnaan sel bakteri ini merupakan salahsatu cara yang paling utama dalam penelitian-penelitian mikrobiologi (Jawetz, 2008).

Struktur di dalam sel pada tempat-tempat yang dibentuk oleh spesies ini, disebut endospora. Endospora dapat bertahan hidup dalam keadaan kekurangan nutrien, tahan terhadap panas, kekeringan, radiasi UV serta bahan-bahan kimia. Ketahanan tersebut disebabkan oleh adanya selubung spora yang tebal dan keras. Sifat-sifat ini menyebabkan dibutuhkannya perlakuan yang keras untuk mewarnainya (Prescott, 2008).

Hanya bila diperlukan panas yang cukup, pewarna yang sesuai dapat menembus endospora. Tetapi sekali pewarna memasuki endospora, sukar untuk dihilangkan. Ukuran dan letak endospora di dalam sel merupakan ciri-ciri yang digunakan untuk membedakan spesies-spesies bakteri yang membentuknya (Prescott, 2008).

Menurut Sutedjo *et al* (1991), sel-sel bakteri yang bersifat gram positif adalah bakteri yang mengikat zat warna dasar (utama) dengan kuat sehingga dapat dilunturkan oleh zat peluntur dan tidak dapat diwarnai lagi oleh zat lain. Pada pengamatan mikroskopik, sel-sel bakteri gram positif dengan warna biru ungu (violet). Bakteri gram negatif adalah bakteri yang daya pengikat warna dasarnya tidak kuat, sehingga dapat dilunturkan dan dapat diwarnai kembali oleh zat warna lain. Pada pengamatan mikroskopik sel-sel bakteri pada pewarnaan gram ini tampaknya berwarna merah.

Perbedaan gram positif dan gram negatif adalah gram positif merupakan organisme yang dapat menahan kompleks pewarna primer ungu kristal iodium

sampai pada akhir prosedur (sel tampak biru gelap atau ungu). Sedangkan gram negatif merupakan organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol namun kemudian terwarnai oleh pewarnaan tandingan safranin (sel tampak merah muda/merah) (Hadioetomo, 1985).

Tabel 2.3 Mekanisme penyerapan warna (Pelczar, 2008)

Larutan dan Ukuran Penggunaan	Reaksi dan Tampang Bakteri	
	Gram Positif	Gram Negatif
1. Ungu Kristal (UK)	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2. Larutan Yodium (Y)	Kompleks UK-Y terbentuk di dalam sel, sel tetap berwarna ungu.	Kompleks UK-Y terbentuk di dalam sel; sel tetap berwarna ungu.
3. Alkohol	Dinding sel mengalami dehidrasi, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membran menurun, UK-Y tak dapat keluar dari sel; sel tetap ungu	Lipid terekstraksi dari dinding sel, pori-pori mengembang, kompleks UK-Y keluar dari sel; sel menjadi tak berwarna
4. Safranin	Sel tak terpengaruhi, tetap ungu.	Sel menyerap zat pewarna ini, menjadi merah

Faktor-faktor yang mempengaruhi pewarnaan bakteri yaitu fiksasi, peluntur warna, substrat, intensifikasi pewarnaan dan penggunaan zat warna penutup. Suatu preparat yang sudah meresap suatu zat warna, kemudian dicuci dengan asam encer maka semua zat warna terhapus. sebaliknya terdapat juga preparat yang tahan terhadap asam encer. Bakteri-bakteri seperti ini dinamakan

bakteri tahan asam, dan hal ini merupakan ciri yang khas bagi suatu spesies (Bailey, 2007).

## **2.12 Uji Biokimia**

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat - sifat fisiologinya. Proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel, yakni selama reaksi kimiawi yang dilakukan oleh sel yang menghasilkan energi maupun yang menggunakan energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan selular, seperti pergerakan. Suatu bakteri tidak dapat dideterminasi hanya berdasarkan sifat-sifat morfologinya saja, sehingga perlu diteliti sifat-sifat biokimia dan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya (Cowan, 2004).

Ciri fisiologi ataupun biokimia merupakan kriteria yang amat penting di dalam identifikasi spesimen bakteri yang tidak dikenal karena secara morfologis biakan ataupun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis yang memadai mengenai kandungan organik yang diperiksa maka penentuan spesiesnya tidak mungkin dilakukan. Karakterisasi dan klasifikasi sebagian mikroorganisme seperti bakteri berdasarkan pada reaksi enzimatik maupun biokimia. Mikroorganisme dapat tumbuh pada beberapa tipe media yang memproduksi tipe metabolit yang dapat dideteksi dengan reaksi antara mikroorganisme dengan reagen test yang dapat menghasilkan perubahan warna reagen (Cowan, 2004).

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Uji lain dapat dilakukan dengan cara melihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Uji-uji biokimia ditujukan untuk memastikan bakteri yang dianalisa benar-benar bakteri yang kita harapkan. Uji biokimia bertujuan untuk memperkecil kesalahan, karena beberapa spesies memiliki sifat-sifat yang hampir sama (MacFaddin, 1980).

Beberapa jenis uji biokimia antara lain :

#### 1. Uji Indol

Media yang dipakai adalah pepton 1%. Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah kuman mempunyai enzim triptophanase sehingga kuman tersebut mampu mengoksidasi asam amino triptophan membentuk indol. Adanya indol dapat diketahui dengan penambahan reagen Ehrlich/Kovac's yang berisi paradimetil amino bensaldehid. Interpretasi hasil: negatif (-): Tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon. Positif (+): Terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon (Cowan, 2004).

#### 2. Uji MR (Methyl Red)

Media yang digunakan adalah pepton glukosa phosphat. Uji ini digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran (metilen glikon). Interpretasi hasil: negatif (-): Tidak terjadi perubahan warna

media menjadi merah setelah ditambah methyl red 1%. Positif (+): Terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan methyl red 1%. Artinya bakteri menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR (Cowan, 2004).

### 3. Uji VP (Voges Proskauer)

Media yang dipakai adalah pepton glukosa phosphat. Uji ini digunakan untuk mengetahui pembentukan asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan a naphtol 5% dan KOH 40%. Positif (+): terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan a naphtol 5% dan KOH 40%, artinya hasil akhir fermentasi bakteri adalah asetil metil karbinol (asetoin) (Colome, 2001).

### 4. Uji Citrat

Media yang dipakai adalah Simons citrat. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Pada media Simons citrat berisi indikator BTB (Brom Tymol Blue). Apabila bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Sehingga kuman tidak menggunakan citra sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon.

Positif (+): terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru, artinya kuman menggunakan citrat sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon (Ratna, 2012).

#### 5. Uji Motilitas

Media yang dipakai adalah media yang bersifat semi solid dengan kandungan agar-agar 0.2-0.4%. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui gerak kuman, bisa memakai media MO (Motilitas Ornitin) atau SIM (Sulfida Indol Motility). Pada media SIM selain untuk melihat motilitas bisa juga untuk test indol dan pembentukan H<sub>2</sub>S. Interpretasi hasil : negatif (-) : terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar hanya pada bekas tusukan inokulasi. Positif (+): terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel (Burrows, 2004).

#### 6. Uji Urenase

Media yang dipakai adalah media yang bersifat semi solid dengan kandungan agar-agar 0.2-0.4%. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui gerak kuman, bisa memakai media MO (Motilitas Ornitin) atau SIM (Sulfida Indol Motility). Pada media SIM selain untuk melihat motilitas bisa juga untuk test indol dan pembentukan H<sub>2</sub>S. Interpretasi hasil: negatif (-): terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar hanya pada bekas tusukan inokulasi. Positif (+): terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini

menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel (Burrows, 2004).

#### 7. Uji TSA (Triple Sugar Iron Agar)

Tujuan dari tes ini adalah untuk mengetahui kemampuan kuman untuk memfermentasikan karbohidrat. Pada media TSIA berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Indikatornya adalah phenol red yang menyebabkan perubahan warna dari merah orange menjadi kuning dalam suasana asam. Glukosa berada di dasar media sedangkan laktosa dan sukrosa berada di bagian lereng. Fermentasi pada TSIA juga disertai dengan pembentukan gas CO<sub>2</sub> yang dapat dilihat dari pecahnya dan terangkatnya agar. Media TSIA juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H<sub>2</sub>S yaitu melihat apakah kuman memfermentasi metionin dan sistein (Asam amino yang mempunyai gugus S). Pada media TSIA terdapat asam amino metionin dan sistein, jika kuman memfermentasi kedua asam amino ini maka gugus S akan keluar dan gugus S akan bergabung dengan H<sub>2</sub>O membentuk H<sub>2</sub>S. Selanjutnya H<sub>2</sub>S bergabung dengan Fe<sup>2+</sup> membentuk FeS berwarna hitam dan mengendap (Buchanan, 2003).

#### 8. Uji Gula-gula

Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah kuman memfermentasi masing-masing gula diatas membentuk asam. Media gula-gula ini terpisah dalam 5 tabung yang berbeda dan media yang digunakan adalah masing-masing gula dengan konsentrasi 1% dalam pepton. Masing-masing gula

gula ditambahkan indikator phenol red. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya kuman tidak memfermentasi gula .Positif (+): terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Artinya kuman memfermentasi gula membentuk ditandai dengan tinta pada tutup kapas yang berbeda-beda. Untuk glukosa tidak berwarna, laktosa berwarna ungu, maltosa berwarna merah, manitol berwarna hijau, dan sukrosa berwarna biru. Didalam media gula- asam, positif + gas (+g): Terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Artinya kuman memfermentasi gula membentuk asam dan gas. Gas yang diperhitungan minimal 10% dari tinggi tabung durham (Adam, 2001).

#### 9. Uji Katalase

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Uji Katalase dilakukan dengan cara meneteskan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida dengan usa. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan usa, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1990).

#### 10. Uji Koagulasi

Uji koagulase digunakan untuk melihat kemampuan bakteri yang menghasilkan enzim yang dapat menggumpalkan fibrin. Uji koagulase dilakukan dengan cara, dari media agar darah diinokulasi 1-3 koloni

bakteri ke dalam media HIB. Kemudian diencerkan 1 mL plasma dengan 4 mL aquadest, lalu dipipet 0.5 mL dan masukkan ke dalam biakan HIB dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati pembentukan gumpalan pada medium, adanya gumpalan seperti awan menunjukkan hasil positif (Hadioetomo, 1990).

#### 11. Uji Novobiocin

Tes novobiocin dilakukan dengan cara 1 ose suspensi bakteri ditanam dalam media Mueller Hilton Agar kemudian diletakkan disk Novobiocin diatas media Mueller Hilton Agar, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening disekitar disk menunjukkan hasil positif (Cowan, 2004).

### **2.13 Identifikasi Spesies Bakteri Menggunakan *Microbact 12***

Salah satu cara pengidentifikasian mikroorganisme yaitu dengan menganalisa kemampuan metabolismenya dengan menggunakan suatu metode uji biokimia. Uji biokimia meliputi kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan berbagai jenis sumber karbon dan senyawa kimia lainnya. Uji biokimia yang beragam dan semakin banyak jenis senyawa pengujian maka akan menghasilkan pengidentifikasian spesifik hingga tingkat spesies (Buckle, 1987).

Prinsip kerja dari *Microbact* yaitu dengan mereaksikan suspensi isolat ke dalam sumur-sumur yang telah berisi sumber karbon dan senyawa-senyawa biokimia lain yang berjumlah 12 jenis. Kit *Microbact 12E* dan *Microbact 12B* adalah sistem identifikasi komersial untuk bakteri secara umum dan bakteri Gram negatif dan Gram positif golongan enterobacter. *Microbact 12E* untuk bakteri

Gram negatif dan *Microbact* 12B untuk bakteri Gram positif. Tes ini terdiri dari 12 substrat biokimia yang berbeda, tes ditempatkan di sumur *Microbact*. Pengujian dengan menggunakan *Microbact* akan mempermudah metode pengidentifikasian suatu mikroorganisme. *Microbact* mempunyai sistem yang dirancang untuk mengidentifikasi bakteri dengan komposisi substrat dan reaksi yang telah distandarisasi. Pengujian dengan *Microbact* memiliki beberapa ketentuan sebelum dilakukan pengujian, yaitu sampel isolat yang digunakan merupakan isolat yang telah dimurnikan dan dilarutkan ke dalam garam fisiologis (Oxoid, 2004).

