

**UJI POTENSI ANTIBAKTERI DAN UJI KEBERADAAN ENZIM  
SQUALENE SINTASE BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK  
(*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

**SKRIPSI**

**OLEH :**

**AYU FIDYA NINGTYAS**

**NIM. 10620052**



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

**UJI POTENSI ANTIBAKTERI DAN UJI KEBERADAAN ENZIM SQUALENE  
SINTASE BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma  
xanthorrhiza* Roxb.)**

**SKRIPSI**

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

**Oleh :**

**AYU FIDYA NINGTYAS**

**10620052**

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

**2015**

**UJI POTENSI ANTIBAKTERI DAN UJI KEBERADAAN ENZIM  
SQUALENE SINTASE BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK  
(*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**AYU FIDYA NINGTYAS**

**10620052**

Telah disetujui oleh:

**Pembimbing I**



**Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si**  
NIP. 19650509199903 2 002

**Pembimbing II**



**Umayyatus Syarifah, M.A**  
NIP. 19820925 200901 2005

Tanggal, 20 November 2015

Mengetahui,

**Ketua Jurusan Biologi**



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

**UJI POTENSI ANTIBAKTERI DAN UJI KEBERADAAN ENZIM  
SQUALENE SINTASE BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK  
(*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

**SKRIPSI**

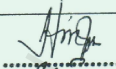
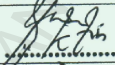
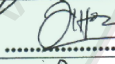

Oleh :

**AYU FIDYA NINGTYAS**

**10620052**

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

Tanggal : November 2015

|                           |   |   |
|---------------------------|---|---|
| <b>Penguji Utama</b>      | <b><u>Ir. Liliek Harianie, A.R, M.P</u></b> |  |
| <b>Ketua Penguji</b>      | <b><u>Anik Maunatin, M.P</u></b>            |  |
| <b>Sekretaris Penguji</b> | <b><u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u></b>     |  |
| <b>Anggota Penguji</b>    | <b><u>Umaiyatus Svarifah, M.A</u></b>       |  |

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



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

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Fidya Ningtyas  
NIM : 10620052  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Skripsi : Uji Potensi Antibakteri Dan Keberadaan Enzim Squalene Sintase Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)

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

Malang, 20 November 2015

Yang membuat pernyataan,



Ayu Fidya Ningtyas

NIM. 10620052

## MOTTO

خير الناس أنفعهم للناس

**“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia lain.”  
(HR. Bukhari Muslim).**

*Seseorang yang kehadirannya sangat dirindukan karena dapat memberikan manfaat bagi orang banyak. Dia dicintai begitu banyak manusia karena kepeduliannya terhadap sekitar dan bisa membawa pengaruh yang baik. Perilaku kesehariannya lebih banyak diisi oleh kebaikan, ucapan senantiasa didengar dan lebih banyak berbuat kebaikan.*

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Merajut sebuah angan, dalam perjuangan, demi mencapai satu per satu  
impian

Bukan tentang waktu, namun bagaimana keinginan itu ada, hingga  
akhirnya terselesaikan “Alhamdulillah”

Ibu Mu'awanah dan ayah Mochammad Sujono yang selalu support dalam  
segala kebaikan dan doanya setiap hari,

Mas Dany Panca Pamungkas, suami tercinta yang telah sabar membantu,  
memberikan perhatian dan pengertian yang luar biasa,

Serta si kecil yang masih ada di perut umi, yang menemani tiap detik  
perjuangan menyelesaikan tugas akhir ini,

Adik ku Afifa Dwi Mas Udah yang menjadikan diri ini harus menjadi  
contoh yang baik, yang selalu mendukung setiap langkah dan perjalanan  
akademikku,

Ibu Ulfah U. yang dengan sabar membimbing,

Teman – teman biologi angkatan 2010 dan adik-adik angkatan 2011 memberi  
keceriaan selama di UIN Maliki Malang ..

Dan semua yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah  
selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau semua..

Amiin Yaa Robbalaalamin

## PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN

Penulisan transliterasi Arab-Latin dalam skripsi ini menggunakan pedoman transliterasi berdasarkan keputusan bersama Menteri Agama RI dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI no.158 tahun 1987 dan no.0543 b/U/1987 yang secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut:

### 1. Konsonan

| No | Arab | Latin              | No | Arab | Latin |
|----|------|--------------------|----|------|-------|
| 1  | ا    | Tidak dilambangkan | 16 | ط    | t     |
| 2  | ب    | b                  | 17 | ظ    | z     |
| 3  | ت    | t                  | 18 | ع    | '     |
| 4  | ث    | ṡ                  | 19 | غ    | g     |
| 5  | ج    | j                  | 20 | ف    | f     |
| 6  | ح    | ḥ                  | 21 | ق    | q     |
| 7  | خ    | kh                 | 22 | ك    | k     |
| 8  | د    | d                  | 23 | ل    | l     |
| 9  | ذ    | z                  | 24 | م    | m     |
| 10 | ر    | r                  | 25 | ن    | n     |
| 11 | ز    | z                  | 26 | و    | w     |
| 12 | س    | s                  | 27 | ه    | h     |
| 13 | ش    | sy                 | 28 | ء    | '     |
| 14 | ص    | ṡ                  | 29 | ي    | y     |
| 15 | ض    | ḍ                  |    |      |       |

### 2. Vokal Pendek

َ = a    كَتَبَ kataba    َ... = ā    قَالَ qāla  
 ِ = i    سُوِّلَ su'ila    ِئِ = i    قِيلَ qila  
 ُ = u    يَذْهَبُ yažhabu    ُؤِ = ū    يَقُولُ yaqūlu

### 3. Vokal Panjang

### 4. Diftong

َئِ = ai    كَيْفَ kaifa  
 َؤِ = au    حَاوَلَ ḥaula

## KATA PENGANTAR



*Assalamu'alaikum Wr.Wb.*

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Potensi Antibakteri Dan Uji Keberadaan Enzim Squalene Sintase Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)”. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

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

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr.Hj. Ulfah Utami, M.Si, sebagai dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan memberikan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
5. Umaiatus Syarifah, M.A sebagai dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
6. Ir. Liliék Harianie, A.R, M.P, dan Anik Maunatin, M.P, sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.

7. Ruri Siti Resmisari M.Si, sebagai dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan.
8. Segenap Bapak/Ibu dosen dan Laboran Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh study.
9. Keluarga tercinta, Ibuk Mu'awanah dan Bapak Mochammad Sujono yang selalu memberikan dukungan moril, materiil dan spiritual serta ketulusan do'anya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
10. Dany Panca Pamungkas suami tercinta yang selalu memberikan semangat tanpa henti, perhatian, dan pengertian yang luar biasa.
11. Afifa Dwi Mas Udah adik tersayang yang membangkitkan semangat dalam penyelesaian sekolah srata1 ini.
12. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2010 dan adik-adik 2011 yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

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

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 20 November 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL.....   | i    |
| HALAMAN PERSETUJUAN.....   | ii   |
| HALAMAN PENGESAHAN.....  | iii  |
| HALAMAN PERNYATAAN.....  | iv   |
| HALAMAN MOTTO.....   | v    |
| HALAMAN PERSEMBAHAN.....   | vi   |
| PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN.....                              | vii  |
| KATA PENGANTAR.....  | viii |
| DAFTAR ISI .....   | x    |
| DAFTAR TABEL.....  | xii  |
| DAFTAR GAMBAR.....   | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN.....   | xiv  |
| ABSTRAK .....  | xv   |
| ABSTRACT .....   | xvi  |
| ملخص .....   | xvii |
| BAB I .....  | 1    |
| 1.1 Latar Belakang.....  | 1    |
| 1.2 Rumusan masalah.....   | 12   |
| 1.3 Tujuan penelitian.....   | 13   |
| 1.4 Manfaat penelitian.....  | 13   |
| 1.5 Hipotesis.....   | 14   |
| 1.6 Batasan masalah.....   | 14   |
| BAB II .....   | 15   |
| 2.1 Mikroba Endofit.....   | 15   |
| 2.2 Metabolit Primer dan Sekunder.....                             | 19   |
| 2.2.1 Metabolit Primer.....  | 19   |
| 2.2.2 Metabolit Sekunder.....                                      | 20   |
| 2.3 Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....            | 22   |
| 2.3.1 Sejarah dan Klasifikasi.....                                 | 22   |
| 2.3.2 Deskripsi.....   | 23   |
| 2.3.3 Manfaat Tanaman.....   | 24   |
| 2.3.4 Sentra Penanaman.....  | 25   |
| 2.3.5 Syarat Pertumbuhan.....                                      | 25   |
| 2.4 Triterpenoid.....  | 30   |
| 2.5 Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Pada Manusia.....            | 39   |
| 2.5.1 <i>Bacillus cereus</i> .....                                 | 39   |
| 2.6 <i>Shigella dysenteriae</i> .....                              | 48   |
| 2.7 Antibakteri.....   | 54   |
| 2.8 Pengujian Antibakteri.....                                     | 56   |
| 2.9 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Zat Antibakteri..... | 58   |

|                |   |     |
|----------------|---|-----|
| 2.10           | Mekanisme Kerja Antibakteri.....  | 59  |
| 2.11           | Teknologi Bioinformatik.....  | 60  |
| 2.12           | Teknologi dan Inovasi Microsoft di Bidang Bioinformatik.....  | 62  |
| 2.13           | Alignment analysis.....   | 63  |
| 2.14           | Aplikasi Blast.....   | 67  |
| BAB III        | .....   | 70  |
| 3.1            | Jenis Penelitian.....   | 70  |
| 3.2            | Waktu dan Tempat Penelitian.....  | 70  |
| 3.3            | Obyek Penelitian.....   | 70  |
| 3.4            | Alat dan Bahan Penelitian.....  | 71  |
| 3.4.1          | Alat Penelitian.....  | 71  |
| 3.4.2          | Bahan Penelitian.....   | 71  |
| 3.5            | Prosedur Penelitian.....  | 72  |
| 3.5.1          | Uji Aktifitas Antibakteri Bakteri Endofit Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....   | 72  |
| 3.5.2          | Fermentasi Produksi Metabolit Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....   | 73  |
| 3.5.3          | Mengkaji Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Memiliki Enzim Penghasil Senyawa Triterpenoid.....                    | 75  |
| 3.5.4          | Analisis Data.....  | 76  |
| BAB IV         | .....   | 77  |
| 4.1            | Uji Aktifitas Metabolit Sekunder Mikroba Endofit dari Rimpang Temulawak Terhadap Bakteri <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Shigella dysenteriae</i> ..... | 77  |
| 4.2            | Hasil BLAST Enzim Penghasil Triterpenoid dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....                   | 93  |
| 4.2.1          | Hasil BLAST Protein Enzim Squalene Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....                 | 93  |
| 4.2.2          | Hasil BLAST Nukleutida Enzim Squalene Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....              | 94  |
| BAB V          | .....   | 99  |
| 5.1            | Kesimpulan.....   | 99  |
| 5.2            | Saran.....  | 100 |
| DAFTAR PUSTAKA | .....   | 101 |
| LAMPIRAN       | .....   | 108 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 2.1. Uji fitokimia metabolit sekunder <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....  | 19 |
| Tabel 2.2. Hasil analisis serbuk rimpang temulawak.....  | 34 |
| Tabel 2.3. Hasil ekstrak rimpang temulawak.....  | 35 |
| Tabel 2.4. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk rimpang temulawak .....   | 35 |
| Tabel 2.5. Kondisi yang diperlukan bagi pertumbuhan <i>Bacillus cereus</i> .....   | 44 |
| Tabel 2.6. Karakteristik penyakit akibat <i>Bacillus cereus</i> .....  | 46 |
| Tabel 4.1. Zona hambat pada uji aktifitas metabolit sekunder mikroba endofit terhadap bakteri <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Shigella dysenteriae</i> ..... | 77 |
| Tabel 4.2. Hasil BLAST Protein Enzim Squalene Sintase dengan Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....                   | 93 |
| Tabel 4.3. Hasil BLAST Nukleotida Enzim Squalene Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.).....        | 94 |

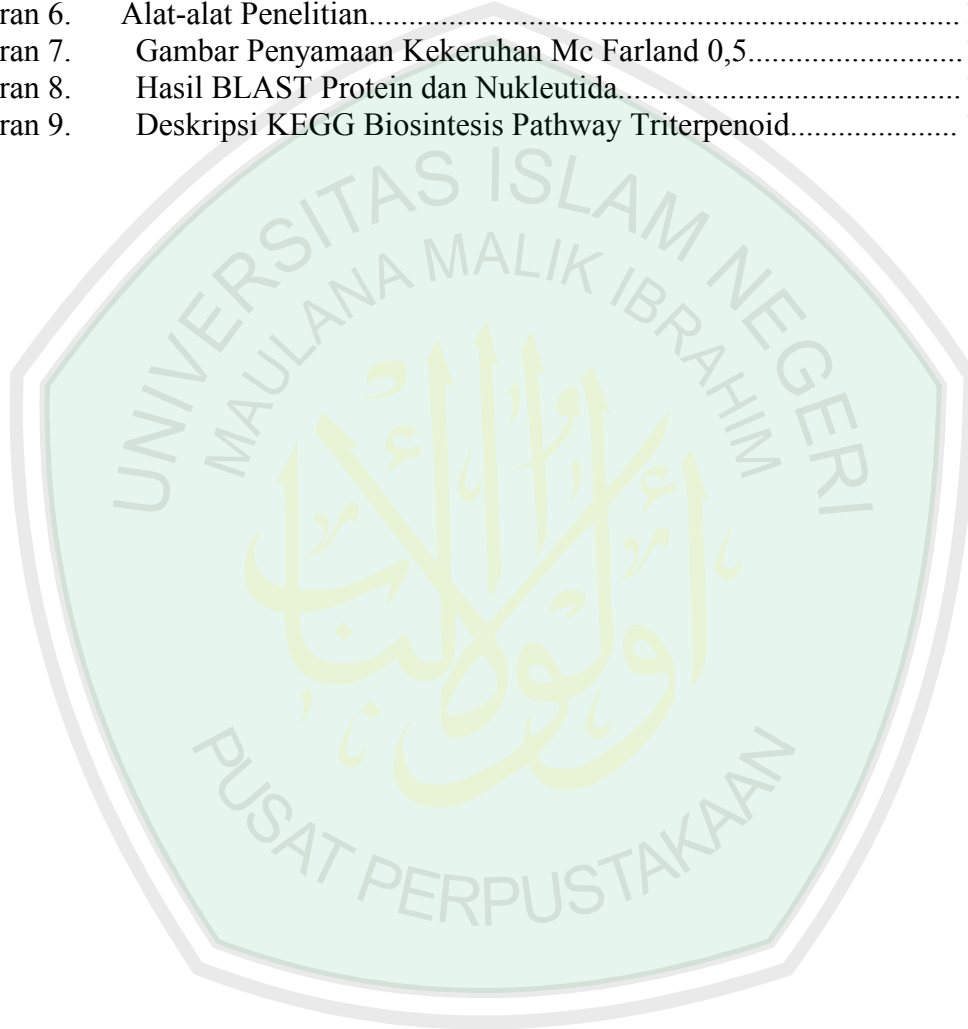


## DAFTAR GAMBAR

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Gambar 2. 1 | Daun, bunga, batang dan rimpang Tanaman temulawak ( <i>Curcuma xanthorriza</i> Roxb.).....   | 24 |
| Gambar 2. 2 | Struktur dasar triterpenoid.....   | 36 |
| Gambar 2. 3 | <i>Pathway Triterpenoid Biosynthesis</i> .....   | 37 |
| Gambar 2. 4 | Penampang morfologi dibawah mikroskop <i>Bacillus cereus</i> perbesaran 400x.....  | 41 |
| Gambar 2. 5 | Mikrogram Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> .....  | 50 |
| Gambar 4. 1 | Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri <i>Bacillus cereus</i> a.Isolat <i>Actinomyces viscosus</i> (BT1), b. Isolat <i>Pseudomonas stutzeri</i> (BT2), c. Isolat <i>Actinomyces viscosus</i> (PD1) dan d. Isolat <i>Bacillus brevis</i> (PD2)<br>78         |    |
| Gambar 4. 2 | Zona Hambat hasil Isolat terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> . a. Isolat <i>Actinomyces viscosus</i> (BT1), b. Isolat <i>Pseudomonas stutzeri</i> (BT2), c. Isolat <i>Actinomyces viscosus</i> (PD1) dan d. Isolat <i>Bacillus brevis</i> (PD2)<br>78 |    |

## DAFTAR LAMPIRAN

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Lampiran 1. | Diagram Alir.....                                    | 108 |
| Lampiran 2. | Komposisi media yang digunakan dalam penelitian..... | 109 |
| Lampiran 3. | Gambar Isolat Bakteri Endofit Rimpang Temulawak..... | 110 |
| Lampiran 4. | Gambar Bakteri Uji.....                              | 111 |
| Lampiran 5. | Diameter Zona Hambat.....                            | 112 |
| Lampiran 6. | Alat-alat Penelitian.....                            | 114 |
| Lampiran 7. | Gambar Penyamaan Kekeruhan Mc Farland 0,5.....       | 115 |
| Lampiran 8. | Hasil BLAST Protein dan Nukleutida.....              | 116 |
| Lampiran 9. | Deskripsi KEGG Biosintesis Pathway Triterpenoid..... | 118 |



## ABSTRAK

**Ningtyas, Ayu Fidya. 2015. Uji Potensi Antibakteri Dan Keberadaan Enzim Squalene Sintase Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.).** Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.  
Dosen Pembimbing: Dr. Hj. Ulfah Utami M.Si, dan Umayyatus Syarifah, M.A

---

**Kata Kunci:** *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, temulawak, antibakteri, Bakteri endofit

Penyakit pada sistem pencernaan yang disebabkan bakteri *Bacillus cereus* adalah keracunan pada makanan. Penyakit *sigelosis* disebabkan oleh *Shigella dysenteriae*. Kedua bakteri pathogen virulensinya tinggi sehingga membutuhkan antibakteri yang dapat menghambatnya. Temulawak memiliki senyawa kurkumin, alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid. Senyawa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri jadi, diduga bakteri endofitnya juga memiliki senyawa tersebut. Terutama triterpenoid yang ada pada tanaman *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Perlu diteliti ada tidaknya triterpenoid dengan melihat enzim penghasil triterpenoid dengan bioinformatika, teknik BLAST.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dan eksplorasi. Menguji isolat bakteri endofit rimpang temulawak terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi kertas secara in vitro. Analisis data dengan mengukur zona hambatnya. Mengkaji isolat bakteri endofit rimpang temulawak sebagai penghasil enzim squalene sintase dengan bioinformatika. Analisis data dengan melihat persentase  $query\ cover \geq 80\%$  dan  $identity \geq 30\%$ .

Hasil uji antibakteri, bakteri endofit rimpang temulawak dapat menghambat bakteri patogen penyebab penyakit pada sistem pencernaan manusia. Zona hambat terbesar pada isolat *Bacillus brevis* 13,07mm terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan 14,78 mm terhadap *Shigella dysenteriae*. Hasil BLAST menunjukkan sekuen bakteri endofit dengan enzim penghasil triterpenoid tidak homolog sehingga, dinyatakan bakteri endofit tidak memiliki enzim squalene penghasil triterpenoid.

## ABSTRACT

**Ningtyas, Ayu Fidya. 2015. Potential Test Antibacterial and presence of Endophytic Bacteria Squalene synthase enzyme Endophytic Bacteria Curcuma rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).** Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Supervisor: Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si and Umaiatus Syarifah, M.A

---

**Keywords:** *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., Antibacterial, *Bacillus cereus*, *Shigella dysentriae*, Squalene synthase

Human digestive system disease caused by the bacteria *Bacillus cereus* is food poisoning. Sigelosis disease is caused by *Shigella dysentriae*. Both the high virulence of pathogenic bacteria and thus require antibacterial that can hinder. Wild Ginger has a compound curcumin, alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids. The compounds can be used as antibacterial so, allegedly the endophytic bacteria also have these compounds, mainly triterpenoids that existed at the plant *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. So, it needs to be examined whether there is triterpenoid to see the enzyme producer triterpenoid with bioinformatics, using BLAST.

This study is experimental research and exploration. Testing of endophytic bacteria isolates ginger rhizome against bacteria *Bacillus cereus* and *Shigella dysentriae* with paper diffusion method in vitro. Analysis of the data is done by measuring the inhibitor zone. Assessing the endophytic bacteria isolates ginger rhizome as a producer of enzymes squalene with bioinformatics. Analysis of the data by looking at the percentage of query cover  $\geq 80\%$  and  $\geq 30\%$  identity.

Antibacterial test results, ginger rhizome endophytic bacteria can inhibit pathogenic bacteria causing human digestive system diseases. The largest inhibition zone is isolate of *Bacillus brevis* 13,07mm againts the bacteria *Bacillus cereus* dan 14,78 mm againts *Shigella dysentriae*. BLAST results show that the sequence of endophytic bacteria and enzymes are not the same. Therefore, otherwise endophytic bacteria do not have a squalene synthase enzym.

## ملخص

فيديا، أيو. 2015. تجربة القوة ضد بكتيريا وموجود أنزيمسينسيزالسكوالين بكتيريا داخل جذمور نبات الكركم  
البحث الجامعي. شعبة علم الحياة بكلية العلوم (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).  
والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.  
المشرفة: الدكتوراة الحاجة ألفة أوتامي الماجستير، أمية الشريفة الماجستير

الكلمات الأساسية: ضد بكتيريا، بكتيريا، داخلينا بوتسينسيزالسكوالين، الكركم، الزحار الشيجلا، الشمعية العسوية،

مرض في هضم الطعام الذي سببه بكتيريا العسوية الشمعية هو سم الطعام. ومرض الشيفيليات داء  
سببه. الشيجلا الزحاراً أما بكتيريا ممردان وافيان عاليان حتى يحتاج ضد بكتيريا الذي يستطيع يعوقه. يملك  
الكركم قصد واحد كركمين وقلويدات والفلفونويد و سابونين و triterpenoid. ذلك قصد واحد يستطيع أن  
يصير ضد بكتيريا فأظن بكتيريا نابوت داخلي يملك ذلك قصد واحد أيضاً. الخاص triterpenoid في  
*Curcuma xanthorrhiza* Roxb. تحتاج أن نبحتوجود أنزيم الذي ينتج triterpenoid أو لا بمعلومة الحيوية

بصناعة BLAST

هذا البحث هو البحث التجري واستكشافي. هذا البحث يجرب عزل بكتيريا داخلي نباتي زنجبيل  
الكركم جذمور في بكتيريا العسوية الشمعية و الشيجلا الزحارا، بطريقة ورقة نشرها بكيفية في المختبر.  
تحليل الحقائق بقياس منظقة كروية عزلها. هذا البحث يبحث عزل بكتيريا ا جذمور داخلي نباتي زنجبيل  
الذي ينتج أنزيم السكوالين سينسيز بمعلومة الحيوية. تحليل الحقائق برؤية نسبة المأوية غطاء الاستعلام  
تقريباً ثمنون في المائة و هوية تقريباً ثلاثون في المائة.

إنتاج تجربة ضد بكتيريا جذمور داخلي نباتي الزنجبيل يستطيع أن يعوق بكتيريا الممرض الذي  
يسبب مرض الناس. أكبر المنظقة الكروية في عزل عصية القصيرة 13,07م م في بكتيريا العسوية  
الشمعية 14,78 في الشيجلا الزحارا. إنتاج BLAST يدل أن بكتيريا نابوت داخلي غير مناسب بأنزيم  
الذي ينتج triterpenoid حتى هذا البحث يعلن أن بكتيريا نابوت داخلي لا يملك أنزيم الذي ينتج  
triterpenoid.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan, dalam hal ini mikroba endofitik mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Mangunwardoyo, 2012).

Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Mikroba endofit memiliki potensi yang besar dalam pencarian sumber-sumber obat baru. Hal ini karena mikroba merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi. Di dalam medium fermentasi, mikroba endofit menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti yang terkandung pada tanaman (Prihatiningtyas, 2005).

Dalam dua dekade ini, mikroba endofit merupakan salah satu sumber utama mikroba penghasil antibiotik baru (Anggraini, 2012). Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengembangan senyawa aktif yang terdapat pada

tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman tersebut (Priharta, 2008). Penggunaan ekstrak tanaman tentunya membutuhkan banyak tanaman sehingga, lebih banyak membutuhkan biaya untuk bibit dan lahan. Perawatannya juga memakan waktu yang sangat lama selain itu, memiliki resiko hasil yang kurang baik akibat faktor cuaca, intensitas cahaya, tanah yang kurang bernutrisi dan lain – lain (Prihatiningtyas, 2005).

Lebih dari 1000 spesies tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beraneka ragam, memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit. Antibiotik merupakan salah satu produk yang dihasilkan dari ekstrak tanaman ataupun bakteri endofit tanaman tersebut dengan bantuan bioteknologi yang semakin canggih (Rahmat, 1995).

Keanekaragaman hayati yang ada di bumi ini beserta manfaatnya sudah dijelaskan pula dalam Al-Qur'an QS Al-An'am (06): 141, yang berbunyi:

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُمُ وَالزَّيْتُونَ وَالزُّمَامَانَ مِثْلَهَا وَغَيْرَ مِثْلَيْهِ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

Artinya: *aan Dia-lah yang menjaaiakan kebun-kebun yang berjunjung aan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.*”

Menurut (Shihab, 2002) tafsir Al Misbah sesungguhnya Tuhanmu hai manusia, Dia-lah telah menciptakan pertama kali kebun-kebun dan ladang-ladang anggur yang lebat pohonnya, yang menutupi tanah di bawahnya hingga tidak kelihatan, baik kebun-kebun yang berjunjung atau tidak berjunjung, dan Dia-lah pula yang menciptakan pohon-pohon, dan bermacam-macam tanaman yang beraneka rasa

Tafsir di atas menjelaskan bahwa sejatinya Allah telah menciptakan aneka tanaman, yang juga disebutkan tanaman berjunjung yang dimaksudkan sebagai tanaman dikotil karena pada tanaman ini memiliki jenis akar tunggang. Dan disebutkan pula terdapat jenis-jenis tanaman yang tidak berjunjung yakni yang termasuk ke dalam tanaman monokotil karena pada tanaman ini memiliki jenis akar serabut. Berdasarkan ayat di atas pula Allah telah menciptakan beberapa jenis tanaman tersebut dengan manfaatnya. Dan salah satunya adalah tanaman temulawak. Tanaman ini termasuk tanaman yang memiliki akar tunggang berupa rimpang dengan aneka manfaatnya termasuk sebagai obat.

Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) mengandung senyawa kurkumin, minyak atsiri, tannin, saponin, alkaloid dan lain- lain. Senyawa tersebut bermanfaat sebagai antibakteri. Bakteri endofit yang diisolasi dari rimpang tersebut kemungkinan besar juga menghasilkan senyawa yang sama dengan tumbuhan inangnya (Radji, 2005).

Menurut (Elita, 2013) pada penelitian sebelumnya mikroba endofit memang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya. Contohnya adalah senyawa Oleandrin sebagai senyawa

anti-kanker, selain dihasilkan oleh tanaman *Nerium indicum*, ternyata juga dihasilkan oleh mikroba endofit yang diisolasi dari daun *Nerium indicum*. Endofit juga memiliki kemampuan untuk mentransformasi komponen kimia dalam tanaman inangnya seperti bakteri endofit *Bacillus polymixa* yang diisolasi dari tumbuhan *Artemisia annua* dengan kemampuan untuk memproduksi senyawa biotransformasi artemisinin sebagai senyawa bioaktif antimalaria.

Penelitian yang dilakukan melanjutkan penelitian sebelumnya yang mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit tanaman rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Hasil isolat yang didapat ada 4 isolat yaitu 2 spesies *Actinomyces viscosus* hasil isolasi dari tanaman temulawak di Batu (BT1) dan Purwodadi (PD1), *Pseudomonas stutzeri* dari Batu (BT2) dan *Bacillus brevis* dari Purwodadi (PD2) (Imawati, 2015). 4 isolat tersebut yang akan diuji antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit pada sistem pencernaan yaitu *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*.

Penelitian yang dilakukan, menggunakan isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) adalah salah satu dari banyak tanaman obat yang telah digunakan selama beberapa generasi di Indonesia. Kebanyakan orang menggunakan rimpang tanaman ini karena memiliki efek sebagai obat. Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, triterpenoid dan tanin. Analisis kimia menunjukkan bahwa zat utama *Curcuma xanthorrhiza* Roxb adalah pati (48,18-59,64%), serat (2,58-4,83%), minyak atsiri (1,48-1,63%) seperti, phelandren, kamper, tumerol,

sineol, borneol, dan xanthorrhizol, dan juga kurkuminoid seperti, kurkumin dan desmetoxicurcumine (1,6-2,2%) (Kiswanto, 2005).

Minyak atsiri merupakan salah satu zat utama yang mendominasi pada rimpang tanaman temulawak *Curcuma xanthorriza* Roxb. yang memiliki manfaat meningkatkan kerja ginjal serta sebagai anti inflamasi, antimikroba, dan antikanker. Komponen utama minyak atsiri adalah terpena dan turunan terpena triterpenoid yang mengandung atom oksigen yang memiliki peran penting sebagai salah satu senyawa potensial antimikroba (Ketaren, 1985). Triterpenoid merupakan senyawa yang berada pada jumlah cukup besar pada tanaman. Sebagian besar senyawa triterpenoid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak dipergunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati, gangguan pencernaan dan malaria. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai anti fungus, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan anti virus (Loisiyana, 2005).

Selain mempunyai kegiatan fisiologi dan nilai ekologi yang menonjol, kemampuan triterpenoid sebagai senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen juga menjadi alasan dilakukannya penelitian ini. Triterpenoid mempengaruhi rusaknya porin yang akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Porin merupakan barel protein yang melintasi membran seluler dan bertindak sebagai pori yang mana molekul senyawa

dapat menyebar. Porin (lubang-lubang kecil) terdapat pada dinding luar bakteri. Porin ini merupakan suatu jalur bagi antibiotik untuk masuk dan secara efektif menghentikan pertumbuhan bakteri (Rachmawati, 2009).

Maka dari itu, penelitian ini mengkaji lebih dalam terkait enzim penghasil triterpenoid yang kemungkinan dimiliki oleh bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). 3 spesies dari 4 isolat bakteri yang sudah teridentifikasi pada penelitian sebelumnya, dikaji dengan bioinformatika untuk mengetahui kesamaan sekuens gen antara spesies bakteri dan enzim penghasil triterpenoid. Melihat kesamaan sekuens gen bisa dilakukan dengan metode BLAST.

Senyawa yang ada pada inang tanaman, maupun yang ada pada bakteri endofit dapat dijadikan sebagai acuan untuk mencari kekerabatan secara enzimatik. Metode *in vitro* dan *in vivo* lazim digunakan dalam proses penemuan obat. Komputer menawarkan metode *in silico*, yaitu suatu metode yang menggunakan kemampuan komputer dalam rancang obat sebagai komplemen dari *in vitro* dan *in vivo*. Kemampuan komputasi yang meningkat secara eksponensial merupakan peluang mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat baru (Jamil, 2007).

Penelusuran BLAST (BLAST *search*) pada data sekuens memungkinkan ilmuwan untuk mencari sekuens baik asam nukleat maupun protein yang mirip dengan sekuens tertentu yang dimilikinya. Hal ini berguna misalnya untuk menemukan gen sejenis pada beberapa organisme atau untuk memeriksa keabsahan hasil sekuensing atau untuk memeriksa fungsi gen hasil sekuensing.

Algoritma yang mendasari kerja BLAST adalah pensejajaran sekuens (Fatchiyah, 2009).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dapat menghasilkan senyawa triterpenoid karena memiliki enzim squalene sintase (KEGG, 2013). Enzim ini yang bereaksi dengan substrat farnesyl diphospat, presqualene dan squalene dan menghasilkan senyawa triterpenoid. Penelitian sebelumnya belum diteliti bahwa spesies bakteri endofit rimpang temulawak juga menghasilkan senyawa triterpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri yang sama dengan tumbuhan inangnya. Maka dari itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui spesies bakteri endofit rimpang temulawak memiliki enzim penghasil triterpenoid.

Bakteri endofit yang memiliki enzim penghasil senyawa triterpenoid kemungkinan besar bisa menghasilkan senyawa triterpenoid karena enzim tersebut dapat merubah suatu substrat yang cocok menjadi triterpenoid. Penelitian tentang bakteri endofit memiliki substrat yang cocok dengan enzim penghasil triterpenoid bisa dilakukan oleh peneliti selanjutnya apabila bakteri endofit pada penelitian ini, memang positif memiliki enzim penghasil triterpenoid.

Penelitian ini lebih memilih menggunakan bakteri endofit untuk uji antibakteri dari pada ekstrak tanamannya karena penggunaan ekstrak tanaman membutuhkan banyak tanaman. Hal itu lebih banyak membutuhkan biaya untuk bibit dan lahan. Perawatannya juga memakan waktu yang sangat lama selain itu, memiliki resiko hasil yang kurang baik akibat faktor cuaca, intensitas cahaya, tanah yang kurang bernutrisi dan lain – lain (Prihatiningtyas, 2005).

Penelitian yang dilakukan, menggunakan isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak. Kandungan metabolit sekunder dalam mikroba endofit hasil isolasi rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb ini dapat menekan angka pertumbuhan dari beberapa bakteri patogen yang dapat menimbulkan penyakit. Sistem pencernaan merupakan salah satu dari bagian tubuh manusia yang sering terinfeksi bakteri patogen karena fungsinya sebagai pusat terlumatnya bermacam bahan makanan pada tubuh manusia. Salah satu penyakit yang sering dialami oleh manusia dari berbagai usia yaitu keracunan bahan pangan. Bakteri yang dapat menimbulkan keracunan, diare dan muntah yakni bakteri *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* telah dikenali sebagai salah satu penyebab keracunan pada makanan sejak tahun 1955, sejak saat itu mikroorganisme ini telah menarik banyak perhatian dan menjadi salah satu penyebab keracunan pada pangan yang termasuk sering ditemukan. Sekitar 5% dari semua kasus keracunan pangan di Eropa tahun 1990 yang telah dilaporkan ke *World Health Organization Surveillance Programme* disebabkan oleh *Bacillus cereus* (WHO, 2003). Menurut data kasus jumlah minimal *Bacillus cereus* yang dapat menimbulkan keracunan pada pangan adalah sekitar  $10^5$  sel / gram pangan (Abis, 2009).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji antibakteri pada *Bacillus cereus* dengan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Berdasarkan hasil Uji MIC, dengan menggunakan beberapa perbandingan konsentrasi pada ekstrak temulawak dengan aquades, ethanol 70% dan dichlorometan. Hasil menunjukkan bahwa hanya pada ekstrak ethanol 70% pada tingkat konsentrasi tersebut mampu menekan pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Semakin tinggi

konsentrasi ekstrak temulawak yang diberikan, memiliki kecenderungan meningkatkan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* (Wibowo, 2012).

Bakteri patogen yang lain dan sering menginfeksi sistem pencernaan manusia yakni *Shigella dysenteriae*. Bakteri ini merupakan bakteri patogen penyebab sigelosis, yaitu kondisi klinis yang ditandai dengan infeksi usus akut atau radang usus yang disertai diare, buang air besar bercampur darah, lendir, dan nanah. Infeksi oleh bakteri ini kebanyakan menyerang anak-anak tetapi tidak menutup kemungkinan pula bakteri ini juga dapat menginfeksi orang dewasa. Keprihatinan juga menyeruak ketika obat-obat yang tersedia hanya bisa sebagai mediator pengobatan bukan pencegahan. Meskipun upaya pencegahan tidak hanya berasal dari obat, kesadaran diri akan kebersihan juga masih diutamakan dalam mencegah penyakit apapun (Radji, 2013). Pada daerah yang mempunyai 4 musim, terutama di Amerika Serikat, infeksi sigelosis paling sering terjadi pada musim gugur dan dingin. Di Indonesia, infeksi sigelosis telah menjadi endemi dengan daya infeksi sebesar dua ribu orang pertahunnya. Kelompok yang paling rentan terinfeksi adalah anak-anak yang berusia 1-4 tahun (Irianto, 2003).

Kekhawatiran sering muncul di kalangan masyarakat akan munculnya bermacam-macam penyakit yang sifatnya tidak awam. Kelelahan, kurangnya kepedulian terhadap kebersihan diri, dan rendahnya kesadaran masyarakat akan pentingnya menjaga kesehatan membuat tubuh menjadi mudah terserang penyakit. Selain itu, penggunaan antibiotik kimiawi di dunia lebih dari 40.000 ton/ tahun dalam industri pangan, pakan, pertanian, kesehatan, biokimia, genetika, dan biologi molekuler serta ada kecenderungan untuk terus meningkat dan dapat

menimbulkan resistensi terhadap mikrobia target (Neu, 1992). Oleh karena itu, langkah-langkah mendapatkan jenis antibiotik baru masih sangat diperlukan baik lewat sintesis kimia, biokimia baru atau penemuan isolat mikrobia baru (Tschertter dan Dreyfus, 1992).

Dua bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini diharapkan dapat dikendalikan oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder bakteri endofit dari isolasi rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Pemanfaatan dari salah satu bagian struktur tanaman dengan manfaatnya sudah dijelaskan sebelumnya dalam QS. Ar Ra'd (13): 4 yang berbunyi sebagai berikut:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَغَيْرٌ  
صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لِبَعْضِهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ  
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.”

Menurut (Maragi, 1986) di tafsir Al Maraghi bahwasanya belahan-belahan tanah yang berdekatan, kebun-kebun, tanam-tanaman dan pohon-pohon yang disiram dengan air yang sama tidak ada perbedaan pada tabiatnya. Meskipun ada beberapa kesamaan, maka sesuai dengan kekuasaan Kami, Kami lebihkan sebagian buah atas sebagian yang lain dalam bentuk dan ukuran bau dan rasa, manisnya dan masamnya. Allah juga menerangkan, bahwa

tanda-tanda kekuasaan seperti ini hanya dipikirkan oleh orang yang diberi akal, yang berpikir permulaan dan akibat, serta sebab dan musabab.

Hal-hal yang disebabkan tersebut sungguh terdapat tanda-tanda kekuasaan yang jelas bagi kaum yang menggunakan akalnyanya. Maka orang yang melihat keluarnya buah-buahan dengan berbagai macam bentuk, warna, rasa dan baunya, dibelahan tanah, yang berdekatan itu, padahal ia disirami oleh air yang sama dan sama pula saran pertumbuhannya, akan memastikan bahwa semua itu mempunyai Pembuat yang Maha Bijaksana, Maha Kuasa lagi Maha Pengatur, tidak lemah untuk melakukan sesuatu pun. Dia yakin, bahwa Tuhan yang Maha Kuasa menciptakan itu semua, kuasa pula untuk mengembalikan apa yang diciptakannya kepada keadaan semula, bahkan pengembalian itu lebih mudah bagi orang yang berpikir dan mau mengambil pelajaran.

Kekuasaan Allah SWT. di atas diartikan sebagai berlimpah ruahnya tanaman yang diciptakanNya. Dilebihkannya berbagai rasa dan manfaat yang dapat digunakan manusia yang mau berpikir, yang mau menggali lebih dalam tentang manfaat tanaman tersebut sehingga dapat dijelaskan kemaslahatannya bagi seluruh umat.

Tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai tanaman obat tradisional mempunyai peranan penting dalam dunia kesehatan yang pemakaiannya sudah lama dikenal dan digunakan masyarakat Indonesia. Penggunaan obat tradisional akhir-akhir ini mengalami peningkatan, hal ini dipengaruhi oleh kenaikan harga-harga obat-obat modern di masa krisis ekonomi. Obat-obatan tradisional selain sangat bermanfaat bagi kesehatan, juga tidak

memiliki efek samping yang berbahaya karena bisa dicerna oleh tubuh. Selain itu, sifatnya yang terapis dan residual dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam jangka panjang, serta aman untuk dikonsumsi (Supriyadi, 2001).

Adanya persoalan terkait penyakit pada sistem pencernaan manusia, menimbulkan banyak penelitian yang mencari kandidat bahan antibakteri terhadap bakteri patogen pada sistem pencernaan manusia yang berasal dari alam atau bahan biologi. Rimpang temulawak memiliki khasiat antibakteri yang baik karena mengandung minyak atsiri yang memiliki turunan senyawa yang mendominasi yakni senyawa triterpenoid. Isolat bakteri endofit hasil dari isolasi dari jaringan rimpang temulawak didapatkan 4 isolat dengan 3 spesies, yaitu *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* (Imawati, 2015) akan dianalisis menggunakan bioinformatika memiliki enzim penghasil senyawa triterpenoid yang kedepannya dapat dikaji lebih dalam bahwa spesies tersebut dapat menghasilkan triterpenoid. Bakteri endofit rimpang temulawak diharapkan dapat menjadi antibakteri yang baik dalam membantu pengendalian penyakit pada sistem pencernaan manusia akibat bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*.

## 1.2 Rumusan masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*?

2. Apakah bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki enzim squalene sintase sebagai penghasil senyawa triterpenoid secara *in silico*?

### 1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui bahwa isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*.
2. Untuk mengetahui bahwa bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memiliki enzim squalene sintase sebagai penghasil senyawa triterpenoid secara *in silico*.

### 1.4 Manfaat penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Bagi masyarakat, dapat dijadikan informasi terbaru mengenai obat herbal yang terjangkau untuk infeksi pencernaan akibat keracunan makanan, dan penyakit disentri serta masalah pencernaan lainnya tanpa menimbulkan efek samping yang membahayakan.
2. Bagi peneliti selanjutnya, dapat dijadikan salah satu terobosan untuk perkembangan obat baru terhadap bakteri-bakteri yang sudah resisten terhadap obat-obat sebelumnya.

### 1.5 Hipotesis

1. Adanya pengaruh pemberian antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit rimpang temulawak yaitu dari bakteri *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* terhadap daya hambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*.
2. Bakteri endofit rimpang temulawak yaitu *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* memiliki enzim penghasil senyawa metabolit sekunder berupa senyawa triterpenoid.

### 1.6 Batasan masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel tanaman yang digunakan adalah rimpang temulawak *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. dari Batu dan Purwodadi.
2. Bakteri uji yang digunakan *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*.
3. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri tersebut yaitu Zona Hambat dan Zona Radial antibakteri
4. Korelasi senyawa aktif pada tanaman inang dengan enzim squalene sintase yang menghasilkan senyawa aktif triterpenoid yang dihasilkan oleh bakteri endofit rimpang tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dianalisis menggunakan software NCBI-BLAST.
5. Data yang dihasilkan dari penelitian data yang bersifat kualitatif.

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Mikroba Endofit

Mikroba endofit adalah sekelompok mikroba yang hidup di dalam jaringan pembuluh tanaman, daun, akar, buah, dan batang. Mikroba tersebut hidup simbiosis yang saling menguntungkan, dalam hal ini mikroba mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman inangnya dan memproteksi tanaman inang tersebut terhadap herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen (Radji 2005).

Lingkungan tempat tumbuhnya inang dapat mempengaruhi populasi endofit, misalnya pada daerah tropis diversitas populasi endofit lebih beraneka ragam. merupakan salah satu komponen penting dalam biodiversitas mikroba. Umumnya dari satu spesies tanaman dapat diisolasi ratusan jenis endofit (Guan, 2008).

Salah satu kelompok mikroba endofit yang telah berhasil diisolasi adalah kapang dari rimpang temulawak *Curcuma xanthorriza* Roxb. Pertumbuhan mikroba endofit dari rimpang temulawak tersebut diawali dengan terbentuknya koloni yang berwarna putih kemudian tumbuh yang menimbulkan variasi warna yang berbeda untuk setiap jenis koloni. Seperti halnya mikroba yang lain, mikroba endofit pun memiliki fase fase pertumbuhan, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Fase-fase pertumbuhan kapang endofit yang telah diisolasi dari rimpang kunyit tersebut dapat terlihat melalui kurva pertumbuhannya.

Berikut merupakan hasil isolasi dan identifikasi bakteri endofit rimpang temulawak *Curcuma xanthorriza* Roxb. (Imawati, 2015):

1. *Actinomyces viscosus*

*Actinomyces viscosus* merupakan bakteri gram positif, tidak tahan terhadap asam, hidup secara fakultatif, memiliki katalase-positif, berfilamen, atau mikroorganisme diphtheroidal. Awal penemuannya diisolasi dari enam infeksi anjing selama periode 1,5 tahun. Organisme yang dibiakkan dari eksudat dan butiran yang diambil dari granuloma yang dapat menularkan infeksi dan empyemas. Bakteri ini akan tumbuh dengan baik secara aerobik dan anaerobik jika dengan penambahan 10% karbon dioksida. Bakteri ini fermentasi laktosa, yang diproduksi oleh enzim katalase dan acetylmethylcarbinol, untuk mengurangi nitrat, Aesculin terhidrolisis, dan tidak menghasilkan gelatinase atau urease. Karakteristik fisiologis ini membedakan *A. viscosus* dari organisme morfologis serupa lainnya.

2. *Bacillus brevis*

Di dalam kehidupan manusia, tentu sangatlah berhubungan dengan adanya bakteri. Bakteri tergolong menjadi dua jenis, yaitu bakteri yang menguntungkan bagi kehidupan manusia dan juga bakteri yang merugikan manusia. Bahkan ada juga bakteri yang merupakan penyebab dari timbulnya berbagai penyakit. *Bacillus brevis* termasuk ke dalam jenis bakteri yang menguntungkan.

*Bacillus brevis* ini memiliki bentuk basil. Bentuk basil adalah bentuk batang atau silinder. Bakteri ini terbagi menjadi dua jenis, yaitu bakteri

diplobacillus dan streptobacillus. Diplobacillus adalah bakteri yang hidup secara berkelompok atau berpasangan dua-dua.

Sementara itu, streptobacillus adalah bakteri bentuk basill yang juga hidup berkelompok atau bergandengan. Akan tetapi di dalam bergandengan ini, kumpulan bakteri akan membentuk sebuah rantai. Sebagai bakteri yang menguntungkan bagi kehidupan manusia, bakteri *Bacillus brevis* ini juga memiliki fungsi atau manfaat. Manfaat dari bakteri ini adalah menghasilkan zat antibiotik yang dinamakan terotrisin. Dalam hal ini, zat antibiotik terotrisin dapat digunakan di dalam pembuatan jenis obat tertentu ataupun jenis antibiotik.

Hasil identifikasi ini sesuai dengan hasil penelitian (Ebrahimi & Abbas 2008), yang menyatakan *Bacillus brevis* merupakan bakteri gram positif dan bakteri bersifat aerob yang memberikan hasil positif pada tesmanitol, dan tes suhu pada 20°C-75°C. *Bacillus brevis* merupakan salah bakteri *Bacillus* yang dapat memproduksi metabolit sekunder *gramicidin* dan *tyrocidin* (Jamilet *al.*, 2007).

### 3. *Pseudomonas stutzeri*

Bakteri *Pseudomonas sp.* merupakan bakteri hidrokarbonoklastik yang mampumendegradasi berbagai jenis hidrokarbon. Keberhasilan penggunaan bakteri *Pseudomonas* dalam upaya bioremediasi lingkungan akibat pencemaran minyak bumi. Bahan utama minyak bumi adalah hidrokarbon alifatik dan aromatik. Selain itu, minyak bumi juga mengandung senyawa nitrogen antara 0-0,5%, belerang 0-6%, dan oksigen 0-3,5%.

Bakteri denitrifikasi adalah kelompok bakteri yang memiliki kemampuan untuk melakukan reaksi reduksi senyawa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) menjadi

senyawa nitrogen bebas ( $N_2$ ). Pada beberapa kelompok bakteri denitrifikasi, dapat ditemukan senyawa nitrogen oksida (NO) sebagai hasil sampingan metabolisme. Proses ini pada umumnya berlangsung secara anaerobik (tanpa melibatkan molekul oksigen,  $O_2$ ). Contoh bakteri yang mampu melakukan metabolisme ini adalah *Pseudomonas stutzeri*. Nitrogen bebas ini kemudian akan digunakan oleh tanaman dan mikroorganisme lain untuk menunjang pertumbuhannya.

Proses denitrifikasi merupakan salah satu dari rangkaian siklus nitrogen yang berperan dalam mengembalikan senyawa nitrat yang terakumulasi di wilayah perairan, terutama laut, untuk kembali dipakai dalam bentuk bebas. Di samping itu, reaksi ini juga menghasilkan nitrogen dalam bentuk lain, seperti dinitrogen oksida ( $N_2O$ ). Senyawa tersebut tidak hanya dapat berperan penting bagi hidup berbagai organisme, tetapi juga dapat berperan dalam fenomena hujan asam dan rusaknya ozon. Senyawa  $N_2O$  akan dioksidasi menjadi senyawa NO dan selanjutnya bereaksi dengan ozon ( $O_3$ ) membentuk  $NO_2^-$  yang akan kembali ke bumi dalam bentuk hujan asam ( $HNO_2$ ).

Berikut ini adalah tabel hasil uji fitokimia dari metabolit sekunder *Pseudomonas stutzeri* dimana tanda “+” adalah terdeteksi dan tanda “-” tidak terdeteksi.

Tabel 2.1. Uji fitokimia metabolit sekunder *Pseudomonas stutzeri* (Elita, 2013)

| Uji fitokimia ekstrak kasar isolat bakteri endofitik <i>P. cepacia</i> LBKURCC47 dan <i>P. stutzeri</i> LBKURCC44 |                    |           |           |         |         |
|---|--------------------|-----------|-----------|---------|---------|
| Bahan uji   | Metabolit sekunder |           |           |         |         |
|   | Alkaloid           | Flavonoid | Terpenoid | Fenolik | Saponin |
| Kontrol   | -                  | -         | -         | -       | -       |
| LBKURCC44   | -                  | -         | -         | -       | +       |
| LBKURCC47   | -                  | -         | -         | -       | +       |

Setelah diisolasi dan dimurnikan, mikroba endofit dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan berbagai senyawa alam yang berpotensi sebagai antibakteri, antikanker, dan antioksidan (Kauffman, 2010). Selain itu, endofit juga dapat dimanfaatkan sebagai agen biotransformasi senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman inangnya seperti biotransformasi kinkona menjadi kinkona-N oksida oleh mikrob endofit dari tanaman kina (Briyan, 1999), dan biotransformasi tetrahidrofur an lignan oleh mikroba endofit dari *Viguiera arenaria* sebagai obat penyakit Chagas.

## 2.2 Metabolit Primer dan Metabolit Sekunder

### 2.2.1 Metabolit Primer

Metabolit primer adalah suatu metabolit atau molekul yang merupakan produk akhir atau produk antara proses metabolisme makhluk hidup yang fungsinya sangat esensial bagi kelangsungan hidup organisme tersebut. Contohnya : protein, lemak, karbohidrat dan DNA. Pada umumnya metabolit primer tidak diproduksi berlebihan. Pada sebagian mikroorganisme, produksi metabolit yang berlebihan dapat menghambat pertumbuhan, dan kadang-kadang dapat mematikan mikroorganisme tersebut, proses metabolisme untuk membentuk metabolit primer disebut metabolisme primer (Entjang, 2001).

Ciri- ciri metabolit primer yaitu (Pratiwi, 2008):

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

Strategi untuk meningkatkan produksi metabolit mikroorganisme dilakukan dengan cara sebagai berikut (Entjang, 2001):

- 1). Mengisolasi mikroorganisme muatan yang tidak menghasilkan hasil akhir yang bersifat inhibitor atau repressor umpan balik. Contohnya adalah produk silisin oleh muatan auksotrof *Corynebacterium glutamicum*.
- 2). Memanipulasi enzim-enzim pengatur sehingga tidak lagi dapat mengenali metabolit yang bersifat inhibitor (muatan resisten terhadap pengaturan umpan balik)
- 3). Memodifikasi permeabilitas dinding sel mikroorganisme, sehingga hasil akhir yang bersifat inhibitor atau reseptor dapat di ekskresikan keluar sel.

### **2.2.2 Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder adalah suatu molekul atau produk metabolit yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme dimana produk

metabolit tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, namun metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup (Pratiwi, 2008).

