

SKRIPSI SARJANA FARMASI

**FERMENTASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
METABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT YANG
DIISOLASI DARI BATANG PADI (*Oryza sativa* L.)**



Oleh:

FUJI HAFIFAH
NIM : 1711013008

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2022

**FERMENTASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
METABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT YANG
DIISOLASI DARI BATANG PADI (*Oryza sativa* L.)**



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

PERNYATAAN ORISINIL DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fuji Hafifah

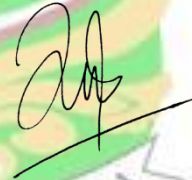
No Bp 1711013008

Judul Skripsi : Fermentasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder
Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Batang Padi (*Oryza
sativa* L.)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

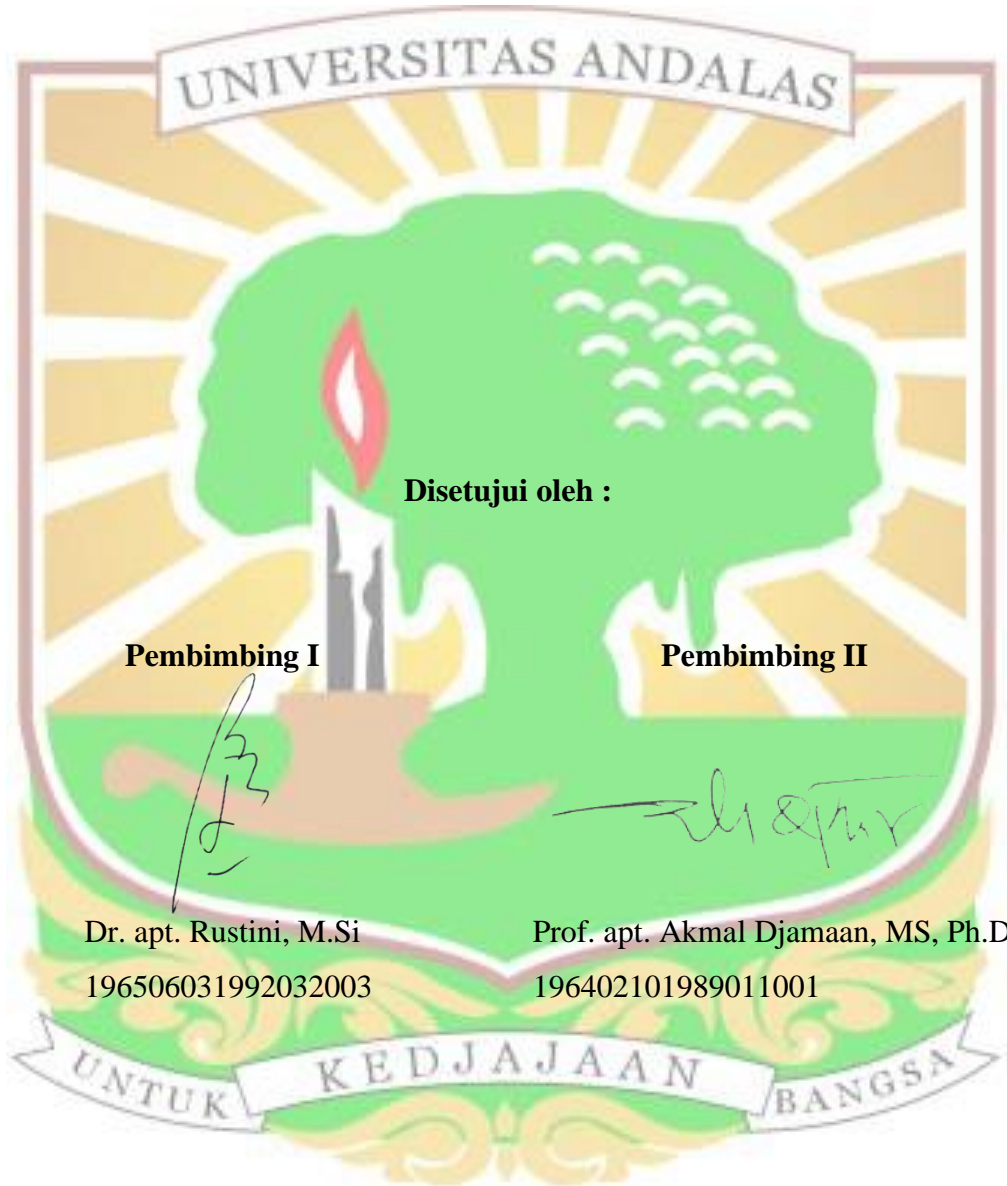
Padang, 10 November 2021



Fuji Hafifah

1711013008

**Skripsi ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian
Sarjana Farmasi Pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas
Padang**



Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Seminar Hasil Penelitian
Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Pada Tanggal : 20 Januari 2022



No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Prof. apt. Marlina, MS, Ph.D	Ketua	
2	apt. Fithriani Armin, S.Si, M.Si	Pembahas	
3	apt. Dira Hefni, S.Farm, M.Sc	Pembahas	
4	Dr. apt. Rustini, M.Si	Pembimbing 1	
5	Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D	Pembimbing 2	



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang tiada putus, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul "**Fermentasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Batang Padi (*Oryza sativa* L.)**". Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program Pendidikan Strata Satu (S-1) pada prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

Selama proses penelitian sampai akhirnya menyelesaikan penulisan skripsi ini, penulis tidak lepas dari do'a dan dukungan serta bimbingan yang diberikan oleh orang tua, keluarga, dosen dan teman-teman. Maka dalam kesempatan kali ini, perkenankan penulis untuk mengucapkan rasa hormat dan terimakasih kepada :

1. Kedua orang tua tercinta (Mukhlis dan Yurnailis) dan adik (Sarah Lathifah) yang selalu mendoakan dan memberi dukungan selama menempuh jenjang pendidikan.
2. Ibu Dr. apt. Rustini, M.Si sebagai pembimbing I dan Bapak Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D sebagai pembimbing II yang selalu membimbing, meluangkan waktu dan memberikan arahan dalam pelaksanaan penelitian, serta selalu sabar dan memahami setiap permasalahan yang terjadi selama proses penelitian berlangsung.
3. Ibu Dr. apt. Febriyenti, M.Si sebagai penasehat akademik yang telah memberikan nasehat terkait akademik kepada penulis selama masa perkuliahan.
4. Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh Civitas Akademik Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu pengetahuan, membantu penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Yeppeo ulala (Nak e, Ipeh, Yaya, Anik, dan Kakcu) yang telah mewarnai masa-masa perkuliahan.
6. Teman seperbimbingan (Dira, Mentari, Gia, Gina, dan Daus) yang telah

menemani, membantu dan menjadi tempat diskusi dalam mengerjakan penelitian hingga penulisan skripsi.

7. Teman-teman seperjuangan PHOSPHATE (Farmasi Angkatan 2017) yang telah membantu selama perkuliahan.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas do'a dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis. Kritik dan saran terhadap kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini sangat diharapkan untuk menambah kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan kedepannya.

Padang, 10 November 2021

Penulis



ABSTRAK

FERMENTASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI METABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BATANG PADI (*Oryza sativa* L.)



Oleh :

FUJI HAFIFAH

NIM : 1711013008

(Program Studi Sarjana Farmasi)

Bakteri endofit merupakan bakteri hidup dalam jaringan tumbuhan yang bersimbiosis mutualisme dengan inangnya diketahui bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang hampir sama terhadap inangnya. Isolat bakteri endofit diperoleh dari isolasi batang padi (*Oryza sativa* L.) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) dan melihat aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh sebanyak tujuh isolat bakteri endofit. Masing-masing isolat difermentasi dengan media molase pada konsentrasi 1%, 5% dan 10% menggunakan *incubator shaker* dengan waktu pencuplikan tiap 6 jam selama 54 jam. Hasil fermentasi disentrifus untuk memisahkan supernatan dan biomassa sel bakteri endofit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi *Kirby-Bauer* dan diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri diperoleh tiga isolat yang memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter daya hambat >10 mm yaitu isolat 1, isolat 4 dan isolat 7. Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan terhadap tiga isolat yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut, isolat 1 mengandung senyawa flavonoid dan polifenol, isolat 4 mengandung senyawa flavonoid, tannin dan saponin sedangkan pada isolat 7 mengandung senyawa flavonoid dan steroid. Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri diidentifikasi secara biokimia di Laboratorium Balai Veteriner Bukittinggi dengan hasil isolat 1 merupakan *Achromobacter* sp, isolat 4 merupakan *Bacillus* sp 1 dan isolat 7 merupakan *Bacillus* sp 3.

