

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT DARI BIJI
PINANG (*Areca catechu* L.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Oleh:
Ahmad Syahirul Alim
Nim: 04520031**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALANG
2008**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT DARI BIJI
PINANG (*Areca catechu* L.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Universitas Islam Negeri Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
Dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
Ahmad Syahirul Alim
Nim: 04520031**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALANG
2008**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT DARI BIJI
PINANG (*Areca catechu* L.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
Ahmad Syahirul Alim
Nim: 04520031

Telah Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. Dra. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 150 291 272

Ahmad Barizi, M.A
NIP.

Tanggal, 14 Oktober 2008
Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 229 505

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT DARI BIJI
PINANG (*Areca catechu* L.) SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
Ahmad Syahirul Alim
Nim: 04520031

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

Tanggal : 21 Oktober 2008

Susunan Dewan Penguji:	Tanda Tangan
1. Penguji Utama : Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	()
2. Ketua Penguji : Dwi Suherianto, M.P	()
3. Sekretaris : Dr. Dra. Ulfah Utami, M.Si	()
4. Anggota : Ahmad Barizi, M.A	()

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 229 505

LEMBAR PERSEMBAHAN



*SKRIPSI INI
KUPERSEMBAHKAN UNTUK
ABA DAN UMIKU TERSAYANG
KAKAK DAN ADIK-ADIKKU TERCINTA*

MOTTO

اِذَا صَحَّ الْخُرُوجُ حَصَلَ بِهِ الْعُرُوجُ

*"BILA BENAR KELUARNYA SESEORANG (DI
DALAM MENCARI ILMU) MAKA IA AKAN
NAIK KE DERAJAT YANG TINGGI"*

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan baik sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Keberhasilan penulisan ini tentunya tidak terlepas dari beberapa pihak yang telah memberikan bantuan maupun saran kepada penulis. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, SU. Dsc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
4. Dr. Dra. Ulfah Utami, M.Si selaku Dosen Pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan kepada penulis sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini. Semoga Allah SWT melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarganya.
5. Segenap Dosen Universitas Islam Negeri Malang yang telah membimbing penulis selama menempuh studi di Universitas Islam Negeri Malang.
6. Aba dan Umi tersayang yang selalu mendidik dan mencurahkan kasih sayang dengan ketulusan dan keikhlasan yang tidak akan mampu untuk membalasnya. Semoga Berkah dan Rahmat Allah SWT selalu menaungi mereka dan memberikan tempat yang terbaik di kemudian kelak.

7. Kakakku Moh. Subhan Mahrusy dan adik-adikku Dewi Fathimatur Rahmah, Uswatun Hasanah, Moh Amiril A'la, dan Moh. Jihadil Akbar tersayang yang selalu memberikan motivasi dan semangat untuk selalu terus maju dan sukses.
8. Teman-temanku Biologi '04 yang selalu menghiburku, menemaniku, membantuku dan memberiku semangat selama penulis belajar di UIN Malang.
9. Segenap santri Pondok Pesantren Salafiyah Nurul Hidayah Lembung Galis Pamekasan (Bunari Hasan, Moh. Nursari, Sugiyanto, dkk.) yang selalu membantuku dan memberiku semangat sehingga dapat terselesaikannya penulisan skripsi ini.
10. Teman-teman di Joyo Suko 59A yang telah menghibur dan mendukung penulis dalam terselesaikannya tugas akhir ini.
11. Semua pihak yang telah banyak membantu terselesaikannya penulisan skripsi dengan baik yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi dan melimpahkan Rahmat dan Ridho-Nya, Amien.

Malang, 31 Oktober 2008

Penulis

DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
4.1	Hasil Isolasi Jamur Endofit dari Biji Pinang	46
4.2	Hasil Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Pinang	55
4.3	Rata-Rata Diameter Zona Hambat/Jernih pada Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit terhadap Bakteri <i>V. cholera</i>	56
4.4	Rata-Rata Diameter Zona Hambat/Jernih pada Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	57
4.5	Rata-Rata Perbandingan Diameter Zona Hambat yang Ditimbulkan Metabolit Jamur Endofit terhadap Bakteri <i>V. cholera</i> dan <i>S. aureus</i>	60



DAFTAR GAMBAR

No.	Gambar	Halaman
4.1	Jamur Endofit yang Tumbuh dari Potongan Biji Pinang Pada Media PDASV.....	46
4.2	Isolat DT1.....	47
4.3	Isolat DT2.....	48
4.4	Isolat DT3.....	50
4.5	Isolat DT4.....	51
4.6	Isolat DR1.....	52
4.7	Isolat DR2.....	53
4.8	Isolat DR3.....	54
4.9	Zona Hambat yang Ditimbulkan oleh Metabolit Jamur Endofit terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> pada Medium NA.....	59
4.10	Zona Hambat yang Ditimbulkan oleh Metabolit Jamur Endofit terhadap Bakteri <i>V. cholera</i> pada Medium NA.....	59
4.11	Diagram Alir Metode Kerja.....	70
4.12	Alat-Alat Penelitian.....	72
4.13	Jenis Pinang pada Habitat Dataran Tinggi dan Dataran Rendah.....	73

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
Lampiran 1.	Diagram Alir Metode Kerja.....	70
Lampiran 2.	Diameter Zona Hambat/Jernih yang Ditimbulkan Metabolit Jamur Endofit dari Biji Pinang terhadap Bakteri <i>V. cholera</i> Dan <i>S. aureus</i>	71
Lampiran 3.	Alat-Alat Penelitian.....	72
Lampiran 4.	Biji Pinang Dataran Tinggi dan Dataran Rendah	73



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
ABSTRAK	viii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	9
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Tentang Tanaman.....	11
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pinang.....	13
2.1.2 Manfaat Biji Pinang	13
2.1.3 Kandungan Kimia Biji Pinang.....	14
2.2 Tumbuhan Sebagai Penghasil Metabolit Sekunder.....	16
2.3 Mikroba Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif.....	19
2.4 Bahan Antimikroba.....	22
2.4.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Zat Antimikroba.....	26
2.4.2 Pengujian Aktivitas Bahan Antimikroba.....	28
2.5 Fungi Endofit.....	30
2.6 <i>Vibrio cholerae</i>	34
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	36
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	38
3.2 Rancangan Penelitian.....	38
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	38
3.3.1 Alat.....	38
3.3.2 Bahan.....	39
3.4 Prosedur Penelitian	39
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	39
3.4.2 Pembuatan Media.....	39
3.4.3 Isolasi Jamur Endofit dari Biji Pinang	41
3.4.4 Pemurnian Jamur Endofit.....	42
3.4.5 Identifikasi Isolat Jamur Endofit.....	42

3.4.6 Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antibakteri	43
a. Produktifitas Metabolit Antibakteri.....	43
b. Uji Antibakteri terhadap <i>V. cholerae</i> dan <i>S. aureus</i>	43

BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Jamur Endofit dari Biji Pinang.....	45
4.1.1 Isolat Jamur Endofit dari Biji Pinang Dataran Tinggi (DT)	46
4.1.2 Isolat Jamur Endofit dari Biji Pinang Dataran Rendah (DR).....	51
4.2 Uji Aktivitas Metabolit Namur Endofit dari Biji Pinang terhadap Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	56

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	65
5.2 Saran	65

DAFTAR PUSTAKA	67
-----------------------------	----

LAMPIRAN



ABSTRAK

Alim, Ahmad Syahirul. 2008. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Pinang (*Areca catechu* L.) sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Dosen Pembimbing: Dr. Dra. Ulfah Utami, M. Si dan Ahmad Barizi, MA

Kata Kunci: Jamur endofit, biji pinang (*Areca catechu* L.), *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*

Diare adalah suatu gejala klinis dan gangguan saluran pencernaan (usus) yang salah satunya disebabkan oleh bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*. Penggunaan tanaman obat dengan cara mengambil bagian atau keseluruhan dari tanaman induknya secara terus-menerus dikhawatirkan akan mengurangi bahkan memusnahkan sumberdaya hayati yang tersedia. Satu-satu upaya untuk mengatasi kendala tersebut antara lain dengan ditemukannya jamur endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman yang mampu memproduksi metabolit sekunder yang mempunyai karakteristik sama dengan tanaman inangnya. Di dalam Al-Qur'an, mikroba endofit (jamur/bakteri endofit) diartikan sebagai makhluk yang ukurannya lebih kecil dibanding nyamuk. Makna tersebut terkandung dalam Al-Qur'an yang artinya, "Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu....."(Q.S Al-Baqarah/2: 26). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi jamur endofit dari biji pinang yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang pada bulan Juni sampai Agustus 2008. Metode yang digunakan adalah metode eksplorasi. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi jamur endofit dari biji pinang yang diperoleh dari dua tempat yaitu Kelurahan Pamaroh Kecamatan Kadur (dataran tinggi) dan Kelurahan Polagan Kecamatan Galis (dataran rendah), Kabupaten Pamekasan yang kemudian dilakukan identifikasi terhadap jamur endofit yang tumbuh. Produksi metabolit sekunder jamur endofit diperoleh dengan metode fermentasi dan diuji aktivitasnya terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dengan menggunakan metode difusi agar (*Kirby-Bauer*). Bakteri uji yang digunakan diperoleh dari Lab. Mikrobiologi UIN Malang dan Lab. Mikrobiologi Kedokteran Universitas Brawijaya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 7 isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari biji pinang (*A. catechu* L.), yaitu 4 isolat jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi dan 3 isolat jamur endofit dari biji pinang dataran rendah. Hasil uji 7 isolat jamur endofit, ditemukan 7 (100%) isolat jamur endofit mempunyai potensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *V. cholerae* dan 5 (71,4%) isolat jamur endofit memiliki potensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Al-Qur'an merupakan sumber ilmu pengetahuan yang memberikan banyak sekali informasi bagi manusia, seperti tanaman obat. Di dalam Al-Qur'an dijelaskan bahwa masih banyak lagi jenis tanaman obat lainnya yang banyak memberikan manfaat bagi manusia seperti kandungan kimia dari tanaman yang dapat mengobati penyakit diare yang menunjukkan tanda-tanda kekuasaan Allah. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Asy-Syu'araa ayat 7-8:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah dan kebanyakan mereka tidak beriman”. (QS. Asy-Syu'araa: 7-8)

Makna “*A walam yaraw ilâ al-ardh kam ambatnâ fihâ min kulli zawji karîm*”, adalah apakah mereka terus-menerus mengingkari Allah, mendustakan Rasul-Nya, tidak mau memahami tanda-tanda kebesaran Allah yang ada di alam ini. Misalnya, bagaimana Allah menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang beraneka-ragam, yang semuanya menunjuk kepada keagungan Allah dan kekuasaan-Nya (Shiddieqy, 2000).

Selanjutnya, Shiddieqy (2000), menjelaskan makna dari “*Inna fi dzâlika la'âyah wa mâ kâna aktsaruhum mu'minîn*” adalah bahwa di dalam penciptaan tumbuh-tumbuhan yang sangat indah ini terdapat tanda-tanda (fenomena) yang menunjuk kepada adanya Sang Pencipta yang Maha Kuasa dan menunjuk kepada kebangkitan di hari akhir nanti. Allah menumbuhkan tanaman atau tumbuhan dari tanah yang kering adalah merupakan bukti bahwa Dia juga berkuasa membangkitkan kembali semua makhluk dari kubur-kuburnya. Hanya saja, kebanyakan manusia tidak memikirkan hal itu, lalu dengan gampang mendustakan Allah, Rasul, dan kitab-kitab-Nya.

Dari sekian banyak jenis tumbuh-tumbuhan, seperti tumbuhan pinang yang dijelaskan dalam Q.S. Asy-Syu'araa ayat 7-8, ada sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini. Masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur. Sehingga apabila endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil sebagai bahan baku obat (Radji, 2008).

Penggunaan tanaman obat dengan cara mengambil bagian atau keseluruhan dari tanaman induknya secara terus-menerus dikhawatirkan akan mengurangi bahkan memusnahkan sumberdaya hayati yang tersedia disebabkan karena adanya kendala dalam budidayanya. Bahkan disinyalir bahwa bahan tanaman obat yang diproduksi dan diedarkan di Indonesia saat ini sebagian besar bahan bakunya sudah mulai diimpor dari beberapa negara lain (Radji, 2008).

Memelihara sumber daya hayati yang ada tanpa merusaknya merupakan tanggung jawab manusia sebagai khalifah di muka bumi ini. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-A'raaf: 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (Tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”. (QS. Al-A'raaf: 56)

Ayat di atas menyatakan bahwa Allah SWT melarang manusia merusak bahkan memusnahkan sumber daya hayati yang ada. Karena sesungguhnya alam raya telah diciptakan Allah swt. dalam keadaan yang sangat harmonis, serasi, dan memenuhi kebutuhan makhluk. Allah telah menjadikannya baik, bahkan memerintahkan hamba-hamba-Nya untuk memperbaikinya (Shihab, 2002).