Prinsip kerja dari *Microbact* yaitu dengan mereaksikan suspensi isolat ke dalam sumur-sumur yang telah berisi sumber karbon dan senyawa-senyawa biokimia lain yang berjumlah 12 jenis. Suspensi bakteri yang dilarutkan ke dalam garam fisiologis ditambahkan ke masing-masing 12 sumur uji biokimia yang tersedia. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C reagen yang sesuai ditambahkan dan perubahan warna tes pada tiap sumur yang berbeda dicatat. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*). Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktalnya (Oxoid, 2004).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi dan eksperimen. Penelitian eksplorasi dengan cara mengisolasi bakteri endofit pada rumput kebar (*Biophytum sp.*) yang diperoleh dari dua tempat yang berbeda yaitu dari Papua dan Jawa Timur (Malang). Eksperimen dengan menguji isolate bakteri endofit Papua dan Jawa Timur (Malang) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui daya antibakterinya.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini di mulai pada bulan Januari – Agustus 2015, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.3.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laminar air flow cabinet, autoklaf, cawan petri, jarum ose, botol flakon, bunsen, kopor gas, oven, pinset, incubator, aluminium veil, gelas ukur, erlenmeyer, mikropipet, blue tip, timbangan analitik, mikroskop, cover glasss, gelas obyek, , jangka sorong, shaker inkubator, sentrifugasi, tabung reaksi, hot plate, stirrer dan beaker glass.

##### **3.3.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kebar (*B. petersiaum* Klotzsch), biakan murni bakteri *Eschericia coli* *Staphylococcus aureus*, media NA (Nutrient Agar), media NB (Nutrient Broth), media MHB

(Muller-Hinton Broth), media MHA (Muller-Hinton Agar), larutan NaOCl (*Sodium Hipoklorit*) 5,3%, aquades steril, spiritus, alcohol 70%, kertas saring, Whatman 0,22  $\mu\text{m}$ , kertas cakram, pewarnaan gram (larutan gentian violet, larutan iodium, larutan safranin, alkohol 96%, mikrobact) plastic wrape, tissue dan kapas.

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat (hanya untuk alat yang bisa dibungkus) dengan kertas, aluminium foil, kemudian dimasukkan ke dalam plastic dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

#### **3.4.2 Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Kebar**

Bakteri endofit diisolasi dari tanaman kebar. Tanaman kebar ditimbang sebanyak 10 gr dan dicuci dengan air mengalir selama 20 menit. Sterilisasi permukaan tanaman dilakukan dengan cara merendam tanaman dalam larutan alkohol 70% selama 2 menit, larutan NaOCl 5% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 30 detik kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali. Tanaman yang steril di haluskan dengan mortal secara aseptis, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam botol flakon yang berisi akuades steril dengan perbandingan 1:10 dan dibuat pengenceran sampai  $10^{-3}$ . Sebanyak 1 ml disebarkan pada media nutrient agar steril yang dan diinkubasi selama 24 jam dalam incubator dengan suhu 37°C (Yurnaliza, 2014).

### 3.4.3 Pemurnian Bakteri Endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian bakteri endofit yaitu medium NA (Nutrien Agar). Bakteri endofit yang tumbuh pada medium NA, dimurnikan masing-masing pada medium lempeng agar dan media NA miring. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Setelah masa inkubasi selesai, koloni yang tampak pada masing-masing cawan petri diamati. Koloni yang memiliki bentuk dan warna yang sama dianggap sebagai isolat yang sama. Setiap koloni kemudian dipindahkan ke medium nutrient agar dengan cara menggoreskan koloni tunggal mikroba dengan metode *streak kuadran* dan diinkubasi selama 24 jam. Bila masih ditemukan beberapa bentuk koloni maka dilakukan pemisahan kembali hingga diperoleh isolat murni. Isolat bakteri endofit yang didapat dibuat pada media agar miring sebanyak dua tabung per-isolate, masing-masing digunakan sebagai *working culture* (kultur kerja) dan *stock culture* (kultur stok) (Nursulistyarini dan Ainy, 2013).

### 3.4.4 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

Bakteri murni yang telah diisolasi kemudian dikarakterisasi dan diidentifikasi yang dilakukan secara biokimia yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (2005), karakterisasi yang dilakukan meliputi :

#### 3.4.4.1 Pengamatan makroskopik

Karakteristik koloni bakteri hasil isolasi yaitu berdasarkan (Bergey's, 2005):

- a. Bentuk koloni (dilihat dari atas): berupa titik-titik, bulat, berbenang, tak teratur, serupa akar, serupa kumparan.

- b. Permukaan koloni (dilihat dari samping): rata, timbul-datar, melengkung, membukit, serupa kawah.
- c. Tepi koloni (dilihat dari atas): utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang, keriting.
- d. Warna koloni: keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

#### **3.4.4.2 Pengamatan mikroskopik**

Pengamatan mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri dan untuk melihat kemurnian dari isolat. Pengamatan mikroskopis meliputi pewarnaan gram, uji katalase, dan uji endospora. Untuk penentuan jenis bakteri dilanjutkan dengan serangkaian uji biokimia terhadap isolat yang diperoleh dengan berpedoman pada buku *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*.

##### **3.4.4.2.1 Pewarnaan Gram**

Bakteri endofit diambil sedikit dengan jarum ose secara aseptis dan disuspensikan dengan aquades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi di atas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan larutan kristal ungu, didiamkan selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan iodin dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan alkohol 96% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan minyak imersi, preparat diamati dengan mikroskop, uji gram

positif jika berwarna ungu dan negatif jika berwarna merah (Hadioetomo, 1985). Berdasarkan warna Gram, dilakukan uji biokimia untuk identifikasi lanjut.

Uji dengan Microbact dilakukan terhadap bakteri berbentuk gram negatif yang sebelumnya telah dilakukan tes oksidase memakai oksidase strip (hasil positif memberikan warna biru-ungu). Bakteri gram negatif berbentuk batang dan oksidase positif, diuji dengan Microbact 12B, sedangkan yang hasilnya menunjukkan oksidase negative dengan Microbact 12E. Satu sengkeli isolate bakteri endofit dimasukkan kedalam 5-10 ml NaCl 0,85% kekeruhan 0,5 McFarland, kemudian suspensi bakteri dimasukkan ke dalam sumuran Microbact dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 16-24 jam. Kemudian hasilnya didapat dengan cara membandingkan dengan warna yang ada dalam tabel dan memasukkan datanya ke komputer yang telah di program dalam file *Mikrobact*.

### **3.5 Uji Bakteri Endofit Penghasil Metabolit Antibakteri**

#### **3.5.1 Persiapan Inokulum Mikroba Endofit Rumput Kebar**

Pembuatan inokulum bakteri endofit dibuat dengan menggunakan media Mueller-Hinton Broth (MHB). Masing-masing koloni bakteri endofit yang telah diinkubasi pada medium NA selama 24 jam pada suhu 37°C, diambil 1 ose dan dipindahkan ke dalam 10 mL medium MHB. Media diinkubasi selama 24 jam, suhu 37°C kemudian digunakan sebagai starter inokulum (Elita *et al*, 2013).

#### **3.5.2 Produktifitas Metabolit Antibakteri**

Produksi metabolit antibakteri oleh bakteri endofit dilakukan dengan cara menanam suspensi bakteri endofit yang sudah dibuat sebelumnya kemudian dipindahkan sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml medium MHB pada tabung reaksi, diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan shaker inkubator 130 rpm selama 16

dan 18 jam (fase akhir log tiap spesies). Setelah selesai, masing-masing medium pertumbuhan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit (Utami, 2011). Supernatan yang diperoleh dipergunakan dalam pengujian aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **3.5.3 Uji Aktifitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***

#### **3.5.3.1 Pembuatan Bakteri Uji**

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat dengan cara bakteri diambil 1 ose lalu jarum ose yang mengandung bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* digoreskan secara aseptis pada media NA pada cawan yaitu dengan mendekatkan cawan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian cawan petri ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator, kemudian diambil 1 koloni dan ditanam dalam NaCl 0.9% sampai mencapai kekeruhan 0,5 McFarland (Ngajow *et al*, 2013).

#### **3.5.3.2 Uji Antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***

Medium yang digunakan untuk uji aktifitas antimikroba yaitu medium MHA (Mueller Hinton Agar). Uji aktifitas antibakteri mikroba endofit terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bayer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan cara mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 7 mm. Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam dalam supernatan kultur bakteri endofit selama 60 menit (Simarmata, 2007). Medium MHA dituang dalam cawan petri kemudian ditunggu hingga padat, kemudian mikroba uji dioleskan menggunakan cotton

swab diatas medium yang sudah padat. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktifitas antibakteri (medium plat MHA). Kemudian diinkubasi sekama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri dengan adanya zona hambat zona jernih (Prescott, 2002).

Sebagai kontrol positif digunakan amoxcylin dan kontrol negatif digunakan cakram kosong steril kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengukuran terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

### **3.6 Pengukuran Zona Hambat**

Zona hambat yang terbentuk diamati disekitar isolat yang diuji, karena luasan zona bentuknya maka luas zona hambat dihtung dengan rumus sebagai berikut (Simarmata, 2007):

$$Lz = Lav - Ld$$

Dimana:

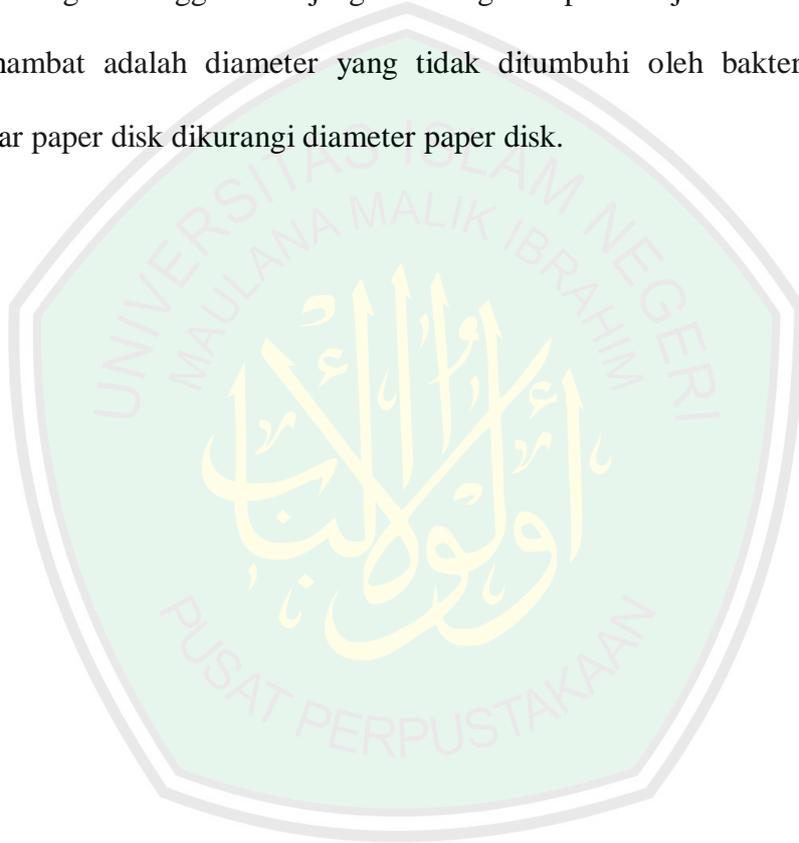
Lz = Luas zona hambat (mm)

Lav = Luas zona hambat dengan kertas saring (mm)

Ld = Luas diameter kertas saring (mm)

### 3.7 Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan cara mengumpulkan hasil dari semua pengamatan isolat dari proses isolasi dan pengujian antibakteri serta mengukur diameter zona hambat yang terbentuk, pengumpulan data dilaksanakan sebagai berikut: mengamati isolate bakteri endofit, mengidentifikasi dan mengukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong dari proses uji antibakteri. Diameter zona hambat adalah diameter yang tidak ditumbuhi oleh bakteri atau jamur disekitar paper disk dikurangi diameter paper disk.



## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Isolasi Bakteri Endofit Dari Rumput Kebar (*Biophytum sp.*)**

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat mikroba endofit berasal dari distrik Kebar Papua dan Malang Jawa Timur. Rumput kebar ditimbang sebanyak 10 gr dan dicuci dengan air mengalir selama 20 menit. Sterilisasi permukaan tanaman dilakukan dengan cara merendam tanaman dalam larutan alkohol 70% selama 2 menit, larutan NaOCl 5% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 30 detik kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali.