Kata Kunci : bakteri endofit, metabolit sekunder, *Oryza sativa* L., antibakteri

ABSTRACT

FERMENTATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTS OF SECONDARY BACTERIA ENDOPHYTIC ISOLATED FROM RICE STEM (*Oryza sativa* L.)



By :

FUJI HAFIFAH

Student ID Number : 1711013008

(Bachelor of Pharmacy)

Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues in mutualism symbiosis with their hosts, it is known that endophytic bacteria can produce secondary metabolites that are almost the same as their hosts. Endophytic bacterial isolates were obtained from the isolation of rice stalks (*Oryza sativa* L.) which had antibacterial activity. This study aimed to isolate endophytic bacteria from rice stalks (*Oryza sativa* L.) and to observe the antibacterial activity of secondary metabolites against the pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Based on the isolation results, seven were obtained. endophytic bacteria isolate. Each isolate was fermented with molasses media at concentrations of 1%, 5% and 10% using an incubator shaker with sampling times every 6 hours for 54 hours. The results of the fermentation were centrifuged to separate the supernatant and the endophytic bacterial cell biomass. The supernatant obtained was used to test the antibacterial activity using the *Kirby-Bauer* diffusion method and extracted using ethyl acetate as solvent. Based on the results of the antibacterial activity test, three isolates had antibacterial activity with an inhibitory diameter of >10 mm, namely isolate 1, isolate 4 and isolate 7. , isolate 4 contains flavonoid compounds, tannins and saponins while isolate 7 contains flavonoid compounds and steroids. Isolates that had antibacterial activity were identified biochemically at the Bukittinggi Veterinary Center Laboratory with the results that isolate 1 was *Achromobacter* sp, isolate 4 was *Bacillus* sp 1 and isolate 7 was *Bacillus* sp 3.

Keywords: endophytic bacteria, secondary metabolites, *Oryza sativa* L., antibacterial

DAFTAR ISI

JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Hipotesis Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tinjauan Tumbuhan Padi (<i>Oryza sativa</i> L.).....	5
2.1.1. Klasifikasi.....	5
2.1.2. Morfologi	6
2.1.3. Pertumbuhan Padi	8
2.1.4. Kandungan Kimia	9

2.1.5. Bioaktivitas.....	9
2.2. Bakteri Endofit	9
2.3. Bakteri Gram positif dan Gram negatif	12
2.3.1. Bakteri Gram Positif.....	12
2.3.2. Bakteri Gram Negatif.....	13
2.4. Antibiotik.....	13
2.4.1. Klasifikasi Antibiotik	13
2.4.2. Resistensi Antibiotik	16
2.5. Ekstraksi	17
2.6. Fermentasi	19
2.6.1. Media Fermentasi (Molase)	22
2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	23
2.7.1. Metode Dilusi.....	23
2.7.2. Metode Difusi.....	24
2.7.3 Metode Bioautografi.....	25
2.8. Kromatografi Lapis Tipis	25
2.9. Bakteri Uji	26
2.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i> (S.aureus).....	26
2.9.2. <i>Escherichia coli</i> (E.coli).....	27
2.9.3. <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	27
2.10. Kloramfenikol.....	28
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN	29
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.2. Alat dan Bahan	29

3.2.1. Alat.....	29
3.2.2. Bahan.....	29
3.2.3. Mikroba Uji.....	30
3.3. Prosedur Penelitian.....	30
3.3.1. Pengambilan Sampel.....	30
3.3.2. Identifikasi Sampel.....	30
3.3.3. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	30
3.3.4. Isolasi Bakteri Endofit.....	30
3.3.5. Pemurnian Isolat Bakteri Endofit.....	31
3.3.6. Pembuatan Media.....	31
3.3.4.1. Nutrient Agar.....	31
3.3.4.2. Pembuatan Media Fermentasi Isolat Bakteri Endofit.....	31
3.3.7. Variasi Sumber Inokulum Isolat Bakteri Endofit Pada Media Fermentasi.....	32
3.3.8. Pemisahan Biomassa dan Supernatan.....	33
3.3.9. Uji Aktivitas Antibakteri.....	33
3.3.9.1. Peremajaan Bakteri Uji.....	33
3.3.9.2. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	33
3.3.9.3. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	34
3.3.10. Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Isolat Bakteri Endofit.....	34
3.3.11. Profil Kromatografi Lapis Tipis.....	34
3.3.16. Pemeriksaan Metabolit Sekunder.....	35
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1. Isolasi Bakteri Endofit.....	37
4.2. Fermentasi Isolasi Bakteri Endofit.....	40

4.3.	Kurva pertumbuhan bakteri (OD)	42
4.4.	Uji Aktivitas Antibakteri	49
4.5.	Ekstraksi Metabolit Sekunder.....	53
4.6.	Kromatografi Lapis Tipis	53
4.7.	Pemeriksaan Metabolit Sekunder	55
4.8.	Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Secara Biokimia	57
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		60
5.1.	Kesimpulan.....	60
5.2.	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA		62
LAMPIRAN.....		69



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Morfologi Isolat Bakteri Endofit dari Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	38
Tabel 2. Hasil Biomassa Bakteri Endofit Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri.....	42
Tabel 3. Nilai Absorban Isolat 1.....	42
Tabel 4. Nilai OD isolat 1.....	44
Tabel 5. Nilai Absorban Isolat 4.....	44
Tabel 6. Nilai OD Isolat 4	46
Tabel 7. Nilai Absorban Isolat 7.....	46
Tabel 8. Nilai OD Isolat 7	48
Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	49
Tabel 10. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder.....	55
Tabel 11. Hasil Pemeriksaan Laboratorium Bakteriologi	57
Tabel 12. Hasil Uji Aktivitas Semua Isolat Bakteri Endofit Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	76
Tabel 13. Foto Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	77
Tabel 14. Nilai <i>Optical Density</i> (OD) Fermentasi Bakteri Endofit Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.).....	86
Tabel 15. Nilai Absorban Isolat 2.....	89
Tabel 16. Nilai OD Isolat 2... ..	90
Tabel 17. Nilai Absorban Isolat 3.....	91
Tabel 18. Nilai OD Isolat 3	92
Tabel 19. Nilai Absorban Isolat 5.....	95
Tabel 20. Nilai OD Isolat 5... ..	96
Tabel 21. Nilai Absorban Isolat 6.....	97
Tabel 22. Nilai OD Isolat 6... ..	98