Maksud dari kata “*Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik*” adalah bahwa dengan ketaqwaan kepada Allah yang dalam hal ini kita sebagai khalifah di bumi harus melestarikan makhluk ciptaan Allah di bumi, seperti dalam bentuk reboisasi. Karena merusak setelah diperbaiki, jauh lebih buruk daripada merusaknya sebelum diperbaiki, atau pada saat dia buruk. Karena itu, ayat ini secara tegas menggaris bawahi larangan tersebut, walaupun tentunya memperparah kerusakan atau merusak yang baik juga amat tercela (Shihab, 2002).

Selain itu, maksud dari kata “*Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik*” adalah bahwa dengan melestarikan

mahluk ciptaan Allah di bumi yang salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan, banyak manfaat yang bisa diambil pada tumbuh-tumbuhan, seperti senyawa kimia (metabolit sekunder) dan fungi/jamur endofit yang merupakan karunia Allah swt.

Metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat tanaman obat mengandung senyawa bioaktif sebagai bahan dasar antimikroba yang diperoleh dari jaringan tanaman baik itu batang, biji, daun, akar, dan kulit pohon. Allah SWT telah menciptakan dan menghidupkan senyawa bioaktif tersebut melalui mikroba endofit yang juga tumbuh bersama-sama dengan tanaman inangnya. Sehingga senyawa metabolit tersebut bisa bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia dan makhluk ciptaan Allah lainnya. Dalam Q.S Ar Ruum: 19, Allah SWT berfirman:

تُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَيُحْيِي الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا
وَكَذَلِكَ نُخْرِجُكَ

Artinya : “ Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup dan menghidupkan bumi sesudah matinya. Dan seperti itulah kamu akan dikeluarkan (dari kubur) ”.

Ayat ini dapat dipahami bahwa siklus kehidupan dan kematian merupakan rahasia keajaiban alam dan rahasia kehidupan. Ciri utama siklus itu adalah bahwa zat-zat hidrogen, karbon dioksida, nitrogen, dan garam yang non organik di bumi, berubah menjadi zat-zat organik yang merupakan bahan kehidupan bagi hewan dan tumbuh-tumbuhan berkat bantuan sinar matahari. Selanjutnya zat-zat itu kembali mati dalam bentuk kotoran makhluk hidup dan dalam bentuk tubuh yang aus karena faktor disolusi bakteri dan kimia, yang mengubahnya menjadi zat non organik untuk memasuki siklus kehidupan baru. Begitulah Sang Pencipta

mengeluarkan kehidupan dari kematian dan mengeluarkan kematian dari kehidupan di setiap saat. Siklus ini terus berputar dan hanya terjadi pada makhluk yang diberi kehidupan (Shihab, 2002).

Fenomena ini juga terjadi pada proses isolasi fungi/jamur endofit dari jaringan tumbuhan. Fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Fungi ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika (Carrol, 1988 ; Clay, 1988) dalam (Worang, 2003).

Mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi/jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan aktinomisetes. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berpotensi sebagai antibiotik disebabkan karena aktivitasnya yang besar dalam membunuh mikroba patogen. Disamping mampu menghasilkan senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya (Prihatiningtias, 2008).

Mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan obat akan memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan

menggunakan proses fermentasi. 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, 2008).

Biji pinang (*Areca catechu*) mengandung senyawa tanin, dan beberapa alkaloid seperti arekolin, guavasin, guakolin, arekain. Larutan tanin dapat digunakan untuk proses penyamakan. Tanin tidak hanya berefek untuk pengelat tapi juga digunakan untuk perlindungan karena mempunyai daya antiseptik. Tanin digunakan juga untuk pengobatan luka bakar dengan cara mempresipitasikan protein dan karena ada daya antibakterinya (Masduki, 1996).

Kandungan metabolit sekunder dalam biji pinang dapat mengobati cacingan, perut kembung, bengkak karena retensi cairan (edema), rasa penuh di dada, luka, batuk berdahak, diare, terlambat haid, keputihan, beri-beri, malaria dan memperkecil pupil mata (miosis) pada glaucoma (Yuniarti, 2008).

Di Indonesia penyakit diare (mencret) masih merupakan masalah di bidang kesehatan terutama di daerah pedesaan. Angka kesakitan penduduk sekitar 15–43% tiap tahun. Dari jumlah tersebut 60–80% diderita oleh anak balita. Angka kematian yang disebabkan oleh diare mengalami penurunan dari 12,4% (1986) menjadi 7,5% (1992), dan urutan penyebab kematian karena infeksi menduduki urutan ke-3 setelah penyakit tuberculosis dan infeksi saluran nafas. Menurut daftar kunjungan ke Puskesmas/Balai Pengobatan, angka kunjungan karena penyakit tersebut menduduki urutan ke 3. Dan hasil survai penggunaan obat tradisional di

Kalimantan Timur penyakit diare termasuk yang sering dikeluhkan oleh masyarakat (Winarno dan Sundari, 1996).

Diare adalah suatu gejala klinis dan gangguan saluran pencernaan (usus) yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi defekasi lebih dan biasanya (berulang-ulang), disertai adanya perubahan bentuk dan konsistensi dan faeses menjadi lembek atau cair (Winarno dan Sundari, 1996).

Upaya pengobatan penderita diare sebagian besar adalah dengan terapi rehidrasi atau dengan pemberian oralit untuk mengganti cairan tubuh yang hilang akibat adanya dehidrasi, karena sebagian terbesar penyakit diare pada golongan balita disebabkan oleh Rotavirus yang bersifat *self limiting*. Tetapi sekitar 10% s/d 20% penyakit diare memerlukan terapi antibiotika, yaitu diare yang disebabkan oleh infeksi *V. cholera*, *Salmonella*, *Shigella*, ETEC dan *Campylobacter*. Masalah yang timbul dalam kaitannya dengan antibiotik adalah adanya kuman yang resisten terhadap antibiotik. Perkembangan resistensi ini dipercepat akibat penggunaan antibiotik yang tidak terarah. Oleh karena itu *surveillance* resistensi kuman terhadap antibiotik perlu dilakukan untuk menentukan kebijakan pemakaian antibiotik secara rasional (Triatmodjo, 1996).

Hasil penelitian sebelumnya terhadap penyakit diare menunjukkan bahwa sediaan infusa dan ekstrak biji pinang mempunyai daya antibakteri terhadap *S. aureus* dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (Masduki, 1996).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk mengisolasi mikroba endofit khususnya jamur endofit dari biji pinang (*A. catechu* L.) dan melakukan seleksi isolat jamur endofit yang mempunyai kemampuan

menghasilkan senyawa aktif sebagai antibakteri *V. cholera* dan *S. aureus* penyebab penyakit diare.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dirumuskan masalah yang perlu diteliti, yaitu:

- 1.2.1 Apakah jamur endofit dapat ditemukan dari jaringan biji pinang (*A. catechu* L.)?
- 1.2.2 Apakah senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan jamur endofit dari biji pinang (*A. catechu* L.) mempunyai kemampuan sebagai antibakteri terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- 1.3.1 Untuk mengetahui keberadaan jamur endofit pada jaringan biji pinang (*A. catechu* L.).
- 1.3.2 Untuk mengetahui kemampuan metabolit sekunder jamur endofit dari jaringan biji pinang (*A. catechu* L.) sebagai antibakteri terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

- 1.4.1 Memberikan informasi tentang keberadaan jamur endofit pada biji pinang (*A. catechu* L.).
- 1.4.2 Memperbanyak pengetahuan di bidang mikrobiologi atau bidang lainnya, khususnya jamur endofit yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.
- 1.4.3 Senyawa antibakteri yang didapat, diharapkan nantinya dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*.

1.5 Batasan Masalah

Untuk mendapatkan penelitian yang lebih terarah, maka penelitian ini perlu dibatasi sebagai berikut:

- 1.5.1 Jamur endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari biji pinang (*A. catechu* L.) tua dan tidak kering yang diperoleh dari dua tempat, yaitu Kelurahan Pamaroh Kecamatan Kadur (dataran tinggi) dan Kelurahan Polagan Kecamatan Galis (dataran rendah) Kabupaten Pamekasan.
- 1.5.2 Biakan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya.
- 1.5.3 Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat/jernih yang tumbuh di sekitar paper disk.

- 1.5.4 Senyawa antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari hasil metabolit jamur endofit.
- 1.5.5 Pada pengujian aktivitas antibakteri, peneliti tidak memperhitungkan kadar konsentrasi dari senyawa antibakteri tersebut.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tentang Tanaman Pinang (*A. catechu* L.)

Tanaman pinang yang merupakan salah satu dari jenis tanaman obat banyak memberikan manfaat bagi manusia yang menunjukkan tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Asy-Syu'araa ayat 7-8:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah dan kebanyakan mereka tidak beriman”. (QS. Asy-Syu'araa: 7-8)

Ayat 7 dan 8 di atas mengandung pengertian bahwa dalam penciptaan tumbuh-tumbuhan terdapat tanda yang besar dan pelajaran yang tinggi, yang menunjukkan kepada hal-hal yang wajib kita imani. Hanya sayangnya kebanyakan manusia tidak mau beriman, mereka terus-menerus berada dalam kekafiran dan kesesatan (Shiddieqy, 2000).

Salah satu bentuk renungan terhadap makhluk ciptaan Allah adalah dengan memperhatikan tumbuhan pinang. Pinang adalah sejenis palma yang tumbuh di daerah Pasifik, Asia dan Afrika bagian timur. Di Jawa, pinang tumbuh hingga ketinggian 1.400 m dpl. Pinang (*A. catechu* L.) memiliki batang yang langsing,

tumbuh tegak setinggi 10 – 30 m. daunnya menyirip dan tumbuh berkelompok di ujung batang pohon. Buahnya berbentuk bulat telur sebesar telur ayam kampung dan memiliki daging buah berserabut seperti kelapa. Bijinya tunggal, terletak di dalam buah (Redaksi AgroMedia, 2007).

Pohon pinang berbatang langsing, tumbuh tegak, tinggi 10-30 m, diameter 15-20 cm, tidak bercabang dengan bekas daun yang lepas. Daun majemuk menyirip tumbuh berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. Pelepah daun berbentuk tabung, panjang 80 cm, tangkai daun pendek. Panjang helaian daun 1-1,8 m, anak daun mempunyai panjang 85 cm, lebar 5 cm, dengan ujung sobek dan bergigi. Tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap. Ada 1 bunga betina pada pangkal, di atasnya banyak bunga jantan tersusun dalam 2 baris yang tertancap dalam alur. Bunga jantan panjang 4 mm, putih kuning, benang sari 6. Bunga betina panjang sekitar 1,5 cm, hijau, bakal buah beruang satu. Buahnya buah buni, bulat telur sungsang memanjang, panjang 3,5-7 cm, dinding buah berserabut, bila masak warnanya merah oranye. Biji satu, bentuknya seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda (Hapsoh dan Rahmawati, 2008).

Yuniarti (2008), melaporkan bahwa biji pinang dapat mengobati penyakit cacingan (taeniasis, fasciolopsiasis), perut kembung akibat gangguan pencernaan, bengkak karena retensi cairan (edema), rasa penuh di dada, luka batuk berdahak,

diare, terlambat haid, keputihan, beri-beri, edema, malaria dan memperkecil pupil mata (miosis) pada glaucoma.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Pinang (*A. catechu L.*)

Menurut Hapsah dan Rahmawati (2008), kedudukan tanaman pinang dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Class : Monocotyledonae
Ordo : Arecales
Family : Arecaceae (Palmae)
Genus : Areca
Species : *Areca catechu L.*

2.1.2 Manfaat Biji Pinang (*A. catechu*)

Berdasarkan penelitian Winarno dan Sundari (1996), dari berbagai pustaka tercatat 117 tanaman yang secara empiris digunakan oleh masyarakat di berbagai daerah untuk obat diare, salah satunya adalah tanaman pinang. Di mana dalam penelitian Winarno dan Sundari pemanfaatan biji pinang untuk obat diare adalah dilakukan dengan cara oral.

Selain itu biji pinang juga dapat mengobati cacingan, perut kembung, bengkak karena retensi cairan (edema), rasa penuh di dada, luka, batuk berdahak,

diare, terlambat haid, keputihan, beri-beri, malaria dan memperkecil pupil mata (miosis) pada glaucoma (Yuniarti, 2008).

2.1.3 Kandungan Kimia Biji Pinang (*A. catechu* L.)

Kandungan kimia biji pinang yang merupakan butir-butir kecil yang tumbuh dalam sistem jaringan tumbuhan, ternyata sudah diterangkan dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 95.

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۗ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ فَآنِي تُؤَفَّفُونَ ﴾

Artinya: "Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?" (Al-An'am: 95).

Maksud dari kalimat "...Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup..." adalah hanya Allah yang dapat menciptakan kejadian ini. Hanya Allah yang dapat menyiapkan makhluk hidup untuk mengubah atom-atom mati menjadi sel-sel yang hidup. Hanya Allah yang mampu mengubah sel-sel hidup sekali lagi menjadi atom-atom mati. Hal itu dalam siklus yang tidak ada seorang pun mengetahuinya sejak kapan dimulai dan bagaimana bisa terjadi. Sementara yang bisa disimpulkan manusia hanyalah hipotesis, teori, dan probabilitas semata (Quthb, 2002).