Natrium hipoklorit dan etanol berfungsi sebagai desinfektan yang berguna untuk mensterilkan permukaan dari rumput kebar secara kimia. Tanaman yang steril di haluskan dengan mortal secara aseptis, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam botol flakon yang berisi akuades steril dengan perbandingan 1:10 dan dibuat pengenceran sampai  $10^{-3}$ . Kontrol didapat dari air bilasan terakhir dan disebar di dalam cawan petri berisi media nutrient agar. Cawan petri yang telah berisi air rumput kebar kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Mikroba endofit yang tumbuh kemudian dilakukan pemurnian selama 3 kali untuk mendapatkan isolat tunggal.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti berhasil menemukan beberapa jenis bakteri endofit dari rumput kebar yang ditumbuhkan pada medium nutrient agar (NA), bakteri endofit dari rumput kebar Papua dan Jawa Timur ini ditumbuhkan dan dimurnikan di dalam media NA miring.

Bakteri endofit dari rumput kebar (*Biophytum sp*) setelah dilakukan tahap pemurnian berdasarkan bentuk dan warna koloni secara makroskopis dihasilkan tiga isolat yang berbeda.

#### 4.1 Hasil isolasi bakteri endofit dari rumput kebar

Daerah Sampel	Jumlah Bakteri	Kode Isolat
Papua	3	KP1
		KP2
		KP3
Jawa Timur	2	KJ1
		KJ2

Keterangan Tabel 4.1 KP = rumput kebar dari Papua, KJ = rumput kebar dari Jawa Timur

Tiga isolate bakteri endofit dari Papua dan dua isolate bakteri endofit dari Jawa Timur (Malang) hasil isolasi dari rumput kebar selanjutnya diidentifikasi berdasarkan cirri-ciri makroskopis dan mikroskopis sampai dengan tingkat spesies berdasarkan buku kunci identifikasi Bergey's (2005).

#### 4.2 Deskripsi bentuk dan warna koloni isolate bakteri endofit

Kode Isolat Bakteri Endofit	Bentuk Koloni	Warna Koloni
KP1	Bulat Bergerigi	Putih Tulang
KP2	Bulat	Putih
KP3	Bulat	Putih Tulang
KJ1	Bulat	Putih Tulang
KJ2	Bulat	Putih Tulang

Keterangan Tabel 4.2 KP= rumput kebar dari Papua dan KJ= rumput kebar dari Jawa Timur.

#### 4.2 Identifikasi isolate bakteri endofit dari rumput kebar (*Biophytum sp.*)

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa bentuk isolate bakteri endofit adalah basil dan kokus. Table 4.3 menunjukkan bahwa isolate bakteri endofit terdiri dari bakteri Gram positif sebanyak 2 isolat dan bakteri Gram negatif sebanyak 3 isolat dari seluruh isolate bakteri endofit. Hal ini dapat disebabkan oleh cara memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme, bakteri Gram positif lebih kompleks dalam memproteksi pertahanan dari gangguan fisik maupun bakteri pathogen dalam jaringan inang, jika dilihat dari struktur dan komposisi dinding sel bakteri Gram positif relative sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif yang lebih kompleks. Dinding sel bakteri Gram positif mempunyai lapisan tunggal (mono), sedangkan bakteri Gram negatif tersusun dari 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam (pelczar, 1986).

Table 4.3 hasil pengamatan bakteri berdasarkan pewarnaan Gram

<b>Kode Isolat Bakteri Endofit</b>	<b>Pewarnaan Gram</b>	<b>Bentuk</b>
KP1	Positif	Basil
KP2	Positif	Coccus
KP3	Negatif	Basil
KJ1	Negatif	Basil
KJ2	Negatif	Basil

Keterangan Tabel 4.3 KP= rumput kebar dari Papua dan KJ= rumput kebar dari Jawa Timur.

Hasil pewarnaan Gram dapat diketahui adanya Gram positif dan Gram negatif, kemudian dilakukan uji lanjut untuk mengetahui jenis spesiesnya. Dari 5 sampel koloni bakteri endofit, ditemukan 2 bakteri Gram positif dan 3 bakteri

Gram negatif yang kemudian diuji dengan *Microbact*. 5 sampel koloni ditemukan 3 sampel bakteri yang berbeda sebagai berikut:

Tabel 4.4 Hasil identifikasi bakteri endofit

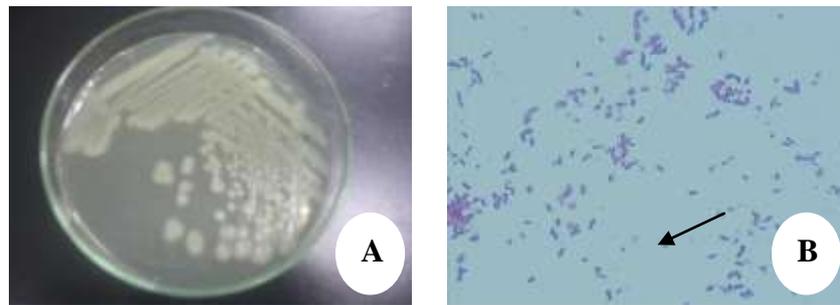
Kode Isolat Bakteri Endofit	Spesies
KP1	<i>Bacillus megaterium</i>
KP2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
KP3	<i>Enterobacter gergoviae</i>
KJ1	<i>Enterobacter gergoviae</i>
KJ2	<i>Enterobacter gergoviae</i>

Keterangan : KP : Kebar Papua dan KJ : Kebar Jawa Timur,

Lima isolate bakteri endofit yang selanjutnya diidentifikasi berdasarkan makroskopis dan mikroskopis koloni didapatkan lima jenis bakteri endofit Bergey's (2005) sebagai berikut:

#### 4.2.1 Isolat KP1 (*Bacillus megaterium*)

Bakteri endofit diisolasi dari seluruh bagian rumput kebar dari Papua yang dihaluskan dan diambil ekstraknya kemudian diencerkan sampai  $10^{-3}$  dan disebar sebanyak 0,1 ml pada media plat NA, kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, diperoleh hasil Gram positif kemudian diuji dengan *Microbact* 12B. Isolate Isolat KP1 selnya berbentuk basil (batang), mempunyai spora, memfermentasi gula-gula (glukosa, manitol, sukrosa, arabinosa dan xylosa), aktif tumbuh pada suhu 20°C sampai 45°C, tidak resisten terhadap Novobiocin, positif membentuk  $\beta$ -helolisa, mengkatalase dan mangoksidase hydrogen untuk menghasilkan oksigen. Bakteri dengan cirri-ciri tersebut tergolong dalam genus *Bacillus* dan spesies *Bacillus megaterium*.



Gambar 4.1 Isolat KP1  
A. Koloni, B. Sel bakteri (1000 X)

Menurut Brook (2001), klasifikasi dari *Bacillus megaterium* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryota  
 Divisio : Protophyta  
 Class : Schizomycetes  
 Ordo : Eubacteriales  
 Family : Bacillaceae  
 Genus : Bacillus  
 Spesies : *Bacillus megaterium*

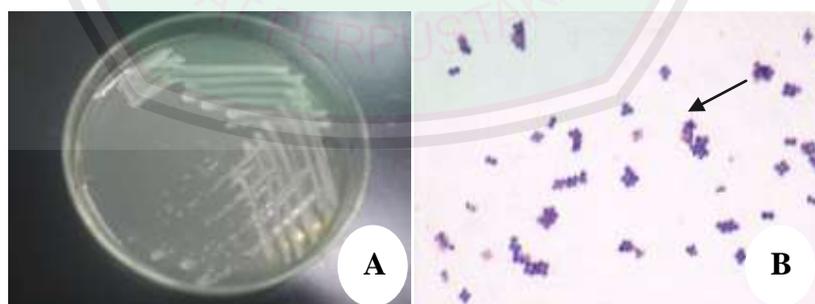
*Bacillus megaterium* adalah bakteri gram positif, berbentuk batang pembentuk endospore. Bakteri ini termasuk bakteri aerobik, tetapi bakteri ini juga mampu tumbuh di bawah kondisi anaerobik bila diperlukan. *Bacillus megaterium* adalah family dari bakteri gram positif, anggota lain dari family ini terdiri dari proporsi besar pada flora mikro saprophytes yang hidup bebas di tanah, air, lingkungan laut dan banyak habitat alam lainnya (Reddy et al, 2010).

Bakteri *Bacillus megaterium* bentuk selnya batang, gram positif, suhu pertumbuhan 25°C - 45°C, membentuk endhospora, reaksi gula-gula positif pada

glukosa, xylosa, mannitol, sukrosa, maltose dan arabinoasa, negatif pada laktosa, media tumbuh positif pada Nutrient Broth (NB) dan negatif pada media MCA, CITRAT, INDOL, MR, VP, motilitas positif, tidak menghidrolisis pati, sensitive terhadap penisilin, reaksi dengan  $\beta$  hemolisa positif, katalase positif, oksidase positif, tidak mereduksi nitrat dan methylen blue (Bergey's, 2005).

#### 4.2.2 Isolate KP2 (*Staphylococcus saprophyticus*)

Bakteri endofit diisolasi dari seluruh bagian rumput kebar dari Papua yang dihaluskan dan diambil ekstraknya kemudian diencerkan sampai  $10^{-3}$  dan disebar sebanyak 0,1 ml pada media plat NA, kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, diperoleh hasil Gram positif kemudian diuji dengan *Microbact* 12B. Isolate KP2 selnya berbentuk coccus (bulat), tidak mempunyai spora, mampu memfermentasikan gula-gula seperti glukosa, manitol, sukrosa, lactose, arabinosa, resisten terhadap novobiocin, mengkatalase hydrogen tanpa oksidase dan fositif membentuk  $\alpha$ -hemolisa. Bakteri dengan cirri-ciri tersebut tergolong dalam genus *Staphylococcus* dan spesies *Staphylococcus saprophyticus*.



Gambar 4.2. Isolate KP2  
A. Koloni, B. Sel bakteri (1000 X)

Bakteri *Staphylococcus saprophyticus* dapat berada di saluran kemih dan kandung kemih perempuan yang aktif secara seksual. Bakteri ini memiliki

kemampuan untuk selektif terhadap urothelium manusia. Hal ini menyebabkan penggumpalan secara langsung. Perekatan untuk *S.saprophyticus* struktur laktosa. Spesies staphylococcal ini menghasilkan enzim ekstraseluler kompleks yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif dan gram-negatif seperti *Neisseria gonorrhoeae* dan *S.aureus* (Jhora dan Paul, 2011).

Menurut Brook (2005), klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus saprophyticus* adalah sebagai berikut :

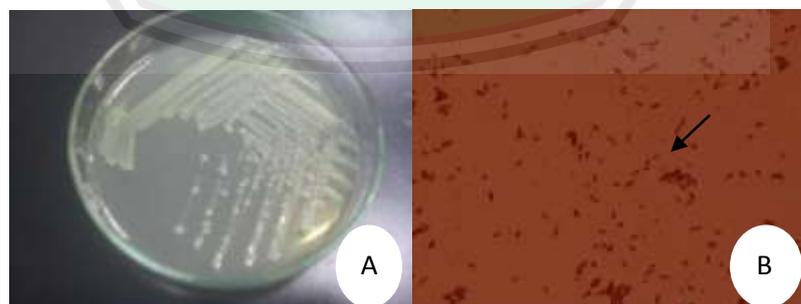
Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus saprophyticus</i>

*Staphylococcus saprophyticus* merupakan bakteri gram positif, bentuk bulat, berdiameter 1  $\mu\text{m}$ , biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Bersifat aerob, nonmotil, dan tidak membentuk spora, tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C. *S. saprophyticus* mampu memfermentasi karbohidrat, seperti fermentasi mannitol dalam media *Mannitol Salt Agar* serta menghasilkan asam laktat. Bakteri ini menyebabkan infeksi traktus urinarius pada wanita muda. *S. saprophyticus* khas tidak berpigmen, resisten terhadap novobiosin dan nonhemolitik (Brooks *et al*, 2005).

Munculnya *Staphylococcus saprophyticus* tidak hanya sebagai bakteri pathogen pada manusia, tetapi juga sebagai penentu resistensi antibiotik, memerlukan pengembangan metode untuk mengidentifikasi secara cepat dan dapat diandalkan dalam mengidentifikasi sampel medis yang penting (Ferreira et al, 2012).