DAFTAR GAMBAR

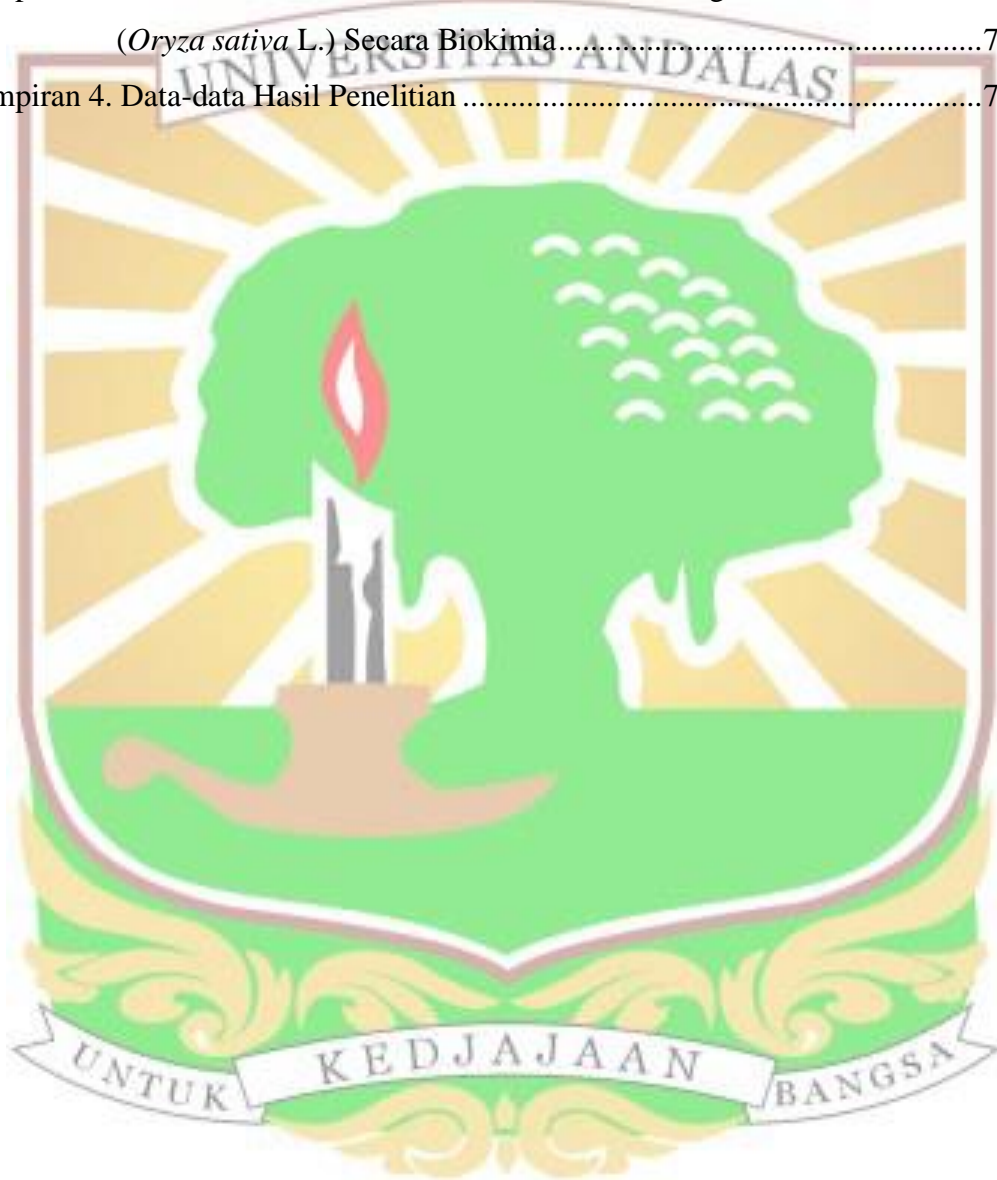
Gambar 1. Tanaman Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	5
Gambar 2. Daun Padi, Batang Padi, Akar Padi, Bunga Padi, Malai Padi, Gabah	7
Gambar 3. Air Bilasan Terakhir Batang Padi	37
Gambar 4. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Batang Padi	38
Gambar 5. Kurva Molase 1% Isolat 1	43
Gambar 6. Kurva Molase 5% Isolat 1	43
Gambar 7. Kurva Molase 10% Isolat 1	43
Gambar 8. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 1	44
Gambar 9. Kurva Molase 1% Isolat 4	45
Gambar 10. Kurva Molase 5% Isolat 4	45
Gambar 11. Kurva Molase 10% Isolat 4	45
Gambar 12. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 4	46
Gambar 13. Kurva Molase 1% Isolat 7	47
Gambar 14. Kurva Molase 5% Isolat 7	47
Gambar 15. Kurva Molase 10% Isolat 7	47
Gambar 16. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 7	48
Gambar 17. Diameter Zona Hambat Isolat 1 Molase 1% Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25157	51
Gambar 18. Diameter Zona Hambat Isolat 4 Molase 1% Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25157	52
Gambar 19. Diameter Zona Hambat Isolat 7 Molase 10% Terhadap MRSA ATCC 43300	52
Gambar 20. KLT Isolat 1 (A) 254 nm (B) 366 nm	54
Gambar 21. KLT Isolat 4 (A) 254 nm (B) 366 nm	54
Gambar 22. KLT Isolat 7 (A) 254 nm (B) 366 nm	54
Gambar 23. Kurva Molase 1% Isolat 2	89
Gambar 24. Kurva Molase 5% Isolat 2	89

Gambar 25. Kurva Molase 10% Isolat 2.....	90
Gambar 26. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 2.....	90
Gambar 27. Kurva Molase 1% Isolat 3.....	91
Gambar 28. Kurva Molase 5% Isolat 3.....	91
Gambar 29. Kurva Molase 10% Isolat 3.....	92
Gambar 30. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 3.....	92
Gambar 31. Kurva Molase 1% Isolat 5.....	95
Gambar 32. Kurva Molase 5% Isolat 5.....	95
Gambar 33. Kurva Molase 10% Isolat 5.....	96
Gambar 34. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 5.....	96
Gambar 35. Kurva Molase 1% Isolat 6.....	97
Gambar 36. Kurva Molase 5% Isolat 6.....	97
Gambar 37. Kurva Molase 10% Isolat 6.....	98
Gambar 38. Kurva Pertumbuhan Bakteri Isolat 6.....	98
Gambar 39. Biomassa setelah Fermentasi	101
Gambar 40. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 1	101
Gambar 41. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 4	102
Gambar 42. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 7	102



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	69
Lampiran 2. Hasil Identifikasi Sampel Tanaman.....	72
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Batang Padi (<i>Oryza sativa</i> L.) Secara Biokimia.....	73
Lampiran 4. Data-data Hasil Penelitian	76



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yang masuk dan berkembang biak di dalam tubuh. Penyakit infeksi juga salah satu penyakit yang banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi di Indonesia semakin meningkat pada setiap tahunnya akibat beberapa faktor penyebab, misalnya kesadaran masyarakat akan kebersihan yang kurang, kurangnya petugas kesehatan yang terlatih, jumlah penduduk yang padat, kurangnya pengetahuan dan implementasi dari sebagian besar masyarakat mengenai dasar infeksi (1). Peningkatan tersebut seiring dengan semakin meningkatnya kasus infeksi terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus, jamur dan juga bakteri. Salah satu penatalaksanaan bagi penderita penyakit infeksi adalah melalui pengobatan menggunakan antibiotik (2).

Antibiotik digunakan untuk mengobati penyakit infeksi namun munculnya resistensi antibiotik menyebabkan bakteri kebal terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik adalah ketidakmampuan antibiotik yang sebelumnya efektif menjadi tidak efektif akibat mutasi bakteri menjadi lebih kebal. Salah satu faktor penyebab meningkatnya kejadian resistensi antibiotik adalah penggunaan antibiotik yang tidak rasional (3). Antibiotik, obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri (4).

Banyaknya bakteri resisten antibiotik yang ditemukan, maka hal ini mendorong untuk menemukan sumber antibiotik alami yang baru. Salah satunya yang bersumber dari bakteri endofit (5). Bakteri endofit merupakan mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman inang tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman tersebut. Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman dapat memacu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Kemampuan bakteri endofit untuk melakukan penetrasi ke jaringan internal tanaman dapat disebabkan oleh adanya enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri endofit. Salah satu tanaman yang memiliki bakteri

endofit adalah padi (*Oryza sativa* L.) (6).

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu komoditas yang penting di Indonesia, komoditas padi menjadi penting karena produk yang dihasilkan dari komoditas ini menjadi bahan makanan pokok bagi masyarakat Indonesia. Selain sebagai makanan pokok, padi juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan diantaranya untuk mengobati infeksi. Hal ini dikarenakan bakteri endofit yang bersimbiosis dengan tanaman padi yang mempunyai potensi sebagai antibakteri. Pada bagian tanaman padi termasuk daun, akar, batang, bunga dan buah mengandung flavonoid. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa tanaman padi mengandung senyawa flavonoid, steroid, saponin dan tannin pada daun dan batang (7). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Rasidah (2019) pada identifikasi senyawa flavonoid dapat dikembangkan dalam pengobatan khususnya sebagai antibakteri dan pada ekstrak kulit padi mengandung banyak senyawa fenolik termasuk golongan flavonoid (8).