Al-Qur'an secara tegas menyebutkan bahwa masalah menciptakan tumbuh-tumbuhan dan menghidupkan sesuatu yang mati adalah bagian dari

kekuasaan Allah SWT. Dalam bioteknologi, hal ini juga terbukti. Bioteknologi tidak dapat menciptakan cendawan atau jamur untuk membuat antibiotika misalnya, tetapi hanya mampu memanfaatkannya. Caranya, baik dengan teknologi DNA rekombinan, ataupun melalui cara konvensional, yakni seleksi tumbuhan (Bakry;Sukri dan Auskary, 1996).

Butir tumbuh-tumbuhan yang dimaksud dalam Al-Qur'an adalah kandungan senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan yang dalam hal ini adalah kandungan senyawa kimia dari tumbuhan pinang. Hapsah dan Rahmawati (2008), menjelaskan bahwa biji pinang mengandung 0,3-0,6% alkaloid, seperti Arekolin, arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasine. Selain itu juga mengandung red tanin 15%, lemak 14% (palmitic, oleic, stearic, caproic, caprylic, lauric, myristic acid), kanji dan resin. Biji segar mengandung kira-kira 50% lebih banyak alkaloid, dibandingkan biji yang telah diproses.

Menurut Masduki (1996), kandungan zat kimianya adalah sejumlah alkaloid turunan yuridin yaitu arekolin (*arecaidine methyl ester*), dan guvakoline (*guvacine methyl ester*). total alkaloid berkisar di atas 1,45%. Arekolin merupakan alkaloid yang paling aktif. Biji pinang juga mengandung tanin sekitar 15%. Menurut tim redaksi AgroMedia (2007), bagian tanaman yang digunakan untuk obat adalah bijinya yang mengandung beberapa zat aktif seperti alkaloid arekolina, arekolidina, arekaina, guva-kolina, guvasina, kolin dan tannin. Alkaloid merupakan racun bagi beberapa spesies cacing parasit. Khasiatnya untuk mengobati sakit perut, mencret, cacingan, cacar, kudis, dan borok. Namun, bila diminum dalam dosis tinggi, pinang dapat mematikan sperma.

Arekolin bersifat sebagai sitotoksik kuat. Secara *in vitro* (dalam tabung reaksi), penggunaan arekolin dengan konsentrasi 0,042 mM (milimol) mengakibatkan penurunan daya hidup sel serta penurunan kecepatan sintesis DNA dan protein. Arekolin juga menyebabkan terjadinya kegagalan glutathione, yaitu sejenis enzim yang berfungsi melindungi sel dari efek merugikan (Agusta, 2001).

Biji pinang juga mengandung senyawa golongan fenolik dalam jumlah relatif tinggi. Selama proses pengunyahan biji pinang di mulut, spesies oksigen reaktif (radikal bebas) akan terbentuk dari senyawa fenolik itu. Adanya kapur sirih yang menciptakan kondisi pH alkali akan lebih merangsang pembentukan oksigen reaktif itu. Oksigen reaktif inilah salah satu penyebab terjadinya kerusakan DNA atau genetik sel epitelial dalam mulut (Agusta, 2001).

2.2 Tumbuhan Sebagai Penghasil Metabolit Sekunder

Tanaman obat telah memberikan sumbangan sangat penting terhadap dunia kesehatan baik secara individual maupun kolektif. Tanaman obat mengandung bahan aktif penting terutama dari senyawa metabolit sekunder dengan struktur-rstruktur yang unik dan bervariasi, yang dikembangkan lebih jauh dengan meninjau hubungan gugus aktif senyawa dengan reseptor penyakit dalam tubuh. Senyawa bahan alam dalam tanaman telah menyumbang sekitar 40% dari bahan obat. Beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat bioaktif diantaranya alkaloida, tannin, flavonoid, dan fenolik (Edeoga, 2005).

Metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat tanaman obat mengandung senyawa bioaktif sebagai bahan dasar antimikroba yang diperoleh dari jaringan tumbuhan baik itu batang, biji, daun, akar, dan kulit pohon. Allah SWT telah

menciptakan dan menghidupkan senyawa bioaktif tersebut melalui mikroba endofit yang juga tumbuh bersama-sama dengan senyawa yang terkandung di dalam jaringan tumbuhan. Sehingga senyawa metabolit sekunder bisa bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia dan makhluk ciptaan Allah lainnya.

Dalam Q.S Ar -Ruum: 19, Allah SWT berfirman:

تُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَتُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَتُحْيِي الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَكَذَلِكَ نُخْرِجُكُمْ

Artinya : “ Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup dan menghidupkan bumi sesudah matinya. Dan seperti itulah kamu akan dikeluarkan (dari kubur) ”.

Penggunaan bentuk *mudhari'/present tense* pada kata *yukhrij/mengeluarkan* yang mendampingi kata *al-hayy/yang hidup* atau *al-mayyit/yang mati*, mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan secara terus menerus, tidak berhenti di bumi dan di angkasa. Bahkan proses kehidupan dan kematian bukan saja terlihat pada tumbuh-tumbuhan, tetapi juga antar sesama manusia, bahkan pada diri seorang manusia. Di sini Yang Maha Kuasa itu memperingatkan kita, agar menyadari bahwa demikianlah kehidupan dan kematian, dan demikian itu pula kelak kita akan dibangkitkan setelah kematian (Shihab, 2002).

Bukti kekuasaan Allah dalam hal ini adalah adanya sejumlah program pemeriksaan (*screening*) senyawa-senyawa bioaktif telah dilakukan untuk mendapatkan desain obat baru, misalnya *taxol*, senyawa yang diekstraksi dari kulit kayu di hutan Pasifik, digunakan untuk menangani berbagai jenis kanker.

Senyawa golongan terpenoid seperti mentol, kandungan utama minyak atsiri dari tanaman *Mentha arvensis* mempunyai fungsi fisiologis sebagai bahan anestetik lokal disamping memberikan *refreshing effect*. Triterpenoid seperti *protopanaxadiol* merupakan zat aktif dalam obat tradisional Cina, *Panax ginseng*. Steroida, bentuk lain dari golongan terpenoid, mempunyai aktivitas hormonal yang berkaitan dengan seksualitas dan reproduksi. Vitamin D, salah satu contoh terpenoid, berfungsi mengontrol gastrointestinal kalsium, absorpsi fosfat, dan meningkatkan mineralisasi tulang (Hanson, 2003). Kebanyakan flavonoid aktif sebagai antioksidan dan memberikan fungsi penangkapan radikal secara efektif. Senyawa alkaloid mempunyai sifat *neuroactive* sehingga sering digunakan untuk menangani penyakit Alzheimer dan Parkinson (Carrillo, *et al*, 1997).

Menurut Edeoga (2005), secara umum kandungan metabolit sekunder dalam bahan alam hayati dikelompokkan berdasarkan sifat dan reaksi khas suatu metabolit sekunder dengan pereaksi tertentu. Atas dasar ini kandungan metabolit sekunder dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Alkaloida, golongan senyawa yang mengandung nitrogen dalam bentuk gugus amina, baik primer, sekunder, tersier maupun kuarterner
2. Terpenoida/steroida, golongan senyawa turunan asam mevalonat dengan satuan-satuan isoprene
3. Flavonoid, golongan senyawa fenil propanoid dengan kerangka karbon C₆-C₃-C₆
4. Fenolik, golongan senyawa aromatik dengan substituen gugus hidroksil
5. Saponin, golongan senyawa dalam bentuk glikosida terpenoida/steroida

6. Kumarin, golongan senyawa fenil propanoid dengan kerangka sinamat dasar C₆-C₃
7. Kuinon

Disamping golongan senyawa yang telah disebutkan, masih banyak lagi kandungan metabolit sekunder lainnya yang tidak mudah dideteksi keberadaannya dalam contoh bahan alam hayati, kecuali setelah diisolasi, dimurnikan, dan dikarakterisasi strukturnya secara spektroskopi. Uji fitokimia kandungan metabolit sekunder dalam sampel bahan alam hayati dapat dilakukan langsung di lapangan maupun setelah sampel dibawa ke laboratorium. Uji lapangan relatif sederhana, cepat tetapi tidak begitu akurat. Uji lapangan ini mencakup pemeriksaan alkaloid, terpenoid/steroid, flavonoid, fenolik, dan saponin.

2.3 Mikroba Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif

Selain mengkaji sumberdaya tumbuhan, Islam juga menganjurkan manusia untuk mengkaji sumberdaya hewan seperti mikroba atau hewan yang ukurannya sangat kecil dan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26.

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا

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

Menurut Hawwa (2000), mengatakan bahwa lafadz *famâ fauqohâ* (“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.

Adapun hewan yang melebihi nyamuk, atau yang lebih kecil dibanding nyamuk, antara lain adalah 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 tidak sia-sia. Mikroba ada yang merugikan, tetapi juga ada yang menguntungkan yaitu salah satunya mikroba endofit yang hidup pada jaringan tanaman dan dapat menghasilkan zat antibiotik yang sangat berguna sebagai obat.

Mikroba endofit sebagai anggota golongan mikroba memiliki arti penting dalam pencarian antibiotik baru. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tumbuhan inangnya. Hubungan antara mikroba endofit dan tumbuhan inangnya merupakan suatu bentuk hubungan simbiosis mutualisme, yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan inangnya, sebaliknya tumbuhan inang memperoleh proteksi terhadap patogen tumbuhan dari senyawa yang dihasilkan mikroba endofit (Prihatiningtias, 2008).

Prihatiningtias (2006) dalam Haniah (2008), menjelaskan bahwa mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi/jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan aktinomisetes. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berpotensi sebagai antibiotik disebabkan karena aktivitasnya yang besar dalam

membunuh mikroba-mikroba patogen. Disamping mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya.

Mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan obat akan memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan menggunakan proses fermentasi. 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).

Menurut Radji (2005) dalam Haniah (2008), dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur. Sehingga apabila endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia, yang kemungkinan besar memerlukan puluhan tahun untuk dapat dipanen. Berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman

inangnya, dan telah berhasil dibiakkan dalam media perbenihan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya.

2.4 Bahan Antimikroba

Bahan antimikroba diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba (Pelczar dan Chan, 1988). Dalam penggunaan umum istilah antimikroba merupakan bahan penghambat pertumbuhan mikroorganisme, bila digunakan dalam menghambat kelompok organisme khusus maka sering digunakan istilah seperti antibakterial atau antifungal. Antimikroba merupakan komposisi kimia yang berkemampuan dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroorganisme (Utami, 2008).

Pemakaian bahan antimikroba merupakan suatu usaha untuk mengendalikan mikroorganisme dengan tujuan mencegah penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, serta mencegah pembusukan dan kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Pelczar dan Chan, 1988).

Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan oleh mikroba-mikroba tertentu, dan dalam jumlah yang sangat kecil dapat membunuh mikroba penyebab penyakit (mikroba patogen). Namun sekarang banyak dijumpai mikroba patogen yang sudah mengalami resistensi/kekebalan terhadap antibiotik yang telah ada dan biasa digunakan untuk mengobati penyakit. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya penggunaan antibiotik yang berlebihan atau penggunaan

antibiotik dengan dosis yang kurang tepat di masyarakat. Untuk mengatasi hal tersebut, diperlukan antibiotik baru yang dapat membunuh mikroba-mikroba patogen secara efektif (Prihatiningtias, 2008).

Menurut Pelczar (1986), obat antimikroba sebaiknya mempunyai sifat-sifat sebagai berikut:

- a. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes
- b. Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik
- c. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman
- d. Berspektrum luas
- e. Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama
- f. Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh
- g. Larut di dalam air dan stabil
- h. Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan dalam waktu lama.

Volk dan Wheeler (1993) mengatakan bahwa pada dasarnya mekanisme kerja bahan antimikroba adalah mempengaruhi bagian sel yang vital dari mikroba seperti membran sitoplasma, enzim-enzim dan protein struktural.

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

a. 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 lapisan 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 dengan mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Selanjutnya dijelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi bahan antimikroba akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti.

b. 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 (Pelezar dan Chan, 1988). Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut.

c. Merubah permeabilitas sel

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

d. Menghambat kerja enzim

Di dalam sel terdapat enzim protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lain, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif 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.

e. Menghambat sintesis DNA, RNA, dan protein

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

2.4.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Zat Antimikroba

Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja zat antimikroba harus diperhatikan guna keefektifan penggunaan zat antimikroba tersebut. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba, diantaranya adalah: umur bakteri, konsentrasi zat antimikroba, suhu, kandungan bahan antimikroba, dan sebagainya.