#### 4.2.3 Isolate KP3, KJ1 dan KJ2 (*Enterobacter gergoviae*)

Bakteri endofit diisolasi dari seluruh bagian rumput kebar dari Papua yang dihaluskan dan diambil ekstraknya kemudian diencerkan sampai  $10^{-3}$  dan disebar sebanyak 0,1 ml pada media plat NA, kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, diperoleh hasil Gram negatif dengan bentuk selnya basil. Semudian diuji dengan *microbact* 12E. Hasil uji dengan *microbact* 12E diperoleh hasil bakteri tidak berspora, tidak memfermentasikan gula-gula, mampu mereduksi nitrat, positif lysine, positif ornithin, positif xylosa, positif ONPG, positif urease, positif V-P dan positif uji sitrat. Selanjutnya diinput pengan program file *microbact* bakteri dengan cirri-ciri tersebut tergolong dalam genus *enterobacter* dan spesies *Enterobacter gergoviae*.



Gambar 4.3 Isolat KP3  
A. Koloni, B. Sel bakteri (1000 X)

Menurut Brooks (2005), klasifikasi dari *Enterobacter gergoviae* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryota  
Divisio : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : *Enterobacter*  
Spesies : *Enterobacter gergoviae*

*Enterobacter gergoviae* adalah bakteri Gram negatif, oksidase negatif, positif nitrat, fermentasi, berbentuk batang yang peritrichous ketika motil. Dengan demikian, sesuai dengan definisi Enterobacteriaceae (Brenner *et al.*, 1980).

Berdasarkan penelitian dari Erlindawati (2015) menyatakan bahwa bakteri *Enterobacter gergoviae* yang diisolasi dari tanah gambut Kalimantan Barat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji Gram positif dan negatif, dengan diameter zona hambat *Bacillus cereus* sebesar 9,401 mm dan *Escherichia coli* sebesar 10,301 mm.

*Enterobacter gergoviae* ditemukan dalam berbagai sumber di lingkungan seperti air, kosmetik, dan sumber klinis di Perancis, Afrika, dan Amerika Serikat. Strain yang ditemukan dalam sampel urin selama wabah infeksi ternyata resisten terhadap beberapa antibiotik. Strain *Enterobacter gergoviae* rentan terhadap antibiotik, tetapi strain diisolasi dari saluran kemih yang terinfeksi ditemukan menjadi resisten terhadap ampicilin dan sefalotin. *Enterobacter gergoviae*

memproses glukonat dehidrogenase dan lisin dekarboksilase, menghasilkan asam dari D-arabitol, memanfaatkan Darabitol dan histamin, dan sebagian besar strain memanfaatkan gentisate, 3-hydroxybenzoate, dan trikarbalilat. *Enterobacter aerogenes* dapat dipisahkan dari *Enterobacter gergoviae* oleh hidrolisis urea (Grimont dan Patrick, 2006).

*Enterobacter gergoviae* peka terhadap piperacillin, piperasilin-Tazobactam, amikasin, gentamisin, aztreonam, efuroxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin dan ertapenem. Namun, bakteri itu tahan terhadap cefazolin dan moxicillin-asam klavulanat. Isolate *Enterobacter gergoviae* tahan kuat urease-positif, namun, itu negatif untuk adonitol, inositol dan pemanfaatan sorbitol. *Enterobacter gergoviae* termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan merupakan endofit oportunistik karena bisa hidup di tanah dan menjajah akar jagung. *Enterobacter gergoviae* telah diisolasi dari kosmetik dan air itu juga terdapat pada saluran kemih, saluran pernapasan, abses perut dan darah (Chen *et al*, 2009).

Isolate *Enterobacter gergoviae* telah diidentifikasi dalam beberapa kasus endophthalmitis traumatic, namun *Enterobacter gergoviae* jarang diidentifikasi dalam trauma ocular. Sekitar 10%-30% kasus endophthalmitis pasca trauma yang disebabkan endophthalmitis traumatic polimicrobial, dan kejadian ini jauh lebih tinggi dari pada setelah operasi katarak (nobe *et al*, 1987).

*Enterobacter gergoviae* secara alami sensitif terhadap intermediately tetrasiklin, aminoglikosida, banyak  $\beta$ -laktam (piperasilin, asam amoksisilin-klavulanat, beberapa sefalosporin, carbapenems, aztreonam) dan kuinolon (Stock

& Wiedemann, 2002). Telah dilaporkan bahwa isolate *Enterobacter gergoviae* memproduksi extended spectrum  $\beta$ -laktamase. Mereka sangat tahan terhadap ampisilin, piperasilin, cefazolin dan cefuroxime, dan cukup rentan terhadap ceftazidime dan ceftriaxone (Cheng & Chen, 1994). Dalam kasus saat ini, lingkungan *Enterobacter gergoviae* tidak menghasilkan perpanjang-spektrum  $\beta$ -laktamase.

#### 4.3 Uji aktivitas metabolit bakteri endofit dari rumput kebar (*Biophytum sp.*) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh diameter zona hambat/bening (dalam mm) melalui pengukuran dengan jangka sorong. Pengamatan dilakukan pada bakteri uji *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, adapun rata-rata diameter zona hambat dari uji aktivitas antifungi metabolit bakteri endofit dari rumput kebar terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.5 Diameter zona hambat/bening pada uji aktivitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Kode Isolat	Spesies	Zona hambat (dalam mm)	
		<i>Eschericia coli</i> Panjang	<i>Staphylococcus aureus</i> Panjang
KP1	<i>Bacillus megaterium</i>	5.08	2.37
KP2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4.086	2.1
KP3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	2.92	3.34
KJ1	<i>Enterobacter gergoviae</i>	3.45	3.49
	Kontrol Positif	6.19	16.12
	Kontrol Negatif	0	0

Pan, *et al* (2009), menjelaskan bahwa kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter zona hambat yaitu diameter 0-3 mm respon hambatan pertumbuhan lemah, diameter 3-6 mm respon hambatan pertumbuhan sedang dan diameter  $\geq 6$  mm respon hambatan pertumbuhan kuat. Berdasarkan Tabel 4.5, 4 isolat yang diuji aktifitas metabolit skunder bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba endofit dari rumput kebar baik dari Papua maupun Jawa Timur mampu menghasilkan metabolit skunder sebagai antibakteri. Radji (2005) bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit skunder sesuai dengan tanaman inangnya.

Uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Eschericia coli* berdasarkan table 4.5 didapatkan zona hambat terbesar yaitu ada pada isolate KP1 dengan spesies *Bacillus megaterium* menghasilkan zona hambat sebesar 5.08 mm. Zona hambat terkecil adalah 2.92 mm pada isolate KP3 dengan spesies *Enterobacter gergoviae*. Isolate KP2 dengan spesies *Staphylococcus saprophyticus* menghasilkan zona hambat sebesar 4.08 mm, isolate KJ1 dengan isolate *Enterobacter gergoviae* menghasilkan zona hambat sebesar 3.45 mm.

Uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarakan table 4.5 didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada isolate KJ1 spesies *Enterobacter gergoviae* dengan zona hambat sebesar 3.49 mm. Hasil zona hambat terkecil 2.1 mm pada isolate KP2 dengan spesies *Staphylococcus saprophyticus*. Isolate KP1 dengan spesies *Bacillus megaterium* menghasilkan

zona hambat sebesar 2.37 mm dan isolate KP3 dengan spesies bakteri *Enterobacter gergoviae* menghasilkan zona hambat sebesar 3.34 mm.

Rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch), merupakan tumbuhan asli dari Kecamatan Kebar, Kabupaten Manokwari, Provinsi Papua Barat, yang umumnya tumbuh secara alami dan menyebar di hampir seluruh wilayah Kecamatan Kebar (Santoso *et al.*, 2007). Rumput kebar diketahui berpotensi sebagai antibakteri, hipoglikemik, imunomodulator, kemoprotektif, hipokolesterolemik, apoptosis, antiinflamasi, antitumor dan biosintesis prostaglandin (Natarajan *et al.*, 2010).

Penelitian dari Lisangan (2015) yang meneliti tentang aktivitas antiaflatoksin b1 ekstrak daun rumput kebar (*Biophytum petersianum*) terhadap *Aspergillus flavus* menunjukkan hasil bahwa ekstrak HEM (Heksana-Etil asetat-Metanol) daun rumput kebar dapat menghambat pertumbuhan dan produksi AFB<sub>1</sub> dari *A. flavus* BCC F0219 dan BIO 2236 baik pada media kaya karbohidrat, lemak dan protein. oleh karena itu, ekstrak HEM daun rumput kebar berpotensi untuk digunakan sebagai salah satu bahan alami untuk mengendalikan pertumbuhan kapang *A. flavus* dan menghambat produksi aflatoksin (Lisangan *et al.*, 2015).

Factor biotik dan abiotic mempengaruhi produksi metabolisme skunder yang dihasilkan tiap isolat, dimana rumput kebar yang digunakan untuk isolasi didapat dari dua tempat yang berbeda yakni Papua dan Jawa Timur dengan keadaan komposisi tanah, kondisi cuaca dan iklim yang berbeda. Rumput kebar mudah hidup dalam kondisi cuaca yang dingin seperti didaerah Malang Jawa Timur, sehingga rumput kebar dari daerah Papua diduga memiliki senyawa

metabolit skunder yang lebih berkualitas daripada rumput kebar dari papua karena adanya cekaman yang mengakibatkan perbedaan sekresi senyawa metabolit oleh rumput kebar. Semakin besar cekaman tanaman, maka semakin berkualitas metabolit skunder yang disekresikan. Selama berada dalam tanaman bakteri endofit mendapatkan asupan makanan dari tanaman. Bakteri endofit memanipulasi tanaman dalam mengalihkan aliran nutrisi (misal hasil fotosintesis seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa) menuju tempat kolonisasi bakteri (Kim, 2011).

Menurut Strobel (2002), terbentuknya zona hambat juga dipengaruhi oleh factor lingkungan dan bakteri uji yang berlebihan sehingga pengaruh metabolit yang dihasilkan oleh bakteri endofit tidak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri uji. Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Menurut Schulz *et al* (2006) menyebutkan selain terbentuknya zona hambat, kompetisi dianggap sebagai faktor yang sangat penting, kompetisi zona hambat terjadi ketika kedua organism berada pada tempat yang sama dan menggunakan nutrisi yang sama.

Menurut Strobel dan Daisy (2003) terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri endofit tersebut kemungkinan mengandung antibiotik. Antibiotik

digolongkan sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit dalam jalur metabolisme dan oleh enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel tumbuhan. Antibiotik merupakan suatu substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lainnya.

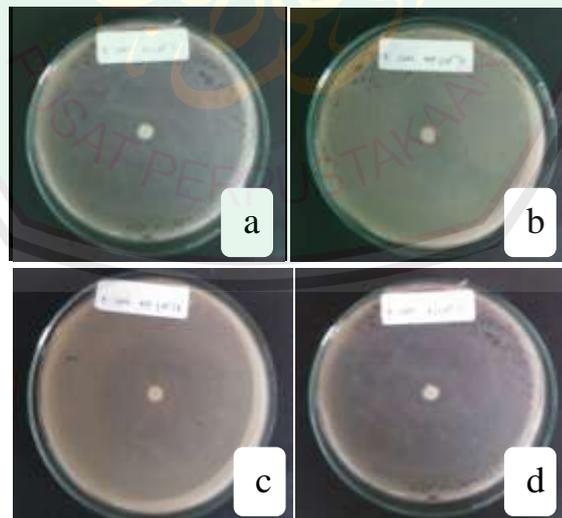
Mekanisme kerja senyawa yang bersifat antibakteri ada beberapa cara, yaitu penghambatan sintesis dinding sel yang menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga terjadi lisis, perubahan permeabilitas membran sel atau transpor aktif melalui membran sel yang dapat menyebabkan kebocoran dan kematian sel, penghambatan sintesis protein, dan penghambatan sintesis asam nukleat (Ramachandran dkk, 2004). Kemampuan tanin dalam menghambat pertumbuhan bakteri menurut Robinson (1991) yaitu dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin juga mempunyai efek yang sama dengan senyawa *fenolik*. Efek antibiotic tanin antara lain melalui: reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetic.

Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun, memiliki molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat mengganggu permeabilitas membrane sel bakteri, mengubah struktur dan fungsi membrane, dan akhirnya menyebabkan membrane sel akan rusak dan akhirnya lisis (Arabski *et al*, 2012). Menurut Robinson (1998), flavonoid merupakan senyawa fenol yang tersebar dalam tumbuhan karena flavonoid mempunyai banyak fungsi, pada tumbuhan yang

mengandung flavonoid berfungsi sebagai pengatur tumbuh, fotosintesis, kerja antimikroba dan virus.