Fungsi metabolit sekunder bagi mikroorganisme penghasil itu sendiri sebagian besar belum jelas. Metabolisme dibuat dan disimpan secara ekstraseluler. Metabolit sekunder banyak bermanfaat bagi manusia dan makhluk hidup lain karena banyak diantaranya bersifat sebagai obat, pigmen, vitamin, ataupun hormon. Contohnya adalah *Chlorafenicol* dari *Streptomyces venezuellae*, penisillin dari *Penicillium notatum*, serta papaverin yang dihasilkan oleh *Papaver* sp. Ciri- ciri metabolit sekunder adalah (Pratiwi, 2008):

- a. Dibuat melalui proses metabolisme sekunder
- b. Diproduksi selama fase stasioner
- c. Fungsi bagi organisme penghasil belum jelas, diduga tidak berhubungan dengan sintesis komponen sel atau pertumbuhan
- d. Dibuat dan disimpan secara ekstraseluler
- e. Umumnya diproduksi oleh fungi filamentus dan bakteri pembentuk spora
- f. Merupakan kekhasan bagi spesies tertentu
- g. Biasanya berhubungan dengan aktivitas anti mikroba enzim spesifik penghambatan, pendorongan pertumbuhan, dan sifat- sifat farmakologis

Beberapa komponen yang dapat memberikan efek induksi enzim pada biosintesis metabolit sekunder adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2008):

a) Triptofan

Senyawa ini diduga berkaitan dengan induksi sintesis enzim yang dibutuhkan untuk produksi alkaloid pada *claviceps*.

b) Metionin

Disamping sebagai donor sulfur, metionin juga menginduksi pembentukan enzim yang dibutuhkan untuk sintesis sefalosporin.

c) Dietilalbiturat

Dietilbarbiturat berperan pada sintesis rifamisin oleh *Nocardia mediteranei*.

## 2.3 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb)

### 2.3.1 Sejarah dan Klasifikasi

Temulawak merupakan tanaman obat berupa tumbuhan rumpun berbatang semu. Di daerah Jawa Barat temulawak disebut sebagai koneng gede sedangkan di Madura disebut sebagai temu lobak. Kawasan Indo-Malaysia merupakan tempat dari mana temulawak ini menyebar ke seluruh dunia. Saat ini tanaman ini selain di Asia Tenggara dapat ditemui pula di Cina, IndoCina, Bardabos, India, Jepang, Korea, di Amerika Serikat dan Beberapa negara Eropa (Rahmat Rukmana, Ir: 1995).

Tumbuhan yang hidup dipermukaan bumi beranekaragam jenisnya, serta memiliki manfaat masing-masing sesuai dengan firman Allah SWT. dalam QS. Qaaf (50): 9 yang berbunyi:

وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُّبْرَكًا فَأَنْبَتْنَا بِهِ جَنَّاتٍ وَحَبَّ الْحَصِيدِ

Artinya : “Dan Kami turunkan dari langit air yang banyak manfaatnya lalu Kami tumbuhkan dengan air itu pohon-pohon dan biji-biji tanaman untuk dipanen.”

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT. telah menumbuhkan pohon-pohon (tumbuhan) di bumi ini mempunyai manfaat yang banyak. Tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang memberikan manfaat dan kontribusi yang kuat terhadap makhluk yang lainnya.

Klasifikasi tanaman sebagai berikut (Rahmat Rukmana, Ir: 1995) :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Keluarga : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

### 2.3.2 Deskripsi

Tanaman tera berbatang semu dengan tinggi hingga lebih dari 1m tetapi kurang dari 2m, berwarna hijau atau coklat gelap. Akar rimpang terbentuk dengan sempurna dan bercabang kuat, berwarna hijau gelap. Tiap batang mempunyai daun 2 – 9 helai dengan bentuk bundar memanjang sampai bangun lanset, warna daun hijau atau coklat keunguan terang sampai gelap, panjang daun 31 – 84 cm dan lebar 10 – 18 cm, panjang tangkai daun termasuk helaian 43 – 80 cm. Perbungaan lateral, tangkai ramping dan sisik berbentuk garis, panjang tangkai 9 – 23 cm dan lebar 4 – 6 cm, berdaun pelindung banyak yang panjangnya melebihi atau sebanding dengan mahkota bunga (Rahmat Rukmana, Ir: 1995).



Gambar 2.1. Daun, bunga, batang dan rimpang Tanaman temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb (Hernani, 2005)

Kelopak bunga berwarna putih berbulu, panjang 8 – 13 mm, mahkota bunga berbentuk tabung dengan panjang keseluruhan 4.5 cm, helaian bunga berbentuk bundar memanjang berwarna putih dengan ujung yang berwarna merah dadu atau merah, panjang 1.25 – 2 cm dan lebar 1 cm.

### 2.3.3 Manfaat Tanaman

Satu-satunya bagian temulawak yang dimanfaatkan untuk jamu di Indonesia adalah rimpangnya. Rimpang ini mengandung 48-59,64 % zat tepung, 1,6-2,2 % kurkumin dan 1,48-1,63 % minyak asiri dan dipercaya dapat meningkatkan kerja ginjal serta anti inflamasi. Manfaat lain dari rimpang tanaman ini adalah sebagai obat jerawat, meningkatkan nafsu makan, anti kolesterol, anti inflamasi, anemia, anti oksidan, pencegah kanker, dan anti mikroba.

### **2.3.4 Sentra Penanaman**

Tanaman ini ditanam secara konvensional dalam skala kecil tanpa memanfaatkan teknik budidaya yang standart, karena itu sulit menentukan dimana sentra penanaman temulawak di Indonesia. Hampir di setiap daerah pedesaan terutama di dataran sedang dan tinggi, dapat ditemukan temulawak terutama di lahan yang teduh.

### **2.3.5 Syarat Pertumbuhan**

#### **2.3.5.1. Iklim**

- 1) Secara alami temulawak tumbuh dengan baik di lahan-lahan yang teduh dan terlindung dari teriknya sinar matahari. Di habitat alami rumpun tanaman ini tumbuh subur di bawah naungan pohon bambu atau jati. Namun demikian temulawak juga dapat dengan mudah ditemukan di tempat yang terik seperti tanah tegalan. Secara umum tanaman ini memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap berbagai cuaca di daerah beriklim tropis.
- 2) Suhu udara yang baik untuk budidaya tanaman ini antara 19-30°C. Tanaman ini memerlukan curah hujan tahunan antara 1.000-4.000 mm/tahun.

#### **2.3.5.2. Media Tanam**

Perakaran temulawak dapat beradaptasi dengan baik pada berbagai jenis tanah baik tanah berkapur, berpasir, agak berpasir maupun tanah-tanah berat yang berliat. Namun demikian untuk memproduksi rimpang yang optimal diperlukan tanah yang subur, gembur dan berdrainase baik. Dengan demikian pemupukan anorganik dan organik diperlukan untuk memberi unsur hara yang cukup dan menjaga struktur tanah agar tetap gembur. Tanah yang mengandung bahan

organik diperlukan untuk menjaga agar tanah tidak mudah tergenang air (Kiswanto, 2005).

#### **2.3.5.3. Ketinggian Tempat**

Temulawak dapat tumbuh pada ketinggian tempat 5-1.000 m/dpl dengan ketinggian tempat optimum adalah 750 m/dpl. Kandungan pati tertinggi di dalam rimpang diperoleh pada tanaman yang ditanam pada ketinggian 240 m/dpl. Temulawak yang ditanam di dataran tinggi menghasilkan rimpang yang hanya mengandung sedikit minyak atsiri. Tanaman ini lebih cocok dikembangkan di dataran sedang.

#### **2.3.5.4 Kandungan Senyawa Pada Rimpang Temulawak**

Temulawak telah lama diketahui mengandung senyawa kimia yang mempunyai keaktifan fisiologi, yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid terdiri atas senyawa berwarna kuning kurkumin dan turunannya. Kurkuminoid yang memberi warna kuning pada rimpang bersifat antibakteria, anti-kanker, anti-tumor dan anti-radang, mengandung anti-oksidan dan hypokolesteromik. Sedangkan minyak atsiri berbau dan berasa yang khas. Kandungan minyak atsiri pada rimpang temulawak 3-12% sedangkan untuk kurkuminoid, dalam temulawak 1-2%. Untuk menentukan persentase ini dilakukan pemanasan pada temperatur 50-55°C, supaya tidak merusak zat aktifnya dan untuk mendapatkan warna yang baik dari kurkuminoid.

Kajian dan penyelidikan atas temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) membuktikan bahawa rimpangnya mengandung banyak zat kimiawi yang memberikan kesan positif terhadap organ dalam manusia seperti empedu, hati dan

pankreas. Pengaruhnya keatas empedu ialah dapat mencegah pembentukan batu dan kolesistisis. Dalam hati, zat temulawak merangsang sel hati membuat empedu, mencegah hepatitis dan penyakit hati, membantu menurunkan kadar SGOT dan SGPT dan sebagai anti-hepatotoksik. Selain itu, ia dapat merangsang fungsi pankreas, menambah selera makan, berkemampuan merangsang perjalanan sistem hormon metabolisme dan fisiologi tubuh.

Komposisi kimia dari rimpang temulawak adalah protein pati sebesar 29-30 persen, kurkumin satu sampai dua persen, dan minyak atsirinya antara 6 hingga 10 persen. Daging buah (rimfang) temulawak mempunyai beberapa kandungan senyawa kimia antara lain berupa fellandrian dan turmerol atau yang sering disebut minyak menguap. Kemudian minyak atsiri, kamfer, glukosida, foluymetik karbinol. Temulawak mengandung minyak atsiri seperti limonina yang mengharumkan, sedangkan kandungan flavonoida-nya berkhasiat menyembuhkan radang. Minyak atsiri juga bisa membunuh mikroba. Buahnya mengandung minyak terbang (anetol, pinen, felandren, dipenten, fenchon, metilchavikol, anisaldehyda, asam anisat, kamfer), dan minyak lemak.

Komponen utama rimpang temulawak:

1. Pati 48.18% - 59.64% - membantu proses metabolisma dan fisiologi organ badan.
2. Protin 29.00% - 30.00%
3. Abu 5.26% - 7.07%
4. Serat 2.58% - 4.83% - memulihkan kecergasan badan (bersifat tonik)
5. Kurkumin 1.60% - 2.20% - melancarkan proses pencernaan tubuh

6. Minyak asiri 6.00% - 10.00% - meningkatkan fungsi ginjal
7. Phelandren - melancarkan pengeluaran toksik dalam tubuh melalui air kencing
8. Kamfer
9. Turmerol - membantu proses metabolisme
10. Borneol - memulihkan kesehatan tubuh badan akibat serangan penyakit
11. Sineal
12. Xanthorrhizol

Temulawak ini sebagai tanaman obat asli Indonesia memiliki banyak manfaat dan khasiat, antara lain temulawak digunakan sebagai obat karena memiliki efek antivirus, mencegah pembengkakan hati, meningkatkan produksi cairan empedu dan mencegah terbentuknya batu empedu, mencegah jerawat, menurunkan kandungan kolesterol dalam darah dan hati serta meningkatkan nafsu makan. Selain itu, temulawak juga bisa meningkatkan produksi air susu ibu, pencernaan dan memperbaiki gangguan menstruasi, mengobati sakit kuning, diare, maag, perut kembung dan pegal-pegal. Selain itu juga bisa dimanfaatkan untuk menurunkan lemak darah, mencegah penggumpalan darah sebagai antioksidan dan memelihara kesehatan dengan meningkatkan daya kekebalan tubuh (Kertasapoetra, 1992).

Penyakit infeksi seperti saluran pernafasan dan diare salah satu penyebab kematian terbesar di dunia (Kiswanto, 2005) disebabkan oleh mikroba patogen (Jawetz, Melnick, dan Adelberg's, 2005). Selama ini penyakit infeksi diatasi dengan menggunakan antibiotika. Penggunaan antibiotika yang tidak

rasional bisa membuat mikroba patogen menjadi resisten dan munculnya mikroba resisten ini penyebab utama kegagalan pengobatan penyakit infeksi (Kiswanto, 2005). Oleh sebab itu, diperlukan alternatif dalam mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antimikroba dari tanaman obat.

*Curcuma* banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba karena kandungan senyawa aktifnya mampu mencegah pertumbuhan mikroba. Tanaman ini terdiri dari beberapa spesies diantaranya *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak), *C. domestica* (kunyit), *C. mangga* (temu mangga), *C. zedoaria* (temu putih), *C. heyneana* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu hitam) (Kristina, 2006). Rimpang *Curcuma* ini sering digunakan dalam pengobatan tradisional (Hernani, 2002) diantaranya mengobati keputihan, diare, obat jerawat dan gatal-gatal (Rukmana, 2004). *Curcuma* juga berpeluang sebagai obat infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen seperti *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli* (Jawetz *et al.*, 2005). Penggunaan *Curcuma* ini sebagai obat tradisional dapat dalam bentuk ekstrak segar, seduhan, rebusan dan pemurnian (Cahyono, 2011).

Tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai tanaman obat tradisional mempunyai peranan penting dalam dunia kesehatan yang pemakaiannya sudah lama dikenal dan digunakan masyarakat Indonesia. Penggunaan obat tradisional akhir-akhir ini mengalami peningkatan, hal ini dipengaruhi oleh kenaikan harga-harga obat-obat modern di masa krisis ekonomi. Obat-obatan tradisional selain sangat bermanfaat bagi kesehatan, juga tidak memiliki efek samping yang berbahaya karena bisa dicerna oleh tubuh. Selain itu,

sifatnya yang terapis dan residual dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam jangka panjang, serta aman untuk dikonsumsi (Supriyadi, 2001).

## 2.4 Triterpenoid

Tanaman dikenal banyak mengandung senyawa-senyawa kimia khususnya senyawa metabolit sekunder. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman adalah senyawa triterpenoid. Senyawa tersebut dapat dijumpai pada bagian akar, batang, daun, buah maupun biji tanaman.

Triterpenoid merupakan senyawa aktif turunan dari minyak atsiri yang terkandung dalam senyawa metabolit sekunder tanaman temulawak. Minyak yang terdapat di alam dibagi menjadi 3 golongan yaitu minyak mineral (mineral oil), minyak nabati dan hewani yang dapat dimakan (edible fat) dan minyak atsiri (essential oil). Minyak atsiri adalah zat cair yang mudah menguap, bercampur dengan persenyawaan padat yang berbeda dalam hal komposisi dan titik cairnya, larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Sumitra, 2003).

Minyak atsiri umumnya terjadi dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon (C), hidrogen (H) dan oksigen (O) serta beberapa persenyawaan kimia yang mengandung unsur Nitrogen dan Belerang (Ketaren, 1985). Komponen utama minyak atsiri adalah terpena dan turunan terpena yang mengandung atom oksigen. Terpenoid merupakan senyawa yang berada pada jumlah cukup besar pada tanaman. Terpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri menimbulkan bau harum atau bau khas dari tanaman. Secara kimia, terpena minyak atsiri digolongkan menjadi dua bagian yaitu monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Beberapa contoh monoterpenoid antara lain geraniol, limonena,

kamfor, mentol dan lain-lain. Yang termasuk seskuiterpenoid antara lain kariofilen dan santonin.

Secara ekonomi senyawa terpena tersebut penting sebagai dasar wewangian alam dan juga untuk rempah-rempah serta sebagai senyawa cita rasa dalam industri makanan. Terpena juga sering kali terdapat dalam fraksi yang berbau, bersama-sama dengan senyawa aromatik seperti finilpropanoid. Selain terpena, minyak atsiri juga banyak mengandung senyawa turunan benzena seperti Eugenol, Kumarin, Sinamaldehyd dan lain-lain (Robinson, T., 1991).

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, J.B., 1987).

Sebagian besar senyawa triterpenoid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak dipergunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai anti jamur, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan anti virus (Robinson, T.)

Sebelumnya dalam Al Quran telah tersurat tentang peranan unsur kimia dalam proses penciptaan langit dan bumi dalam enam "periode" dan penciptaan alam semesta dari air juga terjadi menurut hukum kombinasi dan perubahan yang diciptakan Allah Swt. Ayat-ayat Al-Qur'an yang menuturkan bagaimana Tuhan

menciptakan langit, bumi, manusia, dan sebagainya, memberikan petunjuk yang kuat kepada para ilmuwan tentang membuat substansi baru dengan menggabungkan berbagai unsur dan tentang kemungkinan mempelajari reaksi kimia dari penggabungan unsur-unsur itu dengan berbagai proporsinya. yakni dalam QS. Ya Sin (36): 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيۡ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا  
يَعْلَمُوْنَ

Artinya : *“Maha suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui.”*

Menurut Abdullah (2002) dalam tafsir Ibnu Katsir Jilid 3 Kemudian

Allah Tabaraka wa Ta’ala berfirman: *“Maha Suci Rabb yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi,”* yaitu berupa tumbuh-tumbuhan, buah-buahan dan tanam-tanaman.

*“Dan dari diri mereka,”* dimana Dia menjadikan mereka laki-laki dan perempuan. *“Maupun dari apa yang tidak mereka ketahui,”* yaitu berupa makhluk-makhluk lain yang tidak mereka ketahui.

Ayat-ayat diatas dan ayat-ayat lain yang serupa dalam al-Qur’an mengajak manusia memikirkan dan merenungkan proses penciptaan yang dilakukan Allah dengan berbagai konteksnya dan mendorong manusia mengadakan eksperimen tentang interaksi antar berbagai substansi yang berbeda, serta mengadakan studi tentang perubahan-perubahan kimiawi yang memunculkan substansi baru dan seterusnya.

Senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah senyawa Triterpenoid tidak disebarkan secara universal ke seluruh bagian tanaman (Harborne, J.B., 1987). Sampai saat ini telah dilakukan analisis untuk menentukan adanya senyawa. Menurut (Hayani, 2006) dari hasil analisis mutu rimpang temulawak secara kuantitatif diperoleh kadar air 13,98% kadar minyak atsiri 3,81% kadar pati 41,45% kadar serat 12,62% kadar abu 4,62% kadar abu tak larut asam 0,56% sari air 10,96% sari alkohol 9,48% dan kadar kurkumin 2,29% (Tabel 2.2). Dan bobot awal rimpang temulawak seberat 2 kilogram diperoleh berat simplisia kering 886 gram. Sedangkan untuk mengetahui banyaknya komponen dari rimpang temulawak digunakan pereaksi yang bersifat polar, non polar, dan semi polar yaitu alkohol, heksan dan etil acetate dengan masing-masing kadar ekstrak dalam alkohol 20,4% kadar ekstrak dalam heksan 8,2% dan kadar ekstrak dalam etil acetate 17% (Tabel 2.3).

Tabel 2.2. Hasil analisis serbuk rimpang temulawak  
(Hayani, 2006)

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

Dari hasil analisis dapat diketahui kadar pati merupakan basil yang tertinggi yang mempunyai harapan dapat dikembangkan sebagai bahan baku industri makanan dan dalam bidang farmasi sebagai bahan pembantu industri tablet. Minyak atsiri rimpang temulawak digunakan dalam bidang medis sebagai aromaterapi, yaitu titorepi yang menggunakan minyak atsiri sebagai komponen aktifnya menurut (Kristina, 2006).

Menurut (Kristina, 2006) menunjukkan alfa kurkumin mempunyai aktivitas anti tumor yang paling tinggi yang sifatnya sangat tergantung pada besarnya dosis yang digunakan. Karena warnanya kuning fraksi kurkuminoid dapat digunakan sebagai zat warna alami dalam makanan, minuman atau kosmetika.

Tabel 2.3. Hasil ekstrak rimpang temulawak  
(Hayani, 2006)

| No | Ekstrak      | Nilai (%) |
|----|--------------|-----------|
| 1  | Alkohol      | 20,40     |
| 2  | Heksan       | 8,20      |
| 3  | Ethyl Asetat | 17,00     |

Ekstrak terbanyak dari rimpang temulawak diperoleh dari ekstrak dengan menggunakan pelarut alkohol. Analisis secara kualitatif dari hasil pengujian skrining fitokimia diperoleh bahwa didalam rimpang temulawak terdapat alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid dan glikosida (Tabel 2.4). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan rimpang temulawak secara kualitatif.

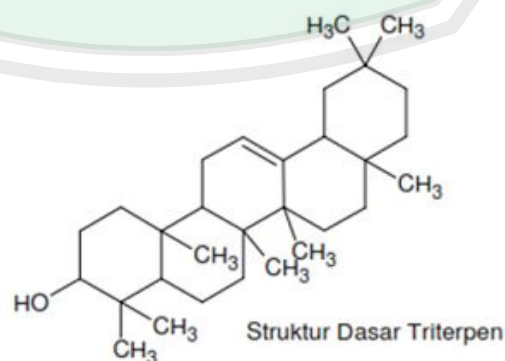
Tabel 2.4. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk rimpang temulawak  
(Hayani, 2006)

| No | Jenis pemeriksaan | Hasil |
|----|-------------------|-------|
| 1  | Alkaloid          | ++++  |
| 2  | Flavonoid         | ++++  |
| 3  | Tanin             | -     |
| 4  | Saponin           | +     |
| 5  | Triterpenoid      | ++++  |
| 6  | Steroid           | -     |
| 7  | Glikosida         | ++++  |
| 8  | Fenolik           | ++++  |

Dari hasil pengujian skrining fitokimia terlihat dalam rimpang temulawak kandungan alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid dan glikosida lebih dominan dibanding tannin, saponin dan steroid. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak digunakan dalam bidang pengobatan.

Triterpenoid dibiosintesis dari 6 unit isopren, dan tersusun atas C<sub>30</sub> asiklik yang merupakan prekursor dari squalen. Perbedaan pembentukan cincin (siklisasi) akan memberikan perbedaan tipe dari terpenoid. Lebih dari 4000 terpenoid alami telah diisolasi, dan lebih dari 40 kerangka dasar yang teridentifikasi. Triterpenoid terbagi atas 2 kelompok besar yaitu tetrasiklik dan pentasiklik (Majang, 2002).

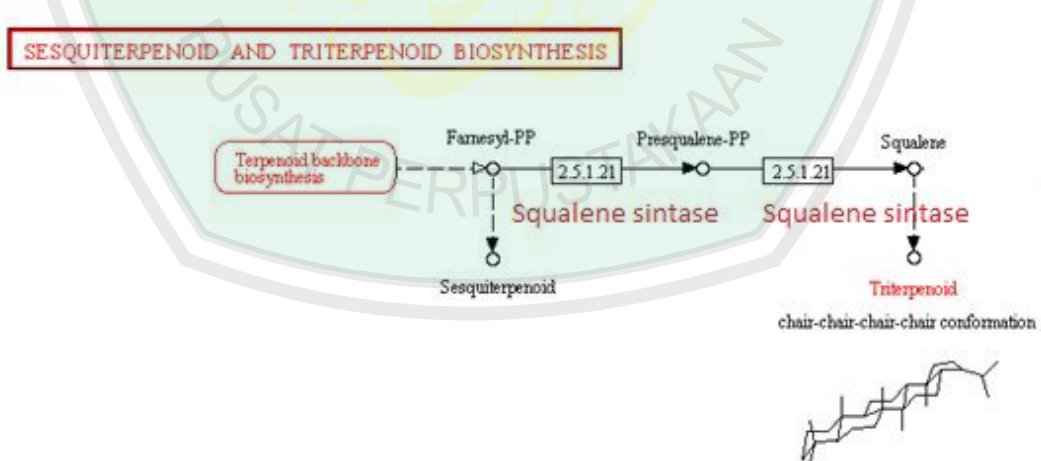
Pada biosintesis selanjutnya, dapat terjadi pengurangan jumlah atom C menjadi molekul dengan jumlah atom C kurang dari 30. Sebagai contoh adalah pembentukan senyawa golongan steroid (C<sub>27</sub>). Banyak senyawa golongan triterpenoid bereaksi dengan gula membentuk glikosida. Triterpenoid bebas merupakan komponen penyusun resin, lateks, dan kutikula dari tanaman (Bradford, MM, 1976).



Gambar 2.2 Struktur Dasar Triterpenoid  
(Cahyono, 2011)

Beragam senyawa struktur saponin juga telah diamati untuk membunuh protozoa, moluska, antioksidan, merusak pencernaan protein dan penyerapan vitamin dan mineral dalam usus. Menyebabkan hipoglikemia dan bertindak sebagai anti jamur dan anti virus (Yoshiki, 1998). Peran Fisiologi saponin pada tanaman belum sepenuhnya di pahami meskipun ada sejumlah publikasi menggambarkan identifikasi saponin dan beberapa efek pada sel hewan, jamur dan bakteri. Hanya sedikit yang diketahui fungsi saponin untuk tumbuhan itu sendiri. Banyak saponin diketahui antimikroba untuk menghambat jamur dan untuk melindungi tanaman dari serangga. Saponin dianggap sebagai dari sistem pertahanan tanaman dan dengan demikian dimasukkan dalam kelompok besar molekul pelindung pada sel tumbuhan (Morrissey & Osboun, 1999).

Triterpenoid dari rimpang temulawak dihasilkan karena kedua tanaman memiliki enzim pembentuk terpenoid yaitu Squalene sintase (Kegg, 2013) :



Gambar 2.3 Pathway Triterpenoid Biosynthesis

Gambar 2.3 menjelaskan bahwa senyawa triterpenoid pada tanaman *Curcuma* sp. dihasilkan karena tanaman tersebut memiliki enzim squalene sintase

atau farnesyl transferase yang ditunjukkan oleh kode 2.5.1.21 (lampiran 9). Sehingga dapat mensintesis triterpenoid dengan mengkatalisis tiga substrat, yakni *farnesyl diphosphate*, *Presqualene*, dan *Squalene* yang akan dirubah oleh enzim *Squalene* menjadi triterpenoid (KEGG, 2013).

#### **2.4.1 Squalene Sintase**

Squalene sintase (SQS) atau farnesyl-difosfat atau farnesyl-difosfat farnesyl transferase adalah enzim terlokalisasi pada membran retikulum endoplasma. SQS berpartisipasi dalam jalur biosintesis isoprenoid, mengkatalisis dua substrat di mana dua molekul identik farnesyl pirofosfat (FPP) yang diubah menjadi squalene, dengan konsumsi NADPH. Katalisis oleh SQS adalah langkah pertama dalam sintesis sterol, karena squalene yang dihasilkan dikonversi ke dalam berbagai sterol, seperti kolesterol, melalui kompleks, multi jalur. SQS milik squalene / phytoene sintase termasuk jenis protein. Enzim ini berfungsi untuk mengkatalis substrat-substrat tersebut menjadi senyawa triterpenoid.

Squalene sintase ada pada hewan, tanaman, dan bakteri. Dalam hal struktur dan mekanik, squalene sintase mirip phytoene synthase (PHS), dan prenyltransferase lain. PHS memiliki peran yang mirip dengan SQS pada tanaman dan bakteri, katalis sintesis phytoene, merupakan prekursor senyawa karotenoid.

Beberapa tanaman memiliki enzim ini sebagai penghasil senyawa triterpenoid dan steroid lainnya. Squalena berstruktur siklik dan kebanyakan berupa alkohol, aldehid atau asam karboksilat dan berupa senyawa berwarna, berbentuk kristal serta bertitik leleh tinggi, sedangkan aktif optik sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Robinson, 1995).