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba menurut Pelzar (1988) adalah sebagai berikut:

a. **Konsentrasi atau intensitas zat antimikroba**

Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba semakin tinggi zat antimikrobanya, artinya banyak bakteri akan terbunuh lebih cepat bila konsentrasi zat tersebut lebih tinggi.

b. **Jumlah organisme**

Semakin banyak jumlah organisme yang ada makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya.

c. **Suhu**

Kenaikan suhu yang besar dapat menaikkan keefektifan suatu desinfektan atau bahan mikrobial lain. Hal ini disebabkan karena zat kimia merusak

mikroorganisme melalui reaksi kimia. Dan reaksi kimia dipercepat dengan meningkatkan suhu.

d. Spesies mikroorganisme

Spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu bahan kimia tertentu.

e. Adanya bahan organik

Adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antimikrobia dengan cara menginaktifkan bahan kimia tersebut. Adanya bahan organik dalam campuran zat antimikrobia dapat mengakibatkan

- 1) Penggabungan zat antimikrobia dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antimikrobia.
- 2) Penggabungan zat antimikrobia dengan bahan organik menghasilkan suatu endapan sehingga antimikrobia tidak mungkin lagi mengikat mikroorganisme
- 3) Akumulasi bahan organik pada permukaan sel mikroba menjadi suatu pelindung yang akan mengganggu kontak antara zat antimikrobia dengan sel.

f. Keasaman atau kebasaan (pH)

Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi pada suhu dalam waktu yang singkat bila dibanding pada pH basa.

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan antimikroba. Hal ini disebabkan dengan meningkatnya suhu akan dapat mempercepat laju reaksi kimia, sehingga akan semakin cepat pula zat tersebut

untuk merusak mikroba. Sedangkan adanya kandungan bahan organik akan dapat menghambat atau menurunkan keefektifan zat antimikroba, yang mengakibatkan kemampuan bahan antimikroba menjadi lemah. Disamping itu, pH dan spesies mikroba juga berpengaruh terhadap keefektifan kerja zat antimikroba.

2.4.2 Pengujian Aktivitas Bahan Antimikroba

Dart (1996) dalam Zainurahman (2005), menjelaskan bahwa pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada anti bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal sebagai aktifitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri, dikenal sebagai aktifitas bakteriosidal.

Menurut Tortora *et al.*, (2001) dalam Utami (2008), pengujian aktivitas 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 mikroba 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 di sekeliling kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Bakteri yang sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan di sekitar cakram, sedangkan bakteri yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram.

2.5 Fungi Endofit

Fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Fungi ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan

mikotoksin, enzim serta antibiotika (Carrol, 1988 ; Clay, 1988) dalam (Worang, 2003).

Keberadaan jamur endofit sebenarnya sudah dijelaskan dalam Al- Qur'an. Allah SWT berfirman dalam Q.S. Ar -Ruum ayat 19.

تُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَتُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَتُحْيِي الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَكَذَلِكَ تُخْرِجُونَ ﴿١٩﴾

Artinya : “ Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup dan menghidupkan bumi sesudah matinya. Dan seperti itulah kamu akan dikeluarkan (dari kubur) ”.

Penggunaan bentuk *mudhari'/present tense* pada kata *yukhrij/mengeluarkan* yang mendampingi kata *al-hayy/yang hidup* dan *al-mayyit/yang mati*, mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan secara terus menerus, tidak berhenti di bumi dan di angkasa. Bahkan proses kehidupan dan kematian bukan saja terlihat pada tumbuh-tumbuhan , tetapi juga antar sesama manusia, bahkan pada diri seorang manusia. Di sini Yang Maha Kuasa itu memperingatkan kita, agar menyadari bahwa demikianlah kehidupan dan kematian, dan demikian itu pula kelak kita akan dibangkitkan setelah kematian (Shihab, 2002).

Penjelasan ayat 19 di atas juga menjelaskan keberadaan mikroba endofit yang beragam jenisnya. Mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi/jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan aktinomisetes. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berpotensi sebagai antibiotik

disebabkan karena aktivitasnya yang besar dalam membunuh mikroba-mikroba patogen. Disamping mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya (Prihatiningtias, 2006).

Manfaat jamur ternyata telah lama dikenal pada masa Rasulullah saw. Nabi Muhammad saw. bersabda yang artinya ”*Cendawan termasuk anugerah, dan airnya dapat menyembuhkan (sakit) mata.*” (HR. Imam Bukhari). Pernyataan Rasulullah saw. bahwa cendawan adalah anugerah merupakan ungkapan ekspresif bahwa cendawan tumbuh dengan karunia dan anugerah dari Allah SWT. Karena cendawan tidak ditanam maupun dibudidayakan, akan tetapi ia (tumbuh dengan sendirinya) dengan karunia dari Allah. Selain itu, cendawan juga tidak butuh bahan makanan benih atau pengairan. Cendawan juga tidak membutuhkan usaha dan pemeliharaan manusia kecuali hanya ketika mengumpulkannya. Dari sinilah ia kemudian dianggap sebagai anugerah (An-Najjar, 2006).

Mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan obat akan memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan menggunakan proses fermentasi. Disamping hal-hal yang sudah disebutkan di atas, ada keuntungan lain

yang diperoleh, yaitu menjaga kelestarian tumbuhan-tumbuhan obat, terutama yang termasuk jenis tumbuhan langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Adanya isolasi jamur endofit ternyata memberikan keuntungan besar, yaitu dapat terjaganya kelestarian tumbuhan obat. Usaha tersebut merupakan kewajiban bagi manusia untuk menjaga dan melestarikan makhluk ciptaan Allah SWT. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-A'raaf ayat 56.

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ حَوْفًا وَطَمَعًا ۚ إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (Tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”. (QS. Al-A'raaf: 56)

Ayat di atas menginstruksikan kepada manusia untuk tidak berbuat kerusakan di bumi (*walâ tufsidû fî al-ardh ba'da ishlâhihâ*). Artinya, rusak tidaknya alam atau bumi ini sangat bergantung pada manusia. Dan, menurut Al-Qur'an, hanya mereka yang berpredikat baik (*muhsin*) yang mampu menjaga kelestarian alam ini secara baik. Dalam konteks biologi, usaha melestarikan alam atau bumi dikenal dengan reboisasi, atau bisa disebut dengan *ihsan*.

Menurut Shihab (2002), maksud dari kata “Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik” adalah bahwa dengan ketaqwaan kepada Allah yang dalam hal ini kita sebagai khalifah di bumi harus

melestarikan makhluk ciptaan Allah di bumi, seperti dalam bentuk reboisasi (ihsan). Karena merusak setelah diperbaiki, jauh lebih buruk daripada merusaknya sebelum diperbaiki, atau pada saat dia buruk. Karena itu, ayat ini secara tegas menggaris bawahi larangan tersebut, walaupun tentunya memperparah kerusakan atau merusak yang baik juga amat tercela.

Ditinjau dari sisi taksonomi dan ekologi, fungi ini merupakan organisme yang sangat heterogen. Petrini *et al.* (1992) dalam Worang, (2003) menggolongkan fungi endofit dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina. Keragaman pada jasad ini cukup besar seperti pada Loculoascomycetes, Discomycetes, dan Pyrenomycetes. Strobell *et al.* (1996) dalam (Worang, 2003), mengemukakan bahwa fungi endofit meliputi genus *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Monochaetia*, dan lain-lain.

Sedangkan Clay (1988) dalam (Worang, 2003) melaporkan, bahwa fungi endofit dimasukkan dalam famili *Balansiae* yang terdiri dari 5 genus yaitu *Atkinsonella*, *Balansiae*, *Balansiopsis*, *Epichloe* dan *Myriogenospora*. Genus *Balansiae* umumnya dapat menginfeksi tumbuhan tahunan dan hidup secara simbiosis mutualistik dengan tumbuhan inangnya. Dalam simbiosis ini, fungi dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis serta melindungi tumbuhan inang dari serangan penyakit, dan hasil dari fotosintesis dapat digunakan oleh fungi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. (Bacon, 1991 ; Petrini *et al.*, 1992; Rao, 1994) dalam (Worang, 2003).

Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan inangnya, oleh Carrol (1988) dalam (Worang, 2003) digolongkan dalam dua kelompok, yaitu mutualisme konstitutif dan induktif. Mutualisme konstitutif merupakan asosiasi yang erat antara fungi dengan tumbuhan terutama rumput-rumputan. Pada kelompok ini fungi endofit menginfeksi ovula (benih) inang, dan penyebarannya melalui benih serta organ penyerbukan inang. Mutualisme induktif adalah asosiasi antara fungi dengan tumbuhan inang, yang penyebarannya terjadi secara bebas melalui air dan udara. Jenis ini hanya menginfeksi bagian vegetatif inang dan seringkali berada dalam keadaan metabolisme inaktif pada periode yang cukup lama.

2.6 *Vibrio cholerae*

Sifat bakteri bentuk vibrio, Gram negatif, dapat bergerak dengan 1 (satu) flagel kutub, aerob, tidak mampu berbentuk spora (Entjang, 2003). Klasifikasi bakteri *V. cholerae* menurut Anonymous (2008), adalah sebagai berikut:

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Vibrionales

Familia : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio cholerae*

Menurut Entjang (2003), *V. cholerae* tumbuh dengan baik pada agar tiosulfat-sitrat-empedu-sukrosa. Selain itu, bakteri ini mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:

- a. pH optimum 7,8 – 8,2 (alkalis)

b. Bakteri ini cepat mati karena asam

perbenihan khusus untuk bakteri ini adalah perbenihan *Dieudonne* yang mempunyai pH 8,5 – 9,5

perbenihan ini merupakan perbenihan selektif untuk *V. cholera*, karena dengan pH yang sangat tinggi ini bakteri lain akan mati sedangkan *V. cholerae* tidak

c. Pada agar darah bersifat haemodigesti

d. Mengeluarkan exotoxin (entereotoxin)

e. Pada perbenihan padat, koloninya bening seperti embun

Pada perbenihan cair, bakterinya akan lari ke permukaan yang menimbulkan selaput pada permukaan perbenihan dan sifat ini khas untuk *V. cholerae*. Bakteri ini mudah sekali mati di luar tubuh manusia, karena asam, desinfektans maupun sinar matahari. *V. cholerae* dapat hidup dalam air selama 3 (tiga) minggu (Entjang, 2003).

V. cholerae adalah agen kolera yang terkenal keanasannya, dan merupakan salah satu penyakit pencernaan yang paling merusak. Organisme ini mengeluarkan toksin yang menyebabkan diare yang parah (10 - 15 liter/hari) dan kehilangan garam. Sebagaimana penyakit usus lainnya, kolera timbul karena menelan makanan, atau lebih sering lagi, air minum yang dicemari organisme tersebut (Kimball, 1999).

2.7 *Staphylococcus aureus*

S. aureus berasal dari kata "*Staphyle*" yang berarti kumpulan dari anggur dan kata "*aureus*" dalam bahasa latin yang berarti emas. Nama tersebut diberikan berdasarkan bentuk dari sel-sel bakteri tersebut jika dilihat dibawah mikroskop dan warna keemasan yang terbentuk jika bakteri tersebut ditumbuhkan pada permukaan suatu agar (Supardi dan Sukamto, 1999).

Bakteri *S. aureus* menurut Anonymous (2007) dalam Haniah (2008), termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teichoic, sedangkan klasifikasinya adalah sebagai berikut:

Filum	: Firmicutes
Kelas	: Cocci
Ordo	: Bacillales
Familia	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri gram positif menurut Pelczar dan Chan (1986) 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.

Bakteri *S. aureus* pada umumnya membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulase dan dapat memfermentasikan glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik. Bakteri ini bersifat anaerobik sangat lambat. Sel dari bakteri ini berbentuk bulat (kokus) berukuran diameter 0,5–1,5 um, tidak membentuk spora, katalase positif dan biasanya sel-selnya terdapat dalam kelompok seperti buah anggur. Akan tetapi, juga mungkin terdapat secara terpisah (tunggal), membentuk pasangan atau dalam jumlah 4 sel (tetrad). *S. aureus* akan tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim lysozim dan memproduksi enzim fosfatase dan deoksiribonuklease (Supardi dan Sukamto, 1999).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *S. 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. *S. 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).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang yang dimulai pada bulan Juni sampai Agustus 2008.

3.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi. Penelitian eksplorasi dilakukan dengan cara mengisolasi jamur endofit dari biji pinang (*A. catechu* L.) yang diperoleh dari dua tempat yaitu Kelurahan Pamaroh Kecamatan Kadur (dataran tinggi) dan Kelurahan Polagan Kecamatan Galis (dataran rendah), Kabupaten Pamekasan, yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *V. cholerae* dan bakteri *S. aureus* penyebab penyakit diare.

3.3. Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet*, autoklaf, cawan petri, jarum ose, bunsen, kompor listrik, pengaduk kaca, spektrometer, pinset, kertas saring, incubator, aluminium foil, mikroskop, cover glass, gelas obyek, gelas ukur, tabung reaksi, botol media, erlenmeyer, penggaris,

shaker incubator, sentrifugasi, timbangan analitik, silet dan buku kunci identifikasi Barnett (1960).

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media PDASV (*Potato Dextro Agar Streptomycin Vancomycin*), media PDB (*Potato Dextrose Broth*), media NA (*Nutrien Agar*), larutan NaOCl 1%, biji buah pinang, aquades steril, spirtus, kapas, biakan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*, alkohol 70 %, kertas cakram dan tissue.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat dengan aluminium foil, kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

3.4.2. Pembuatan Media

a. Media PDASV, cara pembuatannya sebagai berikut:

1. Menyiapkan bahan yang terdiri dari kentang 200 gram, dextro 20 gram, agar-agar 20 gram, streptomycin 100 ml, vancomycin 50 ml dan aquades steril 1000 ml.
2. Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.

3. Kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi.
 4. Setelah itu menuangkan larutan PDASV tersebut ke dalam cawan petri dengan ketebalan media \pm 5 ml dan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 4 ml (untuk media miring) dan menutupnya dengan kapas, kemudian didiamkan sampai membeku.
 5. Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.
- b. Media PDB (Potato Dextrose Broth), cara pembuatannya sebagai berikut:
1. Menyiapkan bahan yang terdiri dari kentang 200 gram, dextro 20 gram dan aquades steril 1000 ml.
 2. Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
 3. Kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi.
 4. Menuangkan larutan PDB tersebut ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 4 ml dan menutupnya dengan kapas.
 5. Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.
- c. Media NA (Nutrien Agar), cara pembuatannya sebagai berikut:
1. Menyiapkan bahan yang terdiri dari beef ekstrak 3 gram, bacto pepton 5 gram, agar padat 15 gram dan aquades 1000 ml.

2. Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
3. Media miring dan media lempeng disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi.
4. Menuangkan larutan NA tersebut ke dalam cawan petri dengan ketebalan media ± 5 ml, kemudian didiamkan sampai membeku.
5. Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.

3.4.3. Isolasi Jamur Endofit Dari Biji Pinang

Menurut Indriana (2005) dalam Haniah (2008), jamur endofit diisolasi dari biji pinang sehat yang diambil dari biji pinang (*A. catechu* L.) yang tua dan tidak kering yang tumbuh pada dataran tinggi dan dataran rendah. Bagian biji pinang dipotong dan diiris tipis sepanjang ± 1 cm lalu dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Setelah pencucian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan memasukkannya ke dalam larutan alkohol 70 % selama 2 menit, dilanjutkan ke dalam larutan NaOCl 1 % selama 2 menit kemudian dikeringkan dengan tissue steril. Setelah itu dibilas dengan aquadest steril ± 1 menit diulang dua kali, lalu ditempelkan di atas cawan petri yang berisi media PDASV (kontrol steril). Kemudian irisan biji pinang dibelah menjadi dua dan dikeringkan di atas kertas tissue steril dan ditanam pada cawan petri yang berisi media PDASV. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai tampak jamur yang tumbuh. Kemudian jamur endofit tersebut diisolasi dan dimurnikan pada media PDASV baru. Jamur endofit yang

digunakan untuk penelitian adalah jamur yang tumbuh pada belahan biji bagian dalam.

3.4.4. Pemurnian Jamur Endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian jamur endofit yaitu medium PDASV. Jamur endofit yang tumbuh pada medium PDASV, dimurnikan masing-masing pada medium plat dan media miring PDASV. Kemudian diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 25 °C, setelah inkubasi dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDASV. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur lagi pada medium PDASV baru.

3.4.5. Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 25 °C tadi diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara langsung melihat bentuk dan warna koloni jamur endofit. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis dengan cara mengamatinya di bawah mikroskop.

Adapun cara mengidentifikasi jamur adalah sebagai berikut:

1. Media PDA diambil dari cawan petri dengan jarum ose.
2. Potongan media tersebut diletakkan di atas obyek glass.
3. Jamur dari biakan murni diambil dengan jarum ose.
4. Inokulum jamur diletakkan di atas potongan media pada obyek glass.

5. Obyek glass ditutup dengan cover glass kemudian ditekan secara perlahan-lahan.
6. Preparat tersebut diletakkan di atas tissue basah yang diletakkan di atas nampan plastik dan diinkubasikan selama 3-4 hari.
7. Morfologi jamur (bentuk dan ukuran hifa, konidia, spora) yang terbentuk diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.
8. Jamur yang didapat diidentifikasi dengan cara menyocokkan dengan buku kunci identifikasi jamur menurut Barnett (1960).

3.4.6. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antibakteri

a. Produktifitas Metabolit Antibakteri

Produksi metabolit antibakteri oleh jamur endofit dilakukan dengan cara menumbuhkannya di dalam medium PDB. Koloni jamur endofit yang telah diinkubasi pada medium PDA selama 24 jam pada suhu 25 °C, diambil satu sengkeli dengan menggunakan jarum ose dan ditumbuhkan pada medium PDB dalam tabung reaksi pada suhu 25 °C selama 7 hari sampai tampak jamur yang tumbuh. Setelah itu, jamur yang telah tumbuh pada tabung reaksi tersebut digoyang-goyang dengan menggunakan shaker incubator 130 rpm selama 72 jam. Setelah selesai, masing-masing medium disentrifugasi dengan kecepatan 2000 g (3800 rpm) pada suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan diambil dengan konsentrasi tertentu dengan menggunakan alat spektrometer, kemudian dipergunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*.

b. Uji Antibakteri Terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus*

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu medium NA. Uji aktivitas antibakteri metabolit jamur endofit terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan cara mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam supernatan kultur jamur endofit selama 30 menit. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antibakteri (medium plat NA). Kemudian diinkubasi selama 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 ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Jamur Endofit dari Biji Pinang (*A. catechu* L.)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti menemukan beberapa jamur endofit yang tumbuh pada biji pinang (*A. catechu* L.) dengan lokasi dataran tinggi dan dataran rendah yang ditumbuhkan pada medium PDASV, sebagaimana tercantum pada gambar 4.1 dan 4.2. Kelompok jamur endofit tersebut tumbuh dengan baik pada potongan biji pinang bagian dalam. Carrol dan Clay (1988) *dalam* (Worang, 2003), menyatakan bahwa fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Fungi ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika.

Setelah dilakukan proses pemurnian berdasarkan pengamatan ciri-ciri makroskopis, ternyata dihasilkan 4 macam isolat jamur endofit yang tumbuh pada potongan biji pinang dataran tinggi. Sedangkan pada potongan biji pinang dataran rendah didapatkan 3 jenis isolat jamur endofit. Kelompok jamur endofit yang telah dilakukan proses pemurnian merupakan kelompok isolat jamur endofit yang mempunyai warna dan bentuk yang berbeda-beda.

Selanjutnya dari tujuh macam isolat jamur endofit dilakukan identifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis sampai tingkat famili berdasarkan buku kunci identifikasi Barnett (1960).

Tabel 4.1 Hasil Isolasi Jamur Endofit dari Biji Pinang

Daerah Sampel	Jenis Biji Pinang	Jumlah Jamur yang Tumbuh	Kode Isolat
Lokasi Dataran Tinggi	Biji Pinang dengan Dataran Tinggi	4	DT1
			DT2
			DT3
			DT4
Lokasi Dataran Rendah	Biji Pinang dengan Dataran Rendah	3	DR1
			DR2
			DR3

Keterangan: DT = Dataran Tinggi
DR = Dataran Rendah

Morfologi jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi dan dataran rendah dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 4.1 Jamur endofit yang tumbuh dari potongan biji pinang pada media PDASV (Ket: A. Jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi (PDT), B. Jamur endofit dari biji pinang dataran rendah (PDR))

4.1.1 Isolat Jamur Endofit dari Biji Pinang Dataran Tinggi (DT)

1. Isolat DT1

a. Ciri Makroskopis

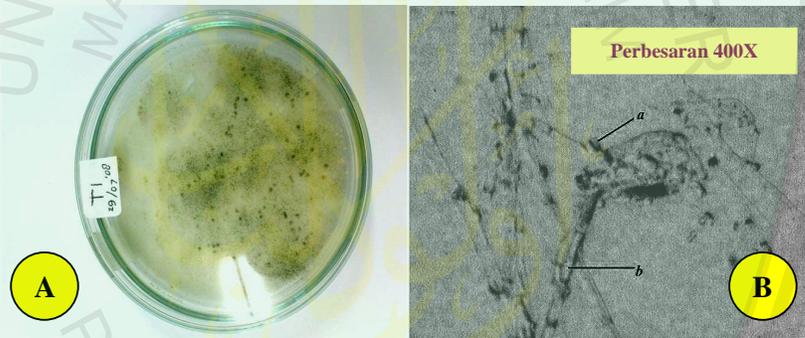
- Tumbuh cepat, dalam waktu 2 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 2 cm pada cawan petri
- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna bintik putih dan menjadi warna putih dengan bintik putih kehijauan dalam waktu 4 hari.

- Koloni seperti beludru, renggang, tebal pada bagian tengah, dan tipis pada bagian tepi.
- Permukaan bawah tampak warna putih keruh yang disertai warna bintik kuning.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia bentuk silindris, hyalin dan 1 sel
- Konidia terbentuk dari hasil segmentasi hifa
- Hifa septat dan bercabang

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DT1 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae genus *Geotrichum* sp.



Gambar 4.2. Isolap DT1
A. Koloni Isolap DT1, B. Foto Mikroskopis Isolap DT1
(Keterangan: a. Konidia, b. Hifa)

2. Isolap DT2

a. Ciri Makroskopis

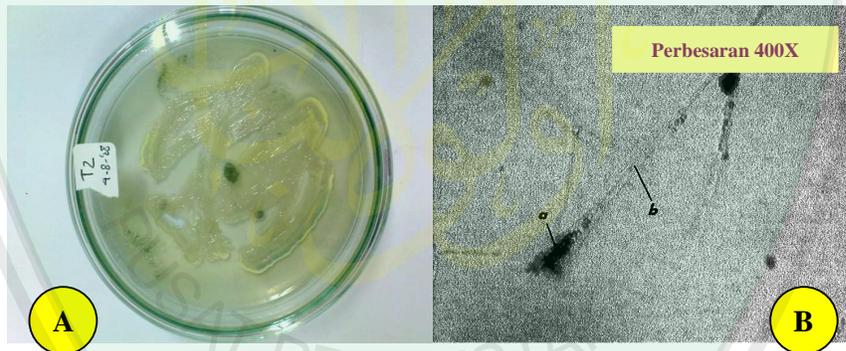
- Tumbuh lama, dalam waktu 5 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 1,5 cm pada cawan petri.

- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna kuning tebal keputih-putihan dengan bagian tengah disertai warna abu-abu kebiruan dan menjadi warna putih keabu-abuan dalam waktu 7 hari.
- Koloni seperti beludru, renggang, kasar.
- Permukaan bawah berwarna kuning cerah.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia gelap, hyalin, 1 sel, bentuk bulat
- Konidiofor panjang dan septat

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DT2 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Penicillium* sp.



Gambar 4.3. Isolat DT2

A. Koloni Isolat DT2, B. Foto Mikroskopis Isolat DT2
(Keterangan: a. Konidia, b. Konidiofor)

3. Isolat DT3

a. Ciri Makroskopis

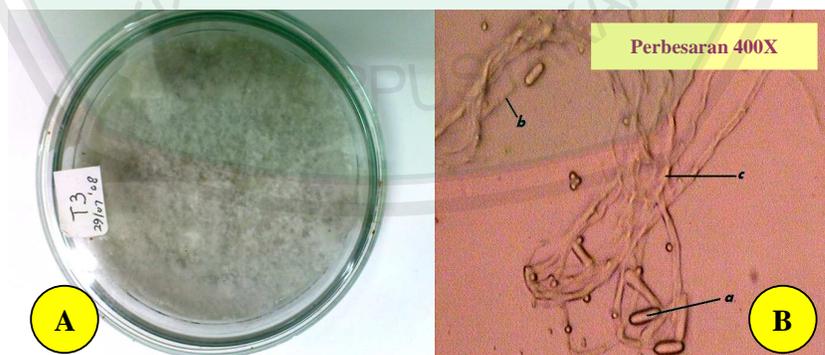
- Tumbuh cepat, dalam waktu 2 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 3,5 cm pada cawan petri.

- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna coklat dan dalam waktu 4 hari menjadi warna coklat keputihan dengan bagian atas dipenuhi seperti sebaran titik-titik berwarna putih suram.
- Koloni seperti beludru halus dan renggang dengan tepi tidak beraturan.
- Permukaan bawah tampak warna coklat tua gelap.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia bentuk silindris atau elips, 1 sel, hyalin dan tumbuh dari ujung konidiofor
- Konidiofor pendek, ramping dan bergelombang
- Hifa septat, hyalin

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DT3 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Cylindrocephalum* sp.



Gambar 4.4. Isolat DT3

A. Koloni Isolat DT3, B. Foto Mikroskopis Isolat DT3
(Keterangan: a. Konidia, b.Konidiofor, c. Hifa)

4. Isolat DT4

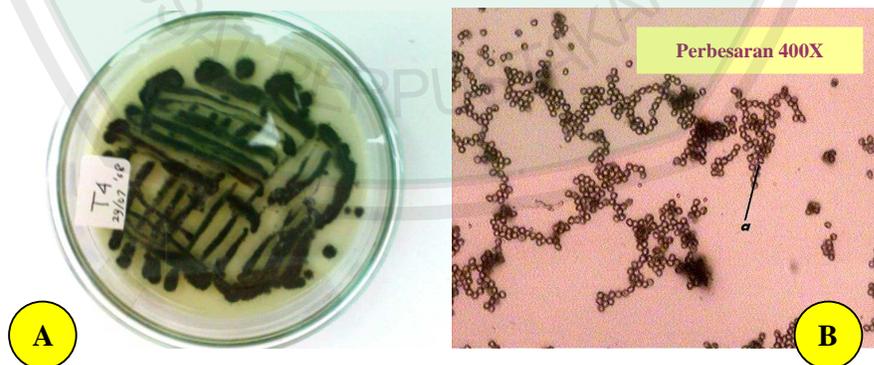
a. Ciri Makroskopis

- Tumbuh cepat, dalam waktu 3 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 2,5 cm pada cawan petri.
- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna putih keabu-abuan dan dalam waktu 4 hari menjadi warna hitam.
- Koloni seperti beludru rapat dan tidak berbenang renggang.
- Permukaan bawah tampak warna kuning kehijauan dengan bagian tengah warna kuning terang.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia 1 sel dan membentuk percabangan yang rapat seperti rantai

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DT4 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Hormiscium* sp.