Harni dan Ibrahim (2011) menyebutkan mekanisme bakteri endofit dalam menginduksi ketahanan adalah dengan mengkolonisasi jaringan dalam tanaman sehingga menstimulasi tanaman untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit yang berperan dalam ketahanan tanaman, di antaranya enzim peroksidase, peningkatan aktifitas kitinase,  $\beta$ -1,3 glucanase, dan patogenesis related protein, fitoaleksin. Enzim peroksidase dibutuhkan oleh tanaman untuk menghasilkan senyawa-senyawa pertahanan tanaman seperti lignin, kitin, dan beberapa senyawa penyusun dinding sel.

Penelitian ini menunjukkan bahwa rumput kebar (*Biophytum sp.*) memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu :

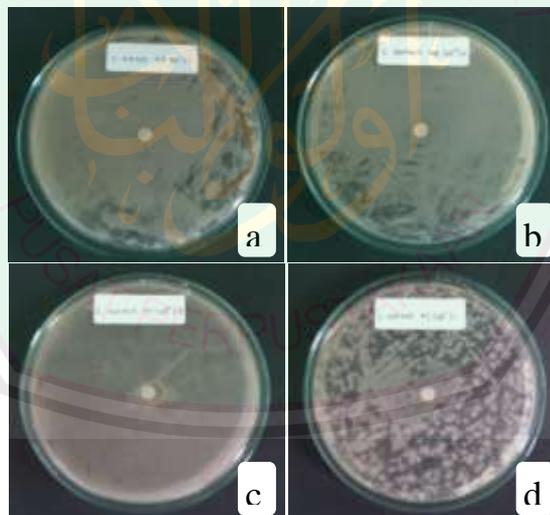


Gambar 4.5 Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri *Escherichia coli*

a. Isolat KP1, b. Isolat KP2, c. Isolat KP3 dan d. Isolat KJ1

Antibiotik yang bisa digunakan dengan baik, adalah antibiotic yang memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Sifat toksisitas selektif artinya zat antiakteri tersebut harus toksik untuk bakteri tetapi tidak toksik untuk inang (host). Bila ada zat antibakteri yang sangat toksik untuk bakteri tetapi membahayakan untuk inang bukan kriteria antibakteri yang baik, bahkan dianggap beracun. Karena dasar pengobatan terhadap suatu penyakit adalah usaha untuk menyembuhkan penyakit tersebut tanpa mengakibatkan adanya bahaya ataupun adanya efek samping yang merugikan pengguna suatu obat-obatan (Budyanto dan Joni, 2012).

Adapun zona hambat yang dihasilkan oleh metabolit skunder bakteri endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri  
*Staphylococcus aureus*

a. Isolat KP1, b. Isolat KP2, c. Isolat KP3 dan d. Isolat KJ1

Berdasarkan penelitian di atas, membuktikan bahwa rumput kebar baik yang diambil dari Papua maupun Jawa Timur keduanya ditemukan adanya bakteri endofit, dimana semua senyawa kimia yang dihasilkan bakteri endofit terbukti mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* karena didalam rumput kebar yang digunakan sebagai sampel terdapat senyawa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kekayaan alam yang telah Allah ciptakan yang seharusnya dapat dimanfaatkan bagi kemashlahatan manusia, sebagaimana irman Allah dalam surat Al-Hijr ayat 19-20:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشًا وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: *Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya. (Q.S. Al-Hijr: 19-20)*

Ayat diatas menjelaskan bahwa semua kekayaan alam yang ada di bumi diciptakan Allah untuk kemaslahatan hidup manusia. Karena sesungguhnya yang ada di alam baik yang hidup maupun yang mati, yang kecil maupun yang besar sudah pasti memiliki manfaat masing-masing dan telah dijelaskan bahwa di bumi ini Allah telah menumbuhkan berbagai jenis tubuhan yang tidak terukur unsur-

unsur yang tidak mengandung faedah. Semua tumbuhan mempunyai hikmah dan masalahat walaupun itu tidak diketahui oleh banak manusia (As-Shiddieqy, 2000).

Salah satu tanaman yang memiliki manfaat untuk kemaslahatan manusia yaitu rumput kebar (*Biophytum sp*). Dalam bidang kesehatan khususnya sebagai antibakteri. Allah SWT telah menciptakan senyawa bioaktif melalui mikroba endofit yang juga tumbuh bersama-sama dengan senyawa yang terkandung di dalam jaringan tumbuhan. Sehingga senyawa metabolit sekunder bias bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia dan makhluk ciptaan Allah lainnnya.

Kita sebagai manusia telah dianugerahi kekayaan alam dengan tanpa harus membeli, hendaklah jangan merusak bahkan sampai memusnahkan tanpa rasa tanggung jawab, tetapi sebaiknya harus dijaga dan dipelihraa agar tetap lestari. Allah berfirman dalam surat Al-Qashash ayat 77:

وَأَتَّبِعْ فِي مَآءِ آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ ۗ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا ۗ وَأَحْسِنَ كَمَا

أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ ۗ وَلَا تَتَّبِعِ الْفَسَادَ فِي الْأَرْضِ ۗ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ ﴿٧٧﴾

Artinya: *Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan. (Q.S. Al-Qashash ayat 77)*

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan dan memerintahkan manusia untuk menjaga dan memanfaatkannya semua anugerah yang telah diberikan pada manusia untuk berbuat baik tanpa harus melupakan dan Allah juga memperingatkan untuk berbuat baik dan melarang melakukan

kerusakan di muka bumi ini. Salah satu tindakan manusia yang menimbulkan kerusakan sumber daya hayati adalah penggunaan tanaman sebagai bahan baku obat secara besar-besaran. Pada dasarnya memang kekayaan alam ini untuk manusia untuk diolah dan digarap untuk diambil manfaatnya, tetapi penggunaan tanaman secara terus-terusan dan berlebihan dengan tidak diiringi pelestarian alam amaka akan berdampak negative atau kepunahan alam.

Hasil penelitian ini diharapkan sudah dapat memberikan informasi atau petunjuk sebagai alernatif baru dalam pemanfaatan sumber daya hayati tanpa harus mengurangi populasi yang ada melainkan dengan cara ditemukannya bakteri endofit dalam jaringan yang mempunyai fungsi yang sama dengan tumbuhan aslinya.

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجْرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ﴿١٠﴾ هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجْرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ﴿١١﴾ يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ



Artinya : *Dia-lah, yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. 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. (Q.S. An-Nahl : 10-11).*

Dua ayat ini menjelaskan bahwa nikmat Allah yang paling inti bagi kelangsungan hidup di muka bumi yaitu air hujan. Allah berfirman bahwa Allah-lah yang menurunkan air hujan untuk kalian. Air inilah yang menjadi sumber

kehidupan bagi makhluk hidup di bumi. Dari air hujan yang membasahi tanah dan masuk ke dalamnya, tumbuh segala macam jenis tanaman dan pohon, yang menghasilkan buah-buahan dan makanan untuk manusia dan binatang. Dari dua ayat tadi terdapat dua pelajaran yang dapat diambil beberapa kesimpulan yaitu bahwa air hujan adalah sumber kehidupan. Air menumbuhkan tanaman yang menjadi makanan bagi manusia. Sebab makanan manusia terdiri dari dua hal; tumbuh-tumbuhan atau dari daging hewan. Keduanya sangat tergantung pada air yang turun dari langit. Kekeringan akan menyebabkan paceklik dan kekurangan pangan dan juga bahwa manusia harus merenung dan memikirkan alam sehingga ia bisa menyaksikan bahwa dibalik proses alamiah yang terjadi, ada tangan ghaib Yang Maha berkuasa. Tumbuhnya tanaman dan buah-buahan bukan pekerjaan petani. Semua itu diciptakan untuk manusia dan karena itu manusia harus beramal untuk kerdihaan Allah.

Rumput kebar (*Biophytum sp.*) adalah salah satu ciptaan Allah SWT yang sangat bermanfaat bagi kehidupan sehari-hari, diantaranya yaitu sebagai obat sariawan, obat kumur, obat pencuci perut anak-anak, untuk kepentingan reproduksi, untuk obat malaria dan lain sebagainya, sebagaimana telah disebutkan dalam Q.S Al-Baqarah ayat 29 dan Q.S Abasa ayat 27-32 yang inti dari artinya adalah setiap yang diciptakan Allah SWT di muka bumi ini adalah semata-mata untuk kepentingan manusia, dimana semua ciptaannya tidak ada yang sia-sia yang pasti ada manfaatnya entah itu berupa biji-bijian, sayur-sayuran, rumput-rumputan, hewan-hewan ternak ataupun yang lainnya.

Allah SWT menumbuhkan tanaman-tanaman maupun rumput-rumputan tersebut mengguakan air hujan, dimana air hujan tersebut membawa berkah serta menyuburkan semua ciptaannya yang ada di bumi yang salah satunya adalah rumput kebar (*Biophytum sp.*). Hal ini sesuai dengan Q.S An-Nahl ayat 10-11 yang menyebutkan bahwa Allah lah yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. 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. Air inilah yang menjadi sumber kehidupan bagi makhluk hidup di bumi. Dari air hujan yang membasahi tanah dan masuk ke dalamnya, tumbuh segala macam jenis tanaman dan pohon, yang menghasilkan buah-buahan dan makanan untuk manusia dan binatang.

Setiap tanaman mempunyai manfaat tertentu sesuai dengan kandungan dari tanaman itu sendiri. Di dalam suatu tanaman terdapat makhluk hidup yang disebut mikroba endofit, mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tanaman inangnya serta bersimbiosis dengan tanaman inangnya untuk beberapa waktu. Q.S Al-Baqarah ayat 26 menyebutkan bahwa Allah SWT tak segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari nyamuk, bakteri sendiri memiliki kedudukan yang jauh lebih rendah dari pada nyamuk, tetapi makhluk yang derajatnya lebih rendah dari pada nyamuk itupun

memiliki manfaat yang sangat besar baik di kehidupan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan/medis.

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang bersimbiosis dengan tanaman inangnya serta menghasilkan senyawa dengan ukuran yang hampir sama dengan tanaman inangnya, dimana senyawa ini juga menguntungkan untuk tanaman inangnya, hal ini sesuai dengan Q.S Al-Hijr ayat 19-20, dimana Allah SWT telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya. Ayat diatas menerangkan bahwa semua yang diciptakan berdasarkan kadar/ukuran yang sudah ditentukan, seperti halnya kandungan senyawa yang dihasilkan rumput kebar hampir sama dengan yang dihasilkan tanaman inangnya.

Semua tanaman memang diciptakan untuk dimanfaatkan oleh manusia, tetapi tidak dengan eksploitasi besar-besaran yang menimbulkan kerusakan ekosistem, sama halnya dengan pemanfaatan rumput kebar (*Biophytum sp.*), tanaman ini masih tergolong langka sedangkan yang membutuhkan sangat banyak, sehingga diperlukan pemberdayaan serta perlindungan agar tidak terjadi kepunahan dan kerusakan karena hal itu juga termasuk perwujudan rasa syukur terhadap nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT untuk seluruh manusia.. Jika penggunaan tanaman terus-terusan maka sumberdaya akan berkurang sehingga proses isolasi bakteri endofit penghasil senyawa metabolit sekunder sangatlah diperlukan demi kebaikan semua manusia.

Hal diatas sesuai dengan Q.S Al-Qashas ayat 77, dimana Allah SWT berfirman bahwa telah menganugerahkan kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan. Berdasarkan ayat diatas hendaknya kita bisa bersyukur atas semua nikmat yang telah diberikan dan salah satu cara yang tepat adalah dengan melestarikan sumberdaya yang sudah ada dan memanfaatkannya dengan baik.



## BAB V PENUTUPAN

### 1.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dipeloreh kesimpulan sebagai berikut:

1. Sebanyak 5 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari rumput kebar (*Biophytum sp.*) yaitu 3 isolat dari Papua dan 2 isolat dari Jawa Timur. Sebanyak 5 isolat ditemukan 3 bakteri endofit yang berbeda yaitu *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus saprophyticus* dan *Enterobacter gergoviae*.
2. Zona hambat yang terbentuk dari uji antibakteri terhadap bakteri uji *Eschericia coli* didapat 5.08 mm untuk *Bacillus megaterium*, 4.08 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 2.92 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.45 mm dari jawa Timur. Zona hambat terhadap bakteri uji *Sthaphylococcus aureuss* didapat 2.37 mm untuk *Bacillus megaterium*, 2.1 mm untuk *Staphylococcus saprophyticus*, 3.34 mm untuk *Enterobacter gergoviae* dari Papua dan 3.49 mm dari Jawa Timur.