Untuk memproduksi suatu senyawa pada umumnya bakteri membutuhkan media fermentasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi dalam proses fermentasi adalah komposisi dari suatu media fermentasi. Komposisi dari media fermentasi adalah sumber karbon, pemilihan sumber karbon sebagai substrat harus efisien karena dapat menekan biaya. Salah satu media fermentasi yang memiliki sumber karbon yaitu molase (tetes tebu) yang merupakan limbah pengelolaan tebu yang mengandung gula yang cukup tinggi sehingga sangat potensial dimanfaatkan sebagai media fermentasi. Fermentasi molase (tetes tebu) untuk menghasilkan bioethanol menjadi salah satu upaya mengurangi jumlah limbah (9).

Pada penelitian yang dilakukan Ida (2016) bahwa bakteri endofit lebih banyak terdapat pada bagian batang dari pada bagian padi lainnya dikarenakan pada bagian batang banyak dikolonisasi bakteri endofit terutama pada bagian pembuluh xylem. Bakteri endofit mengolonisasi jaringan inang melalui celah atau luka yang terbentuk saat munculnya akar lateral atau zona pemanjangan akar serta diferensiasi akar dan selanjutnya menyebar ke bagian tanaman yang lain berupa batang dan daun (10).

Dari latar belakang di atas, penelitian tentang fermentasi dan uji aktivitas antibakteri

metabolit sekunder bakteri endofit yang diisolasi dari batang padi (*Oryza sativa* L.) masih belum banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Apabila diperoleh aktivitas antibakteri yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, maka metabolit bakteri endofit batang padi dapat dijadikan sebagai pilihan dalam penemuan antibiotik baru.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah substrat metabolit sekunder bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ?
2. Apa golongan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak bakteri endofit batang padi (*Oryza sativa* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri ?
3. Apa genus bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri pada batang padi (*Oryza sativa* L.) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Melihat aktivitas antibakteri dari substrat metabolit sekunder bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.)
2. Mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak bakteri endofit batang padi (*Oryza sativa* L.)
3. Untuk mengidentifikasi genus isolat bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.)

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Substrat metabolit sekunder bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) memiliki aktivitas antibakteri.
2. Ekstrak bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) mengandung senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh isolat bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) sebagai sumber antibakteri baru.
2. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai aktivitas antibakteri dari bakteri endofit pada batang padi (*Oryza sativa* L.)



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Padi (*Oryza sativa* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 1. Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) (Dokumen Pribadi)

Padi merupakan tanaman pangan berupa rumput berumpun yang menghasilkan beras sebagai sumber makanan yang utama di kebanyakan masyarakat Indonesia (11). Menurut Utama (2015), taksonomi tumbuhan padi dikelompokkan dalam klasifikasi (12) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Poales
Famili	: Graminae
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.

2.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman padi terdiri dari dua bagian utama yaitu, bagian vegetatif (fase pertumbuhan) dan bagian generatif (fase reproduktif). Bagian vegetatif tanaman padi antara lain daun, batang dan akar, sedangkan bagian generatif tanaman padi meliputi bunga, malai dan gabah (13).

a. Daun

Daun tanaman padi muncul pada buku-buku dengan susunan berseling dan berbentuk lanset (sempit memanjang) serta memiliki pelepah daun. Tiap buku tumbuh satu daun yang terdiri dari pelepah daun, helai daun (auricle), telinga daun dan lidah daun (13).

b. Batang

Batang tanaman padi berbentuk bulat, berongga dan beruas. Antara ruas yang satu dengan yang lain dipisahkan oleh satu buku. Ruas batang tanaman padi sangat pendek dan rapat pada awal pertumbuhan dan akan memanjang ketika memasuki fase produktif. Batang sekunder tumbuh pada bagian buku paling bawah dan batang sekunder akan menjadi batang tersier (14).

c. Akar

Sistem perakaran tanaman padi adalah serabut, yang sangat efektif dalam penyerapan hara akan tetapi peka terhadap kondisi tanah yang kering. Akar tanaman padi memiliki saluran aerenchym yang berfungsi untuk menyediakan oksigen di daerah perakaran ketika tanaman padi tergenang air. Saluran Aerenchym memiliki bentuk menyerupai pipa yang memanjang sampai ujung daun (13). Akar primer merupakan akar yang tumbuh dari kecambah benih dan akar seminal tumbuh di dekat buku (14).

d. Bunga

Bunga tanaman padi merupakan bunga serangkai yang membentuk malai. Tangkai bunga padi adalah ruas batang terakhir yang bercabang, pada cabang-cabang tersebut terdapat bunga yang terbentuk sebagai gabah (14).

e. Buah

Malai tanaman padi memiliki 8-10 buku yang menghasilkan cabang primer. Perbandingan jumlah bunga tiap malai dengan panjang malai merupakan kepadatan malai (14).

f. Habitat

Padi termasuk pada genus *Oryza* yang meliputi lebih kurang 25 spesies, 23 diantaranya spesies liar dan dua species lainnya yang dibudidayakan yaitu *Oryza sativa* L. di benua Asia, Amerika, Eropa dan *Oryza glaberrima* Steud. di benua Afrika. *Oryza sativa* L. berdasarkan sifat morfologi dan wilayah adaptasi agroekosistem, dibedakan menjadi tiga sub spesies yakni sub spesies Indica yang umumnya tersebar di negara- negara beriklim tropis, sub spesies Japonica yang tersebar di Negara beriklim subtropis seperti: Jepang, Korea, Eropa (Spanyol, Portugal, Perancis, Yunani), Afrika (Mesir), Australia, Amerika Utara dan Amerika Selatan, serta subspecies Javanica yang tersebar di Pulau Jawa, Bali dan Lombok (15).



Gambar 2. Daun Padi (1), Batang Padi (2), Akar Padi (3), Bunga Padi (4), Malai Padi (5), Gabah (6) (15)

2.1.3 Pertumbuhan Padi

Pertumbuhan padi terbagi pada tiga fase yaitu fase vegetatif (awal pertumbuhan hingga pembentukan malai), fase reproduktif (pembentukan malai hingga awal pembungaan) dan fase pematangan (pembungaan hingga pematangan gabah). Menurut Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Komisi Nasional Plasma Nutfah (2003), pertumbuhan tanaman padi dapat dirinci menjadi sembilan fase: perkecambahan, bibit, anakan, pemanjangan batang, bunting, pembungaan, pematangan susu, pengisian dan pematangan gabah (16).

Ada tiga stadia umum proses pertumbuhan tanaman padi dari awal penyemaian hingga pemanenan yaitu (16) :

1. Stadia vegetatif; dari perkecambahan sampai terbentuknya bulir. Pada varietas padi yang berumur pendek (120 hari) stadia ini lamanya sekitar 55 hari, sedangkan pada varietas padi berumur panjang (150 hari) lamanya sekitar 85 hari.
2. Stadia reproduktif; dari terbentuknya bulir sampai pembungaan. Pada varietas berumur pendek lamanya sekitar 35 hari, dan pada varietas berumur panjang sekitar 35 hari juga.
3. Stadia pembentukan gabah atau biji; dari pembungaan sampai pemasakan biji. Lamanya stadia sekitar 30 hari, baik untuk varietas padi berumur pendek maupun berumur panjang.

Padi termasuk tanaman daerah tropis. Dapat ditanam pada ketinggian hingga 1500 m dpl, dengan curah hujan 1500-2000 mm setiap tahunnya. Suhu yang baik bagi pertumbuhan tanaman padi berkisar antara 23-29° C serta pH tanah antara 4-7. Perubahan pola curah hujan dan kenaikan suhu udara sangat mempengaruhi produksi tanaman padi (17). Semakin tinggi ketinggian tempat maka semakin rendah suhu udara dan akan berpengaruh terhadap umur tanaman padi yang semakin panjang (18).

2.1.4 Kandungan kimia

Flavonoid ditemukan dalam semua tumbuhan hijau, di setiap takson tingkat keluarga bahkan di setiap spesies tumbuhan tingkat tinggi. Hampir semua bagian tanaman termasuk daun, akar, batang, bunga dan buah mengandung flavonoid (19). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa tanaman padi mengandung senyawa flavonoid, steroid, saponin serta tannin pada daun dan batang (7).