Gambar 4.5. Isolat DT4

A. Koloni Isolat DT4, B. Foto Mikroskopis Isolat DT4
(Keterangan: a. Konidia)

4.1.2 Isolat Jamur Endofit dari Biji Pinang Dataran Rendah (DR)

1. Isolat DR1

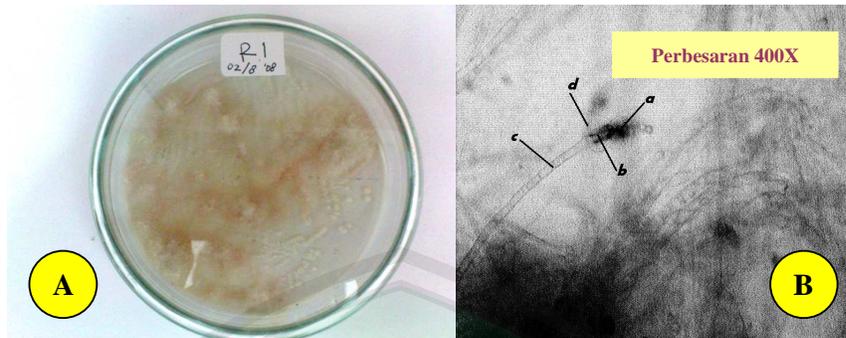
a. Ciri Makroskopis

- Tumbuh cepat, dalam waktu 2 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 3 cm pada cawan petri.
- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna putih mengkilat dan renggang, dalam waktu 4 hari menjadi warna merah muda terang.
- Koloni seperti beludru halus dan renggang dengan tepi tidak beraturan dan pada bagian tepi terdapat rambut-rambut halus.
- Permukaan bawah tampak warna merah muda dengan bagian tengah berwarna merah tua, pada bagian tepi (rambut-rambut halus) berwarna merah muda keunguan.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia gelap, bentuk bulat dan muncul dari sterigma/phialid
- Konidiofor panjang dan terdapat vesikel
- Sterigma/phialid seperti botol dan terdii dari 1 phialid/sterigma

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DR1 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Penicillium* sp.



Gambar 4.6. Isolat DR1

A. Koloni Isolat DR1, B. Foto Mikroskopis Isolat DR1
(Keterangan: a. Konidia, b. Sterigma, c. Konidiofor, d. Metulla)

2. Isolat DR2

a. Ciri Makroskopis

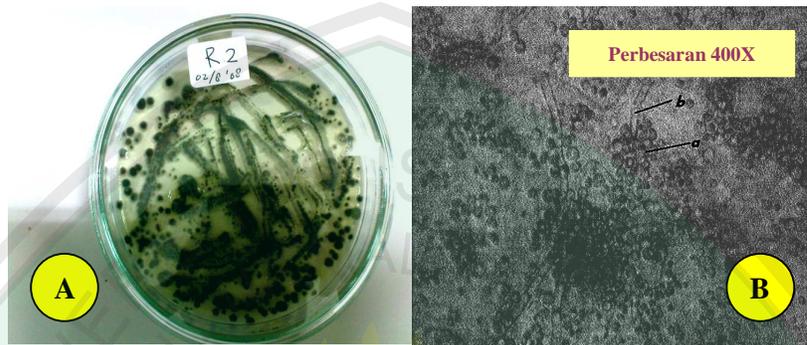
- Tumbuh cepat, dalam waktu 2 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 2 cm pada cawan petri.
- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna putih dengan bagian tengah berwarna biru kehijauan dan dalam waktu 4 hari menjadi warna biru tua disertai warna putih mengelilingi bagian tengah koloni.
- Koloni seperti beludru dan renggang, dengan bagian tepi tidak beraturan.
- Permukaan bawah tampak kuning pucat disertai warna abu-abu.

b. Ciri Mikroskopis

- Konidia gelap, bentuk bulat, terdapat di ujung, bergerombol dan menempel pada konidiofor

- Konidiofor pendek, sepat, hyalin dan bentuk silindris

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DR2 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Aspergillus* sp.



Gambar 4.7. Isolat DR2

A. Koloni Isolat DR2, B. Foto Mikroskopis Isolat DR2
(Keterangan: a. Konidia, b. Konidiofor)

3. Isolat DR3

c. Ciri Makroskopis

- Tumbuh cepat, dalam waktu 2 hari pertumbuhan koloni mencapai diameter 5 cm pada cawan petri.
- Pada awal pertumbuhan koloni berwarna putih terang dan dalam waktu 4 hari menjadi warna hijau tua gelap disertai warna putih pada bagian tepi.
- Koloni seperti beludru, tebal, tidak beraturan dan rapat.
- Permukaan bawah tampak warna kuning kecoklatan.

d. Ciri Mikroskopis

- Konidia gelap, bentuk bulat dan muncul dari sterigma/phialid
- Konidiofor pendek, terdapat vesikel, pola percabangan banyak

- Hifa septat, hyalin

Setelah dilakukan analisis perbandingan berdasarkan buku petunjuk klasifikasi jamur dan analisis ciri makroskopis dan mikroskopis, maka isolat DR3 dapat digolongkan ke dalam Famili Moniliaceae yaitu genus *Aspergillus* sp.



Gambar 4.8. Isolat DR3
A. Koloni Isolat DR3, B. Foto Mikroskopis Isolat DR3 (perbesaran 400x)
(Keterangan: a. Konidia, b. Konidiofor)

Berikut merupakan hasil identifikasi jamur endofit dari biji pinang berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis serta buku kunci identifikasi Barnett (1960).

Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Pinang (*A. catechu* L.)

Jenis Biji Pinang	Kode Isolat	Famili	Genus
Biji Pinang Dataran Tinggi	DT1	Moniliaceae	<i>Geotrichum</i> sp.
	DT2	Moniliaceae	<i>Penicillium</i> sp.
	DT3	Moniliaceae	<i>Cylindrocephalum</i> sp.
	DT4	Moniliaceae	<i>Hormiscium</i> sp.
Biji Pinang Dataran Rendah	DR1	Moniliaceae	<i>Penicillium</i> sp.
	DR2	Moniliaceae	<i>Aspergillus</i> sp.
	DR3	Moniliaceae	<i>Aspergillus</i> sp.

Keterangan: DT = Dataran Tinggi
DR = Dataran Rendah

Berdasarkan hasil identifikasi di atas, ternyata ketujuh jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi dan dataran rendah dapat digolongkan ke dalam famili Moniliaceae yaitu kelas Ascomycetes. Pernyataan ini sesuai dengan pendapat

Petrini *et al.*, (1992) dalam Worang (2003) yang menggolongkan jamur endofit dalam kelompok Ascomycetes.

Di mana ciri umum dari kelas Ascomycetes adalah tubuh terdiri dari benang-benang yang bersekat-sekat, spora dibentuk di dalam askus, spora yang dibentuk disebut askospora (reproduksi generatif), reproduksi vegetatif menggunakan konidiospora/konidia dan fragmentasi yaitu percabangan miselium yang terputus tumbuh menjadi miselium yang baru (Anwar, 1984). Wiley dan Sons (1982) dalam bukunya menambahkan bahwa karakteristik kelas Ascomycetes pada umumnya mempunyai miselium septat, bersifat patogen pada tanaman, seperti pada buah dan biji.

4.2 Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit dari Biji Pinang (*A. catechu* L.) terhadap Bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*

Pengujian aktivitas metabolit jamur endofit dari biji pinang dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat/jernih (dalam mm) dengan menggunakan jangka sorong. Pengamatan dilakukan setelah bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Daya hamabat metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dapat dilihat dari nilai rata-rata diameter zona hambat. Nilai rata-rata diameter zona hambat dari uji aktivitas metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dapat diterangkan dalam tabel 4.3 dan 4.4 berikut ini.

Tabel 4.3 Rata-rata diameter zona hamabat/jernih dari uji aktivitas metabolit jamur endofit terhadap bakteri *V. cholerae* (dalam mm)

Kode Isolat	Genus	Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Keterangan
DT1	<i>Geotrichum</i> sp.	1,3	Menghambat
DT2	<i>Penicillium</i> sp.	1	Menghambat
DT3	<i>Cylindrocephalum</i> sp	1	Menghambat
DT4	<i>Hormiscium</i> sp.	2,3	Menghambat
DR1	<i>Penicillium</i> sp.	2,7	Menghambat
DR2	<i>Aspergillus</i> sp.	4,3	Menghambat
DR3	<i>Aspergillus</i> sp.	2,3	Menghambat

Keterangan: DT = Dataran Tinggi
DR = Dataran Rendah

Tabel 4.4 Rata-rata diameter zona hamabat/jernih dari uji aktivitas metabolit jamur endofit terhadap bakteri *S. aureus* (dalam mm)

Kode Isolat	Genus	Rata-Rata Diameter Zona Hambat	Keterangan
DT1	<i>Geotrichum</i> sp.	1,3	Menghambat
DT2	<i>Penicillium</i> sp.	1	Menghambat
DT3	<i>Cylindrocephalum</i> sp	3,3	Menghambat
DT4	<i>Hormiscium</i> sp.	5,3	Menghambat
DR1	<i>Penicillium</i> sp.	0	Tidak Menghambat
DR2	<i>Aspergillus</i> sp.	0	Tidak Menghambat
DR3	<i>Aspergillus</i> sp.	2,7	Menghambat

Keterangan: DT = Dataran Tinggi
DR = Dataran Rendah

Berdasarkan tabel 4.3 dan 4.4 di atas diketahui bahwa 7 (100%) isolat jamur endofit mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan 5 (71,4%) isolat jamur endofit juga berpotensi menghambat bakteri *S. aureus*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jamur endofit dari biji pinang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Carrol dan Clay (1988) dalam (Worang 2003) juga megatakan bahwa fungi endofit menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tetentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika. Salah satu contohnya adalah

endofit yang bersimbiosis dengan tanaman snakevine (*Kennedia nigiscans*), jenis tanaman yang banyak digunakan masyarakat Aborigin untuk mengobati luka. Menurut Prihatiningtias (2008), jamur endofit tersebut merupakan salah satu dari spesies *Streptomyces*, yaitu mikroba yang sudah lebih dari 50 tahun memasok kebutuhan antibiotik manusia.

Pada tabel 4.3 di atas, isolat DR2 mempunyai rata-rata diameter zona hambat tertinggi yaitu 4,3 mm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat terendah terdapat pada isolat DT2 dan DT3 yaitu 1 mm. Pada tabel 4.4 di atas, isolat DT4 mempunyai rata-rata diameter zona hambat tertinggi yaitu 5,3 mm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat terendah terdapat pada isolat DT2 yaitu 1 mm.

Pada tabel 4.3 dan 4.4 di atas, terdapat metabolit isolat jamur endofit yang tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu isolat DR1 (*Penicillium sp.*) dan DR2 (*Aspergillus sp.*). Kedua jenis isolat ini tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal ini dapat disebabkan antara lain:

1. Isolat DR1 dan DR2 tidak menghasilkan metabolit yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri.
2. Isolat DR1 dan DR2 hanya menghasilkan metabolit yang mempunyai daya hambat pada bakteri gram-negatif saja sedangkan pada gram-positif tidak.
3. Produktivitas metabolit sekunder belum mencapai fase stasioner. Menurut Rahman (1989) dalam Utami (2005), bahwa mikroba menghasilkan metabolit sekunder pada fase stasioner di dalam siklus hidupnya. Pada fase statis, biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang

menguntungkan. Adaptasi ini dapat menghasilkan senyawa yang diinginkan manusia misalnya antibiotika dan antioksidan (Purwoko, 2007).

4. Perbedaan konsentrasi yang dihasilkan dari masing-masing isolat. Isolat DR1 dan DR2 menghasilkan metabolit dalam jumlah sedikit. Karena semakin tinggi konsentrasi zat antimikroba maka semakin tinggi daya antimikrobanya.

Kemampuan metabolit isolat jamur endofit untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dapat dilihat dari ukuran zona hambat yang terbentuk. Berikut merupakan bentuk dan nilai rata-rata zona hambat yang dihasilkan dari metabolit isolat jamur endofit dari biji pinang.