## 2.5 Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Pada Manusia

### 2.5.1 Bakteri *Bacillus cereus*

#### 2.5.1.1 Ciri Umum Kelompok *Bacillus*

Secara umum, kelompok *Bacillus* merupakan bakteri berbentuk batang (basil), dan tergolong dalam bakteri gram positif yang umumnya tumbuh pada medium yang mengandung oksigen (bersifat aerobik) sehingga dikenal pula dengan istilah *aerobic sporeformers*. Kebanyakan anggota genus *Bacillus* dapat membentuk endospora yang dibentuk secara intraseluler sebagai respon terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, oleh karena itu anggota genus *Bacillus* memiliki toleransi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang berubah-ubah (Brooks, 2001)

Beberapa anggota *Bacillus* memiliki S-layer yang merupakan lapisan *crystalline* dipermukaan subunit protein atau glikoprotein. Bagian kapsul kebanyakan anggota *Bacillus* mengandung D atau L-*glutamic acid*, sedangkan beberapa lainnya memiliki kapsul yang mengandung karbohidrat. Variasi struktur dinding sel seperti pada kebanyakan bakteri gram negatif tidak ditemukan pada genus *Bacillus*. Dinding sel vegetatif kebanyakan anggota *Bacillus* terbuat dari peptidoglikan yang mengandung *Meso-Diaminopimelic acid* (DAP) dengan tipe *Glyserol Teichoic Acid* sangat bervariasi diantara spesies. Kebanyakan anggota genus *Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat motil dan memiliki flagela tipe peritrik (Hoffmaster et al, 2008).

### 2.5.1.2 Sejarah dan Klasifikasi *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* telah dikenali sebagai salah satu penyebab keracunan pada makanan sejak tahun 1955, sejak saat itu mikroorganismenya ini telah menarik banyak perhatian dan menjadi salah satu penyebab keracunan pada pangan yang termasuk sering ditemukan. Sekitar 5% dari semua kasus keracunan pangan di Eropa tahun 1990 yang telah dilaporkan ke *World Health Organization Surveillance Programme* disebabkan oleh *Bacillus cereus* (WHO, 1990). Menurut data kasus jumlah minimal *Bacillus cereus* yang dapat menimbulkan keracunan pada pangan adalah sekitar  $10^5$  sel / gram pangan (WHO, 2003). Berikut ini merupakan klasifikasi dari *Bacillus cereus* (Eltawell, 2005):

|         |                          |
|---------|--------------------------|
| Kingdom | : Bacteria               |
| Phylum  | : Firmicutes             |
| Class   | : Bacilli                |
| Order   | : Bacillales             |
| Family  | : Bacillaceae            |
| Genus   | : Bacillus               |
| Spesies | : <i>Bacillus cereus</i> |

### 2.5.1.3 Morfologi Dan Sifat *Bacillus cereus*

Allah telah menciptakan segala sesuatu dipermukaan bumi beranekaragam jenis dengan sifatnya masing-masing, baik yang dapat dilihat secara kasat mata atau tidak. Sesuai dengan firman Allah dalam QS. Al-Furqon (25): 2 yang berbunyi:

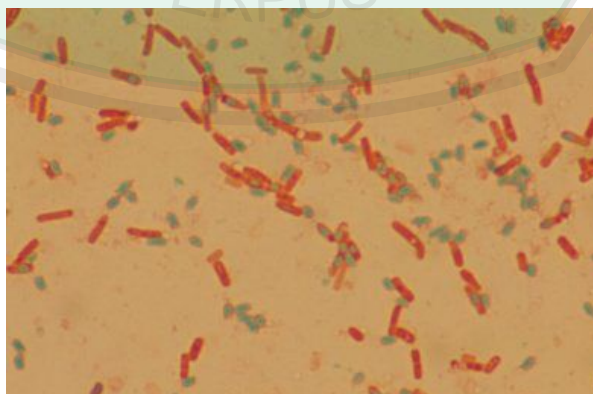
الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي

الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢٠﴾

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.”

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu yang ada di alam semesta ini dan Allah juga membuat variasi atas ciptaan-Nya. Sehingga tercipta makhluk dengan karakter dan ukuran yang berbeda. Seperti penciptaan bakteri *Bacillus cereus* dengan karakteristik serta ukuran yang berbeda dengan bakteri lainnya.

*Bacillus cereus* memiliki beberapa karakter morfologi diantaranya: gram positif dengan lebar sel 0,9 – 1,2  $\mu\text{m}$  dan panjang 3 – 5  $\mu\text{m}$ . motilitas positif, spora elipsoidal, sentral atau parasentral, spora jarang keluar dari sporangia. Tidak membentuk kapsul, biasanya muncul dalam bentuk rantai panjang tipe R. Bentuk koloni *irregular, opaque* terkadang *waxy*. Pada medium cair membentuk turbiditas *moderate* (Eltawell, 2005).



Gambar 2.4 Penampang morfologi di bawah mikroskop *Bacillus cereus* perbesaran 400x (Eltawell, 2005)

Sel vegetatif dari *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada rentang temperatur 5– 50°C dengan temperatur optimal antara 35 - 40 °C, resisten terhadap pH 4,5–9,3. Dapat tumbuh pada *anaerobic agar* dan *nutrien broth* dan penambahan NaCl 7%, *nutritive agar* serta *nutritive agar* dengan 7 – 10 % darah domba. Waktu generasi relatif singkat, antara 20 – 30 menit. Dalam medium GA, *Bacillus cereus* telah mencapai fase eksponensial pada 6 jam inkubasi dan mencapai fase stasioner 20 jam setelah inkubasi (Irianto, 2006).

*Bacillus cereus* memiliki karakter yang mirip dengan *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus anthracis*, namun tetap dapat dibedakan berdasarkan determinasi motilitas (kebanyakan *Bacillus cereus* bersifat motil) dan adanya kristal toxin (hanya dihasilkan oleh *B. thuringiensis*), aktivitas hemolisis (*B. cereus* memiliki sifat ini, sedangkan *B. anthracis* bersifat non-hemolitik) (Irianto, 2006).

Beberapa strain dari *Bacillus cereus* bersifat patogen dan berbahaya bagi manusia karena dapat menyebabkan *foodborne illness*, namun beberapa diantaranya yang bersifat saprofitik dapat bermanfaat sebagai probiotik dan juga penghasil antibiotik yang potensial. *Bacillus cereus* kebanyakan ditemukan terkandung dalam bahan pangan dan menyebabkan 2 tipe keracunan makanan: 1) *emetic* yang merupakan keracunan yang dimediasi oleh toksin yang sangat stabil yang dapat bertahan pada temperatur tinggi, pH ekstrim serta tahan terhadap enzim pencernaan seperti: trypsin, pepsin. 2) *diarrhoeal* yang dimediasi oleh enterotoksin yang labil terhadap panas dan asam. *Bacillus cereus* merupakan mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran temperatur yang luas dan

terdapat strain yang tergolong *psychrophilic* hingga *thermophilic*. Karena kebanyakan strain *Bacillus cereus* hidup dalam gastro-intestinal dan menyebabkan infeksi *diarrhoeal*, maka temperatur 37°C merupakan temperatur pertumbuhan yang optimal (Jenson, 1997).

Sifat-sifat dan karakteristik-karakteristik lainnya, termasuk sifat-sifat biokimia, digunakan untuk membedakan dan menentukan keberadaan *Bacillus cereus*, walaupun sifat-sifat ini juga dimiliki oleh *Bacillus cereus* var. *mycoides*, *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus anthracis*. Organisme-organisme ini dapat dibedakan berdasarkan pada motilitas / gerakan (kebanyakan *Bacillus cereus* motil / dapat bergerak), keberadaan kristal racun (pada *Bacillus thuringiensis*), kemampuan untuk menghancurkan sel darah merah (aktivitas hemolytic) (*Bacillus cereus* dan lainnya bersifat beta haemolytic sementara *Bacillus anthracis* tidak bersifat hemolytic), dan pertumbuhan rhizoid (struktur seperti akar), yang merupakan sifat khas dari *Bacillus cereus* var. *mycoides* (Milner, 1996).

Tabel 2.5. Kondisi yang Diperlukan bagi Pertumbuhan *Bacillus cereus* (Milner,1996)

| Parameter   |  |
|---|--|
| Suhu  | < 4 °C (4 – 50 °C)   |
| pH  | < 4,4 (4,4 – 9,3)  |
| a <sub>w</sub>  | < 0,91   |
| Jumlah <i>Bacillus cereus</i> yang ditemukan dalam susu segar pasteurisasi        | < 10 organisme / 100 ml  |
| Jumlah indikasi <i>Bacillus cereus</i> yang menyebabkan <i>foodborne disease</i>  | > 10 <sup>5</sup> cfu g <sup>-1</sup> atau ml <sup>-1</sup>                    |
| Konsentrasi pada makanan yang terkait dengan racun makanan <i>Bacillus cereus</i> | 10 <sup>5</sup> to > 10 <sup>9</sup> cfu ml <sup>-1</sup> atau g <sup>-1</sup> |

#### 2.5.1.4 Tipe Keracunan

Keracunan akan timbul jika seseorang menelan makanan atau minuman yang mengandung bakteri atau bentuk spora, kemudian bakteri bereproduksi dan menghasilkan toksin di dalam usus, atau seseorang mengkonsumsi pangan yang telah mengandung toksin tersebut. Ada dua tipe toksin yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus*, yaitu toksin yang menyebabkan diare (disebabkan oleh protein dengan berat molekul besar) dan toksin yang menyebabkan muntah atau emesis (disebabkan oleh peptida tahan panas dengan berat molekul rendah). Gejala keracunannya, yaitu (Todar, 2009):

## 1. Tipe penyebab diare (diarrheal form) atau Long Incubation

Tipe ini merupakan tipe yang paling ditemukan kasusnya dan terjadi bila seseorang mengalami keracunan yang disebabkan oleh toksin penyebab diare, maka gejala yang timbul berhubungan dengan saluran pencernaan bagian bawah berupa mual, nyeri perut seperti kram, diare berair, yang terjadi 8-16 jam setelah mengkonsumsi pangan yang telah terkontaminasi *Bacillus cereus*. Rasa mual mungkin seringkali terjadi untuk tipe kasus ini akan tetapi jarang terjadi muntah atau emesis. Kasusnya hampir mirip dengan keracunan makanan yang disebabkan oleh *Clostridium perfringens*. Pada sebagian besar kasus gejala-gejala ini akan tetap berlangsung selama 12 – 24 jam tetapi untuk beberapa kasus akan lebih lama (Lancette dan Harmon, 1980).

## 2. Tipe penyebab muntah (emetic form) atau Short Incubation

Bila seseorang mengalami keracunan yang disebabkan oleh toksin penyebab muntah, gejala yang timbul akan bersifat lebih parah dan akut serta berhubungan dengan saluran pencernaan bagian atas, berupa mual dan muntah yang dimulai 1 – 6 jam setelah mengkonsumsi pangan yang terkontaminasi oleh *Bacillus cereus*. Kadang-kadang kram perut dan / atau diare dapat juga terjadi. Umumnya gejala terjadi selama kurang dari 24 jam. Kasusnya mirip dengan keracunan makanan yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (staph) dalam hal gejala dan waktu inkubasinya. Beberapa strain *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* telah diisolasi dari kambing dan ayam yang dicurigai menjadi penyebab kasus keracunan makanan. Organisme-organisme ini

menghasilkan racun yang sangat tahan panas yang mungkin mirip dengan racun penyebab muntah yang diproduksi oleh *Bacillus cereus*.

Tabel 2.6. Karakteristik penyakit akibat *Bacillus cereus*  
(Todar, 2009)

|                             | <b>Tipe Diare</b>                                     | <b>Tipe Muntah</b>     |
|-----------------------------|---|------------------------|
| Dosis infeksi               | sel/g   | sel/g                  |
| Produksi toksin             | Pada usus halus penderita                             | Terbentuk pada pangan  |
| Tipe toksin                 | Protein   | Peptida siklik         |
| Masa inkubasi               | 8-16 jam  | 1-6 jam                |
| Lama penyakit               | 12-24 jam (bias > 24 jam)                             | 6-24 jam               |
| Gejala                      | Mual, nyeri perut seperti kram, dan diare berair      | Mual dan muntah        |
| Pangan yang sering tercemar | Produk asal daging, sup, sayuran, susu, pudding, dll. | Nasi, pasta, mie. Dll. |

#### 2.2.1.4 Potensi Produksi Antibiotik *Bacillus cereus*

Beberapa species utama genus *Bacillus* yang dapat memproduksi peptida antibiotik diantaranya: *Bacillus brevis* (contoh: Gramicidin, Tyrothricin), *Bacillus cereus* (Cerexin, Zwitermicin), *Bacillus circulans* (contoh: Circulin), *Bacillus laterosporus* (contoh: Laterosporin), *Bacillus licheniformis* (contoh: Bacitracin), *Bacillus polymyxa* (Polymixin, Colistin), *Bacillus pumilus* (contoh: Pumilin) dan *Bacillus subtilis* (Difficidin, Subtilin, Mycobacillin) (Sadfi, 2002).

*Bacillus cereus* merupakan salah satu anggota genus *Bacillus* yang memiliki potensi antibiotik. *Bacillus cereus* memproduksi Biocercin yang efektif menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus albus* dengan menggunakan protease pepton agar sebagai medium uji. Spesies ini diketahui bersifat antagonistik terhadap *Fusarium roseum* var *sambucinum* yang merupakan agen penyebab *Potato Dry Root* dengan menggunakan medium uji potato dextrose agar.

*Bacillus cereus* memproduksi Mycocercin yang merupakan antibiotik peptida yang efektif terhadap beberapa jenis *yeast* maupun *mold* dengan rentang *minimal inhibitory concentration* antara 19,5 – 78 mikrogram/mL. Cerexin B merupakan antibiotik yang efektif terhadap bakteri gram positif yang diproduksi oleh *Bacillus cereus* Gp-3 dan merupakan antibiotik *amphotericacylpeptide*. *Bacillus cereus* BMG 366-UF5 melalui fermentasi dengan menggunakan spora sebagai inokulum awal, dapat memproduksi Prumycin yang merupakan antibiotik yang juga diproduksi oleh *Streptomyces kagawaensis* dengan aktivitas yang tidak jauh berbeda (Wijnand, 2003).

Zwittermicin A merupakan salah satu antibiotik golongan aminopolyol yang diketahui efektif dalam menghambat beberapa patogen yang menyerang tanaman dengan spektrum luas meliputi bakteri (baik gram positif maupun gram negatif), beberapa fungi (seperti: oomycetes) dan protista (contohnya: alga). Zwittermicin A diketahui diproduksi oleh beberapa strain *Bacillus cereus* diantaranya: *Bacillus cereus* UW 11, UW 32, UW 52, UW 56, UW 64, UW 78, UW 89, UW 96, UW 119 dan UW 120. Beberapa strain tersebut selain

memproduksi Zwittermycin A, juga memproduksi Kanosamin yang merupakan antibiotik dengan spektrum luas.

## **2.6 Bakteri *Shigella dysenteriae***

### **2.6.1 Taksonomi *Shigella dysenteriae***

Klasifikasi *Shigella dysenteriae* sebagai berikut (Maksum, 2013):

Kingdom : Bakteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobakteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Shigella*

Spesies : *Shigella dysenteriae*

Spesies shigella diklasifikasi menjadi empat serogroup:

1. Serogroup A: *S. dysenteriae* (12 serotypes)
2. Serogroup B: *S. flexneri* (6 serotypes)
3. Serogroup C: *S. boydii* (23 serotypes)
4. Serogroup D: *S. sonnei* (1 serotype)

Grup A-C secara fisik serupa; *S. sonnei* (grup D) dapat dibedakan berdasarkan biochemical metabolisme assays. Tiga kelompok *Shigella* adalah spesies-spesies penyebab penyakit utama : *S. flexneri* adalah spesies yang menyumbang 60% dari kasus-kasus di negara-negara berkembang; *S. sonnei* penyebab 77% kasus di negara maju dan 15% di negara-negara berkembang, dan *S. dysenteriae* biasanya merupakan penyebab dari wabah disentri, terutama dalam populasi yang dibatasi seperti kamp pengungsian (Irianto, 2003)

*Shigella dysenteriae* termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan tribus *Escherichia*. *Shigella* dinamakan sesuai dengan naman ahli bakteriologi berkebangsaan Jepang, Kiyoshi Shiga, yang menemukan basilus disentri pada tahun 1897. Genus *Shigella* dibedakan dari genus-genus lain karena menyebabkan gejala klinik yang khas. Hingga saat ini, telah ditemukan 4 spesies *Shigella*, yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei*. Keempat spesies tersebut dibedakan berdasarkan komponen utama yang dimiliki oleh antigen O yang terdapat pada setiap genus *Shigella*. Setiap spesies dari genus *Shigella* dibedakan menjadi beberapa serotipe berdasarkan komponen minor antigen O. *Shigella dysenteriae* mempunyai 10 jenis serotype (Maksum, 2013).

#### **2.6.2 Morfologi *Shigella dysenteriae***

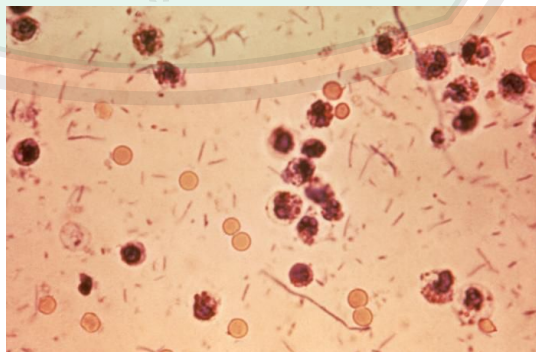
*Shigella* merupakan bakteri berbentuk batang pendek, gram-negatif, tidak motil, tidak berflagel, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, bentuk coccobacilli terjadi pada pembedahan muda. Ukuran *Shigella* sekitar 2-3 $\mu$ m x 0,5-0,7  $\mu$ m dan susunannya tidak teratur. *Shigella* dapat tumbuh subur pada suhu optimum 37°C, hidup secara aerobik maupun anaerobik fakultatif (Radji, 2013).

1. Kekhasan Organisme: *Shigella* merupakan batang gram negatif yang tipis, tidak motil, tidak berflagel, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, bentuk coccobacilli terjadi pada pembedahan muda. Ukuran shigella sekitar 2-3 $\mu$ m x 0,5-0,7  $\mu$ m dan susunannya tidak teratur.
2. Kultur: *Shigella* merupakan fakultatif anaerob, dapat tumbuh subur pada suhu optimum 37°C tetapi tumbuh baik secara aerob. Koloni shigella

cembung, bundar, transparan dengan diameter sampai kira-kira 2 mm dalam 24 jam.

3. Karakteristik kultur: Semua *Shigella* memfermentasi glukosa. Dengan pengecualian *Shigella sonnei*, yang tidak memfermentasikan laktosa. Ketidakmampuan untuk memfermentasikan laktosa diperlihatkan *shigella* dalam media diferensial. *Shigella* membentuk asam dari karbohidrat tetapi jarang memproduksi gas. Mereka juga dapat dibedakan kedalam bagian yang dapat memfermentasikan mannitol dan yang tidak. Pada Mc Conkey agar, koloni *Shigella* tidak berwarna, tidak meragi laktosa (Non Lactose Fermenter) kecuali *Shigella sonnei*. Sedangkan pada SS agar, koloni *Shigella* kecil dan halus, tidak berwarna. Media selektif yang digunakan adalah deoksi cholate sitrat agar (DCA).

*Shigella dysenteriae* merupakan spesies bakteri *Shigella* yang paling umum ditemukan di Asia Timur dan Amerika Tengah. Bakteri ini merupakan bakteri patogen usus yang umumnya dikenal sebagai bakteri penyebab disentri (disentri basiler).



Gambar 2.5 Mikrogram Bakteri *Shigella dysenteriae*  
(Radji, 2013)

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri gram negatif berukuran 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  x 2-3  $\mu\text{m}$ . Bentuk morfologi *Shigella dysenteriae* adalah batang pendek atau basil tunggal, tidak berspora, tidak berflagel sehingga tidak bergerak, dan dapat memiliki kapsul. Bentuk morfologi *Shigella dysenteriae* sangat mirip dengan bakteri *Salmonella*, tetapi *Shigella dysenteriae* dapat dibedakan berdasarkan reaksi fermentasi dan uji serologi. *Shigella dysenteriae* tidak membentuk gas pada reaksi fermentasi dan lebih rentan terhadap berbagai bahan kimia jika dibandingkan dengan *Salmonella*. Dalam media perbenihan, *Shigella dysenteriae* membentuk koloni yang halus dan mengilap (Radji, 2013).

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri yang hidup dalam suasana aerob atau fakultatif anaerob. Suhu optimum pertumbuhan bakteri ini adalah 37°C dan pH OPTIMUM 6,4-7,8. *Shigella* dapat memfermentasi berbagai macam karbohidrat, kecuali laktosa, menghasilkan asam tanpa gas. Berdasarkan reaksi fermentasi, *Shigella dysenteriae* dapat dibedakan dari spesies *Shigella* lain karena memberikan hasil negatif pada fermentasi manitol.

*Shigella dysenteriae* memiliki daya tahan yang rendah terhadap berbagai zat kimia, mati pada suhu 55°C, dan bertahan hidup dalam fenol 0,5% selama 5 jam dan dalam fenol 1% selama 1 jam. Akan tetapi, bakteri ini tahan terhadap suhu dan kelembapan rendah, yakni dapat bertahan hidup di dalam es selama 2 bulan. Di alam bebas, bakteri ini dapat bertahan hidup di air laut selama 2-5 bulan.

### **2.6.3 Patogenesis dan gejala penyakit**

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen penyebab sigelosis, yaitu kondisi klinis yang ditandai dengan infeksi usus akut atau radang usus yang disertai diare, buang air besar bercampur darah, lendir, dan nanah. Masa inkubasi sigelosis berkisar 1-7 hari umumnya 4 hari. Patogenesis shigella dapat mencakup tiga hal berikut (Radji, 2013):

1. Daya invasi

*Shigella dysenteriae* mampu menembus dan masuk ke dalam sel-sel lapisan epitel permukaan mukosa usus di ileum terminal dan kolon. Setelah menembus sel, bakteri ini memperbanyak diri sehingga lapisan sel yang telah mati akan mengelupas dan terjadi tukak pada mukosa usus. Reaksi radang menyebabkan demam. Infeksi terbatas hanya pada bagian usus dan jarang menyebar ke organ lain.

2. Endotoksin dan Eksotoksin

Endotoksin yang dihasilkan mampu mempengaruhi kegiatan biologis dan menyebabkan demam. Eksotoksin terdiri atas enterotoksin, neurotoksin, dan sitotoksin.

3. Enterotoksin

Enterotoksin yang dihasilkan *Shigella dysenteriae* merupakan enterotoksin LT (termolabil) yang berbeda dengan yang dihasilkan bakteri lain karena mampu menyerang kolon. Pada hewan percobaan, enterotoksin menyebabkan sekresi enzim adenilat siklase pada mukosa usus (ileum terminal) dan peningkatan permeabilitas epitel usus sehingga terjadi peningkatan cairan di dalam usus. Hal ini menyebabkan enterotoksin diduga sebagai penyebab diare berair

(watery diarrhea). Proses selanjutnya, enterotoksin menyerang kolon dan menimbulkan disentri.

#### 4. Neurotoksin dan sitotoksin

Peran toksin-toksin ini pada sigelosis belum diketahui dengan pasti, tetapi diduga menyebabkan kejang pada penderita anak-anak.

Gejala yang ditimbulkan sigelosis dapat berupa demam, kejang perut, nyeri, dan diare. Diare yang disebabkan sigelosis dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu diare klasik, diare berair, dan kombinasi keduanya. Selain memperhatikan gejala-gejala yang terjadi, pemeriksaan laboratorium perlu dilakukan untuk memastikan infeksi sigelosis, antara lain sebagai berikut:

- a. Pemeriksaan spesimen yang diperoleh dari usap dubur atau dari tukak mukosa usus.
- b. Isolasi bakteri dalam tinja harus dilakukan secepat mungkin karena *Shigella dysenteriae* tidak dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama karena adanya zat-zat yang bersifat asam dalam tinja dan pengaruh bakteri lain di luar tubuh. Apabila spesimen tidak dapat dikirim secepatnya ke laboratorium, sebaiknya digunakan media transpor. Identifikasi bakteri dapat dilakukan melalui uji serologi dan uji biokimia.

#### 2.6.4 Epidemiologi

*Shigella* merupakan bakteri yang tersebar luas di seluruh dunia. Spesies *Shigella dysenteriae* umumnya ditemukan di Amerika Tengah dan Asia Timur, termasuk di Indonesia. Penyebaran bakteri ini terjadi dari manusia, baik yang

terinfeksi maupun carrier atau reservoir, ke manusia lain melalui lalat, tangan yang kotor, tinja, makanan, dan minuman, serta barang-barang lain yang terkontaminasi (Irianto, 2003).

Pada daerah yang mempunyai 4 musim, terutama di Amerika Serikat, infeksi sigelosis paling sering terjadi pada musim gugur dan dingin. Di Indonesia, infeksi sigelosis telah menjadi endemi dengan daya infeksi sebesar dua ribu orang pertahunnya. Kelompok yang paling rentan terinfeksi adalah anak-anak yang berusia 1-4 tahun (Irianto, 2003).

## **2.7 Antibakteri**

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolismemikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Ardiansyah, 2007).

Antibakteri hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif, artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesisdinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Ardiansyah,2007).

Langkah pertama kerja obat berupa pengikatan obat pada reseptor sel (beberapa) diantaranya adalah enzim transpeptida. Kemudian dilanjutkan dengan

reaksi transpeptidase dan sintesis peptidoglikan terhambat. Mekanisme diakhiri dengan pembuangan atau penghentian aktivitas penghambat enzim autolisis pada dinding sel. Pada lingkungan yang isotonis terjadi pada lingkungan yang jelas hipertonik, mikroba berubah menjadi protoplas atau sferoflas yang hanya tertutup oleh selaput sel yang rapuh (Entjang, 2001).

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput sitoplasma yang bekerja sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan fungsi pengangkutan aktif sehingga dapat mengendalikan susunan sel. Bila integritas fungsi selaput sitoplasma terganggu misalnya oleh zat bersifat surfaktan sehingga permeabilitas dinding sel berubah atau bahkan menjadi rusak, maka komponen penting, seperti protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain keluar dari sel dan sel berangsur-angsur mati (Entjang, 2001).

Aktivitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh pH, suhu stabilitas senyawa tersebut, jumlah bakteri yang ada, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolisme bakteri. Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan. Bakteriosidal adalah zat antibakteri yang memiliki aktifitas membunuh bakteri. Namun ada beberapa zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisida pada konsentrasi tinggi (Brooks, 2001).

## **2.8 Pengujian Antibakteri**

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai indikator pengujian. Dalam hal ini mikroorganisme digunakan sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosa penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia untuk menentukan potensi mutagenik atau karsinogenik suatu bahan. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode uji antimikroba seperti dijelaskan berikut ini (Pelczar,1986):

1. Metode difusi

- a. *Metode disc diffusion*, untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan agen yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.
- b. *Metode E-test*, digunakan untuk mengestimasi MIC (minimum inhibitor cocentration), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga kadar tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkna kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

- c. *Ditch-plate technique*, pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang digunakan dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum enam macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.
- d. *Cup-plate technique*, metode ini serupa dengan *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.
- e. *Gradient plate technique*, pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua kemudian dituangkan di atasnya. Plate inkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal enam macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Yang perlu diperhatikan adalah dari hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen antimikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat.

## 2. Metode dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu dilusi cair (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution).

- a. Metode dilusi cair, digunakan untuk mengukur MIC atau kadar hambat minimum dan MBC atau kadar bunuh minimum. Cara yang dilakukan adalah dengan memberi seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KMB.
- b. Metode dilusi padat, metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (soil). Keuntungan metode ini adalah suatu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

## **2.9 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Zat Antibakteri**

Banyak faktor dan keadaan yang mempengaruhi kerja zat antibakteri dalam menghambat atau membasmi organisme patogen. Semuanya harus dipertimbangkan agar zat antibakteri tersebut dapat bekerja secara efektif. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri menurut Pelczar (1988), adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi atau Intensitas Zat Antimikroba

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

## 2. Jumlah Mikroorganisme

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

## 3. Suhu

Kenaikkan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan mikrobial. Hal ini disebabkan zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia. Reaksi kimia bisa dipercepat dengan meninggikan suhu.

## 4. Spesies Mikroorganisme

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

## 5. Keasaman Atau Kebasahan (pH)

Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi pada suhu rendah dan dalam waktu yang singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basa.

### **2.10 Mekanisme Kerja Antibakteri**

Zat antibakteri dapat melakukan aktivitasnya melalui beberapa mekanisme yaitu:

1. Mengganggu sintesis dinding sel.

Sintesis dinding sel bakteri dapat diganggu zat antibakteri, sehingga dinding sel yang terbentuk menjadi tidak sempurna dan tidak tahan terhadap tekanan osmotis, sehingga menyebabkan pecahnya sel. Sintesis molekul lipoprotein membran sel bakteri dapat diganggu zat antibakteri, sehingga membran menjadi lebih permeabel yang menyebabkan keluarnya zat-zat penting dari sel.

## 2. Mengganggu sintesis protein sel

Zat antibakteri dapat berikatan dengan sub unit ribosom bakteri, sehingga menghambat sintesis asam-asam amino dan menghasilkan protein yang inaktif.

## 3. Mengganggu sintesis 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 mendenaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut.

## 4. Antagonisme saingan

Zat antibakteri dapat bersaing dengan zat-zat yang diperlukan untuk proses metabolisme, sehingga proses tersebut terhenti.

## **2.11 Teknologi Bioinformatik**

Metode *in vitro* dan *in vivo* lazim digunakan dalam proses penemuan obat. Komputer menawarkan metode *in silico*, yaitu suatu metode yang menggunakan kemampuan komputer dalam rancang obat- sebagai komplemen dari *in vitro* dan *in vivo*. Kemampuan komputasi yang meningkat secara

eksponensial merupakan peluang mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat baru (Pratiwi, 2008).

Desain obat merupakan proses literasi dimulai dengan penentuan senyawa yang menunjukkan sifat biologi penting dan diakhiri dengan langkah optimasi, baik dari profil aktivitas maupun sintesis senyawa kimia. Tanpa pengetahuan lengkap tentang proses biokimia yang bertanggungjawab terhadap aktivitas biologis, hipotesis desain obat pada umumnya didasarkan pada pengujian kemiripan struktural dan perbedaan antara molekul aktif dan tak aktif (Sari, 2002). Kombinasi antara strategi mensintesis dan uji aktivitasnya menjadi sangat rumit dan memerlukan waktu yang lama untuk sampai pada pemanfaatan obat. Dengan kemajuan di bidang kimia komputasi, peneliti dapat menggunakan komputer untuk mengoptimasi aktivitas, geometri dan reaktivitas, sebelum senyawa disintesis secara eksperimental. Hal ini dapat menghindarkan langkah sintesis suatu senyawa yang membutuhkan waktu dan biaya mahal, tetapi senyawa baru tersebut tidak memiliki aktivitas seperti yang diharapkan.

Keberadaan komputer yang dilengkapi dengan aplikasi kimia komputasi, memungkinkan ahli kimia komputasi medisinal menggambarkan senyawa obat secara tiga dimensi (3D) dan melakukan komparasi atas dasar kemiripan dan energi dengan senyawa lain yang sudah diketahui memiliki aktivitas tinggi (pharmacophore query). Berbagai senyawa turunan dan analog dapat "disintesis" secara *in silico* atau yang sering diberi istilah senyawa hipotetik (Zoumpoulaki dan Mavromoustakos, 2005 dalam Jamil, 2007). Aplikasi komputer melakukan kajian interaksi antara senyawa hipotetik dengan reseptor yang telah

diketahui data struktur 3D secara *in silico*. Kajian ini dapat memprediksi aktivitas senyawa-senyawa hipotetik dan sekaligus dapat mengeliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah. Prediksi toksisitasnya secara *in silico* juga dilakukan dengan cara melihat interaksi senyawa dengan enzim yang bertanggung jawab terhadap metabolisme obat. Hasilnya adalah usulan senyawa yang siap disintesis dan diyakini mempunyai aktivitas tinggi dibandingkan dengan senyawa yang telah dikenal. Jumlah senyawa yang diusulkan biasanya jauh lebih sedikit dibandingkan penemuan obat secara konvensional. Hal inilah yang menjadi keunggulan dari studi komputasi dalam menemukan obat baru.

Dua metode yang saling melengkapi dalam penggunaan komputer sebagai alat bantu penemuan obat, adalah *ligand-based drug design* (LBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan ligan yang sudah diketahui, dan *structure-based drug design* (SBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan struktur target yang didasarkan pada struktur target reseptor yang bertanggung jawab atas toksisitas dan aktivitas suatu senyawa didalam tubuh. LBDD memanfaatkan informasi sifat fisikokimia senyawa aktif sebagai landasan mendesain senyawa baru (Hoffmaster, dkk., 2002).

## **2.12 Teknologi dan Inovasi Microsoft di bidang Bioinformatika**

Adanya ledakan data genom beberapa tahun terakhir, maka kita memerlukan kekuatan komputasi yang luar biasa untuk memproses semua data yang ada. Windows Azure dikombinasikan dengan Microsoft Excel untuk analisa, memberikan para peneliti kemampuan yang luar biasa untuk mendapatkan berbagai wawasan baru dan kemampuan

eksplorasi di area-area yang sebelumnya tidak terjamah. Salah satu aplikasi killer untuk Windows Azure di bidang bioinformatika ini adalah NCBI BLAST untuk Windows Azure

NCBI Blast merupakan implementasi Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dari National Center for Biotechnology Information (NCBI). BLAST merupakan sekumpulan program yang dirancang untuk mencari semua kemiripan antara sebuah protein atau DNA dan sekuensnya yang sudah diketahui dari seluruh database kemungkinan yang ada. Peneliti memerlukan kemampuan ini untuk mengetahui fungsi dan manfaat dari sebuah produk genetic (Sohih, 2013).

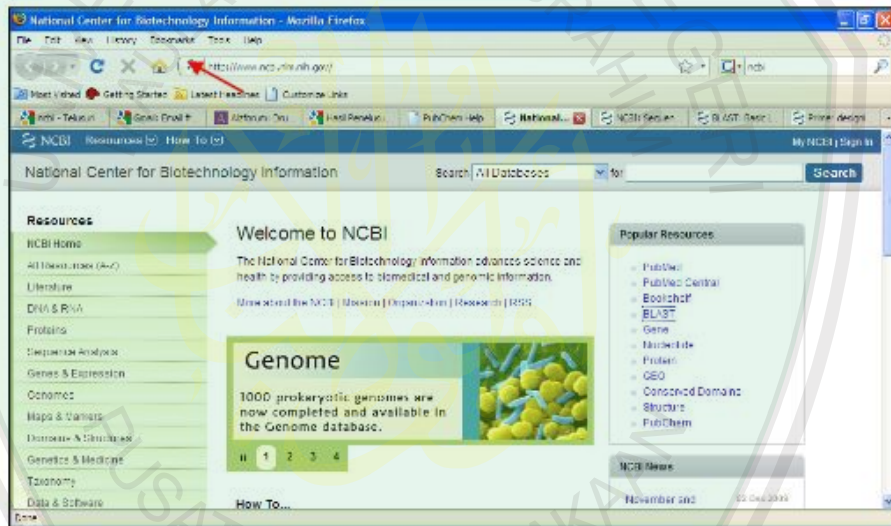
Windows Azure memungkinkan komputasi yang sangat rumit dilakukan dengan sangat cepat dan dengan biaya yang murah. Misalnya dengan Windows Azure mampu meningkatkan pengoperasian BLAST dari enam tahun menjadi satu minggu saja. Microsoft XCG (Extreme Computing Group) merupakan satu tim di Microsoft yang berhasil melakukan hal ini dengan cara membagi beban BLAST ke beberapa data center Microsoft yang tersebar di Amerika dan Eropa (Sohih, 2013).

### **2.13 Alligment analysis**

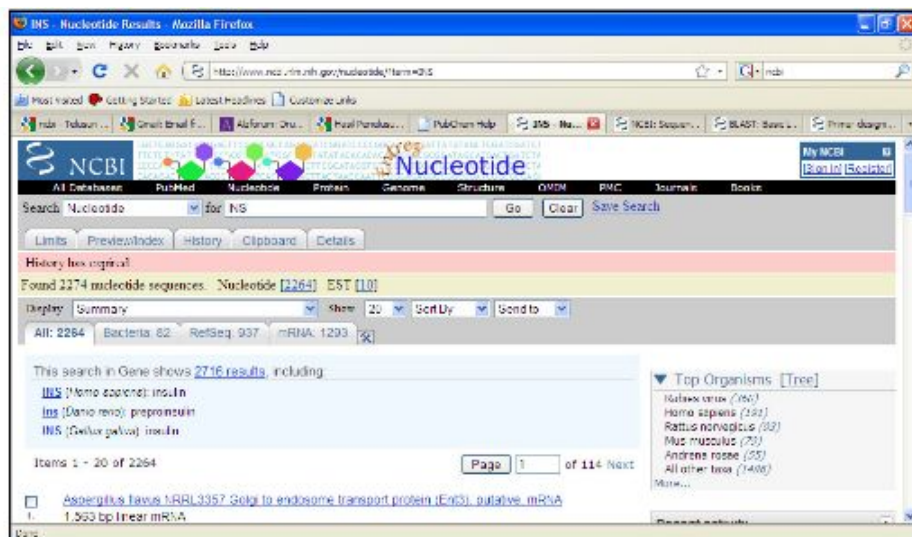
Sekuen yang diperoleh dari hasil penelitian di laboratorium dapat dianalisis dengan data serupa yang telah dipublikasikan sebelumnya di gen bank. Salah satu bentuk analisis yang dapat dilakukan misalnya adalah analisis penyejajaran. Analisis penyejajaran dapat digunakan untuk membandingkan dua sekuen atau lebih. Program yang digunakan untuk analisis penyejajaran yaitu

program BLAST ( Local Allignment Search Tools). Program ini dapat diakses melalui website National Center for Biotechnology Information at The National Library of Medicine in Washington, DC (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Berikut merupakan langkah-langkah untuk mencari dan mendapatkan data dari gen bank, misalnya untuk mencari sekuen insulin (INS) (Miftakhunnafisah, 2010):

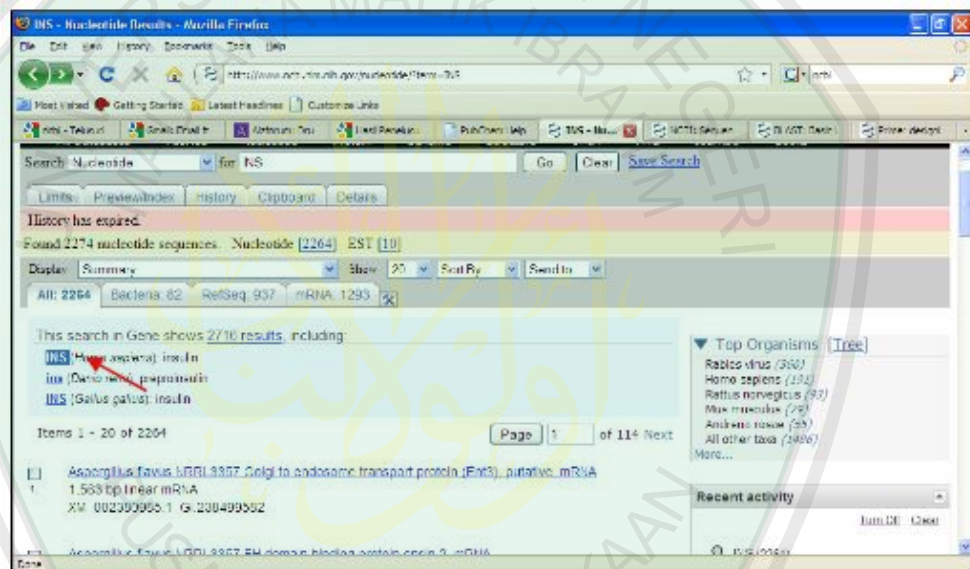
1. Ketikkan <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> pada location bar pencarian



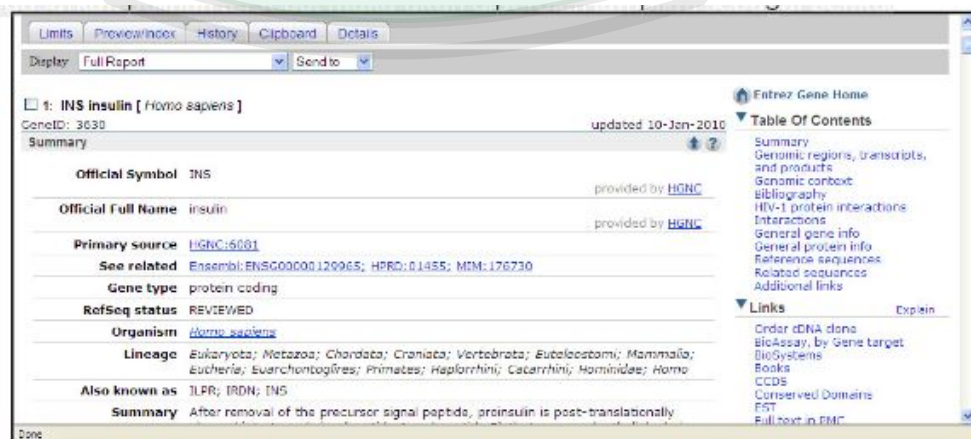
2. Pilih Preferensi pencarian yang digunakan (pada contoh ini dipilih nucleotide) dan ketikkan juga molekul yang ingin dicari sebagai kata kunci pencarian (pada contoh ini diketikkan INS dan diketik GO).



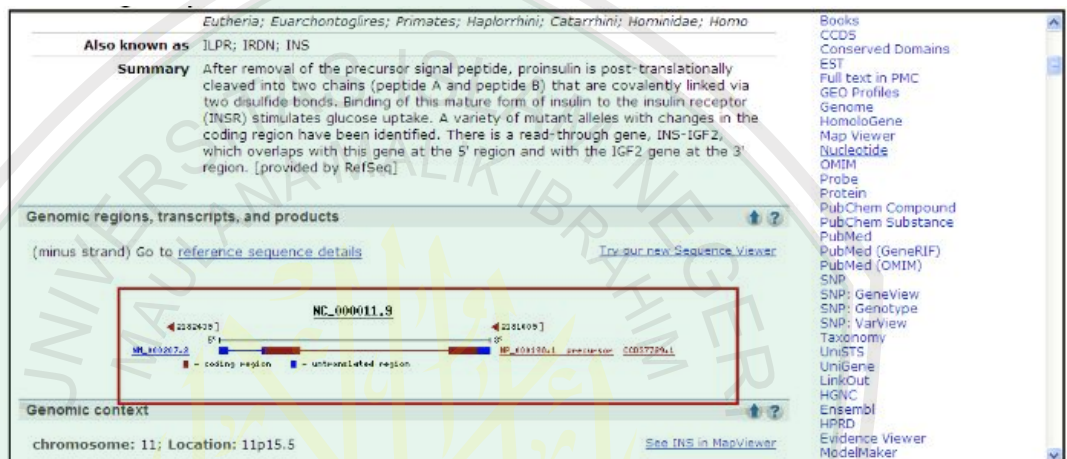
3. Muncul berbagai pilihan sekuens yang berkaitan dengan INS dan dipilih (dengan cara mengklik kode) sekuens sesuai kebutuhan. Sekuens dengan kode awal NM Menunjukkan sekuens nukleotida sedangkan NP menunjukkan sekuens protein.



4. Berdasarkan pulihan tersebut maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut

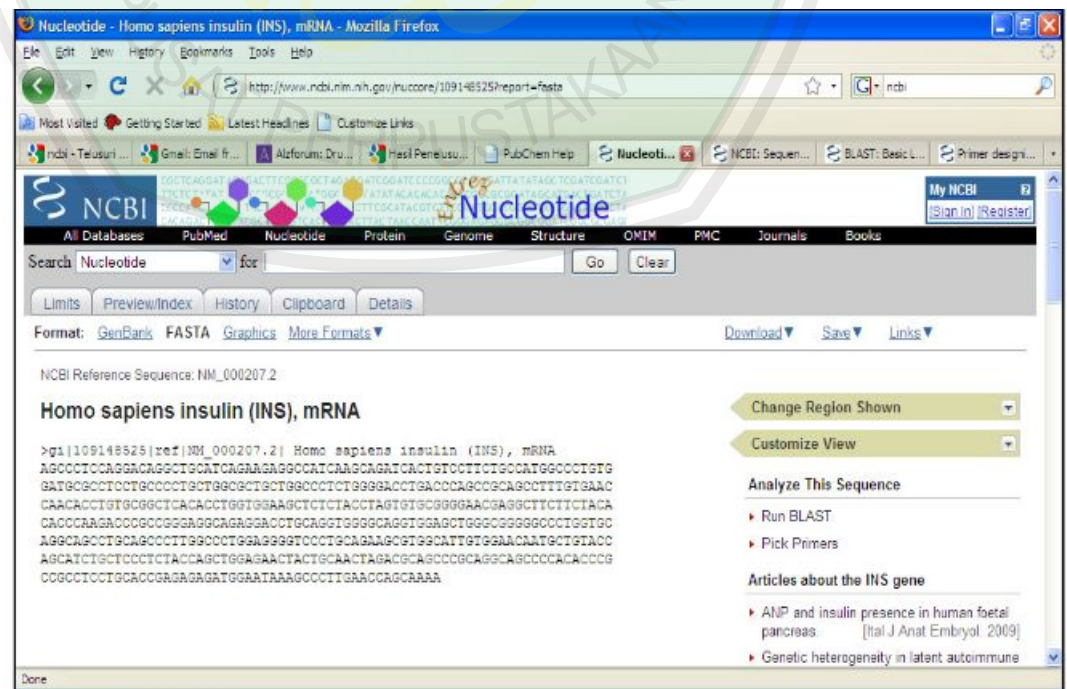


5. Pada tampilan tersebut discroll ke bawah maka akan diperoleh tampilan berikut. Terdapat beberapa kode yaitu NM dan NP. NM menunjukkan kode untuk memperoleh informasi mengenai nukleotida sedangkan NP menunjukkan kode untuk memperoleh informasi mengenai protein.

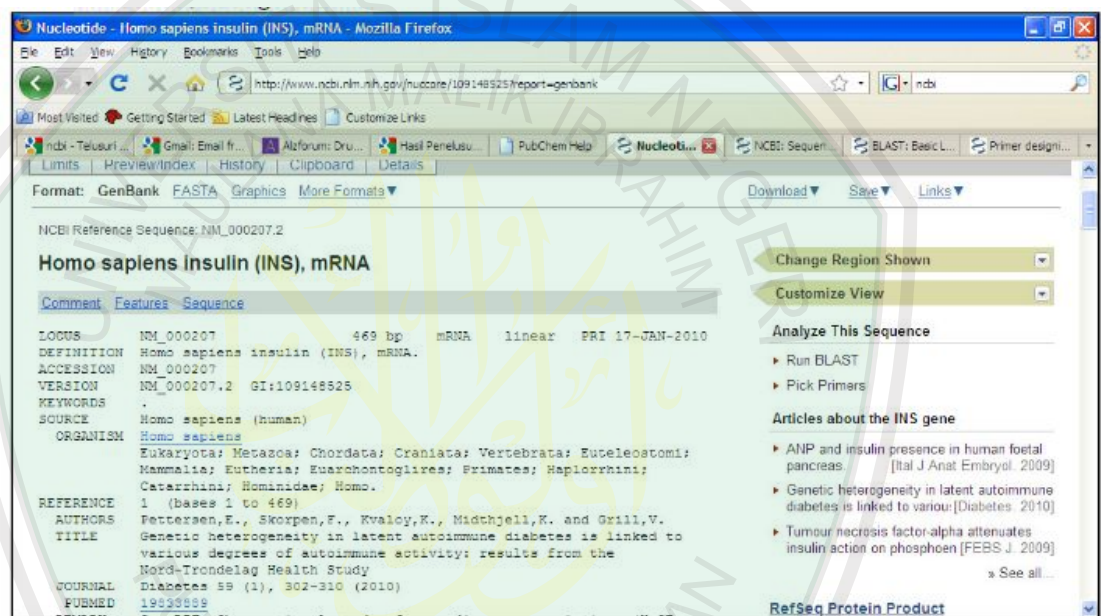


6. Diklik link FASTA untuk memperoleh sekuen nukleotida dari INS dalam bentuk FASTA.

7. Format FASTA yang diperoleh adalah sebagai berikut.



8. Apabila diklik kode NM Dan Gen Bank maka akan diperoleh informasi mengenai sekuen nukleotida, sebagai berikut :



9. Kembali pada tampilan berikut, untuk memperoleh data sekuen protein dalam bentuk FASTA maka diklik bagian NP

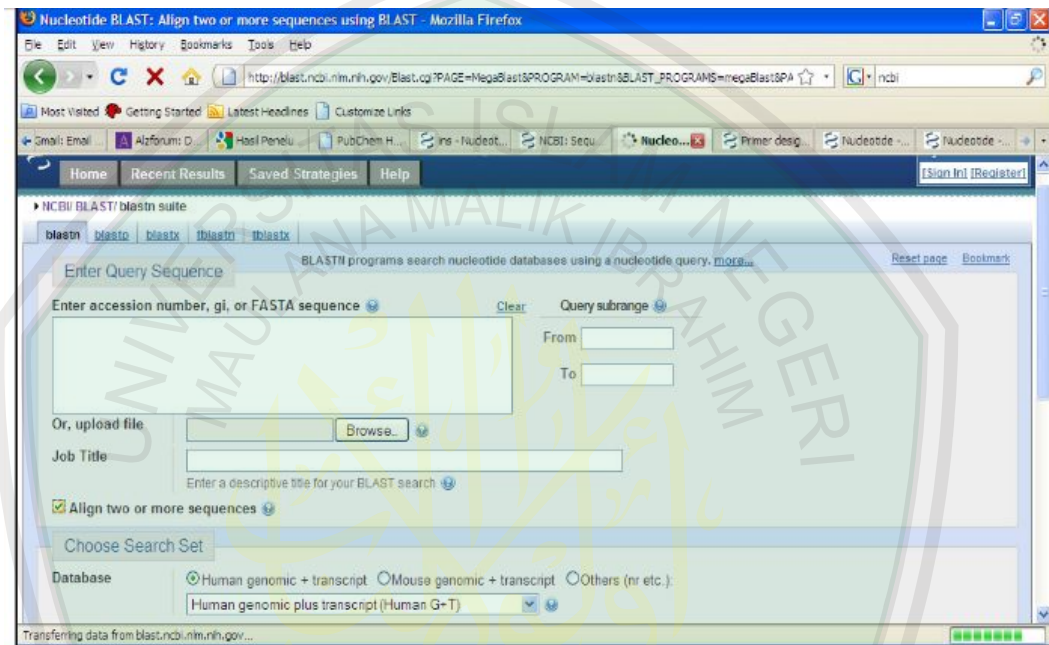
10. Diperoleh sekuen asam amino dalam format FASTA

## 2.14 Aplikasi Blast

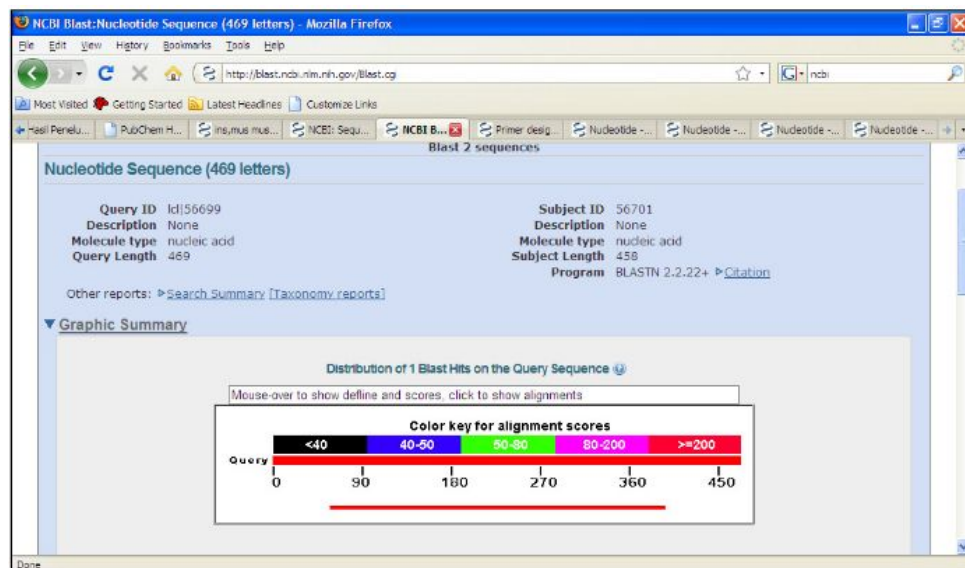
Langkah-langkah menggunakan BLAST ditunjukkan pada alur metode berikut, pada contoh kali ini digunakan molekul INS dari *Homo sapiens* dan *Mus musculus* (Miftakhunnafisah, 2010) :