2.1.5 Bioaktivitas

Uji bioaktivitas untuk mengetahui potensi antibakteri seperti *Staphylococcus aureus* sangat penting karena *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia. Diperkirakan bakteri ini terdapat pada 20% orang dalam kesehatan yang tampaknya baik. Pada manusia, *Staphylococcus aureus* ditemukan antara lain terdapat dalam ingus dan sputum, kulit, pada luka, serta pada bisul dan jerawat. *Staphylococcus aureus* juga terdapat dalam feses dan rambut (7). *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi jaringan tumbuh manusia di mana saja. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler. Biasanya bakteri ini menyebabkan penyakit kulit seperti alergi dan eksim. Bakteri ini juga dapat menyebabkan terjadinya septikemia (keracunan darah karena aktivitas bakteri), endokarditis (radang endokardium jantung), meningitis (radang selaput otak), abses serebri (bisul pada otak besar), impetigo (pembengkakan pada epidermis kulit), sepsis puerpuralis (demam sehabis melahirkan), pneumonia (radang paru-paru), carbunkel (peradangan yang meluas dan mengenai folikel rambut) dan furunkel (bisul atau rongga berisi nanah) (20).

2.2 Bakteri endofit

Bakteri di definisikan sebagai mikroorganisme yang hidup mengkolonisasi bagian dalam tanaman dan dapat tinggal untuk seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan kerusakan atau penyakit bagi inangnya. Endofit ini

dapat dideteksi setelah mengalami proses sterilisasi permukaan. Ratusan spesies bakteri endofit dapat diisolasi dari satu jenis tanaman dalam kondisi lingkungan tempat tumbuh tanaman inang, jenis tanaman, dan umur tanaman akan berpengaruh terhadap populasi dan profil dari mikroba endofit di dalamnya (21).

Proses masuknya mikroba endofit ke dalam jaringan tanaman inang terjadi secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung ditandai dengan masuknya endofit ke dalam bagian internal jaringan pembuluh tanaman dan diturunkan melalui biji, sedangkan secara tidak langsung mikroba endofit hanya menginfeksi bagian eksternal yaitu pada bagian pembungaan. Senyawa antimikroba tidak hanya dapat dihasilkan oleh tumbuhan maupun hewan, akan tetapi dapat juga berasal dari mikroba. Salah satu yang berpotensi tersebut adalah bakteri endofit (22).

Bakteri endofit berperan untuk stimulasi pertumbuhan tumbuhan melalui sekresi regulator hormon pertumbuhan seperti asam indol-asetat, mensuplai vitamin esensial yang dibutuhkan tumbuhan, fiksasi nitrogen dan induksi ketahanan terhadap patogen tanaman (23). Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (24). Sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur. Apabila endofit yang diisolasi dari suatu bagian tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi (25).

Kolonisasi bakteri endofit merupakan tahapan penting pada simbiosis antara bakteri endofit dan tanaman inang. Secara umum bakteri endofit berasal dari komunitas bakteri epifit pada rhizosphere dan phylloplane atau endofit yang terbawa benih atau bagian tanaman yang ditanam. Untuk memasuki jaringan tanaman, bakteri endofit secara aktif melakukan penetrasi jaringan menggunakan enzim hidrolitik seperti selulase dan pektinase, atau masuk melalui luka terbuka pada tanaman (26).

Bakteri endofit dapat memproduksi senyawa yang berfungsi untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme yang bersifat patogen, sedangkan jaringan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi mikroba endofit agar tetap hidup. Endofit dapat mendorong pertumbuhan tanaman melalui pembentukan hormon pengatur tanaman dengan memodifikasi produksi hormon endogen dan meningkatkan ketersediaan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor. Bakteri endofit masuk ke jaringan tanaman melalui biji atau menembus jaringan di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka. Metabolit yang dapat diproduksi endofit meliputi alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, kuinon, turunan isocoumarin, fenol, asam fenolat, peptide, dan lainnya yang berfungsi untuk membantu aktivitas biologis (26). Bakteri endofit dapat menghambat perkembangan penyakit karena menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat racun bagi mikroba patogen pada tumbuhan. Bakteri endofit juga mempunyai kemampuan memproduksi toksin yang dihasilkan mikroba patogen. Adanya bakteri endofit dapat berperan sebagai '*disease-suppressive soils*'. Contoh bakteri *Bacillus mojavensis* yang dipatenkan sebagai bakteri endofit yang memiliki peran dalam melindungi tumbuhan dari patogen penyebab penyakit. Selain itu, bakteri endofit berperan sebagai pengendali hayati. Genus *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Burkholderia* menghasilkan senyawa *alpha* dan *beta-glucoside* yang memiliki aktivitas antijamur yang menghambat pertumbuhan *Botrytis cineret* (26).

Beragam golongan bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari berbagai tanaman di sejumlah negara. Di Thailand dilaporkan ditemukan 61 taksa endofit pada tanaman pisang (*Musa sp.*), 96 taksa endofit pada bambu (*Bambusa sp.*) (27). 39 taksa endofit pada tanaman palm dan 5 taksa endofit pada tanaman anggrek. Di Panama, pada dua jenis tanaman hutan tropika yaitu *Heisteria concinna* (*Olacaceae*) dan *Ouratea lucens* (*Ochanaceae*) ditemukan 347 taksa mikrobial endofit dan 7 taksa endofit ditemukan pada tanaman kakao. Sedangkan di Indonesia, Irawati (2005) melaporkan menemukan mikrobial endofit pada tanaman vanili 4 sehat. Sulistyowati, Deci dan Gendall (2005) mengisolasi endofit dari jaringan batang jeruk. Sedangkan Budi, Mariana dan Rachmadi (2005) menemukan mikrobial endofit pada jaringan

batang dan akar padi rawa pasang surut.

2.3 Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

2.3.1 Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna ungu di bawah mikroskop, Perbedaan keduanya didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel yang berbeda dan dapat dinyatakan oleh prosedur pewarnaan gram, ditemukan oleh ilmuwan Denmark bernama Christian gram dan merupakan prosedur penting dalam klasifikasi bakteri (28).

- Famili Micrococaceae Genus Staphylococcus sp.
 - a. Morfologi Gram positif, bentuk bulat, coccus bergrombol, yang tidak teratur seperti anggur, oksidase negatif, katalase positif, sifat hemolisa Staphylococcus aureus positif, MSA (+), koagulase (+), bersifat resisten, Staphylococcus epidermidis, MSA(-), koagulase(-), bersifat sensitif, Staphylococcus saprophyticus, MSA (+), koagulase (-), dan bersifat resisten (28).
 - b. Patogenitas Staphylococcus sp. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, Staphylococcus yang patogen sering menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan beberapa enzim dan toksin yang stabil terhadap panas (28).
 - c. Tipe Staphylococcus yang berkaitan dengan medis adalah, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus aureus, bersifat koagulase positif, merupakan patogen utama pada manusia, Staphylococcus koagulase negatif merupakan flora normal manusia dan kadangkala menyebabkan infeksi, misalnya Staphylococcus epidermidis (28).

2.3.2 Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram negatif merupakan bakteri yang tidak mampu mempertahankan warna kristal violet pada dinding selnya saat perwarnaan gram dilakukan, pewarnaan gram sangat penting untuk mengetahui klasifikasi bakteri dan mengetahui identifikasinya (29).

2.4 Antibiotik

2.4.1 Klasifikasi Antibiotik

Antibiotik adalah zat-zat kimia oleh yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematkan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini, yang dibuat secara semi-sintesis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri (31).

Golongan Antibiotik Ada beberapa besar golongan-golongan antibiotik, yaitu :

- Golongan penisilin
Penisilin diklasifikasikan sebagai golongan β -laktam karena cincin laktam merakayang unik. Mereka memiliki ciri-ciri kimiawi, mekanisme kerja, farmakologi, efek klinis, dan karakteristik imunologi yang mirip dengan sefalosporin, monobactam, carbapenem, dan β -laktamase inhibitor, yang juga merupakan senyawa β -laktam (33).
- Golongan Sefalosporin dan Sefamisin
Sefalosporin serupa dengan penisilin, tetapi lebih stabil terhadap banyak β -laktamase bakteri sehingga memiliki aktivitas spektrum yang lebih luas. Akan tetapi, galur E coli dan spesies Klisiella mengekspresikan β -laktamase berspektrum luas, yang dapat dihidrolisis sebagian besar sefalosporin, saat ini menjadi masalah. Sefalosporin tidak aktif terhadap enterococcus L monocytogenes (33).