Gambar 4.9 Zona hambat yang dibentuk oleh metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *S. aureus* pada medium NA



Gambar 4.10 Zona hambat yang dibentuk oleh metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *V. cholerae* pada medium NA

Apabila dibandingkan efektifitas zona hambat yang ditimbulkan oleh metabolit jamur endofit terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* berdasarkan perbedaan sampel lokasi dataran tinggi dan rendah yang digunakan dapat tersaji pada tabel 4.6 di bawah ini.

Tabel 4.6 Nilai rata-rata perbandingan diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh metabolit jamur endofit terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* (dalam mm)

Kode Isolat	Rata-rata Perbandingan Diameter Zona Hambat (dalam mm)	
	<i>V. cholerae</i>	<i>S. aureus</i>
DT1	1,3	1,3
DT2	1	1
DT3	1	3,3
DT4	2,3	5,3
DR1	2,7	0
DR2	4,3	0
DR3	2,3	2,7

Keterangan: DT = Dataran Tinggi
DR = Dataran Rendah

Berdasarkan tabel 4.6 di atas, semua jenis isolat jamur endofit yang diperoleh dari biji pinang dengan lokasi dataran tinggi yaitu DT1, DT2, DT3 dan DT4 mempunyai potensi menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S.*

aureus, sedangkan isolat jamur endofit yang diperoleh dari biji pinang dengan lokasi dataran rendah yaitu isolat DR1 dan DR2 hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* saja dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hanya isolat DR3 saja yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*.

Hasil penelitian berdasarkan tabel 4.6 di atas, diketahui bahwa perbandingan rata-rata diameter zona hambat terbesar ditemukan pada uji metabolit jamur endofit terhadap bakteri *S. aureus*, pada jenis bakteri ini mempunyai tingkat kepekaan yang lebih tinggi dari pada bakteri *V. cholerae*. Perbedaan tingkat kepekaan pada kedua jenis bakteri ini disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif. Sebagaimana telah kita ketahui bahwa bakteri *V. cholerae* termasuk pada jenis bakteri gram-negatif sedangkan *S. aureus* termasuk pada jenis bakteri gram-positif.

Menurut Pelczar (1986), struktur dinding sel bakteri gram-positif relatif sederhana dibandingkan bakteri gram-negatif yang relatif 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. Dalam Augusta (2001), menambahkan bahwa dinding sel bakteri gram-positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tebal. Akibatnya, pada saat prosedur pewarnaan Gram, meninggalkan warna biru. Dinding sel gram-positif biasa ditemukan pada Actinobacteria dan Firmicutes. Sedangkan dinding sel

gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis. Hal ini menyebabkan lunturnya warna biru saat disiram etanol.

Dinding sel organisme gram-positif adalah cukup tebal (20-80 nm) dan terdiri atas 60 sampai 100 persen peptidoglikan. Semua sel gram-positif memiliki polimer lurus asam *N*-asetilmuramat dan *N*-asetilglukosamin. Sedangkan pada bakteri gram-negatif dinding sel mempunyai susunan kimia yang lebih rumit dari pada bakteri gram positif. Dinding sel gram-negatif mengandung lebih sedikit peptidoglikan (10 sampai 20 persen bobot kering dinding sel), tetapi di luar lapisan peptidoglikan, ada struktur "membran" kedua, yang tersusun dari protein, fosfolipida, dan lipopolisakarida (asam lemak yang dirangkaikan dengan polisakarida) (Volk dan Wheeler, 1993).

Hasil perbandingan rata-rata diameter zona hambat terbesar ditemukan pada uji metabolit jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi terhadap bakteri *S. aureus*, pada jenis bakteri ini mempunyai tingkat kepekaan yang lebih tinggi dari pada bakteri *V. cholerae*. Perbedaan tingkat kepekaan pada kedua jenis bakteri ini disebabkan oleh adanya kemampuan dari senyawa kimia yang terkandung dalam metabolit jamur endofit untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*.

Menurut Radji (2005) dalam (Azizah, 2008), jamur endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Sebagai contoh fungi endofit *Acremonium coenophialum* yang bersosiasi dengan rumput-rumputan dapat menghambat pertumbuhan patogen rumput *Nigrospora sphaerica*,

Periconia sorghina dan *Rhizoctonia cerealis* (White and Cole, 1985) dalam (Worang, 2003).

Pernyataan Radji dan Worang tersebut memperkuat adanya kemungkinan jamur endofit dari biji pinang juga menghasilkan senyawa kimia yang identik dengan tanaman inangnya. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi dan karakterisasi metabolit jamur endofit dari biji pinang.

Kandungan zat kimia dari biji pinang adalah zat-zat alkaloida sekitar 0,25%, terutama alkaloida atsiri (arekolina), tanin merah amorf sekitar 15% dan lemak sekitar 14% (Kartasapoetra, 1992). Hapsah dan Rahmawati (2008), menambahkan bahwa biji segar mengandung kira-kira 50% lebih banyak alkaloid, dibandingkan biji yang telah diproses.

Menurut Agusta (2001), Arekolin bersifat sebagai sitotoksik. Secara in vitro (dalam tabung reaksi), penggunaan arekolin dengan konsentrasi 0,042 mM (milimol) mengakibatkan penurunan daya hidup sel serta penurunan kecepatan sintesis DNA dan protein. Arekolin juga menyebabkan terjadinya kegagalan glutathione, yaitu sejenis enzim yang berfungsi melindungi sel dari efek merugikan.

Menurut Masduki (1996), senyawa tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Agusta (2001), menambahkan bahwa biji pinang mengandung senyawa golongan fenolik dalam jumlah relatif tinggi. Selama proses pengunyahan biji pinang di mulut, spesies oksigen reaktif (radikal bebas) akan terbentuk dari senyawa fenolik itu. Adanya kapur sirih yang

menciptakan kondisi pH alkali akan lebih merangsang pembentukan oksigen reaktif itu. Oksigen reaktif inilah salah satu penyebab terjadinya kerusakan DNA atau genetik sel epitelial dalam mulut.

Penelitian Masduki (1996), membuktikan bahwa sediaan ekstrak dan infusa biji pinang dengan konsentrasi 20g%, dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Pada sediaan infusa menghasilkan diameter zona hambat sebesar 1,25 mm, sedangkan pada sediaan ekstrak menghasilkan diameter zona hambat sebesar 2,5 mm. Selain pengujian terhadap sediaan ekstrak dan infusa biji pinang, peneliti juga melakukan uji metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*. Hasil penelitian menunjukkan adanya potensi metabolit jamur endofit untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*. Pada pengujian metabolit jamur endofit, ternyata isolat DR2 mempunyai aktivitas paling besar dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri *V. cholerae* yaitu 4,3 mm dan isolat DT4 juga mempunyai aktivitas paling besar untuk menghambat laju pertumbuhan bakteri *S. aureus* yaitu 5,3 mm.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

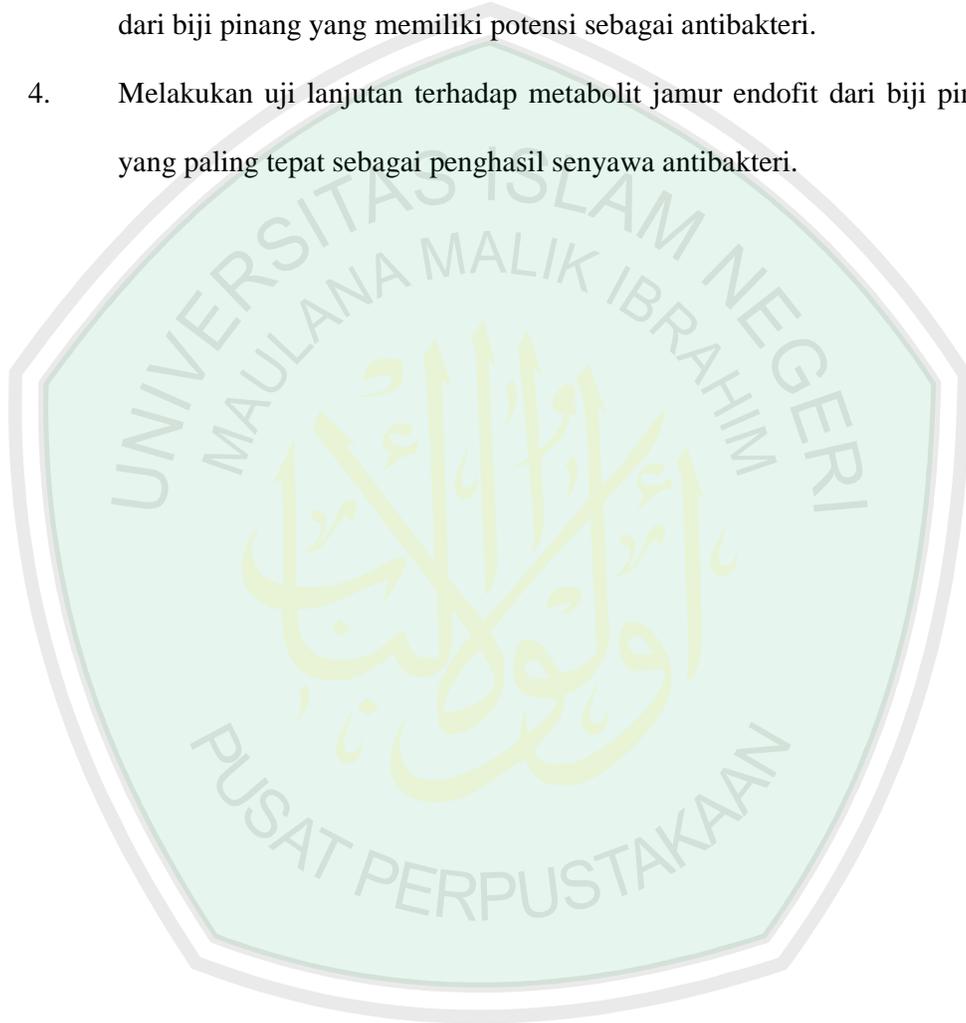
1. Sebanyak 7 isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari biji pinang (*Areca catechu* L.), yaitu 4 isolat jamur endofit dari biji pinang dataran tinggi dan 3 isolat jamur endofit dari biji pinang dataran rendah.
2. Hasil uji aktivitas metabolit 7 isolat jamur endofit dari jaringan biji pinang (*Areca catechu* L.), ditemukan sejumlah 7 (100%) isolat jamur endofit mempunyai potensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan 5 (71,4%) isolat jamur endofit memiliki potensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Melakukan pengujian terhadap konsentrasi bakteri uji dan konsentrasi metabolit jamur endofit dari biji pinang untuk mendapatkan hasil yang maksimal dalam pengujian aktivitas antibakteri.

2. Melakukan identifikasi lanjutan terhadap jamur endofit dari biji pinang terutama yang mempunyai potensi menghasilkan metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri.
3. Melakukan karakterisasi terhadap komponen aktif metabolit jamur endofit dari biji pinang yang memiliki potensi sebagai antibakteri.
4. Melakukan uji lanjutan terhadap metabolit jamur endofit dari biji pinang yang paling tepat sebagai penghasil senyawa antibakteri.