- a. Buka halaman awal NCBI dan pilih BLAST

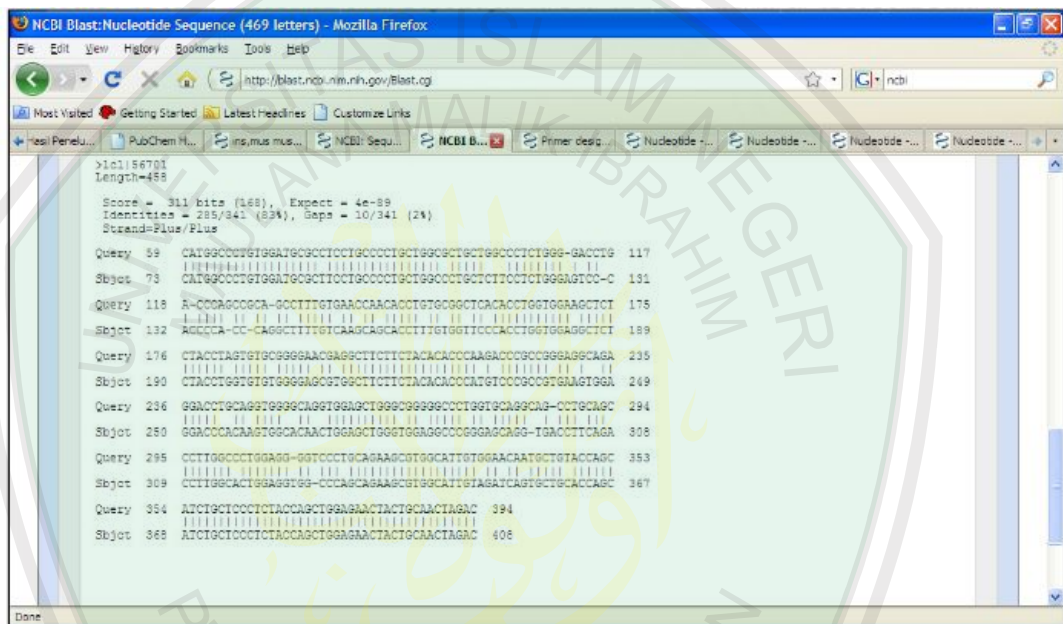
- b. Pada tampilan tersebut, terdapat beberapa pilihan penyejajaran, antara lain program BLAST untuk nukleotida dan untuk protein. Pada modul ini diberikan contoh BLAST untuk nukleotida dari INS *Homo sapiens* dan *Mus musculus* (Pencarian sekuen mengikuti langkah-langkah sebelumnya)



- c. Klik Kolom Allign two or more sequences untuk membandingkan 2 sekuen nukleotida. Kemudian dimasukkan sekuen yang ingin dibandingkan pada kolom yang telah tersedia. Sekuen yang dimasukkan
- d. Setelah sekuen dimasukkan diklik tanda BLAST pada bagian bawah.



e. Pada tampilan tersebut terdapat suatu skala yang menunjukkan tingkat kesamaan sekuen yang dibandingkan. Berdasarkan hasil tampilan tersebut terdapat suatu garis berwarna merah, hal ini menunjukkan bahwa kedua sekuen tersebut memiliki urutan yang sangat mirip yaitu lebih dari 200 nukleotida. Apabila di scroll maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut



Pada tampilan tersebut dapat diartikan sebagai berikut:

- Kedua sekuen tersebut memiliki kesamaan lebih dari 83%
- Bagian-bagian dari kedua sekuen yang tidak dihubungkan suatu garis vertical, menunjukkan letak perbedaan dari kedua sekuen tersebut.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dan eksplorasi. Penelitian ini menguji isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa aktif sebagai antibakteri sebagai upaya pengendalian penyakit manusia. Dilakukan dengan metode difusi kertas (*paper disc diffusion*) secara in vitro dan melihat bahwa isolat endofit sebagai penghasil enzim squalene sintase penghasil senyawa aktif berupa triterpenoid dengan bioinformatik secara in silico.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - Juni 2015. Bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.3 Obyek Penelitian

Obyek penelitian adalah bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* biakan murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolat bakteri endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yaitu *Bacillus brevis*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Actinomyces viscosus* diperoleh dari hasil isolasi menggunakan (*paper disc diffusion*) dan identifikasi menggunakan microbact penelitian sebelumnya (Rohana, 2015)

## **1.4. Alat dan Bahan Penelitian.**

### **3.4.1 Alat Penelitian**

#### **3.4.1.1 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

Seperangkat alat gelas, jarum ose, aluminium foil, bunsen, *laminar air flow*, mikroskop, autoclave, hot plate, tube-stirer, shaker incubator, sentrifuse, eppendorf tube, mikropipet, refrigerator, vortex, micro centrifuse, pinset, neraca analitik, lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm, jangka sorong.

#### **3.4.1.2 Mengkaji Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Memiliki Enzim Squalene Sintase Penghasil Senyawa Triterpenoid Secara In Silico**

Alat yang dibutuhkan adalah seperangkat alat komputer/laptop. Jaringan internet yang cukup sangat dibutuhkan. Peralatan tulis dibutuhkan untuk mencatat hal – hal yang penting.

### **3.4.2 Bahan Penelitian**

#### **3.4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri endofit temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan biakan murni bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*. Media MHB (Muller Hinton Broth), media MHA (Muller Hinton Agar), media NA (Natrium Agar), media NB (Nutrient Broth), amoxicilin sebagai antibakteri, aquades, alkohol 70 % dan kertas saring Whatman 0,22  $\mu\text{m}$ , kertas cakram, spirtus, tisu, plastik, karet, kain kasa, plastik wrap dan kertas label.

### **3.4.3 Mengkaji Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Memiliki Enzim Squalene Sintase Penghasil Senyawa Triterpenoid Secara In Silico**

Bahan yang dibutuhkan adalah program NCBI, uniprot, dan KEGG. Membukanya bisa melalui google. Teknik BLAST dibuka di NCBI atau Uniprot.

## **3.5 Prosedur Penelitian**

### **3.5.1 Uji Aktifitas Antibakteri Bakteri Endofit Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

#### **3.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat (hanya alat yang bisa dibungkus) dengan aluminium foil, kertas kemudian dimasukkan plastik, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf. Autoklaf dinyalakan hingga mencapai suhu 121°C, kemudian dibiarkan selama 15 menit untuk membunuh kontaminan yang kemungkinan dapat mengkontaminasi alat ataupun medium. Tekanan pada autoklaf yaitu 1 atm (Hadioetomo, 1993).

#### **3.5.1.2 Peremajaan Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

Bakteri endofit yang diremajakan ada tiga spesies yaitu *Actinomyces viscosus*, *Bacillus brevis* dan *Pseudomonas stutzeri*. Alat dan bahan yang dibutuhkan disiapkan seperti: jarum ose, bunsen, media lempeng NA (Nutrient Agar), plastik wrab dan bakteri endofit yang akan diremajakan. Jarum ose dipijarkan di api bunsen, setelah mendingin diambil satu ose bakteri endofit. Di tanam pada media lempeng NA yang sudah memadat dengan metode cawan gores

(streak plate). Semua yang sudah ditanam diberi label dan di beri plastik wrab. Diinkubasi dalam inkubator 37 °C selama 2x24 jam (Lampiran 3).

### **3.5.2 Fermentasi Produksi Metabolit Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

Produksi metabolit antibakteri oleh bakteri endofit dilakukan dengan cara menumbuhkannya di dalam media MHB (Muller-Hinton broth). Koloni bakteri endofit yang telah diinkubasi pada media lempeng NA selama 24 – 48 jam pada suhu 35 °C, diambil satu sengkeli dan dipindahkan ke dalam 5 ml media Mueller-Hinton Broth (MHB), kemudian dilarutkan sampai mencapai kekeruhan 0,5 McFarland (Lampiran 7). Suspensi koloni bakteri endofit dipindahkan sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml medium MHB pada tabung ependof 12 ml, diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan shaker inkubator 130 rpm selama 16 jam (*Pseudomonas stutzeri*) dan 48 jam (Selain *Pseudomonas stutzeri*). Proses fermentasi selesai, setelah itu masing-masing medium pertumbuhan di sentrifugasi 5000 rpm, 4°C, selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dipergunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

#### **3.5.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia**

##### **1. Persiapan bakteri uji**

Bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* diremajakan masing – masing dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *Bacillus cereus* pada 1 cawan petri yang berisi media MHA dan *Shigella dysenteriae* pada petri yang lainnya secara aseptis. Setelah itu dinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 37°C (Lampiran 4). Bakteri yang telah diremajakan diambil biakannya menggunakan jarum

ose dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml media NB (Nutrient Broth). Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi yang terbentuk disetarakan dengan larutan baku McFarland 0.5 yang ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  cfu/ml (Andrews, 2008) (Lampiran 7).

## 2. Metode difusi kertas (*paper disc diffusion*)

Metode ini dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ml bakteri uji ke dalam 10 ml media MHA steril suhu 40-45°C. Kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri steril. Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam 50 µl supernatan kultur bakteri endofit selama 1 jam. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antimikroba (media lempeng MHA). Sebagai kontrol positif digunakan cakram yang direndam amoxicilin 1% dan kontrol negatif digunakan cakram kosong steril kemudian, diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Masa inkubasi selesai, setelah itu dilakukan pengukuran terhadap zona bening yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening (Simarmata, 2007).

### 3.5.2.2 Pengukuran Zona Hambat

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

$$Lz = Lav - Ld$$

Dimana:

$Lz$  = Diameter zona hambat (mm)

$Lav$  = Diameter zona hambat dengan kertas saring (mm)

$Ld$  = Diameter kertas saring (mm)

### 3.5.3 Mengkaji Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Memiliki Enzim Squalene Sintase Penghasil Senyawa Triterpenoid

Urutan protein dari enzim yang dapat menghasilkan senyawa triterpenoid bisa dicari di KEGG, yaitu dicari *pathway Triterpenoid biosynthesis* dan dilihat enzim yang berperan dalam menghasilkan senyawa triterpenoid. Deskripsinya dibuka dan dilihat urutan nukleotida dan proteinnya disimpan melalui fasta di notepad. Urutan nukleotida dan protein sudah ditemukan, setelah itu dicari urutan *neuklotidewhole genome* dari masing – masing spesies bakteri yang akan diBLAST di NCBI, *all database* diganti *genome* dan dipilih *assembly gene* kemudian dilihat nama spesies termasuk kodenya dan di copy agar saat diBLAST memudahkan untuk memilih nama organisme dengan *complete genome*. Masuk pada teknik BLAST di NCBI dan dimasukan hal – hal yang harus diisi dibagian NCBI untuk diBLAST yaitu hasil copy dari fasta urutan asam amino enzim dan *sequence whole genome* yang ingin diBLAST. Pilih BLAST p untuk BLAST protein dan BLAST n untuk BLAST nukleotida kemudian di klik *show result*, lalu klik BLAST (Felix, 2011).

### **3.5.4 Analisis Data**

#### **3.5.4.1 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)**

Data yang diperoleh hasil uji aktivitas antibakteri dengan cara mengukur diameter zona hambat yang terbentuk, pengumpulan data dilaksanakan sebagai berikut, mengukur zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat adalah diameter yang tidak ditumbuhi oleh bakteri di sekitar paper disk dikurangi diameter paper disk (Simamarta, 2007).

#### **3.5.4.2 Bakteri Endofit Memiliki Enzim Squalene Sintase Penghasil Senyawa Triterpenoid**

Hasil yang diperoleh dilihat persentase *query cover*  $\geq 80\%$ , *identity*  $\geq 30\%$  bisa dinyatakan memiliki kesamaan. Bagian-bagian dari kedua sekuen yang tidak dihubungkan suatu garis vertical, menunjukkan letak perbedaan dari kedua sekuen tersebut (Narita, 2012).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

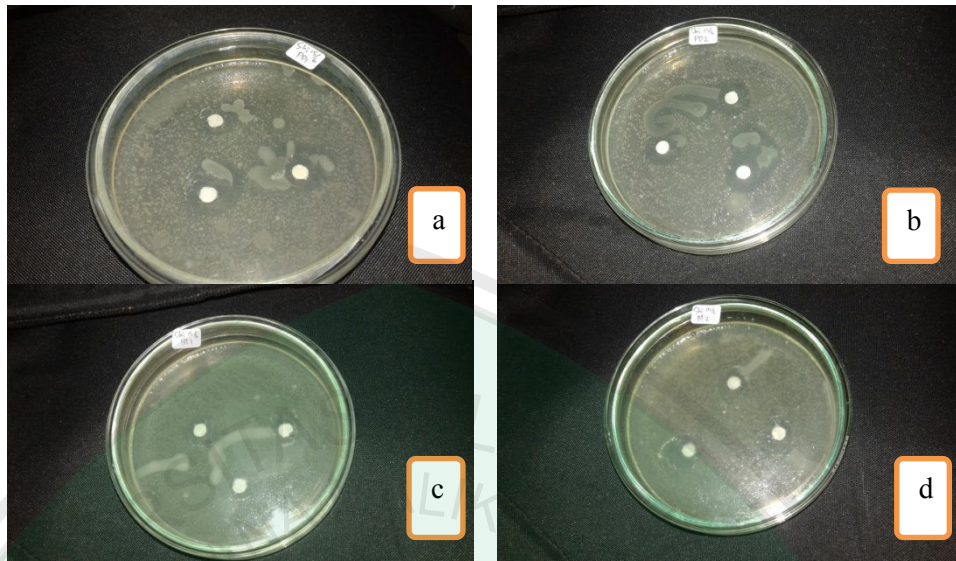
#### 4.1 Uji Aktifitas Metabolit Sekunder Mikroba Endofit dari Rimpang Temulawak Terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*

Pengamatan dilakukan setelah bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diameter zona hambat dari uji aktifitas antibakteri bakteri endofit dari rimpang temulawak terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* dapat dilihat pada 4.1.

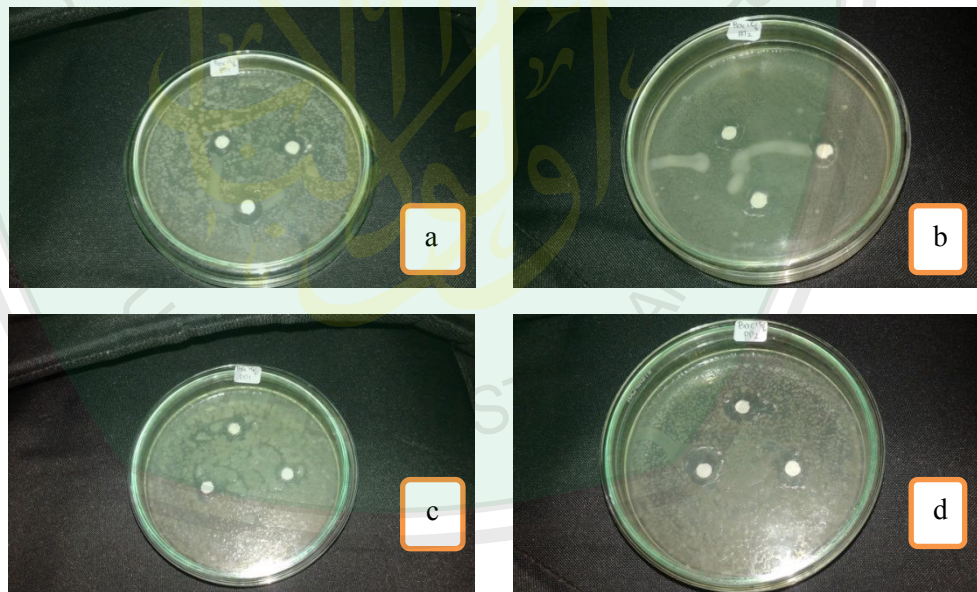
Tabel 4.1 Zona hambat pada uji aktifitas metabolit skunder mikroba endofit terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*

| Kode Isolat | Spesies                          | Zona hambat (dalam mm) |                                |                             |                                |
|-------------|----------------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
|             |                                  | <i>Bacillus cereus</i> |                                | <i>Shigella dysenteriae</i> |                                |
|             |                                  | Panjang                | Keterangan (Pan, et al., 2009) | Panjang                     | Keterangan (Pan, et al., 2009) |
| BT1         | <i>Actinomyces viscosus</i>      | 11,21                  | Kuat                           | 10,69                       | Kuat                           |
| BT2         | <i>Pseudomonas stutzeri</i>      | 10,70                  | Kuat                           | 13,07                       | Kuat                           |
| PD1         | <i>Actinomyces viscosus</i>      | 11,16                  | Kuat                           | 11,9                        | Kuat                           |
| PD2         | <i>Basillus brevis</i>           | 13,07                  | Kuat                           | 14,78                       | Kuat                           |
|             | Kontrol Positif (Amoxicilin 1 %) | 17,55                  | Kuat                           | 24,46                       | Kuat                           |
|             | Kontrol Negatif (Cakram steril)  | 0                      | Lemah                          | 0                           | Lemah                          |

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



Gambar 4.1 Zona hambat hasil isolat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* a. Isolat *Actinomyces viscosus* (BT1), b. Isolat *Pseudomonas stutzeri* (BT2), c. Isolat *Actinomyces viscosus* (PD1) dan d. Isolat *Bacillus brevis* (PD2)



Gambar 4.2 Zona Hambat hasil Isolat terhadap bakteri *Bacillus cereus*. a. Isolat *Actinomyces viscosus* (BT1), b. Isolat *Pseudomonas stutzeri* (BT2), c. Isolat *Actinomyces viscosus* (PD1) dan d. Isolat *Bacillus brevis* (PD2)

Pemanfaatan bakteri endofit dari tanaman obat merupakan cara baru untuk mendapatkan senyawa antibakteri tanpa harus mengekstraksi secara langsung dari tanaman obat tersebut. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme simbiotik yang

hidup di dalam jaringan tanaman dan tidak menimbulkan efek negatif pada tanaman inangnya. Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman dapat memicu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Selain itu, senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit diketahui berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang medis, pertanian, dan industri (Kusumawati, 2014).

Pan, (2009), menjelaskan bahwa kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter zona hambat yaitu diameter 0-3 mm respon hambatan pertumbuhan lemah, diameter 3-6 mm respon hambatan pertumbuhan sedang dan diameter  $\geq 6$  mm respon hambatan pertumbuhan kuat. Berdasarkan Tabel 4.1, 4 isolat yang diuji aktifitas metabolit sekunder bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit pada manusia yaitu *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba endofit dari rimpang temulawak mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri dengan kriteria kuat.

Uji aktifitas metabolit sekunder bakteri endofit terhadap bakteri *Bacillus cereus* berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan zona hambat terbesar pada isolat PD2 spesies *Bacillus brevis* menghasilkan zona hambat sebesar 13,07 mm. Zona hambat terkecil pada isolat BT2 yaitu spesies *Pseudomonas stutzeri* 10,70 mm. Isolat PD1 menghasilkan zona hambat 11,16 mm, isolat BT1 sebesar 11,21 mm.

Uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada isolat PD2 spesies *Bacillus brevis* dengan zona hambat 14,78. Hasil zona hambat terkecil

sebesar 10,69 mm pada isolat BT1 spesies *Actinomyces viscosus*. Isolat PD1 spesies *Actinomyces viscosus* sebesar 11,9 mm dan isolat BT2 spesies *Pseudomonas stutzeri* sebesar 13,07 mm.

Simamarta, (2007), menjelaskan bahwa mikroba endofit yang berpotensi lebih banyak berasal dari isolasi pada bagian rimpang tanaman. Perlu dilakukan penelitian lebih dalam lagi untuk menggali dan mengklarifikasi mikroba endofit yang diisolasi dari bagian lain, seperti batang dan daun.

Aktifitas antibakteri metabolit sekunder isolat bakteri endofit dari rimpang temulawak secara *in vitro* terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* menunjukkan adanya zona hambat dengan kriteria kuat. Spesies bakteri endofit *Bacillus brevis* pada isolat PD2 mempunyai daya antibakteri yang baik untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri patogen *Bacillus cereus* (Bakteri gram positif) dengan kriteria kuat yaitu 13,07 mm dan bakteri *Shigella dysenteriae* (Bakteri gram negatif) dengan kriteria kuat pula yaitu 14,78 mm. Metabolit sekunder *Bacillus brevis* dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif cukup baik dilihat dari hasil zona hambat terbesar berdasarkan data pada tabel 4.1.

Terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa ekstraseluler yang bersifat antibakteri. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk kemungkinan disebabkan perbedaan jenis senyawa antibakteri yang dihasilkan tiap isolat bakteri endofit. Hasil tersebut juga menandakan bahwa kemungkinan besar senyawa

antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut memiliki spektrum yang luas (Kusumawati, 2014).

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

Hasil dari penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit *Bacillus brevis* mampu menghambat bakteri gram negatif lebih maksimal dibandingkan dengan bakteri gram positif. Hasil menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* sebagai sampel bakteri gram negatif adalah 14,78 mm, sedangkan bakteri *Bacillus cereus* sebagai sampel bakteri gram positif memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 13,07 mm. Hal ini diakibatkan bahwa senyawa aktif yang ada pada isolat bakteri *Bacillus brevis* memiliki kemampuan untuk menembus dan melisiskan dinding sel bakteri gram negatif *Shigella dysenteriae*. Pada dinding sel bakteri gram negatif bersifat kompleks terdiri dari tiga lapis, yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dengan ukuran lebih tebal dari dinding sel bakteri gram positif, dan lapisan dalam lipoprotein keadaan bakteri seperti ini akan sangat sensitif terhadap bahan antiseptik. Tetapi jika konsentrasi zat aktif

antibakteri yang dimiliki oleh isolat bakteri endofit *Bacillus brevis* cukup besar maka dapat melisiskan dinding sel bakteri *Shigella dysenteriae* (Pelczar dan Chan, 1986).

Berbeda dengan bakteri *Shigella dysenteriae*, bakteri gram positif *Bacillus cereus* memiliki rata-rata diameter zona hambat lebih rendah dari bakteri gram negatif hal ini diakibatkan dinding sel bakteri gram positif mengandung polisakarida (asam terikoat) merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transpor ion positif untuk keluar masuk. Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel gram positif bersifat lebih polar. Meskipun begitu tidak semua senyawa aktif yang ada pada isolat bakteri *Bacillus brevis* bersifat polar. Lapisan lemak yang bersifat nonpolar pada bakteri *Bacillus cereus* ini juga menjadi salah satu penyebab mengapa senyawa aktif pada isolat bakteri endofit *Bacillus brevis* sulit melisiskan dinding sel bakteri positif (Pelczar, 1998).

Faktor biotik dan abiotik mempengaruhi produksi metabolisme sekunder yang dihasilkan tiap isolat, dimana rimpang temulawak yang digunakan untuk isolasi didapat dari dua tempat yang berbeda yakni dari daerah Batu dan daerah Purwodadi dengan keadaan komposisi tanah, kondisi cuaca dan iklim yang berbeda. Temulawak mudah hidup dalam kondisi cuaca yang dingin seperti di daerah Batu, sehingga rimpang temulawak dari daerah Purwodadi diduga memiliki senyawa metabolit sekunder khusus yang lebih berkualitas daripada rimpang temulawak dari Batu karena adanya cekaman yang mengakibatkan perbedaan sekresi senyawa metabolit oleh rimpang temulawak. Semakin besar cekaman tanaman, maka semakin berkualitas metabolit sekunder yang

disekresikan. Selama berada dalam tanaman bakteri endofit mendapatkan asupan makanan dari tanaman. bakteri endofit memanipulasi tanaman dalam mengalihkan aliran nutrisi (misal hasil fotosintesis seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa) menuju tempat kolonisasi mikroba (Kim, 2011).

Hasil zona hambat yang terbentuk berdasarkan tabel 4.1, isolat *Bacillus brevis* mampu menghambat paling baik diantara isolat yang lain. Hal ini mungkin terjadi karena *Bacillus brevis* menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan kadar paling banyak diantara isolat yang lain. Pemanfaatan metabolit sekunder isolat *Bacillus brevis* bisa digunakan dalam mengendalikan penyakit manusia akibat bakteri patogen *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* sehingga, dapat menggantikan peran antibiotik dari bahan kimia. Selain adanya kandungan senyawa antibiotik bawaan yang dimiliki *Bacillus brevis*, bakteri ini kemungkinan juga memiliki senyawa aktif antibakteri yang sama seperti pada inangnya yakni rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) antara lain kurkumin, alkaloid, tannin, saponin, triterpenoid dan flavonoid yang mampu digunakan sebagai antibakteri (Aulmozi, 2007).

Tabel 4.1 menunjukkan uji metabolit yang dihasilkan bakteri endofit dari semua isolat rimpang temulawak yang berasal dari kota Batu dan Purwodadi mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit kemungkinan menghasilkan senyawa aktif seperti yang dihasilkan tanaman temulawak.

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

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

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

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

Menurut (Pelzar dan Chan, 1998) yang menyatakan bahwa flavanoid merupakan golongan senyawa fenol terbesar di alam yang terdapat pada tumbuhan yang mempunyai sifat antimikroba. Cara kerja senyawa ini sebagai antibakteri masih belum jelas. Kemungkinan aktifitas antibakteri flavanoid yang merupakan salah satu golongan fenol, menyebabkan kerusakan struktur protein yang terkandung di dalam dinding sitoplasma bakteri. Flavonoid dapat mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma yang mengandung protein dan mendenaturasi dinding sel bakteri, dengan cara berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Aktifitas ini akan mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein.