- **Golongan Kloramfenikol**

Kloramfenikol merupakan penghambat sintesis protein, dan golongan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, baik anaerob maupun aerob (33).
- **Golongan Tetrasiklin**

Tetrasiklin merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang menghambat sintesis protein. Tetrasiklin bekerja aktif terhadap banyak bakteri gram positif dan gram negatif, termasuk bakteri anaerob, riketsia, klamidia, mikoplasma, dan bentuk L, dan terhadap protozoa (33).
- **Golongan Makrolida**

Eritromisin merupakan bentuk prototype dari obat golongan makrolida yang disintesis dari *S. erythreus*. Eritromisin efektif terhadap bakteri gram positif terutama pneumokokus, streptokokus, stafilokokus, dan korynebakterium. Aktivitas antibakterial eritromisin bersifat bakterisida dan meningkat pada pH basa (33).
- **Golongan Aminoglikosida**

Golongan aminoglikosida antara lain: streptomisin, neomisin, kanamisin, tobramisin, sisomisin, netilmisin, dan lain-lain. Golongan aminoglikosida pada umumnya digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri gram negatif enterik, terutama pada bakteremia dan sepsis, dalam kombinasi dengan vankomisin atau penisilin untuk mengobati endokarditis, dan pengobatan tuberkulosis (33).
- **Golongan Sulfonamida dan Trimetoprin** merupakan obat yang mekanismenya menghambat sintesis asam folat bakteri yang akhirnya berujung kepada tidak terbentuknya basa purin dan DNA pada bakteri. Kombinasi dari trimetoprin dan sulfametoksazol merupakan pengobatan yang sangat efektif terhadap pneumonia akibat *P. jiroveci*, sigelosis, infeksi salmonella sistemik, infeksi saluran kemih, prostatitis, dan beberapa infeksi mikobakterium non tuberkulosis (33).

- Golongan Florokuinolon

Florokuin termasuk di dalamnya asam nalidiksat, siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, levofloksasin, dan lain-lain. Golongan fluorokuinolon aktif terhadap berbagaimacam bakteri gram negatif dan gram positif. Golongan fluorokuinolon efektif mengobati infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh pseudomonas. Golongan ini juga aktif mengobati diare yang disebabkan oleh shigella, salmonella, E.coli, dan Campilobacter (33).

- Golongan Klindamisin

Klindamisin merupakan turunan linkomisin yang tersubstitusi klorin, suatu antibiotik yang dihasilkan oleh Streptomyces lincolnensis. Klindamisin seperti eritromisin, menghambat sintesis protein dengan mengganggu pembentukan kompleks inisiasi serta reaksi translokasi aminoasil (33).

Antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu (34) :

1. Menghambat sintesis atau merusak dinding sel bakteri, seperti betalaktam (Penisilin, Sefalosporin, Monobaktam, Karbapenem, Inhibitor Beta-Laktamase), Basitrasin, dan Vankomisin.
2. Memodifikasi atau menghambat sintesis protein, misalnya Aminoglikosida, Kloramfenikol, Tetrasiklin, Makrolida (Eritromisin, Azitromisin, Klaritromisin), Klindamisin, Mupirosin, dan Spektinomisin.
3. Menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat, misalnya Trimetoprin dan Sulfonamid.
4. Mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat, misalnya Kuinolon, Nitrofurantoin.

Antibiotik Berdasarkan daya hambatnya yaitu (33):

1. *Time Dependent Killing*

Pada pola ini antimikroba akan menghasilkan daya bunuh maksimal jika

kadarnya dipertahankan cukup lama di atas Kadar Hambat Minimal (KHM) mikroba. Kadar yang sangat tinggi tidak meningkatkan efektivitas obat untuk mematikan mikroba. Contohnya adalah penisilin, sefalosporin, linezolid, dan eritromisin.

2. *Concentration Dependent Killing*

Pada pola ini antimikroba akan menghasilkan daya bunuh maksimal jika kadarnya relatif tinggi atau dalam dosis besar, tapi tidak perlu mempertahankan kadar tinggi ini dalam waktu lama. Contohnya adalah aminoglikosida, fluokuinolon, dan ketolid.

2.4.2 Resistensi Antibiotik

Resisten adalah keadaan dimana akan terjadi pengurangan dari suatu khasiat antibiotik terhadap mikroorganisme tertentu. Resisten terjadi dikarenakan adanya faktor yang sudah ada pada mikroorganisme sebelumnya. Resistensi dapat terjadi pada beberapa obat merupakan suatu proses alamiah karena organisme selalu melakukan pengembangan dan toleransi terhadap lingkungan baru (35). Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan ancaman bagi kesehatan baik di Indonesia maupun di dunia, hal ini terjadi karena penggunaan antibiotik yang relatif tinggi. Resistensi ini selain berdampak pada morbiditas dan mortalitas, juga memberi dampak negatif terhadap ekonomi dan sosial yang sangat tinggi. Pada awalnya resistensi terjadi di tingkat rumah sakit, tetapi lambat laun juga berkembang di lingkungan masyarakat, khususnya *Streptococcus pneumoniae* (SP), *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (36).

Penggunaan antibiotik yang kurang tepat, terlalu singkat, dosis yang tidak efisien dan diagnosa yang salah merupakan faktor pendukung yang dapat 11 menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. Pemberian pemahaman terhadap pasien untuk menggunakan antibiotik yang baik dapat mengurangi kejadian resistensi agar tidak semua pasien menggunakan antibiotik disetiap penyakit yang dialaminya. Pasien yang memiliki pemahaman yang salah terhadap penggunaan antibiotik bahwa

semua penyakit dapat diberikan pengobatan antibiotik meskipun penyakit yang diderita disebabkan oleh virus contohnya, batuk flu dan demam (35). Beberapa faktor yang menunjang kejadian resisten ini, adalah :

- a) Pemakaian antibiotik yang bebas oleh masyarakat (tanpa resep)
- b) Pemakaian antibiotika oleh dokter yang tanpa pedoman dan tanpa kontrol
- c) Dosis yang tidak tepat
- d) Lama pemberian yang kurang tepat
- e) Ada penyakit lain yang menurunkan imunitas, serta kelainan-kelainan yang merupakan presdiposisi untuk typhoid (36).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian komponen aktif dari suatu tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang cocok. Metode yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi antara lain maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi, digesti dan infus. Pemilihan metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (37).

Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan dalam berbagai penelitian adalah:

A. Cara panas

- Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (38).
- Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarungselulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu refluks.

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (39).

B. Cara dingin

- Maserasi adalah proses perendaman menggunakan pelarut untuk menyaring simplisia dengan beberapa kali pengadukan.

Ada 2 macam maserasi yaitu :

1. Maserasi kinetik : Apabila pada saat maserasi dilakukan pengadukan terus menerus .
2. Remaserasi : Menambahkan pelarut setelah maserat pertama disaring dan seterusnya (39).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Maserasi juga merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (suhu kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Kerugian utama dari metode maserasi adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan kemungkinan besar beberapa senyawa hilang (39).

- Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru hingga semua pelarut tertarik dengan sempurna umunya dilakukan pada suhu kamar. Tahapan perkolasi penetasan pelarut serta penampungan perkolatnya hingga didapat volume 1 sampai 5 kali jumlah bahan. Kelebihan metode perkolasi ini adalah tidak diperlukan proses tambahan

untuk memisahkan padatan dengan ekstrak sedangkan kelemahannya adalah jumlah pelarut yang diperlukan cukup banyak dan prosesnya juga memerlukan waktu yang lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut (40).

2.6 Fermentasi

Kata fermentasi berasal dari Bahasa latin yaitu *fervere* yang berarti mendidih. Kata ini digunakan untuk menyebutkan adanya aktifitas yeast pada ekstrak buah dan larutan malt serta biji-bijian. Peristiwa tersebut terjadi akibat terbentuknya gelembung karbon dioksida oleh proses katabolisme dari gula dalam ekstrak. Secara biokimia fermentasi diartikan sebagai pembentukan energi melalui katabolisme senyawa organik. Aplikasinya dalam industry modern, fermentasi diartikan sebagai suatu proses untuk mengubah bahan dasar tertentu menjadi suatu produk oleh masa sel mikroorganisme (41).