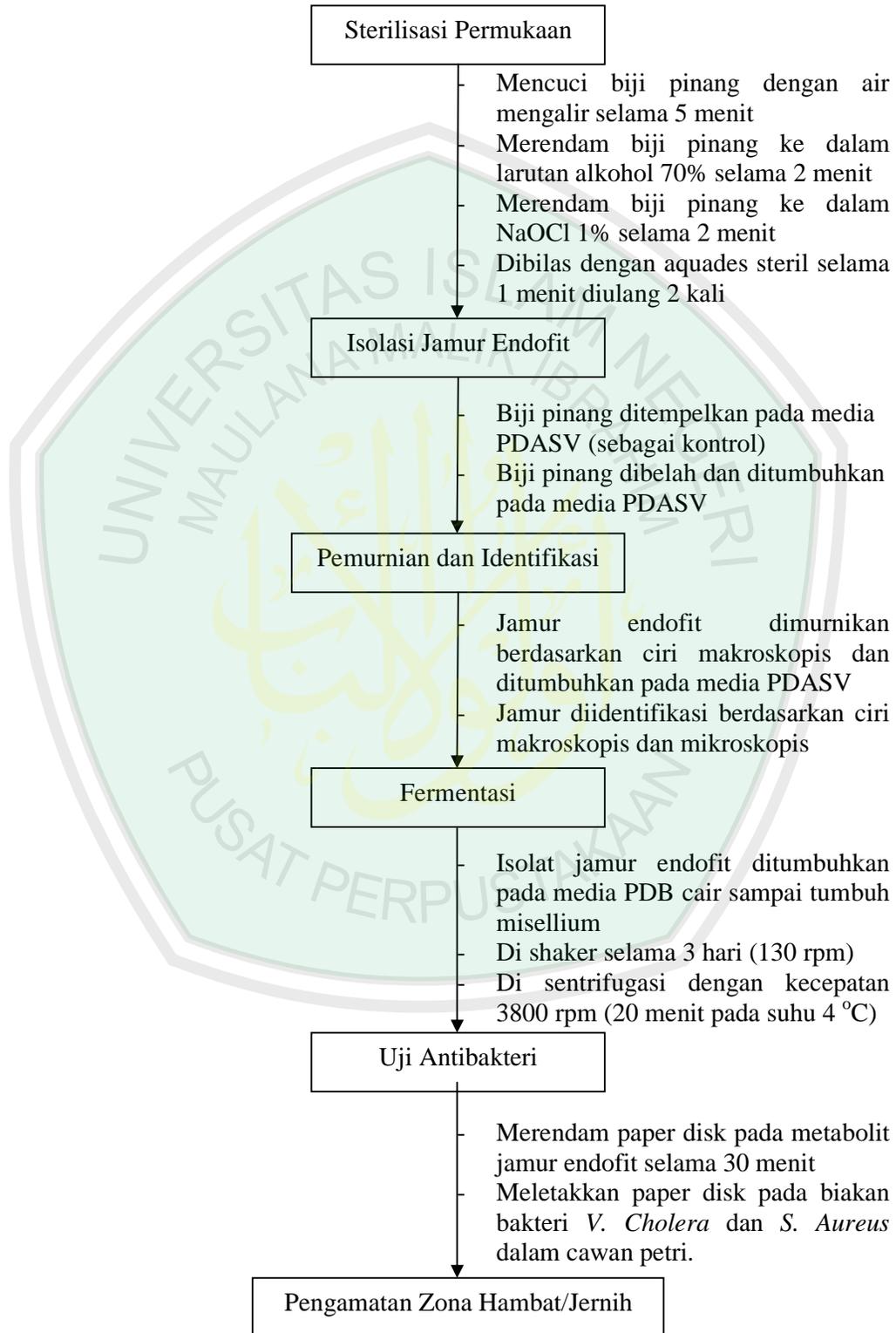
DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, Andria. 2001. *Bahaya Tumbuhan Obat*. <http://www.indonesia.com/intisari/2001/Feb/bahaya%20tumb%20obat.html>. Lab. Fitokimia. Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor. Diakses pada 20 April 2008
- Al-Qur'anul Karim
- An-Najjar, Zaghlul. 2006. *Pembuktian Sains dalam Sunnah*. Buku 1. Jakarta: Amzah
- Anonymous, 2008^a. http://en.wikipedia.org/wiki/Vibrio_cholerae. Diakses pada 15 September 2008
- Anwar, Anik. 1984. *Ringkasan Biologi*. Bandung: Ganeca Exact Bandung
- Azizah, Netty Nur. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi. Malang: UIN Malang
- Bakry, Nurchalis, Sukri, Fahmi Amrusi dan Auskary. 1996. *Bioteknologi dan Al-Qur'an (Referansi Dakwah Da'i Modern)*. Jakarta: Gema Insani Press
- Barnett, H. L. 1969. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Second Edition. Virginia: Burgess Publishing Company
- Carrillo, L., D., Badia, E., Dominguez, J.L., Vicario, I., Tellitu. 1997. *A Simple and Efficient Synthetic Route to Chiral Isopavines. Synthesis of Methylthalisopavine and Amurensinine*. Journal of Organic Chemistry, 62, 6716-6721
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E., Mbaebie, B.O. 2005. *Phytochemical Constituents of some Nigerian Medicinal Plants*. Journal of Biotechnology, 4(7), 685-688
- Entjang, Indan. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti
- Fathan, Abu. Tanpa Tahun. *Index Ayat-Ayat Tadabbur Qur'an dan Tafakkur 'Alam*. Asaduddin Press
- Haniah, Miftachul. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (Piper betle L.) Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. Universitas

- Islam Negeri Malang. Jurusan Biologi Fakultas Saintek. Skripsi. Tidak Diterbitkan
- Hanson, J.R. 2003. *Natural Products, The Secondary Metabolites, The Royal Society of Chemistry*. Artikel. Cambridge
- Hapsoh, Rahmawati, N. 2008. *Pemanfaatan Tanaman Obat Tradisional*. Diakses pada 28 April 2008
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat (Meningkatkan Apotik Hidup dan Pendapatan para Keluarga Petani dan PKK)*. Jakarta: Rineka Cipta
- Kimball, John W. 1999. *Biologi*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga
- Mahrn, Jamaluddin dan Mubasyir, 'Abdul 'Azhim Hafna. 2006. *Al-Qur'an Bertutur Tentang Makanan & Obat-Obatan*. Yogyakarta: Mitra Pustaka
- Masduki, Imam. 1996. *Cermin Dunia Kedokteran. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu) terhadap S.aureus dan Ecoli in vitro*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Yogyakarta: Universitas Gajah Mada,
- Pelczar, Michael J dan Chan, E.S.C. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edisi 1. Terjemahan Ratna Siri H, Teja Imas, S. Sutarmi dan Sri Lestari A. Jakarta: UI-Press.
- Prihatiningtias, Widyati. 2008. *Mikroba Endofit, Sumber Penghasil Antibiotik yang Potensial*. Fakultas Farmasi UGM. http://dianing.blogspot.com/2008_05_01_archive.html. Diakses pada 13 April 2008
- Purwoko, Tjahjadi. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT Bumi Aksara
- Quthb, Sayyid. 2002. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an, Di Bawah Naungan Al-Qur'an (Surah Al-An'aam – Surah Al-A'Raaf 137)*. Jilid 4. Jakarta: Gema Insani Press
- Radji, Maksum. 2008. *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi. Vol. II. Departemen Farmasi, FMIPA-UI, Kampus UI Depok. Departemen Farmasi, FMIPA-UI, Kampus UI Depok 16424. Junal, 15 Maret 2008
- Redaksi AgroMedia. 2007. *Memfaatkan Pekarangan untuk Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka

- Shiddieqy, Tengku Muhammad Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur. Jilid 2. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra*
- Shiddieqy, Tengku Muhammad Hasbi. 2000 *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur. Jilid 4. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra*
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al- Mishbah. Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Volume 5. Jakarta: Lentera Hati*
- _____. *Tafsir Al- Mishbah. Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Volume 11. Jakarta: Lentera Hati*
- Supardi, Imam dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Bandung: Alumni*
- Tim Penyusun. 2004. *Buku Pedoman Penulisan Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi. Malang: UIN Malang*
- Triatmodjo, Pudjarwoto. 1996. *Infeksi Bakteri Enteropatogen pada Balita Penderita Diare di Jawa Barat dan Pola Resistensinya terhadap Beberapa Antibiotik. Jurnal. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.*
- Utami, Ulfah. 2005. *Isolasi Bakteri Endofit Penghasil Antimikroba Dari Tanaman Rhizophora mucronata (Makna Tersirat Q.S. Ali-Imran; 190-191). Malang: UIN Malang*
- Wilcy, John dan Sons. 1982. *Botany. An Introduction to Plant Biology. Sixth Edition. New York: University of California*
- Winarno, M. Wien dan Sundari, Dian. 1996. *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Diare di Indonesia. Jurnal. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.*
- Worang, Rantje L. 2003. *Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Program Pascasarjana / S3 Institut Pertanian Bogor Oktober 2003.*
- Yuniarti, Titin. 2008. *Enskliklopedia Tanama Obat Tradisional. Jakarta: PT. Buku Kita*
- Zainurahman, Miftahu. 2005. *Study Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri (Eschericia Coli Dan Staphylococcus Aureus) Pada Ekstreka Daun Benalu Teh (Scurvula Atropurpurea) Segar dan Daun Benalu Teh Kering. Universitas Brawijaya Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Malang. Skripsi. Tidak Diterbitkan*

LAMPIRAN 1. Diagram Alir Metode Kerja



Gambar 4.11 Diagram Alir Metode Kerja

LAMPIRAN 2. Diameter zona hambat/jernih pada uji aktivitas metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *Vibrio cholera* dan *Staphylococcus aureus* (dalam mm)

Tabel 1. Diameter zona hambat/jernih pada uji aktivitas metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *Vibrio cholera* (dalam mm)

Jenis Biji Pinang	Kode Isolat	<i>Vibrio cholera</i>			Total	Rata-Rata	Keterangan
		I	II	III			
Biji Pinang Dataran Tinggi	DT1	1	1	2	4	1,3	Menghambat
	DT2	1	1	1	3	1	Menghambat
	DT3	1	1	1	3	1	Menghambat
	DT4	2	3	2	7	2,3	Menghambat
Biji Pinang D. Rendah	DR1	2	4	2	8	2,7	Menghambat
	DR2	5	4	4	13	4,3	Menghambat
	DR3	2	3	2	7	2,3	Menghambat

Keterangan: DT = Biji Pinang Dataran Tinggi
DR = Biji Pinang Dataran Rendah

Tabel 2. Diameter zona hambat/jernih pada uji aktivitas metabolit jamur endofit dari biji pinang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (dalam mm)

Jenis Biji Pinang	Kode Isolat	<i>Staphylococcus aureus</i>			Total	Rata-Rata	Keterangan
		I	II	III			
Biji Pinang Dataran Tinggi	DT1	1	2	1	4	1,3	Menghambat
	DT2	1	1	1	3	1	Menghambat
	DT3	4	3	3	10	3,3	Menghambat
	DT4	4	2	10	16	5,3	Menghambat
Biji Pinang D. Rendah	DR1	0	0	0	0	0	Tidak Menghambat
	DR2	0	0	0	0	0	Tidak Menghambat
	DR3	2	4	2	8	2,7	Menghambat

Keterangan: DT = Biji Pinang Dataran Tinggi
DR = Biji Pinang Dataran Rendah

LAMPIRAN 3. Alat-Alat Penelitian

A



B



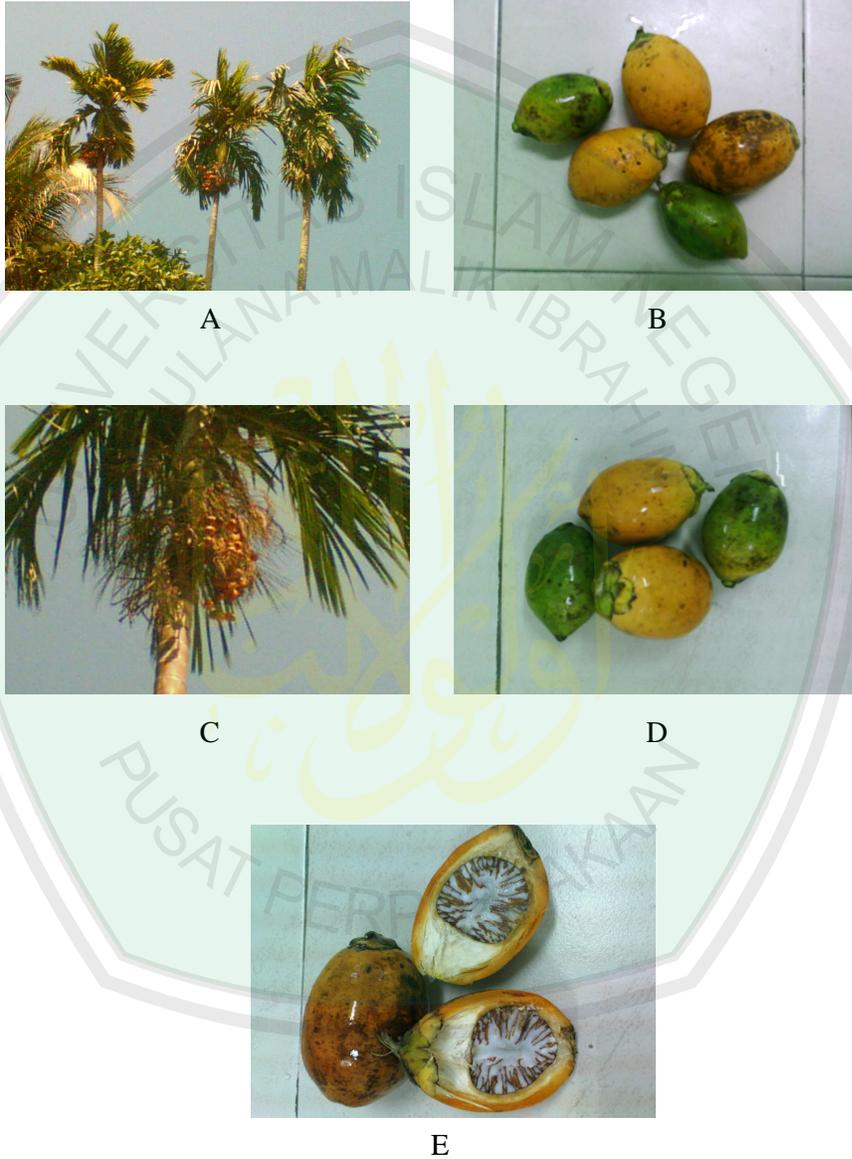
C



D

Gambar 2. Alat-Alat Penelitian. A. Inkubator, B. Autoklaf, C. Sentrifugasi, dan D. Shaker Inkubator

LAMPIRAN 4. Jenis Pinang pada Habitat Dataran Tinggi dan Dataran Rendah



Gambar 4.13. Jenis Pinang pada Habitat Dataran Tinggi dan Dataran Rendah. A. Pohon Pinang Dataran Tinggi, B. Buah Pinang Dataran Tinggi, C. Pohon Pinang Dataran Rendah, D. Buah Pinang Dataran Rendah, dan E. Biji pinang (*Areca catechu* L.) bagian dalam