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008). Selain itu, di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan

mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

Mekanisme triterpenoid yang juga sebagai senyawa antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rachmawati, 2009). Sedangkan, alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Mekanisme penghambat mikroorganisme oleh senyawa antimikrobal dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain penghambatan terhadap sintesis penyusun dinding sel, peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, penghambatan terhadap sintesis protein (misalnya, penghambatan translasi dan transkripsi material genetik) dan penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Brooks et al., 2005)

Selain adanya senyawa aktif potensial pada bakteri endofit tersebut, terdapat pula faktor lain yang dapat menjadi penghambat pertumbuhan bakteri patogen. Yakni kemampuan bakteri patogen itu sendiri dalam menghasilkan antibiotik. Pada penelitian ini salah satu bakteri patogen yang digunakan dapat menghasilkan senyawa antibakteri sendiri yaitu *Bacillus cereus*. Beberapa strain

dari *Bacillus cereus* bersifat patogen dan berbahaya bagi manusia karena dapat menyebabkan *foodborne illness*, namun beberapa diantaranya yang bersifat saprofitik dapat bermanfaat sebagai probiotik dan juga penghasil antibiotik yang potensial (Jenson, 1997).

*Bacillus cereus* memproduksi Mycocercin yang merupakan antibiotik peptida yang efektif terhadap beberapa jenis *yeast* maupun *mold* dengan rentang *minimal inhibitory concentration* antara 19,5 – 78 mikrogram/mL. Selain Mycocercin, *Bacillus cereus* juga memproduksi Biocercin yang efektif menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus albus* dengan menggunakan protease pepton agar sebagai medium uji (Wijnand, 2003).

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya (Nursanty dan Suhartono, 2012). Bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya. Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengembangan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang berasosiasi dengan tanaman tersebut (Priharta, 2008).

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa bakteri endofit tidak hanya hidup tanpa manfaat pada jaringan tanaman tetapi, juga bisa menghasilkan

senyawa yang potensial dan kebanyakan hampir sama dengan tanaman inangnya yang dapat bermanfaat untuk sekitarnya. Sebagaimana penjelasan dalam surat QS:Al-Anbiyaa (21): 30 mengenai fungsi dan manfaat alam semesta bagi manusia

أَوَلَمْ يَرِ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا<sup>ط</sup> وَجَعَلْنَا مِنَ  
الْمَاءِ كُلِّ شَيْءٍ حَيًّا<sup>ط</sup> أَفَلَا يُؤْمِنُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: “Dan apakah orang-orang yang kafir tidak mengetahui bahwasanya langit dan bumi itu keduanya dahulu adalah suatu yang padu, kemudian Kami pisahkan antara keduanya. Dan dari air Kami jadikan segala sesuatu yang hidup. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman?”

Ayat di atas menjelaskan bahwa orang kafir dan musyrik Makkah sebelumnya tidak memperhatikan, bahkan tidak peduli dengan fenomena-fenomena alam yang terjadi. Nalar mereka digugah dan diajak untuk berfikir melalui firman-Nya, *أَوَلَمْ يَرِ الَّذِينَ كَفَرُوا* “Dan apakah orang-orang kafir tidak mengetahui”. Apakah orang-orang yang mengingkari Allah (yang berhak diibadahi dengan benar) dan orang-orang yang menyembah selain Allah tidak mengetahui, bahwa hanya Allah yang menciptakan dan mengatur segala ciptaan-Nya? Lalu, jika mereka mengetahui, bagaimana mungkin belum juga percaya bahwa tidak ada satu pun dari makhluk yang terdapat di langit dan di bumi yang wajar dipertuhankan?

Tidakkah mereka melihat yakni menyaksikan dengan mata hati dan pikiran sejelas pandangan mata *أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا* “Bahwasanya langit dan bumi itu dahulu adalah sesuatu yang padu (menyatu).” Maksudnya, pada langit dan bumi seluruhnya saling berkaitan dan tersusun antara sebagian dengan

sebagian yang lain. Kemudian dia memisahkan bagian yang satu dengan bagian lainnya.

Sufyan ats-Tsauri mengatakan dari ayahnya dari 'Ikrimah bahwa dia mengatakan, "Ibnu 'Abbas r.a pernah ditanya, "mana yang lebih dulu malam atau siang?" Dia menjawab, "Bukankah kamu mengetahui bahwa ketika langit bumi dulu masih bersatu, tidak ada keduanya kecuali kegelapan? Itu agar kamu mengetahui bahwa malam itu telah ada sebelum siang."

Tentang cara Allah memisahkan keduanya, beberapa ulama' tafsir banyak berbeda pendapat. Sebagian mengatakan bahwa pada awalnya langit dan bumi ini menyatu, kemudian Allah mengangkat langit ke atas dan membiarkan bumi tetap di tempatnya berada di bawah lalu memisahkan keduanya dengan udara. Sebagian berpendapat bahwa pemisahan langit dan bumi melalui penciptaan angin. Sebagian lagi berpendapat pemisahan langit dengan hujan dan bumi dengan tumbuh-tumbuhan. Sedangkan para ilmuwan modern mengemukakan bahwa telah terjadi *big bang* yaitu dentuman besar dari *Singularity* sampai terpisahnya Gaya Gravitasi dari Gaya Tunggal (*superforce*) dan ruang-waktu mulai memisah. Pemisahan selanjutnya adalah terjadinya planet dan bintang-bintang.

Menurut tafsir Al-Misbah (2002), Berbeda-beda pendapat ulama tentang firman-Nya ini. Ada yang memahaminya dalam arti langit dan bumi tadinya merupakan gumpalan yang terpadu. Hujan tidak turun dan bumipun tidak ditumbuhi pepohonan, kemudian Allah *membelah* langit dan bumi dengan jalan menurunkan hujan dari langit dan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan di bumi. Ada

lagi yang berpendapat bahwa bumi dan langit tadinya merupakan sesuatu yang utuh tidak terpisah, kemudian Allah pisahkan dengan mengangkat langit ke atas dan membiarkan bumi tetap ditempatnya berada dibawah lalu memisahkan keduanya dengan udara.

Ayat ini dipahami oleh sementara ilmuan sebagai salah satu mukjizat Al-qur'an yang mengungkap peristiwa penciptaan planet-planet. Banyak teori ilmiah yang dikemukakan oleh para pakar dengan bukti-bukti yang cukup kuat, yang menyatakan bahwa langit dan bumi tadinya merupakan satu gumpalan atau yang diistilahkan oleh ayat ini dengan *ratqan*. Lalu gumpalan itu berpisah sehingga terjadilah pemisahan antar bumi dan langit.

Tafsir Ibnu Katsir (2005) juga menjelaskan Allah Ta'ala berfirman mengingatkan tentang kekuasaan-Nya yang sempurna dan kerajaan-Nya yang agung. *“Dan apakah orang-orang yang kafir itu tidak mengetahui”*, yaitu orang-orang yang mengingkari kekuasaan Allah. Apakah mereka tidak mengetahui bahwa Allah adalah Rabb Yang Maha Esa dalam penciptaan lagi bebas dalam penataan, maka bagaimana mungkin Dia layak disekutukan bersama yang lain-Nya? Apakah mereka tidak mengetahui bahwa langit dan bumi dahulunya adalah bersatu? Lalu berpecah-belah, maka langit menjadi tujuh dan bumi menjadi tujuh serta antara langit dan bumi dipisahkan oleh udara, hingga hujan turun dari langit dan tanah pun menumbuhkan tanam-tanaman. Untuk itu Dia berfirman: *“Dan dari air, Kami jadikan segala sesuatu yang hidup. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman?”* yaitu, mereka menyaksikan berbagai makhluk, satu kejadian demi kejadian secara nyata. Semua itu adalah bukti

tentang adanya Maha Pencipta yang berbuat secara bebas lagi Maha kuasa atas apa yang dikehendaki-Nya.

Sebenarnya akal manusia mempunyai kesiapan untuk megkaji berbagai keajaiban adan fenomena alam. Nabi Muhammad SAW juga telah menjelaskan hal ini. Namun, kaumnya dan umat semasa mereka tidak mau memikirkannya hingga dapat membuktikan bahwa penjelasan itu adalah wahyu yang disampaikan kepada beliau dari Tuhan Yang Maha Tahu. Kalau saja mereka tidak ingkar, dan hati mereka tidak buta, niscaya penjelasan ini saja sudah cukup bagi mereka untuk segera mempercayai beliau dan beriman kepada risalahnya. Sehubungan dengan potensi antibakteri pada bakteri endofit rimpang temulawak dalam hal ini pemisahan langit dan bumi yang dijelaskan dalam ayat tersebut menjelaskan tentang bahwa tidak ada satu pun ciptaan dan kehendak Allah SWT yang sia-sia bagi manusia. Hasil zona hambat yang baik pada penelitian ini menunjukkan bahwa kebesaran Allah menciptakan makhluk-makhluk mikroskopis seperti bakteri endofit sekalipun juga memiliki manfaat yang besar bagi manusia.

Apabila manusia mau memperhatikan apa-apa yang di bumi ini, baik yang terdapat di permukaannya, maupun yang tersimpan dalam perut bumi itu, niscaya ia akan menemukan banyak keajaiban yang menunjukkan kekuasaan Allah. Dan jika ia yakin, bahwa kesemuanya itu diciptakan Allah untuk kemaslahatan dan kemajuan hidup manusia sendiri, maka ia akan merasa bersyukur kepada Allah dan meyakini bahwa semuanya itu diciptakan Allah berdasar tujuan yang luhur karena semuanya memberikan faedah yang tak terhitung banyaknya. Bila manusia sampai kepada keyakinan semacam itu, sudah

pasti ia tidak akan mengingkari al-Qur'an dan tidak akan menolak kerasulan Nabi Muhammad SAW. Allah SWT telah berfirman dalam ayat-ayat yang lain yakni dalam QS.Saad (38): 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ

كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٣٨﴾

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

Al-Maraghiy (1989) mengemukakan, Pengadaan seluruh alam, terutama jenis insani dan pengangkatannya sebagai khalifah di muka bumi, didasarkan atas hikmah yang rapi dan tujuan yang agung, yang tampak jelas oleh orang-orang berakal. Sebagian hikmah dan tujuan itu telah diketahui oleh orang-orang yang memperhatikan alam dengan segala keajaibannya dan diberi pengetahuan yang benar, sehingga mereka mengetahui sebagian rahasianya dan dapat mengambil manfaat dari apa yang disimpan di dalam perut bumi maupun yang tampak pada permukaannya, yang membawa kemajuan bagi umat manusia. Hingga kini, setiap hari ilmu pengetahuan senantiasa melahirkan keajaiban dan keanehan yang disimpannya. Pada penelitian ini dihubungkan dengan ditemukannya antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang berasal dari bakteri endofit tanaman rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb). Dengan dijadikannya obat tanpa menimbulkan efek samping bagi penderitanya karena bahan dasar yang digunakan merupakan bahan alam yang dikembangkan secara baik.

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

Hasil yang diperoleh adalah hasil dari program BLAST protein dan BLAST nukleotida untuk lebih memastikan berdasarkan kesamaan protein dan nukleotida. Enzim yang diBLAST adalah enzim squalene sintase. Berdasarkan *pathway* biosintesis triterpenoid substrat utama farnesyl diphospat dikonversi enzim squalene sintase menjadi presqualene dan squalene yang kemudian dikonversi oleh enzim yang sama yakni squalene sintase menjadi triterpenoid (Katsuyama, 2013). Hasil BLAST dinilai dari persentase *query cover* dan *identity*. *Query cover* adalah bagian sekuens yang bisa diBLAST dan *identity* adalah bagian sekuens yang homolog dari hasil BLAST (Narita, 2012).

##### 4.2.1 Hasil BLAST Protein Enzim Squalene Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Tabel 4.2 Hasil BLAST Protein Enzim Squalene Sintase dengan Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

| Enzim            | Bakteri endofit             | <i>Query cover</i> | <i>identity</i> |
|------------------|-----------------------------|--------------------|-----------------|
| Squalene Sintase | <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 0%                 | 0%              |
|                  | <i>Bacillus brevis</i>      | 0%                 | 0%              |
|                  | <i>Actinomyces viscosus</i> | 0%                 | 0%              |

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa protein Enzim squalene sintase diBLAST dengan protein bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) tidak bisa dikatakan homolog. Hasil BLAST protein menunjukkan tidak adanya kemiripan sekuens karena persentase *query cover* maupun *identity* 0% yang artinya tidak memenuhi standart homolog pada hasil BLAST. Hasil BLAST

menunjukkan adanya beberapa enzim yang memiliki nilai persentase pada *query cover* dan *identity* namun, tidak ada untuk enzim squalene sintase (Lampiran 8).

Squalene sintase yaitu enzim yang mengubah substrat utama yakni Farnesyl diphospat menjadi substrat Presqualene diphospat dan kemudian dirubah menjadi substrat squalene sampai menjadi senyawa triterpenoid. Squalene sintase merupakan senyawa organik dengan 30 atom karbon. Squalene digunakan dalam pembuatan kosmetik, dan juga sebagai adjuvan imunologi dalam vaksin. Squalene juga tengah diteliti sebagai senyawa dengan efek kemopreventif.

Hasil BLAST dikatakan memiliki kesamaan apabila persentase dari query cover  $\geq 80\%$  dan identity  $\geq 30\%$ . Identity  $\geq 30\%$  dinyatakan kedua sekuen hasil BLAST memiliki kemiripan struktur protein (Narita, 2012).

#### 4.2.2 Hasil BLAST Nukleotida Enzim Squalene Sintase dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

Tabel 4.3 Hasil BLAST Nukleotida Enzim Squalene Sintase dan dengan Spesies Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

| Enzim            | Bakteri endofit             | Query cover | Ident | Region Genome                   |
|------------------|-----------------------------|-------------|-------|---------------------------------|
| Squalene Sintase | <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 13%         | 35%   | WP0126844101 351<br>Amino acids |
|                  | <i>Bacillus brevis</i>      | 30%         | 30%   | BAH41890. 1 287<br>Amino acids  |
|                  | <i>Actinomyces viscosus</i> | 9%          | 36%   | ABP80569.1                      |

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

Hasil dari BLAST nukleotida enzim squalene dengan bakteri endofit masih belum bisa dikatakan homolog.

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

Hasil yang diperoleh dari BLAST nukleotida enzim squalene sintase dengan *Pseudomonas stutzeri*, *query cover* memang mencapai 13 % namun, belum bisa dikatakan homolog karena kurang dari 80 %, kesamaannya masih sangat kecil. Hasil BLAST enzim squalene sintase dengan *Bacillus brevis* *query cover* 30 % dan *identity* 30 % tidak bisa dinyatakan homolog karena *query cover* yang sangat kecil. Hasil BLAST enzim squalene sintase dengan *Actinomyces viscosus* juga tidak bisa dikatakan homolog, dikarenakan hanya memiliki *query cover* 9 %.

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

Penelitian sebelumnya juga melakukan BLAST terhadap enzim penghasil kurkumin pada 3 isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Berdasarkan hasil BLAST protein dan nukleotida enzim penghasil kurkumin dan spesies bakteri endofit tidak homolog. Hasil ini menyatakan bahwa bila dilihat dari enzim penghasil kurkumin masing- masing bakteri endofit tidak memiliki enzim tersebut. Spesies bakteri tersebut tidak bisa dikatakan menghasilkan senyawa kurkumin yang sama dengan inangnya (Nadia, 2015).

Hasil dari BLAST enzim squalene sintase dengan ketiga bakteri endofit rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dan hasil BLAST pada penelitian sebelumnya, yakni pada enzim penghasil kurkumin dengan ketiga isolat tersebut sama-sama dinyatakan tidak homolog. Karena hasilnya menunjukkan masih terlampau rendah dari parameter *query cover* dan *identity* yang diharuskan. Hal ini memiliki banyak penyebab salah satunya, bahwa dengan metode BLAST ini keakuratan hasil yang diinginkan belum dapat dibuktikan. Dengan hasil seperti ini, diharapkan untuk penelitian selanjutnya yang menggunakan metode *in silico* dengan software BLAST-NCBI ini terlebih dahulu melakukan sequencing DNA pada masing-masing isolat bakteri endofitnya, supaya didapatkan hasil yang maksimal.

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri masing – masing metabolit sekunder dari bakteri tersebut memiliki zona hambat yang kuat, terutama pada bakteri endofit *Bacillus brevis*. Meskipun menunjukkan zona hambat dengan diameter terbesar belum berarti pada bakteri endofit tersebut terkandung senyawa triterpenoid. Hal ini bisa dikarenakan ketiga spesies bakteri endofit tersebut juga

memiliki senyawa aktif antibakteri lain selain triterpenoid. Senyawa aktif antibakteri yang dimiliki tanaman inangnya seperti tannin, saponin, alkaloid, flavonoid, dan senyawa organik lainnya (Aulmozi, 2007).

Hasil analisis mutu rimpang temulawak triterpenoid merupakan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk rimpang temulawak menunjukkan rimpang tanaman temulawak juga memiliki senyawa antibakteri lain selain triterpenoid yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida (Hayani, 2006).

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

Isolat bakteri endofit genus *Pseudomonas* tersebut telah diteliti memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi patogen, diantaranya *Streptococcus pyogenes* dan *Candida albicans*. Sebagaimana isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman temulawak yaitu *Pseudomonas stutzeri* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan zona hambat 10,70 mm dan *Shigella dysenteriae* dengan zona hambat 13,07 mm.

*Bacillus brevis* merupakan bakteri gram positif dan bakteri bersifat aerob yang memberikan hasil positif pada tes manitol, dan tes suhu pada 20 °C-75 °C.

*Bacillus brevis* merupakan salah bakteri *Bacillus* yang dapat memproduksi metabolit sekunder dengan konsentrasi yang tinggi. Sehingga senyawa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik yang baik untuk obat infeksi dari bakteri patogen (Jamil *et al.*, 2007). Sebagaimana *Bacillus brevis* yang merupakan isolat bakteri endofit pada penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* dengan kategori yang kuat karena memiliki diameter zona hambat yang terbesar dari dua spesies bakteri endofit yang lain.

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang bermanfaat sama dengan inangnya. Hal ini merupakan bukti penelitian bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang bermanfaat seperti antibakteri. Hasil dari BLAST memang tidak menunjukkan bahwa bakteri endofit rimpang temulawak memiliki enzim squalene sintase untuk menghasilkan triterpenoid namun, tidak menutup kemungkinan bakteri endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa antibakteri lain yang juga dimiliki oleh tanaman inangnya dan dapat menghasilkan senyawa triterpenoid jika diuji dengan menggunakan metode lain.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

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

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 4 isolat bakteri endofit rimpang temulawak yaitu spesies *Actinomyces viscosus* dan *Pseudomonas stutzeri* dari Batu, *Actinomyces viscosus* dan *Bacillus brevis* dari Purwodadi dapat menghambat bakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae*. Zona hambat terhadap bakteri uji *Bacillus cereus* didapat 11,21 mm untuk *Actinomyces viscosus* dari Batu, 10,70 mm untuk *Pseudomonas stutzeri*, 11,16 mm untuk *Actinomyces viscosus* dari Purwodadi, dan 13,07 mm untuk *Bacillus brevis* (terbesar). Zona hambat terhadap bakteri uji *Shigella dysenteriae* didapat 10,69 mm untuk *Actinomyces viscosus* dari Batu, 13,07 mm untuk *Pseudomonas stutzeri*, 11,9 mm untuk *Actinomyces viscosus* dari Purwodadi dan 14,78 mm untuk *Bacillus brevis* (terbesar).
2. Berdasarkan hasil BLAST protein dan nukleotida enzim penghasil triterpenoid dan spesies bakteri endofit tidak homolog. Bakteri endofit tidak memiliki enzim penghasil triterpenoid. Bila dilihat dari ketiadaan enzim penghasil triterpenoid, spesies bakteri tersebut tidak bisa dikatakan menghasilkan senyawa triterpenoid yang sama dengan inangnya.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Melakukan Uji antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap bakteri patogen lain yang perlu dihambat pertumbuhannya.
2. Melakukan sequencing DNA bakteri endofit untuk mendapatkan DNA hasil sequencing dari masing – masing bakteri endofit dan dilanjutkan dengan BLAST nukleotida sehingga, didapatkan hasil yang lebih tepat dalam pensejajaran DNA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad bin ‘Abdurrahman bin Ishaq Alu Syaikh. 2005. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 8*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi’i.
- ABIS encyclopedia, 2009. *Bacillus cereus*. <http://www.tgw1916.net/ABIS/encyclopedia.html>. diakses: 20 April 2015.
- Abu Bakar, Bahrn. 1986. *Tafsir Al Maragi Jilid VIII*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Al-Aliyy. 2002. *Al-Qur’an dan Terjemahannya, Depertemen Agama RI: Diponegoro, 2005M. Qurais Shihab, Tafsir Al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur’an*, Jakarta : Lentera Hati.
- Al-Maraghi, Ahmad Mushthafa. 1989. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*, Semarang: CV. Toha Putra.
- Amirth,Pal,Singh,2002. A Trestie on Phytochemistry. Emedia Sience Ltd.Andrews J. M. 2008. BSAC Standardized Disc Susceptibility Testing Method (version 7). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62: 256 – 278
- Anggraini, F. D. 2012. *Isolasi dan Uji Antimikroba Metabolit Sekunder Ekstrak Kultur Jamur Endofit Afkr-5 Dari Tumbuhan Akar Kuning (Arcangelisia flava (L) Merr. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmi Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.*
- Ardiansyah, 2007. *Antimikroba dari Tumbuhan*. Jepang: Tohoku University Sendai. 83 Hal.
- Arnold, G., Jenson, I., Newton, K. and Sutherland, P. pp 379-406. AIFST (NSW Branch), Sydney, Australia.
- Aulmozi, S. 2007. *Amtinociceptive and Anti-inflammatory Activites of Alstonia scholaris* Li.R.Br. An official pulication of phcog. Net. Phocog Mag. Vol 3 No 10.
- Bacon CW, Hinton DM. 2006. *Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. Dalam: Gnanamanickam SS, editor. Plant-Associated Bacteria*. Netherland: Springer.
- Bin Ishaq Alu Syaikh, Dr. Abdullah Muhammad bin Abdurrahman. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid V*. Bogor: Pustaka imam Asy- syafi’i.

- Bin Ishaq Alu Syaikh, Dr. Abdullah Muhammad bin Abdurrahman. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid VII*. Bogor: Pustaka imam Asy- syafi'i.
- Bisharat,Niel, Tatiana Gorlachevand Yoram Keness. 2012. 10-Years Hospital Experience InPseudomonas stutzeri and Literature Review. *The Open Infectious Disease Journal*, 6:21-24p.
- BoppCA, et al. 2003. *Escherichia, Shigella, and Salmonella. In:Manual of Clinical Microbiologi*, 8th ed. Murray PR et al(editors). ASM Press
- Buda. G. 2009. *Bacillus Cereus*. <http://wvvc.uwaterloo.ca/biology447/assign2000/buda/assignment2.htm> . diakses: 20 April 2015.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification ofmicrogram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*. 72: 248-254. Burger,I., Burger,B,V. Albrecht,C.F. Spicies,H.S.C. and Sandor.P. Triterpenoid saponin From Bacium gradivlona Var. Obovatum Phytochemistry.49. 2087-2089.
- Brooks GF, Butel JS & Morse SA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.6Thed. p.328-335
- Bryan, Sheri Ann J. 1999. Starvation Responses of Pseudomonas Stutzeri. Thesis. Seton Hall University
- Cahyono, bambang. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorriza* Roxb) Terhadap Kandungan Dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*.Vol. 13 No. 3, Hal. 165-171
- Departemen Agama RI. 1994. Al-qur'an dan Tafsirnya Jilid VI Juz 16-17-12-18, Jakarta : Depag RI *Proyek Pengadaan Kitab Suci Al-qur'an*.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- Desriani,Ukhradia Maharaniq Safira P, Maria Bintang, Akhmad Rivai, Puspita Lisdiyant. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(2)
- Elita A et al., 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba Dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit Pseudomonas Sp. Dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia Variabilis*). *J. Ind.Che.Acta*. Vol. 3 (2)
- Eltaweel MA, Rahman RNZ, Salleh AB, Basri M. 2005. *An organic solvent-stable lipase from Bacillus cereus*. *Annals of Microbiol*. 55(3): 187-192

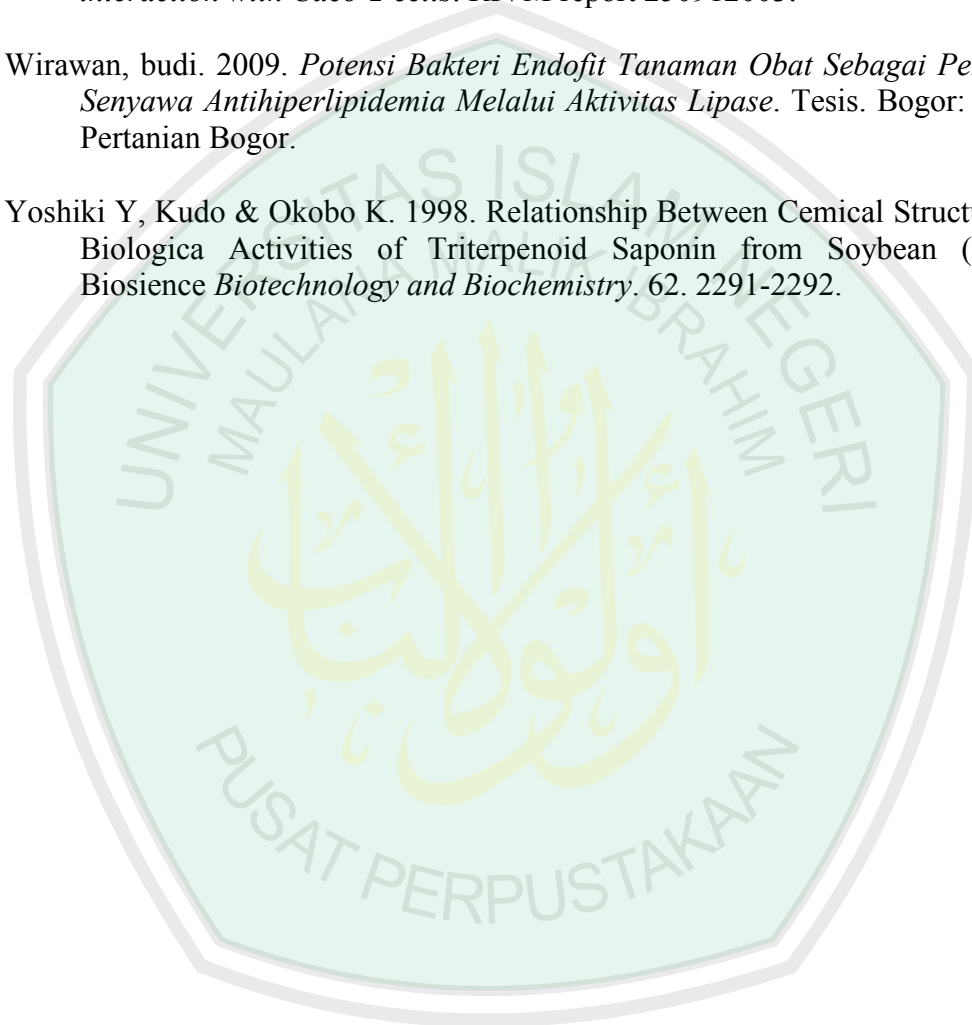
- Entjang, Indang. 2001. *Mikrobiologi Dan Parasitologi*. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- Fatchiyah, 2009. *Pengantar Bioinformatika Kedokteran*. Malang: UB Press.
- Guan SH, Sattler I, Lin WH, Guo DA, Grabley S. p-Aminoacetophenonic acids produced by a mangrove endophyte: *Streptomyces griseus* subspecies. *J Nat Prod*. 2005; 68:1198–200. Dalam: Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. 2008. *Bacterial endophytes: recent developments and applications Mini Review*. *FEMS Microbiol Lett*. 2008; (278):1–9.
- Hadioetomo. 1993. *Teknik Instrumentasi*. Jakarta: Pustaka Utama,
- Harbrone J.B., 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Hayani, eni. 2006. *Analisis Kandungan Kimia Rimpang Temulawak*. Tenni Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian.
- Hernani. 2005. *Tanaman Berkhasiat antioksidan*. Depok : Penebar Swadaya.
- Hoffmaster. A. R., R. T. Novak, C. K. Marston, J. E. Gee, L. H., J. M. Pruckler and P. P Wilkins. 2008. *Genetic Diversity of clinical isolates of Bacillus cereus using multilocus sequence typing*. *BMC Microbiology*. 8:191.
- Imawati, Rohana. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Irianto A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung: CV Yrama Widya.
- Jamil, Bushra, Frank Hasan, A. Hameed, Safia Ahmed. 2007. "Isolation of *Bacillus subtilis* MH-4 from Soil and Its Potential of Polypeptide Antibiotic Production". *Journal of Pharm Science*. Vol. 20, hal.26-31.
- Jawet'z, dkk. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Jilid I*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jenson I and Moir CJ. (1997) *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: Foodborne microorganisms of public health importance, 5th Edition, (Eds) Hocking, A.D.,