Proses fermentasi dapat dikelompokkan menjadi lima tipe, yaitu :

a. Fermentasi untuk Produksi Biomassa

Fermentasi untuk produksi biomassa dikelompokkan atas dua proses, yaitu produksi sel ragi untuk roti dan produksi bakteri untuk makanan atau hewan (protein sel tunggal). Saat ini sel mikrobial non-inokulum sudah mulai dikembangkan, yaitu bakteri probiotik. Bakteri probiotik dikemas dalam kapsul atau kaplet. Selain itu juga dicampurkan pada substrat seperti susu instan, ataupun ditumbuhkan pada media susu sehingga dapat dikonsumsi seperti meminum produk fermentasi (41).

b. Fermentasi untuk Produksi Enzim

Enzim dapat diperoleh secara komersial dari sel tumbuhan, hewan, atau mikroorganisme. Produksi enzim oleh mikroorganisme dikendalikan dengan ketat agar diperoleh produksi enzim dalam jumlah yang cukup sehingga sistem kendalinya dapat dimanipulasi. Sistem kendali induksi dilakukan dengan cara memasukkan suatu inducer dalam medium, sementara represi umpan balik dapat dihindari melalui teknik mutasi atau seleksi. Contoh proses ini adalah produksi protease, amylase, pektinase, aminoglukosidase, lactase,

glukosa oksidase dan glukosa isomerase (41).

c. Fermentasi untuk Produksi Metabolit

Pertumbuhan mikroorganisme dalam biakan dimulai saat inokulasi dimulai pada fase lag yaitu masa penyesuaian (adaptasi) yang kemudian dilanjutkan oleh fase logaritmik (fase eksponensial) yaitu masa pertumbuhan dengan laju eksponensial atau pertumbuhan vegetative. Setelah itu diikuti dengan fase stasioner dimana pertumbuhan vegetative terhenti dan kemudian memasuki fase kematian (41).

Selama fase pertumbuhan logaritmik yang diproduksi hanya senyawa esensial bagi pertumbuhan sel antara asam amino, karbohidrat, protein, nukleotida dan lain-lain. Semua senyawa ini disebut dengan metabolit primer dan fase pembentukannya disebut tropofase yang ekuivalen dengan fase logaritmik. Pada umumnya, mikroorganisme tipe liar dapat mensintesis metabolit primer hanya untuk mencukupi kebutuhannya. Kemudian para ahli mikrobiologi memodifikasi tipe liar dengan berbagai cara dan menjadikannya sebagai mikroorganisme tipe jinak sehingga pada kondisi biakan tertentu dapat memperbaiki produktifitas metabolit tersebut (41).

Selama fase stasioner, beberapa biakan mikroorganisme dapat mensintesis senyawa tertentu yang dikenal dengan metabolit sekunder, sedangkan fase pembentukannya disebut dengan idiofase yang ekuivalen dengan fase stasioner. Metabolism sekunder juga dapat terjadi dalam biakan konnyu pada pertumbuhan lambat, karena itu pertumbuhan lambat atau tidak ada pertumbuhan sel merupakan sifat dari metabolisme sekunder (41).

d. Fermentasi untuk Produksi Rekombinan

Berkembangnya teknologi DNA rekombinan sangat membantu proses fermentasi untuk menghasilkan suatu produk tertentu. Teknik DNA rekombinan dapat digunakan untuk mengubah urutan nukleotida suatu gen sehingga dapat mengubah struktur protein dan mengidentifikasi segemen

yang diperlukan untuk mengontrol gen atau produk. Mikroorganisme yang dipakai untuk fermentasi sering tumbuh lambat dan dapat menimbun banyak produk akhir. Waktu proses yang dibutuhkan antara 2-4 hari. Selama waktu fermentasi dapat terkena resiko dicemari oleh bakteri asing, atau oleh bakteri yang telah bermutasi (41).

e. Fermentasi untuk Modifikasi Senyawa (Transformasi)

Sel mikroorganisme dapat mengkonversi senyawa organik tertentu menjadi senyawa baru yang mempunyai struktur inti yang sama tetapi mempunyai nilai ekonomis yang lebih baik. Proses biotransformasi mempunyai keuntungan tertentu, yaitu reaksinya spesifik, berlangsung pada suhu rendah dan produksinya lebih tinggi (41).

Proses fermentasi terdapat 6 komponen dasar yang harus diperhatikan, yaitu (42) :

1. Formulasi media yang digunakan sebagai proses perkecambahan mikroba sejak persiapan inokulum sampai tahap fermentasi untuk produksi.
2. Sterilisasi media fermentasi dan peralatan lainnya.
3. Produksi biakan aktif dan murni dalam jumlah yang cukup untuk ditumbuhkan dalam medium produksi.
4. Pertumbuhan organisme dalam media produksi dalam kondisi optimal untuk pembentukan produk
5. Ekstraksi produk dan pemurniannya.
6. Penanganan limbah produksi.

Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dalam fermentasi seperti :

1. Media fermentasi Kriteria pemilihan media fermentasi yaitu : menghasilkan biomassa yang maksimum dari setiap gram substrat yang digunakan, laju pembentukan produk yang tinggi, menghasilkan produk yang tidak diinginkan dalam jumlah yang rendah, murah dan tersedia sepanjang tahun serta masalah yang ditimbulkan dalam proses fermentasi minimal (43).

2. Inokulum Inokulum merupakan biakan bakteri yang dimasukkan ke dalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi. Beberapa kriteria inokulum yang baik antara lain : berada dalam keadaan aktif sehingga mempersingkat fase adaptasi, tersedia cukup sehingga dapat menghasilkan inokulum dalam takaran yang optimum, bebas kontaminasi dan dapat mempertahankan kemampuannya dalam membentuk produk. Konsentrasi inokulum terbaik dalam fermentasi berkisar 3%-10% (43).
3. Sterilisasi Proses fermentasi yang tidak steril mengakibatkan terjadinya kontaminasi sehingga produk yang dihasilkan menjadi rendah. Proses sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan panas bertekanan (autoklaf) untuk alat 21 yang tahan panas dan untuk alat yang tidak tahan panas dapat menggunakan desinfektan (43).
4. Aerasi dan agitasi Pada proses fermentasi, campuran mikroorganisme, nutrisi dan oksigen merupakan hal yang penting. Untuk memperoleh hal tersebut, diperlukan agitasi dan aerasi secara terus menerus selama proses fermentasi (43).
5. Suhu fermentasi berkaitan dengan aktivitas enzim yang dimiliki oleh bakteri sesuai dengan rentang suhu pertumbuhannya. Berdasarkan suhu pertumbuhan, bakteri dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu : golongan psikrofil yang tumbuh pada suhu 10-20°C, golongan mesofil yang tumbuh pada suhu 20-45°C dan golongan termofil yang tumbuh pada suhu 50-60°C (44).
6. pH merupakan salah satu faktor yang berperan dalam proses fermentasi karena pH berkaitan dengan enzim. Bakteri dapat digolongkan menjadi tiga kelompok berdasarkan pH antara lain : Asidofil yang hidup pada pH asam, neutrofil yang hidup pada pH netral dan alkalofil yang hidup pada pH basa (44).

2.6.1 Media Fermentasi (Molase)

Media yang digunakan untuk fermentasi harus dapat digunakan oleh sel untuk pertumbuhan optimal sel dan pembentukan produk. Selain itu juga harus

dapat digunakan untuk pemeliharaan sel dan untuk biosintesa. Oleh sebab itu dalam formulasi media, komponen-komponen yang harus dipenuhi antara lain (sumber utama), sumber energi (sumber matahari), sumber karbon (glukosa, laktosa, molase), sumber nitrogen (inorganik: garam ammonia (NH_4Cl) atau nitrat dan organik: asam amino, protein, urea), mineral (magnesium, sulfur, kalium, fosfor, kalsium), vitamin dan prekursor yang berfungsi mempercepat terbentuknya produk. Syarat-syarat media fermentasi yang digunakan harus mudah didapat, jumlahnya besar, harganya murah, bila diperlukan ada penggantinya. Media fermentasi yang umum digunakan adalah molase, jerami, dedak, kulit kopi, kulit coklat, kentang, jagung dan lain-lain. Molase sebagai media fermentasi merupakan hasil sampingan dari industri gula. Molase secara umum mengandung biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor dan sulfur. Mengandung 62% gula yang terdiri dari sukrosa 32%, glukosa 14%, dan fruktosa 16% (45).