## 1.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Melakukan pengujian terhadap konsentrasi bakteri uji dan konsentrasi metabolit bakteri endofit dari rumput kebar untuk mendapatkan hasil yang maksimal dalam pengujian aktivitas antibakteri
2. Melakukan uji lanjutan terhadap metabolit bakteri dari rumput kebar yang paling tepat sebagai penghasil senyawa antibakteri.
3. Melakukan uji fitokimia terhadap metabolit sekunder bakteri endofit dari rumput kebar.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R. 2001. *Microbiology of Fermented Food*. Elsevier Applied Science Publisher, Ltd. New York
- Al-Jazairi, Abu Bakar J. 2006. Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 1. Jakarta: Darus Sunnah
- Al-Utsaimin, M.S. 2005. *Tafsir Juz 'Ammah*. Solo: Pustaka T-Tibyan
- Ash-Shiddieqy, T.M.H. 1995. *Tafsir Al-Qur'an; Majid An-Nuur 1*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra
- Azizah, N dan M. Kenti Astuti. 2002. Resistensi Isolat Lokal (*Escherichia coli*) Pembawa Gen VT1 dan VT2 Asal Babi dan Domba/Kambing Terhadap 6 Antibiotik. *J. Sam Vet. Vol. XX No.2*
- Azlina. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Rumpuk Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) Terhadap Fertilitas Tikus Jantan (*Rattus norvegicus* L)*. Tesis. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Bailey and Scott's. 2007. *Diagnostic Microbiology 12<sup>th</sup> edition*. Houston: Mosby Elsevier
- Bergey's. 2005. *Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University
- Bills, G.F and J.D. Polyschool. 1992. Recovery of Endophytic Fungi From *Chamaecyparis tyoides*. *Sydowia*, 44 : p :1-12
- Brenner, Don J., Richard, C., Steigerwalt, Arnold G., Asbury, M.A., and Mandel, Manley. 1980. *Enterobacter gergoviae* sp. nov.: a New Species of *Enterobacteriaceae* Found in Clinical Specimens and the Environment. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, P. 1-6
- Brooks GF, Butel JS & Morse SA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Ke 6*. Jakarta : Salemba Medika
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. New York: Mc raw Hill
- Buchanan, RE. dan Gibbons, NE. 2003. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. USA : The William & Wilkins Company Baltimore
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., dan Wotton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Purnomo Hari, Ardiono. Jakarta: UI Press

- Burrows, W., J.M. Moulder, and R.M. Lewert. 2004. *Textbook of Microbiology*. Philadelphia : W.B. Saunders Company
- Colome, J.S. 2001. *Laboratory Exercises in Microbiology*. New York : West Publishing Company
- Cowan, S.T. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. London: Cambridge University Press
- Desriani, Ukhradia, Maharaniq Safira P, Maria Bintang, Akhmad Rivai dan Puspita Lisdiyanti. 2014. Isolasi dan karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan ketepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*; 3(2)
- Dewick, P.M. 1999. *Medicinal Natural Products, A Biosynthesis Approach*. England: John Willey & Sons Ltd
- Dwijoseputro. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Malang: UM Press
- Elfita, Muharni, Munawar, Salni, dan Ade Oktasari. 2011. Senyawa Antimalaria Dari Jamur Endofitik Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees). *Jurnal Natur Indonesia* 13(2), hal: 123-129
- Elita, A., Saryono, S., Dan Christine J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* Sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia Variabilis*). *Jurnal. Ind.Che.Acta Vol. 3 (2)*
- Erlindawati, Puji Ardiningsih Dan Afghani Jayuska. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Tiga Isolat Bakteri Tanah Gambut Kalimantan Barat. *Jkk, Volume 4(1), Halaman 12-16*
- Fatiqin, Awalul. 2009. *Isolasi dan identifikasi bakteri Endofit dari Daun dan Kulit Pulai (*Alstonia scholaris*) Sebagai Sebagai penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus**. Skripsi. Malang : UIN Maliki Malang
- Feliatra. 2002. *Sebaran Bakteri (*Escherichia coli*) di perairan Muara Sungai Bantan Tengah Bengkalis Riau*. Laboratorium Mikrobiologi Laut, Faperika. Universitas Riau
- Ferreira, Adriano M., Bonesso, M.F., Mondelli, A.L., dan De Souza, M.L.R.C. 2012. Identification of *Staphylococcus saprophyticus* isolated from patients with urinary tract infection using a simple set of biochemical tests correlating with 16S–23S interspace region molecular weight patterns. *Journal of Microbiological Methods* 91 406–411

- Gandahusada, S. Ilahude dan H. pribadi, W. 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Gholib, Djaenudin. 2009. Daya Hambat Ekstrak Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) Terhadap *Trichophyton Mentagrophytes* Dan *Cryptococcus Neoformans* Jamur Penyebab Penyakit Kurap Pada Kulit Dan Penyakit Paru. *Bul. Litro*. Vol. 20 No. 1, Hal: 59 – 67
- Grimont, Francine and Patrick A.D. Grimont. 2006. *The Genus Enterobacter*. *Prokaryotes* 6:197–214
- Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dalam Laboratorium*. Jakarta : Gramedia
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: Gramedia
- Hallaman, J. and G. Berg. 2006. *Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes*. Dalam: Schulz B, C. Boyle, and T. Sieber (Eds.). *Soil biology Microbial root endophytes*, Vol. 9. Berlin, Heidelberg, Germany, Springer-Verlag
- Harni.R., dan M.S.D. Ibrahim. 2011. Potensi Bakteri Endofit Menginduksi Ketahanan Tanaman Lada Terhadap Infeksi *Meloidogyne incognita*. Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Aneka Tanaman Industri. *Jurnal Littri* 17 : 118 – 123
- Hawwa, Sa'id. 2000. *Tafsir Al-Asas. Surat Al-Fatihah, Surat Al-Baqarah 1-207*. Jakarta: Robbani press
- Izza, Iffa. 2011. *Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antimikroba*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta
- Jamaran, I. 1992. Peranan iptek dalam pengembangan agroindustri tanaman obat. *Prosiding Forum Konsultasi Strategi dan Koordinasi Pengembangan Agroindustri Tanaman Obat*. Litbang Pertanian, Balitro. Bogor
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 1986. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Jakarta: EGC Penernit Buku Kedokteran
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi ke 20*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Jawetz M, Adelberg. 2008. *Mokrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran

- Jhora, Sanya Tahmira dan Paul Shikha. 2011. Urinary Tract Infections Caused By *Staphylococcus Saprophyticus* And Their Antimicrobial Sensitivity Pattern In Young Adult Women. *Bangladesh J Med Microbio l; 05 (01): 21-25*
- Kasmiran A. 2011. Pengaruh lama fermentasi jerami padi dengan mikroorganisme lokal terhadap kandungan bahan kering, bahan organik dan abu. *Lentera: Juni 2011. 11(1): 48-52*
- Listiana, Erna, Dwi Ratna Anugrahwati dan Irwan Muthahanas. 2012. *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofitik Actinomycetes Dari Tanaman Padi Lokal Lombok*
- Mac Faddin, J.F. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2nd edition.* London : Williams & Wilkins
- Melki, Wike, Ayu ep., dan Kurniati. 2011. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria* sp (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal Maspari 2:82-88*
- Mulyati, Retno Wahyuningsih , Widiastuti Dan Pudji K Sjarifuddin. 2002. Isolasi Spesies *Candida* Dari Tinja Penderita HIV/AIDS. *Makara, Kesehatan, Vol. 6, No. 2,*
- Natarajan, D. M.S. Shivakumar and R. Srinivasan. 2010. Antibacterial activity of leaf extracts of *Biophytum sensitivum* (L.) DC. *J. Pharm. Sci. and Res., Vol. 11, 717-720*
- Ngajow, M., Abidjulu J., and Kamu, V.S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online 2 (2) 128-132*
- Nugroho, Deny. 2004. *Eksplorasi Bakteri Endofit Pada Akar Tanaman Kentang Yang Berpotensi Sebagai Antagonis Pseudomonas solanacearum*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya
- Nursulistyarini, Fenni Dan Erny Qurotul Ainy. 2013. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri Dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis). *Seminar Nasional Xi Pendidikan Biologi. FKIP UNS*
- Oxoid. 2004. *Microbact Identification Kits*. Jakarta: IKAPI
- Pavlovic V, Cekic S, Rankovic G & Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and Pro-oxidant Effect of Ascoobic Acid. *Acta Medica Medianae 44:65-69.*

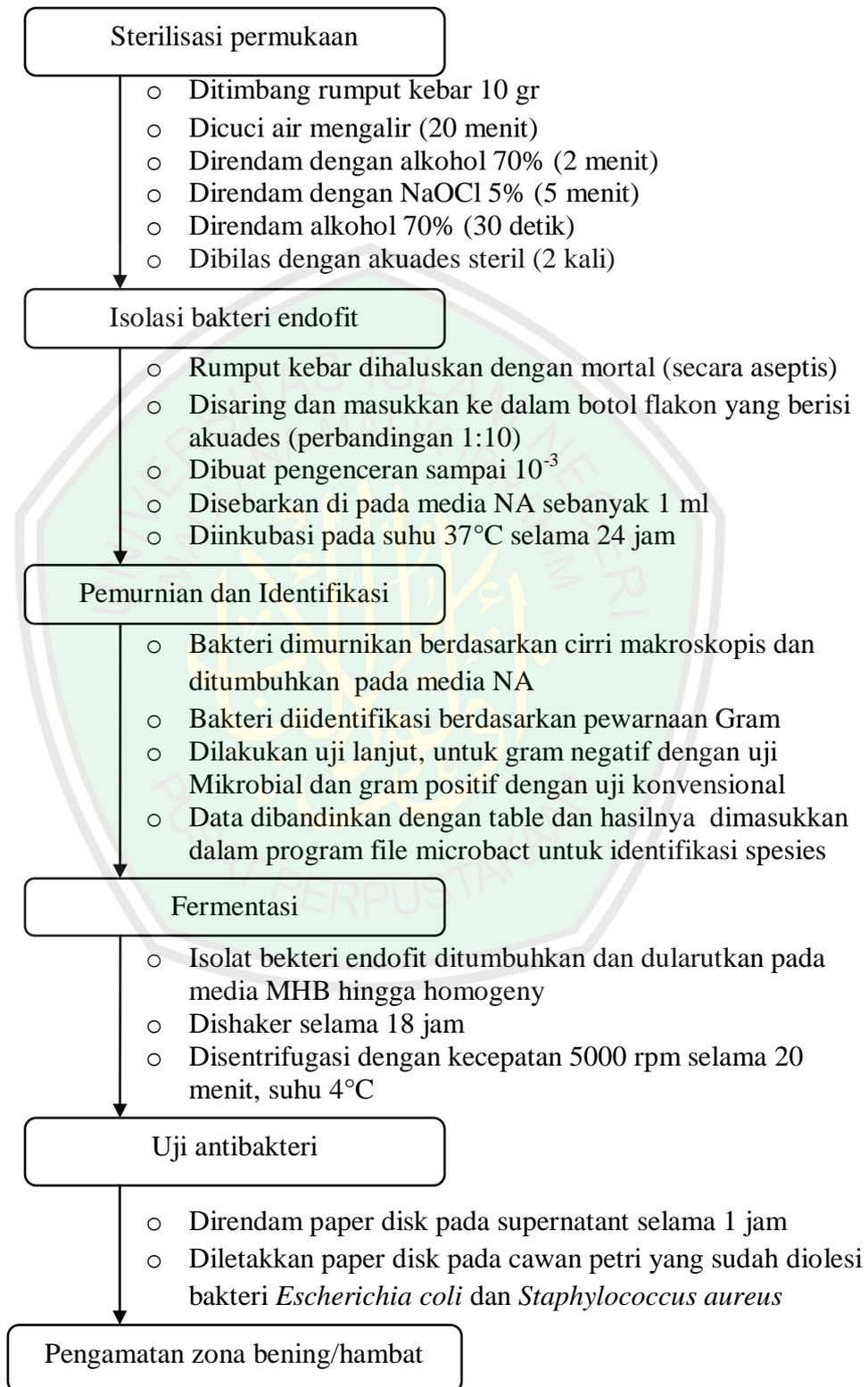
- Pelczar, M.J. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press
- Prescott, Harley. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology, Fifth Edition*. The McGraw-Hill Companies
- Prescott, Harley Klein's. 2008. *Microbiology 7<sup>th</sup> edition*. Boston : The McGraw-Hill Companies
- Prihatiningtias, Widyati dan Mae Sri Hartati Wahyuningsih. 2006. Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Artikel Kesehatan*. Yogyakarta: Universitas Gadjadara
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3 : 113-126.
- Ratna, Siri. 2012. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia
- Reddy, DM. Shiva., Mohan, BK., Nataraja, S., Krishnappa, M dan Abhilash M. 2010. Isolation and molecular characterization of *Bacillus megaterium* isolated from different agro climatic zones of Karnataka and its effect on seed germination and plant growth of *Sesamum indicum*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences Volume 1 Issue 3 Page No. 615*
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB Press
- Roeslan, OB. 1995. Karakteristik *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Usakti*. 29–30(10):112–5.
- Rosenblatt, J.E. 1980. *Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobes*. Dalam Lorian, V. (ed). 1980. *Antibiotics in laboratory medicine*. London: Williams & Wilkin
- Sadsoeitoeboen PD. 2005. *Manfaat Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum petersianum*) terhadap Penampilan Reproduksi Mencit Putih Betina*. Tesis. Bogor: IPB
- Sahidin. 2013. *Mengenal Senyawa Alami: Pembentukan dan Pengelompokan Secara Kimia*. Kendari: Universitas Haluoleo Press
- Sawen D. 2011. *Pengamatan ekologi padang rumput alam Kebar Papua dan uji produktivitas banondit (*Biophytum petersianum* Klotzsch) melalui pemberian nitrogen dan interval defoliasi*. Tesis. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor

- Sawen, Diana. 2012. Potensi Tanaman Obat Banondit (*Biophytum Petersianum* Klotzsch) Sebagai Sumber Pakan Hijauan Di Lembah Kebar Papua Barat. *Pastura Vol. 2 No. 1 : 34 – 36*
- Schulz, B. J.E., C.J.C. Boyle dan T.N. Sieber (Eds.). 2006. *What are Endophytes?. Microbial Roots Endophytes*. German: Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Sembiring, Sembiring dan Ireng Darwati. 2014. Identifikasi Komponen Kimia Aksesori Rumput Kebar (*Biophytum Petersianum*) Asal Papua Dan Jawa. *Buletin Littro, Volume 25, Nomor 1*
- Senior. 2009. Rumput kebar tingkatkan kesuburan. *Natural healing Tue, 5 May*
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah. Pesan, Kesa dan Keserasian A-Qur'an. Volume 5*. Jakarta: Lentera Hati
- Simarmata, Rumella, Sylvia Lekatompessy dan Harmastini Sukiman. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik Dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba. *Jurnal Of Berk. Penel. Hayati: Vol 13 No. 85*
- Soedibyo B.M. 2000. Pendayagunaan tanaman obat. *Proceeding Forum Komunikasi Ilmiah. Hasil Penelitian Plasma Nutfah dan Budidaya Tanaman Obat. Puslitbang Tanaman Industri. Bogor: Buku I, hlm. 7-15*
- Strobel. G.A. 2002. *Microbial Gifts From Rainforests*. Can. J. Plant Phathology. 24:14-20
- Strobel. G & B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews. Microbiol 67 : 491-502*
- Sudibyo. R.S. 2002. *Metabolit Sekunder : Manfaat dan Perkembangannya dalam Dunia Farmasi*. Yogyakarta: UGM Press
- Supardi, Imam dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Alumni
- Sutedjo, Mul. M, Kartasapoetro dan Sastroadmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta : Rineka Cipta
- Syarmalina. 2008. *Endofit dan Pelestarian Alam. PT. ISFI Medisina Edisi 2/vol 1*
- Tortora, et al. 2001. *Microbiology in introduction*. International Edition. Benjamin Cummins, Inc

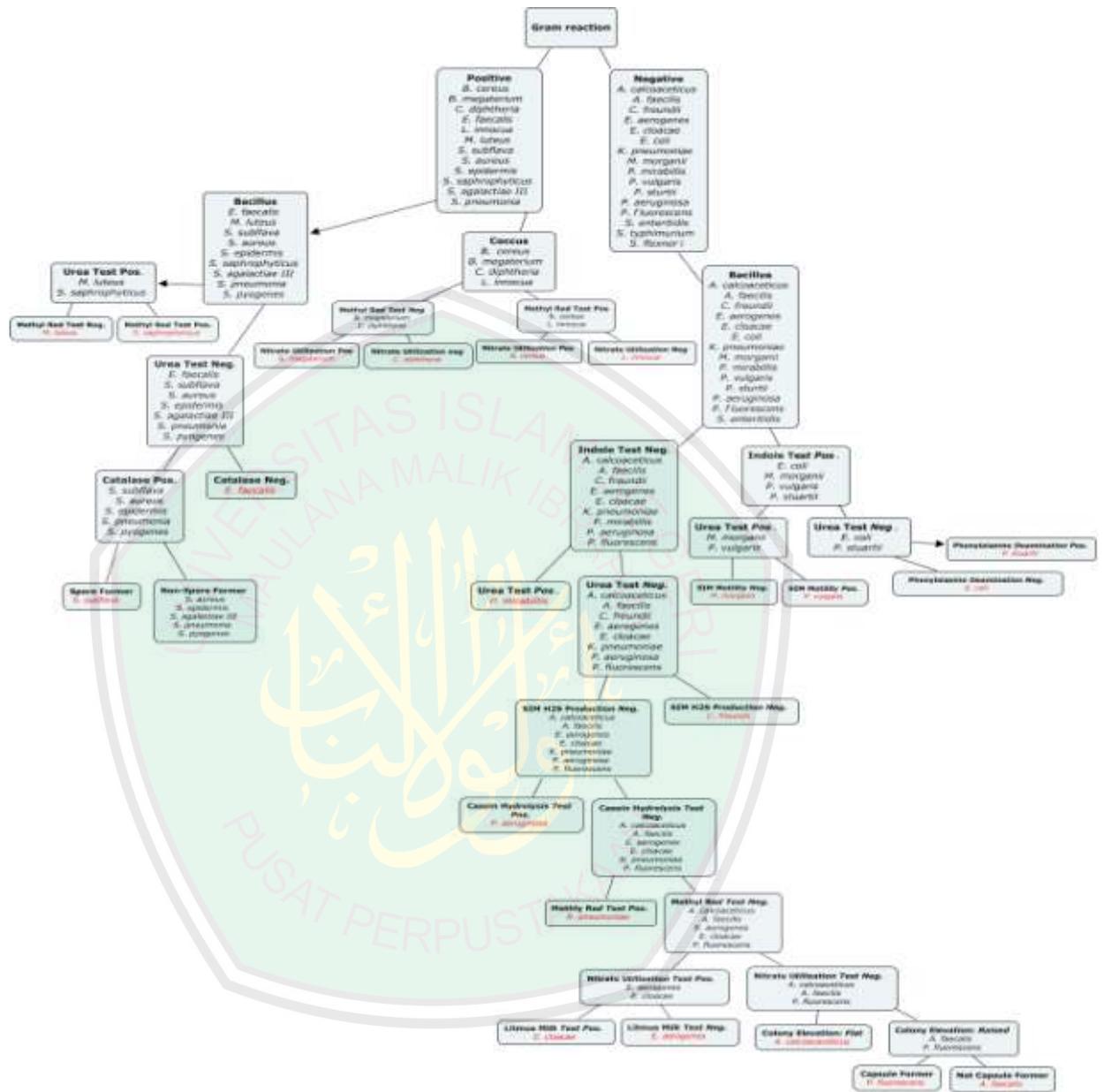
- Umar, A., Dwi Krihariyani, Diah Titik, M. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) *steenis*) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Mencit. *Analisis Kesehatan Sains*. Vol. 01, No. 02. ISSN 2302-3635
- Unitly, Adrien J. A. dan Cerria Inara. 2011. Potensi Rumput Kebar (*Biophytum Petersianum* Klotzsch) Dalam Meningkatkan Kinerja Reproduksi. *Prosiding seminar Nasional: Pengembangan Pulau-Pulau Kecil 2011 - Isbn: 978-602-98439-2-7*
- Utami, Ulfa. 2011. Isolation, Identification and Antimicrobial Activities Selection of Endophytic Bacterial from Mangrove Plantation *Brugulera gymnorrhiza*. *International Journal of Academic Research* 1(3): 187-194
- Veldkamp JF. 1976. Flora Malesiana. Noordhoff International Publishing Leyden. *The Netherlands. Seri 1, Vol.7: 151-78*
- Volk dan Wheeler. 1993. *Microbiology Dasar 1*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga
- Wajo, MJ. 2005. *Pengaruh pemberian ekstrak rumput kebar melalui air minum terhadap fertilitas ayam buras*. Skripsi. Fakultas peternakan Perikanan dan Ilmu Papua. Universitas Negeri Papua
- Wulandari, Heny, Zakiatulyaqin dan Supriyanto. 2012. Isolasi dan Pengujian Bakteri Endofit dari Tanaman Lada (*Piper Nigrum* L.) Sebagai Antagonis Terhadap Patogen Hawar Beludru (*Septobasidium* Sp.). *J. Perkebunan & Lahan Tropika*, Vol. 2, No. 2
- Yurnaliza, Mustika Wildasari Siregar, dan Nunuk Priyani. 2014. Peran bakteri Endofit Penghasil IAA (*Indole Acetid Acid*) Terseleksi Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *Prosiding Seminar Nasional Biologi: Meningkatkan Peran Biologi dalam Mewujudkan National Achievement with Global Reach*

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Diagram Alir



Lampiran 2. Flowchart Identifikasi



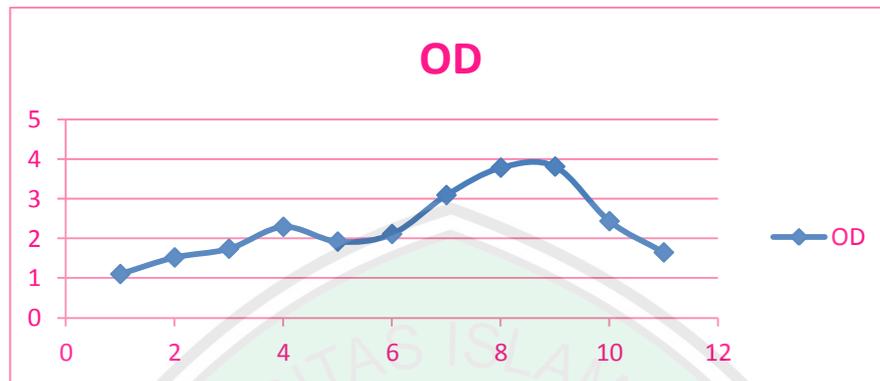
### Lampiran 3. Komposisi Media

1. Medium Nutrient Agar (NA)
  - ✓ Beef extract 3 g
  - ✓ Bacto pepton 5 g
  - ✓ Agar 15 gr
  - ✓ Akuades 1000 ml
2. Medium Nutrient Broth (NB)
  - ✓ Beef extract 3 g
  - ✓ Bacto pepton 5 gr
  - ✓ Akuades 1000 ml
3. Mueller-Hinton Agar (MHA)
  - ✓ Beef extract 300 g
  - ✓ Casamino acids 17.5 g
  - ✓ Starch 1.5 g
  - ✓ Agar 17 g
  - ✓ Akuades 1000 ml
4. Mueller-Hinton Broth (MHB)
  - ✓ Beef extract 300 g
  - ✓ Casamino acids 17.5 g
  - ✓ Starch 1.5 g
  - ✓ Akuades 1000 ml

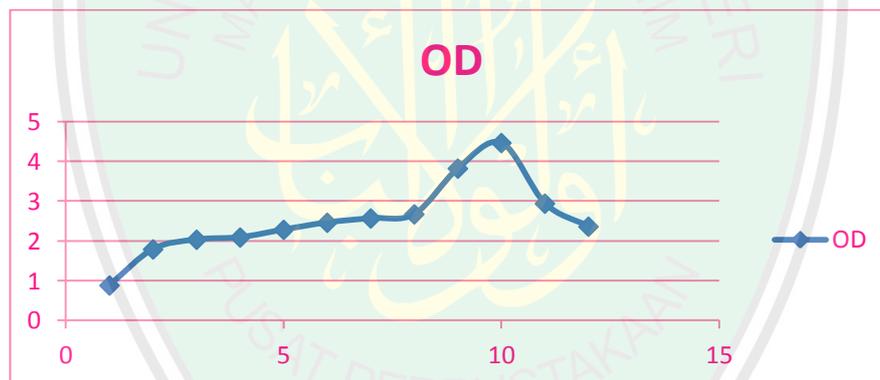
#### Lampiran 4. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit

##### 1. Bakteri Endofit Rumput Kebar Papua

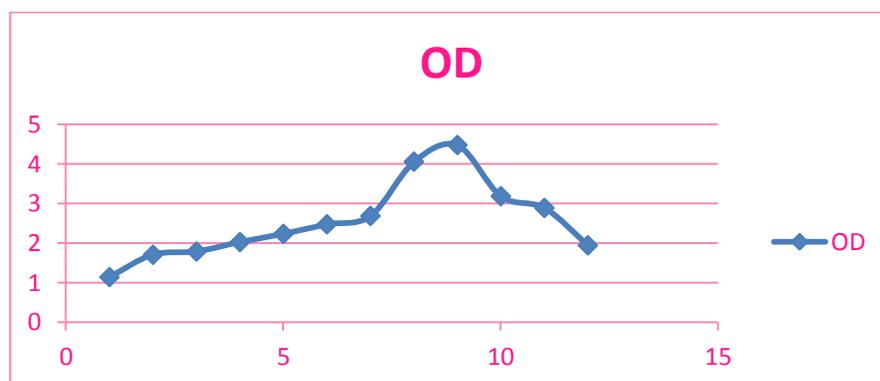
##### 2. *Bacillus megaterium*



##### 3. *Staphylococcus saprophyticus*

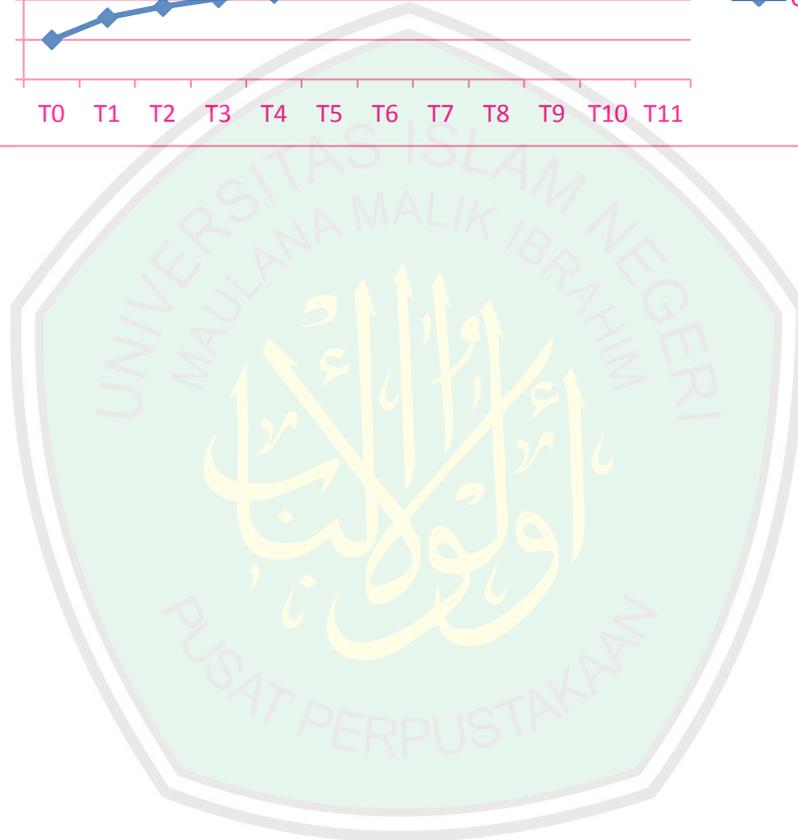
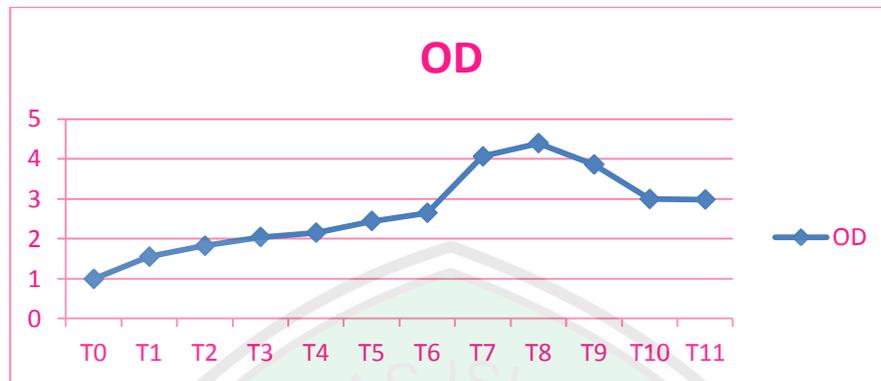


##### 4. *Enterobacter gergoviae*



## 2. Bakteri Endofit Rumput Kebar Jawa Timur

### 1. *Enterobacter gergoviae*



### Lampiran 5. Diameter Zona Hambat

Tabel 1. Diameter zona hambat/bening pada uji aktivitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Eschericia coli*

Kode Isolat	Spesies	Zona hambat (dalam mm)	
		<i>Eschericia coli</i>	
		Panjang	Keterangan
KP1	<i>Bacillus megaterium</i>	5.08	Sedang
KP2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4.086	Sedang
KP3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	2.92	Lemah
KJ1	<i>Enterobacter gergoviae</i>	3.45	Lemah
	Kontrol Positif	6.19	Kuat
	Kontrol Negatif	0	Lemah

Tabel 2. Diameter zona hambat/bening pada uji aktivitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kode Isolat	Spesies	Zona hambat (dalam mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	
		Panjang	Keterangan
KP1	<i>Bacillus megaterium</i>	2.37	Lemah
KP2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2.1	Lemah
KP3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	3.34	Lemah
KJ1	<i>Enterobacter gergoviae</i>	3.49	Lemah
	Kontrol Positif	16.12	Kuat
	Kontrol Negatif	0	Lemah

## Lampiran 6. Ayat-ayat Al-Qur'an

### 1. Q.S Al-Baqarah ayat 29

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu. (Q.S Al-Baqarah : 29)*

### 2. Q.S 'Abasa ayat 27-32

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٢٩﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣٠﴾ وَفَنَكِهَةً ﴿٣١﴾ وَأَبًا ﴿٣٢﴾ مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ ﴿٣٣﴾

Artinya: *lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu, anggur dan sayur-sayuran, zaitun dan kurma, kebun-kebun (yang) lebat, dan buah-buahan serta rumput-rumputan, untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu (Q.S 'Abasa ayat 27-32)*

### 3. Q.S Al-Baqarah ayat 26

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي ۚ أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَّا فَوْقَهَا ۚ .....

Artinya: *Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu .....(Q.S Al-Baqoroh: 26).*

### 4. Q.S Al-Hijr ayat 19-20

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشًا وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: *Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya. (Q.S. Al-Hijr: 19-20)*

### 5. Q.S Al-Qashas ayat 77

وَأَتَّبِعْ فِي مَآءِ آتِنَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ ۗ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا ۗ وَأَحْسِنَ كَمَا  
 أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ ۗ وَلَا تَتَّبِعِ الْفَسَادَ فِي الْأَرْضِ ۗ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ ﴿٧٧﴾

Artinya: *Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan. (Q.S. Al-Qashash ayat 77)*

### 6. Q.S An-Nahl ayat 10

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجْرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ﴿١٠﴾ هُوَ الَّذِي  
 أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجْرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ﴿١١﴾ يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ  
 وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : *Dia-lah, yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. 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. (Q.S. An-Nahl : 10-11).*

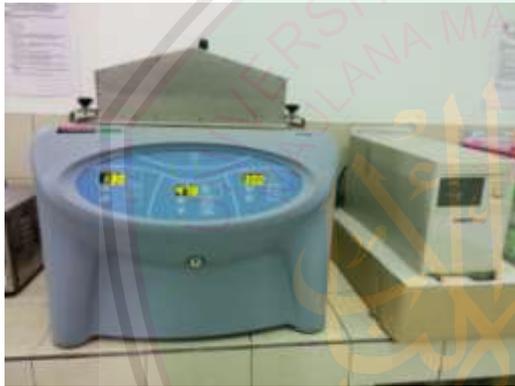
## Lampiran 7. Alat-alat Penelitian



Gambar 1. Laminar Air Flow



Gambar 2. Inkubator



Gambar 3. Rotary Shacker



Gambar 4. Sentrigugasi



Gambar 5. Autoklaf sterilisasi



Gambar 6. Autoklaf Destruksi



Gambar 7. Timbangan Analitik



Gambar 8. Hot Plate



Gambar 9. Kulkas Media



Gambar 10. Kulkas Bakteri



Gambar 11. Vortex

**Lampiran 8. Sample Rumput Kebar (*Biophytum sp.*)**



Gambar 1. Rumput kebar dari Papua



Gambar 2. Rumput kebar dari Malang Jawa Timur

### Lampiran 9. Tabel Hasil Identifikasi Bakteri Endofit

Tabel 1

Kode isolat : KP1

Nama spesies : *Bacillus megaterium*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	+
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	+
11	ONPG	-
12	Indole	-
13	Urease	-
14	V-P	-
15	Sitrat	-
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	+
22	Laktosa	-
23	Arabinosa	+
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	+
29	Koagulase	-
30	Novobiocin Resistance	-
31	Hemolisisin	β

Keterangan :

+ : hasil uji positif      td : tidak diuji

- : hasil uji negatif

Tabel 2

Kode isolat : KP2

Nama spesies : *Staphylococcus saprophyticus*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	-
2	Oksidase	-
3	Motilitas	-
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	-
11	ONPG	-
12	Indole	-
13	Urease	-
14	V-P	+
15	Sitrat	td
16	TDA	-
17	Gelatin	td
18	Malonat	td
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	+
22	Lactosa	+
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	+
29	Koagulase	-
30	Novobiocin Resistance	+
31	Hemolisisin	β

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

td : tidak diuji

Tabel 3

Kode isolat : KP3

Nama spesies : *Enterobacter gergoviae*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	-
2	Oksidase	-
3	Motilitas	-
4	Nitrat	+
5	Lysin	+
6	Ornithin	+
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	-
9	Manitol	-
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	+
14	V-P	+
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	td
18	Malonat	td
19	Inositol	td
20	Rhamnosa	td
21	Sukrosa	td
22	Lactosa	td
23	Arabinosa	td
24	Adonitol	td
25	Raffinosa	td
26	Salicin	td
27	Arginin	td
28	Katalase	td
29	Koagulase	td
30	Novobiocin Resistance	td
31	Hemolisisin	td

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

td : tidak diuji

Tabel 4

Kode isolat : KJ1

Nama spesies : *Enterobacter gergoviae*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	-
2	Oksidase	-
3	Motilitas	-
4	Nitrat	+
5	Lysin	+
6	Ornithin	+
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	-
9	Manitol	-
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	+
14	V-P	+
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	td
18	Malonat	td
19	Inositol	td
20	Rhamnosa	td
21	Sukrosa	td
22	Lactosa	td
23	Arabinosa	td
24	Adonitol	td
25	Raffinosa	td
26	Salicin	td
27	Arginin	td
28	Katalase	td
29	Koagulase	td
30	Novobiocin Resistance	td
31	Hemolisisin	td

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

td : tidak diuji



KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp. (0341) 551354  
Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Nur Lailli Fithriyah  
NIM : 11620046  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rumpun Kebar (*Biophytum peterianum* Klotzsch) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*  
Pembimbing I : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	03 Februari 2015	Pengajuan Judul Skripsi	1. <i>[Signature]</i>
2.	09 Maret 2015	Konsultasi BAB I, II dan III	2. <i>[Signature]</i>
3.	02 April 2015	Revisi BAB I, II dan III	3. <i>[Signature]</i>
4.	14 Mei 2014	Revisi BAB I, II dan II	4. <i>[Signature]</i>
5.	25 Mei 2014	Revisi BAB I, II dan II	5. <i>[Signature]</i>
6.	22 Oktober 2015	Konsultasi BAB IV dan V	6. <i>[Signature]</i>
7.	26 Oktober 2015	Revisi BAB I, II, III, IV dan V	7. <i>[Signature]</i>
8.	29 Oktober 2015	Acc BAB I, II, III, IV dan IV	8. <i>[Signature]</i>

Malang, 29 Oktober 2015  
Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sudi 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. (0341) 551354  
 Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Nur Lailli Fithriyah  
 NIM : 11620046  
 Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
 Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rumpun Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*  
 Pembimbing II : M. Mukhlis Fakhruddin, M.Si

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	04 Mei 2015	Konsultasi BAB I, II dan III	1.
2.	19 Oktober 2015	Revisi BAB I, II dan III	2.
3.	19 Oktober 2015	Konsultasi BAB IV dan V	3.
4.	22 Oktober 2015	Revisi BAB IV dan V	4.
5.	29 Oktober 2015	Acc BAB I, II, III, IV dan V	5.

Malang, 29 Oktober 2015  
 Mengetahui,  
 Ketua Jurusan Biologi

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