- Kaufmann SHE & Kabelitz D. 2010. *Methods in Microbiology*, Volume 37 Immunology of Infection. Third Edition. London: Elsevier Academic Press.
- Kegg, 2013. *Pathway Triterpenoid biosynthesis*. www.kegg.com. Kanehisa Laboratory
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Kim Nio, Ocy. 1989. Zat-zat toksik yang secara alamiah ada pada tumbuhan nabati. *Cermin Dunia Kedokteran*, No.58.
- Kiswanto. 2005. *Perubahan kadar senyawa bioaktif Rimpang temulawak dalam penyimpanan (Curcuma xanthorrhiza Roxb)*. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian (INTAN).
- Kristina dkk., 2006. *Peluang peningkatan kadar kurkumin pada Tanaman kunyit dan temulawak*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
- Kusumawati, Dwi Endah. 2014. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *BMC Microbiology*. Vol. 12. No (21-25).
- Loisyana. 2005. *Identifikasi, Inventarisasi Senyawa Triterpenoid dan Uji Brine Shrimp pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Bengkulu*. Skripsi. Bengkulu: Universitas Bengkulu.
- Luthony, T., dan Rahmawati, Y., 1994. *Produksi Dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Majang, Yunazar. 2002, *Isolasi Karakterisasi Senyawa Terpenoid dan Steroid, Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia*. Padang: Universitas Andalas.
- Mangunwardoyo, W, Waty, D, Usia, T. 2012. Antimicrobial And Identification Of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS*. Vol: 12 No: 01.
- Miftakhunnafisah, Widodo. 2010. *Pengenalan Ncbi Untuk Analisis Dna, Protein Dan Senyawa Kimia*. Malang: Laboratorium Biosistem Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

- Milner, J. L., E. A. Stohl, J. Handelsman. 1996. Zwittermicin A Resistance Gene from *Bacillus cereus*. *Journal Of Bacteriology*, p. 4266–4272 Vol. 178, No. 14.
- Milner, J. L., L. silo-suh, J. C. Lee, H. he, J. Clardy, J. Handelsman. 1996. Production of Kanosamine by *Bacillus cereus* UW 85. *Applied and environmental microbiology*, p. 3061–3065 vol. 62, no. 8.
- Morrissey JP dan Ousbon AE, 1999. Fungal Resistance to Plant Antibiotic as a Mechanism of Antibacterial. California.
- NCBI. 2000. *Bacillus Cerus*. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=genomeprj & cmd=ShowDetailView&TermToSearch = 19959](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=genomeprj&cmd=ShowDetailView&TermToSearch=19959). Diakses 30 April 2015.
- Pelczar, M dan Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta : UI-Press
- Pelczar, Michael J dan Chan, E.S.C. 1984. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi 1 Terjemahan Ratna Siri H, Teja Imas, S. Sutarmi dan Sri Lestari A*. Jakarta : UI-Press
- Pelczar, Michael J dan Chan, E.S.C. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi 2. Terjemahan Ratna Siri H, Teja Imas, S. Sutarmi dan Sri Lestari A*. Jakarta : UI-Press
- Pratiwi, Sylvia. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prihatiningtyas, Widyati dan M.S Hartati Wahyuingsih. 2005. *Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Prospect Of Endophyte As A Bioactive Compound Source*. *Phatogenesis. Mikrobiologi and molecular biologi*. Reviw 63, 708-729
- Radji, Maksum. 2005. Peranan bioteknologi Dan mikroba endofit Dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. II, No.3.
- Radji, Maksum. 2013, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC Press
- Rahmat Rukmana, Ir. 1995. *Temulawak: Tanaman rempah dan obat*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Robinson ,T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.

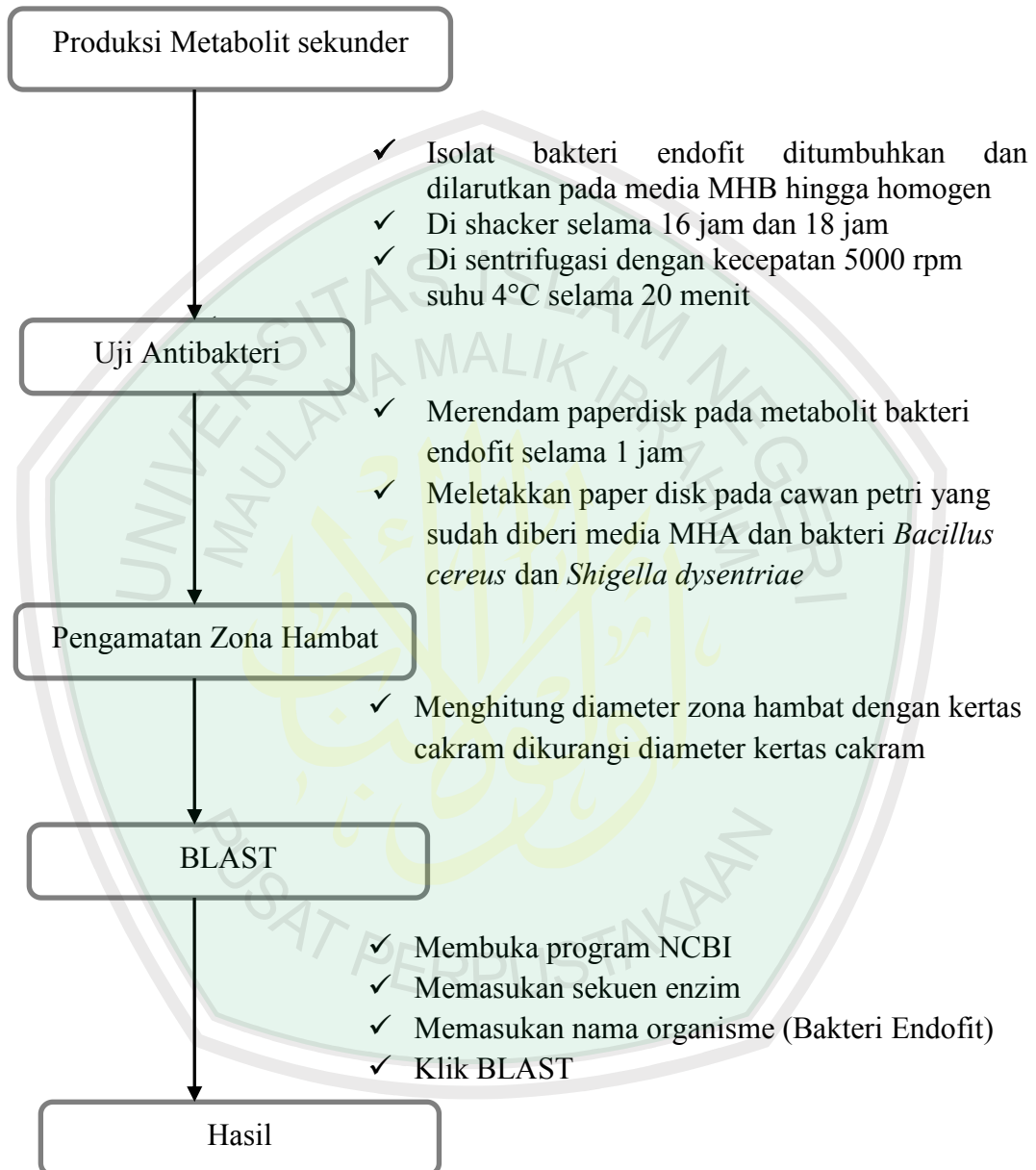
- Sadfi. N., M. Cherif, M. R. Hajlaoui, A. Boudabbous, R. Belanger. 2002. *Isolation and Partial Purification of Antifungal Metabolites Produced by Bacillus cereus*. Ann Microbiol., 52, 323 – 337.
- Sari, L. N. 2002. *Uji Pendahuluan Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Bioassay Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional di Taman Hutan Raya (Tahura) Rajo Lelo Propinsi Bengkulu*. Skripsi. Bengkulu: Universitas Bengkulu.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah ;Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'anVol VI*, Jakarta : Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah ;Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'anVol VII*.Jakarta : Lentera Hati.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. Berk Penel Hayati.; (13):85-90.
- Sohih, A. Mauludin. 2013. *Makalah Pengenalan Bioinformatika*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember
- Sumitra, O. 2003. *Memproduksi Minyak Atsiri Biji Pala*. Jakarta: Bagian Pengembangan Kurikulum Dirjend Dikdasmen Depdiknas RI.
- Supriyadi, 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia Penggunaan dan Khasiatnya*, Jakarta : Pustaka.
- Todar. K. 2009. *Bacillus and Related Endospore-forming Bacteria*. <http://www.textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>. diakses: 6 Maret 2015.
- Tortora, et al. 2001. *Microbiology in Introduction. International Edition* . New York Benjamin Cummings, Inc
- Utami, H astuti Sri. 2008. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- WHO, 1990 : Crompton DWT, Montresor A, Nesheim MC, penyunting. *Controlling disease due to helminth infections*. Geneva. h.10-13
- WHO, 2003 : Crompton DWT, Montresor A, Nesheim MC, Savioli L, penyunting. *Controlling disease due to helminth infections*. Geneva. h.22-33

- Wibowo, Mangunwardoyo. Deasywati. Usia, Tepy. 2012. Antimikrobia and Identification Of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal Of Basic & Applied Science*. Vol. 12. No. 01.
- Wijnands. L. M., J. B. Dufrenne, F. M van Leusden. *Bacillus cereus: characteristics, behaviour in the gastro-intestinal tract, and interaction with Caco-2 cells*. RIVM report 250912003.
- Wirawan, budi. 2009. *Potensi Bakteri Endofit Tanaman Obat Sebagai Penghasil Senyawa Antihiperlipidemia Melalui Aktivitas Lipase*. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Yoshiki Y, Kudo & Okobo K. 1998. Relationship Between Chemical Structure and Biological Activities of Triterpenoid Saponin from Soybean (Review) *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 62. 2291-2292.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Diagram Alir



## Lampiran 2. Komposisi media yang digunakan dalam penelitian

(Sumber: Maual Oxord)

### 1. Medium Nutrien Agar (NA)

- ✓ Beef extract 3 gram
- ✓ Bacto pepton 5 gram
- ✓ Agar 15 gram
- ✓ Aquadest 1000 ml

### 2. Medium Nutrien Broth (NB)

- ✓ Beef extract 3 gram
- ✓ Bacto pepton 5 gram
- ✓ Aquadest 1000 ml

### 3. Medium Mueller-Hinton Agar (MHA)

- ✓ Beef extract 300 gram
- ✓ Casamino acids 17.5 gram
- ✓ Starch 1.5 gram
- ✓ Agar 17 gram
- ✓ Aquadest 1000 ml

### 4. Medium Meller-Hinton Broth (MHB)

- ✓ Beef extract 300 gram
- ✓ Casamino acids 17.5 gram
- ✓ Starch 1.5 gram
- ✓ Aquadest 1000 ml

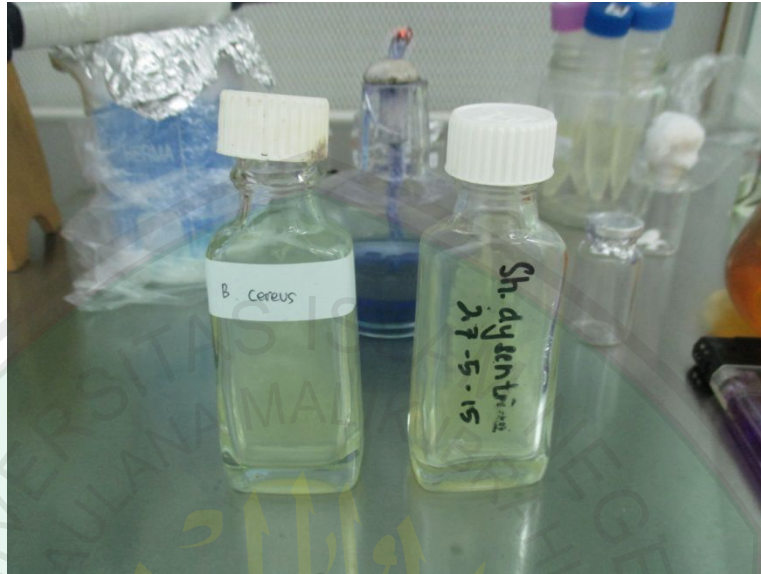
**Lampiran 3. Gambar Isolat Bakteri Endofit Rimpang Temulawak**



Isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan dan ditumbuhkan didalam media NA  
miring



#### Lampiran 4. Gambar Bakteri Uji



*Bacillus cereus* (kiri) dan *Shigella dysenteriae* (kanan) pada media NA miring

## Lampiran 5. Diameter Zona Hambat

Tabel 1. Diameter zona hambat pada uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Bacillus cereus* (dalam mm)

| Kode Isolat<br>Bakteri Endofit | <i>Bacillus cereus</i> |               |                | Total | Rata-rata | Keterangan |
|--------------------------------|------------------------|---------------|----------------|-------|-----------|------------|
|                                | Ulangan<br>I           | Ulangan<br>II | Ulangan<br>III |       |           |            |
| BT1                            | 11,44                  | 11,83         | 10,37          | 33,64 | 11,21     | Kuat       |
| BT2                            | 10,14                  | 11,52         | 10,43          | 32,09 | 10,70     | Kuat       |
| PD1                            | 12,66                  | 10,85         | 9,96           | 33,47 | 11,16     | Kuat       |
| PD2                            | 12,37                  | 13,66         | 13,17          | 39,2  | 13,07     | Kuat       |

Tabel 2. Diameter zona hambat pada uji aktifitas metabolit bakteri endofit terhadap bakteri *Shigella dysentriae* (dalam mm)

| Kode Isolat<br>Bakteri Endofit | <i>Shigella dysentriae</i> |               |                | Total | Rata-rata | Keterangan |
|--------------------------------|----------------------------|---------------|----------------|-------|-----------|------------|
|                                | Ulangan<br>I               | Ulangan<br>II | Ulangan<br>III |       |           |            |
| BT1                            | 10,43                      | 10,14         | 11,52          | 32,09 | 10,69     | Kuat       |
| BT2                            | 11,27                      | 12,38         | 15,57          | 39,22 | 13,07     | Kuat       |
| PD1                            | 10,82                      | 11,22         | 13,66          | 35,7  | 11,9      | Kuat       |
| PD2                            | 16,26                      | 12,59         | 15,48          | 44,33 | 14,78     | Kuat       |

Tabel 3. Diameter zona hambat pada kontrol

| Jenis Kontrol                      | <i>Bacillus cereus</i> | Keterangan |
|------------------------------------|------------------------|------------|
| Kontrol Positif<br>(Amoxcylin)     | 17,55                  | Kuat       |
| Kontrol Negatif<br>(Cakram Steril) | 0                      | Lemah      |

Tabel 4. Diameter zona hambat pada kontrol

| Jenis Kontrol                      | <i>Shigella dysenteriae</i> | Keterangan |
|------------------------------------|-----------------------------|------------|
| Kontrol Positif<br>(Amoxcylin)     | 24,46                       | Kuat       |
| Kontrol Negatif<br>(Cakram Steril) | 0                           | Lemah      |



## Lampiran 6. Alat-alat Penelitian



Gambar 1. Laminar Air Flow



Gambar 2. Inkubator



Gambar 3. Rotary Shacker



Gambar 4. Sentrigugasi



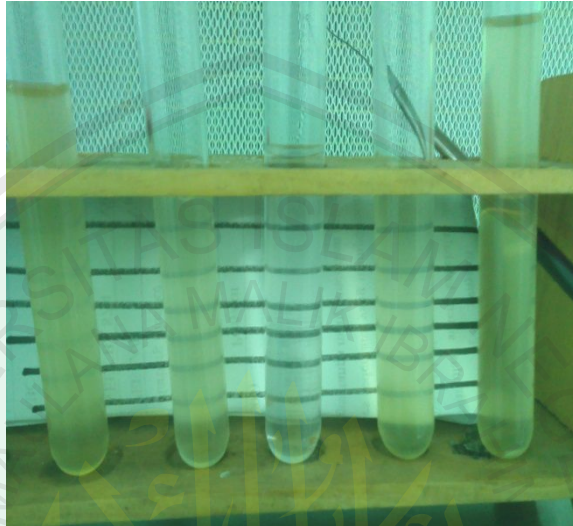
Gambar 5. Autoclaf



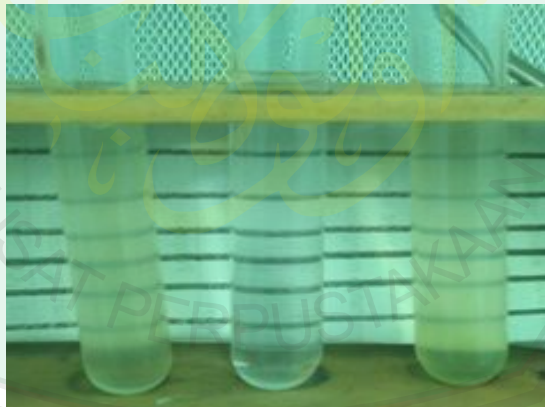
Gambar 6. Timbanagan

Gambar 7. Hot Plate

**Lampiran 7. Gambar Penyamaan Kekeruhan Mc Farland 0,5**



Bakteri endofit disamakan kekeruhannya dengan mc farland 0,5



Bakteri uji disamakan kekeruhannya dengan mc farland 0,5

## Lampiran 8. Hasil BLAST Protein dan Nukleutida

### 1. Hasil Blast Protein Enzim Squalene sintase dengan *Bacillus brevis*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Protein Homolog</b>                |
|----------------------------|--------------------|--------------|---------------------------------------|
| Squalene sintase [EC25121] | 28%                | 29%          | Amino Acid WP0126844.101.351          |
| Squalene sintase [EC25121] | 8%                 | 40%          | 3-oxoasil-sintase III (BAH44604.1)    |
| Squalene sintase [EC25121] | 16%                | 27%          | Naringenin-kolkon sintase (BAH4564.1) |

### 2. Hasil Blast Protein Enzim Squalene sintase dengan *Pseudomonas stuetzeri*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Protein Homolog</b>                         |
|----------------------------|--------------------|--------------|--|
| Squalene sintase [EC25121] | 30%                | 22%          | Asetil Koenzim A karboksilase (ABP80821)       |
| Squalene sintase [EC25121] | 43%                | 25%          | Kadmium translokasi P-tipe ATP-ase (ABP783701) |
| Squalene sintase [EC25121] | 45%                | 23%          | 3 oxoasil sintase III putatif (ABP804881)      |

### 3. Hasil Blast Protein Enzim Squalene sintase dengan *Actinomyces viscosus*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Protein Homolog</b>                            |
|----------------------------|--------------------|--------------|---|
| Squalene sintase [EC25121] | 26%                | 27%          | Hipotetikal protein HMPREF0059_02530 (EGE3764.1)  |
| Squalene sintase [EC25121] | 28%                | 23%          | Hipotetikal protein HMPREF0059_02262 (EGE36900.1) |

1. Hasil Blast Nukleotida Enzim Squalene Sintase spesies bakteri *Bacillus brevis*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Region Genome</b>        |
|----------------------------|--------------------|--------------|-----------------------------|
| Squalene sintase [EC25121] | 56%                | 87%          | 41835 to 41876 (AW674569.1) |

2. Hasil Blast Nukleotida Enzim Squalene Sintase spesies bakteri *Pseudomonas stuetzeri*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Protein Homolog</b>         |
|----------------------------|--------------------|--------------|--------------------------------|
| Squalene sintase [EC25121] | 20%                | 96%          | 235674 to 241985 (CP001245.1)  |
| Squalene sintase [EC25121] | 5%                 | 96%          | 3837831 to 387855 (CP000304.1) |

3. Hasil Blast Nukleotida Enzim Squalene Sintase spesies bakteri *Actinomyces viscosus*

| <b>Sampel</b>              | <b>Query cover</b> | <b>Ident</b> | <b>Region Genome</b>      |
|----------------------------|--------------------|--------------|---------------------------|
| Squalene sintase [EC25121] | 22%                | 88%          | 4831 to 4855 (AY957390.1) |

## Lampiran 9. Deskripsi KEGG Biosintesis Pathway Triterpenoid



### ENZYME: 2.5.1.21

[Help](#)

|                 |  |
|-----------------|--|
| Entry           | EC 2.5.1.21 Enzyme   |
| Name            | squalene synthase;<br>farnesyltransferase;<br>presqualene-diphosphate synthase;<br>presqualene synthase;<br>squalene synthetase;<br>farnesyl-diphosphate farnesyltransferase;<br>SQS   |
| Class           | Transferases;<br>Transferring alkyl or aryl groups, other than methyl groups;<br>Transferring alkyl or aryl groups, other than methyl groups (only subclass identified to date)<br><a href="#">BRITE hierarchy</a>   |
| Sysname         | (2E,6E)-farnesyl-diphosphate:(2E,6E)-farnesyl-diphosphate farnesyltransferase  |
| Reaction(IUBMB) | 2 (2E,6E)-farnesyl diphosphate + NAD(P)H + H+ = squalene + 2 diphosphate + NAD(P)+ (overall reaction) [RN:R06223];<br>(1a) 2 (2E,6E)-farnesyl diphosphate = diphosphate + presqualene diphosphate [RN:R00702];<br>(1b) presqualene diphosphate + NAD(P)H + H+ = squalene + diphosphate + NAD(P)+ [RN:R02872] |
| Reaction(KEGG)  | R00702 R02872 R06223<br><a href="#">Reaction</a>   |
| Substrate       | (2E,6E)-farnesyl diphosphate [CPD:C00448];<br>NADH [CPD:C00004];<br>NADPH [CPD:C00005];<br>H+ [CPD:C00080];<br>presqualene diphosphate [CPD:C03428]  |
| Product         | squalene [CPD:C00751];<br>diphosphate [CPD:C00013];<br>NAD+ [CPD:C00003];<br>NADP+ [CPD:C00006];<br>presqualene diphosphate [CPD:C03428]   |



KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp./Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ayu Fidya Ningtyas  
NIM : 10620052  
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi  
Judul Skripsi : Uji Potensi Antibakteri Dan Uji Keberadaan Enzim Squalene Sintase Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)  
Pembimbing I : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si

| No. | Tanggal          | Hal                                 | Tanda Tangan |
|-----|------------------|-------------------------------------|--------------|
| 1.  | 17 Februari 2015 | Pengajuan Judul Skripsi             | 1. <i>af</i> |
| 2.  | 20 Februari 2015 | Pengajuan Judul Skripsi Terakhir    | 2. <i>af</i> |
| 3.  | 18 Maret 2015    | Konsultasi BAB I, II dan III        | 3. <i>af</i> |
| 4.  | 23 Maret 2015    | Revisi BAB I, II dan III            | 4. <i>af</i> |
| 5.  | 25 Maret 2015    | Revisi BAB III                      | 5. <i>af</i> |
| 6.  | 11 Mei 2015      | Seminar Proposal                    | 6. <i>af</i> |
| 7.  | 19 Oktober 2014  | Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V | 7. <i>af</i> |
| 8.  | 29 Oktober 2015  | Revisi BAB IV dan V                 | 8. <i>af</i> |
| 9.  | 29 Oktober 2015  | Acc BAB I, II, III, IV dan V        | 9. <i>af</i> |

Malang, 20 November 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTRIAN AGAMA RI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp./Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

**Nama** : Ayu Fidya Ningtyas  
**NIM** : 10620052  
**Fakultas/ Jurusan** : Sains dan Teknologi/ Biologi  
**JudulSkripsi** : Uji Potensi Antibakteri Dan Uji Keberadaan Enzim Squalene Sintase Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)  
**Pembimbing II** : Umayyatus Syarifah, M.A

| No. | Tanggal         | Hal                                 | TandaTangan |
|-----|-----------------|-------------------------------------|-------------|
| 1.  | 17 Maret 2015   | Konsultasi AGAMA BAB I, II dan III  | 1. /        |
| 2.  | 6 April 2015    | Revisi AGAMA BAB I, II dan III      | 2. /        |
| 3.  | 13 April 2015   | Revisi AGAMA BAB I, II dan III      | 3. /        |
| 3   | 16 Oktober 2015 | Konsultasi AGAMA BAB IV dan V       | 4. /        |
| 4.  | 29 Oktober 2015 | RevisiAGAMA BAB I, II III, IV dan V | 5. /        |
| 5.  | 29 Oktober 2015 | ACC AGAMA BAB I, II III, IV dan V   | 6. /        |

Malang, November 2015

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



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