2.7 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang sering digunakan untuk mendeteksi aktivitas antimikroba dibedakan menjadi tiga yaitu metode dilusi, metode difusi dan metode bioautografi. Metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) atau MIC (Minimum Inhibitory Concentration) sedangkan metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba (46).

2.7.1 Metode Dilusi

Menurut Pratiwi (2008), metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu:

1. Metode dilusi cair (broth dilution)

Metode ini mengukur MIC (Minimum Inhibitory Concentration) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan MBC (Minimum Bactericidal

Concentration) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji 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 19 diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

2. Metode dilusi padat (solid dilution)

Metode ini sama dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.7.2 Metode Difusi

Ditch-plate technique merupakan salah satu metode difusi dimana sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji, sehingga agen antimikroba akan berdifusi pada medium agar tersebut. Area jernih pada permukaan medium agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba. Kekurangan dari metode difusi yaitu tidak dapat menentukan nilai kadar hambat minimum (KHM) agen antimikroba terhadap mikroorganisme uji (46). Metode difusi dibagi menjadi 2 yaitu:

1. Cara Kirby Bauer

Metode *Kirby Bauer* juga sering disebut dengan metode disc diffusion. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji, sehingga agen antimikroba akan berdifusi pada medium agar tersebut. Keunggulan metode ini yaitu lebih fleksibel dalam penentuan agen antimikroba dalam medium (47).

2. Cara sumuran

Pada metode ini medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji dibuat sumuran dengan silinder poselen berukuran 8mm-10mm, kemudian pada sumuran tersebut dimasukkan agen antimikroba. Agen antimikroba akan berdifusi ke dalam medium agar sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme (47).

2.7.3 Metode Bioautografi

Prosedur dalam metode bioautografi mirip dengan metode difusi agar. Perbedaannya adalah pada metode bioautografi senyawa uji berdifusi dari kertas kromatografi ke medium agar yang diinokulasi mikroorganisme uji. Metode bioautografi dibagi lagi menjadi bioautografi kontak, imersi, dan langsung (47).

Metode bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus, sehingga mendekati metode separasi dengan uji biologis. Keunggulan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM (48).

2.8 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah metode pemisahan senyawa yang terdapat dalam sampel

yang terdistribusi dalam dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak dapat berupa cairan ataupun gas. Sementara fase diam dapat berupa padatan atau cairan yang diletakkan di atas padatan atau gel (49). Kromatografi lapis tipis merupakan metode kromatografi yang berlandaskan pada prinsip penyerapan (absorpsi) pada fase gerak dan fase diam. Pemisahan terjadi disebabkan adanya perbedaan kepolaran antara komponen senyawa dalam campuran dengan fase gerak dan fase diam. Perbedaan kepolaran ini akan menyebabkan pemisahan yang dapat diamati melalui bercak atau noda yang terbentuk dengan nilai Rf yang berbeda tergantung kecepatan migrasi senyawa dalam fase diam. Rf merupakan jarak yang ditempuh noda terhadap Panjang lintasan yang melalui fase gerak. Dimana nilai Rf inilah yang akan digunakan dalam identifikasi senyawa hasil pemisahan menggunakan KLT (50).

2.9 Bakteri Uji

2.9.1 *Staphylococcus aureus*

Merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri tumbuh pada suhu optimum 37°C. Tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan berwarna abu-abu sampai kuning keemasan berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (51).

Bakteri *S. aureus* adalah salah satu bakteri patogen pada manusia. *S. aureus* menyebabkan penyakit seperti keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan. *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin (52). Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis *S.*

aureus juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (53).

Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (52). *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Zat yang berperan sebagai faktor virulensi berupa toksin leukosidin, dan enterotoksin. Leukosidin adalah toksinapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Toksin ini perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis. Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (52).

2.9.2 *Escherichia coli*

Bakteri gram negatif, bentuk batang, tidak bersepora, memiliki flagel, ukuran kecil sampai sedang, konsistensinya halus, tepi rata, menghasilkan tes positif terhadap indol dan menghasilkan gas dari glukosa, *Escherichia coli* mempunyai morfologi yang khas pada media pembeda seperti media agar EMBA akan menunjukkan warna kemilau Metallic sheend and tes indol positif (30). *Escherichia coli* Menyebabkan penyakit bila resistensi usus melemah, bakteri akan menyerang jaringan dinding usus yang meyebabkan diare pada usus manusia, infeksi saluran kemih, infeksi saluran paru (infeksi nosokomial) dan infeksi kulit (30).

2.9.3 *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan strain dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antimikroba golongan β-laktam, diantaranya dari golongan penisilin. Bakteri MRSA juga dapat menyebar di tempat-tempat umum seperti gym, loker, pasar, dan perabot rumah tangga.

Mekanisme resistensi ini terjadi melalui dua mekanisme yaitu produksi enzim β -laktamase dan gen *mecA* (54). MRSA dapat dideteksi dengan melakukan uji kepekaan terhadap antibiotik Methicillin atau Oxacilin, sedangkan untuk pengobatan obat yang biasa digunakan adalah vankomisin (55).

Vankomisin bekerja dengan melibatkan penghambatan sintesis mukopeptida dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan peptidoglikan menjadi lemah dan sel menjadi mudah hancur. Efek samping pemberian vankomisin adalah iritasi terhadap jaringan, menggigil, demam, ototoksitas dan neurotoksisitas (55). Resistensi terhadap bakteri patogen dengan penggunaan antibiotik dalam waktu jangka panjang dapat merugikan penderita yang mengakibatkan bakteri resistensi terhadap antibiotik. Kejadian ini menjadi masalah besar dalam bidang kesehatan. Beberapa bakteri Gram negatif dan Gram positif yang patogen oportunistik menjadi resisten terhadap semua antibiotik (54).

2.10 Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang bersifat bakteriostatik dan mempunyai spektrum luas. Kloramfenikol pertama kali diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*, sekarang telah dapat dibuat melalui sintesis total, yang metodenya relative lebih sederhana dan biayanya lebih murah dibanding cara ekstraksi media fermentasi. Kloramfenikol efektif terhadap riketsia dan konjungtivitis akut yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk *Pseudomonas* sp. kecuali *Pseudomonas aeruginosa*. Senyawa juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, seperti *Bacteroides fragilis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* dan *Streptococcus pneumoniae*, yang telah kebal terhadap turunan penisilin (56).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Juni sampai bulan November 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan Labor Biota Sumatra (LBS) Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Erlenmeyer (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), tabung reaksi (Pyrex[®]), rak tabung reaksi, cawan petri (Pyrex[®]), plastik wrap, lampu spiritus, *hotplate* (Cimarec[®]), *beaker glass* (Pyrex[®]), *paper disc* (Advantec[®]), corong pisah, *vortex*(Etech[®]), jangka sorong, McFarland densitometer (DEN-1B[®]), benang jagung, jarum ose, penggaris, pinset, pipet mikro (Dragon Lab[®]), batang pengaduk, pipet volumetric, lemari aseptik, timbangan analitik (Shimadzu-AUX 220[®]), kapas, kain kasa, *incubator shaker* (Mammert[®]), autoklaf, *laminar Air Flow* (Innotech[®]), *rotary evaporator* (IKA[®]), vial, spatel, oven (Kirin[®]), kaca objek, aluminium foil dan lampu UV (Chromatographic Merck[®]).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel batang padi (*Oryza sativa* L.) dengan varietas anak daro, *Nutrient Agar* (Merck[®]), Molase (Tetes tebu), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, H_3BO_3 , $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, KI, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $(NH_4)_2HPO_4$, NaOH, HCl, akuades steril, alkohol, NaCl fisiologis 0,9% (Otsuka[®]), alkohol 70%, plat KLT, etil asetat, methanol dan kloramfenikol *disc* (Sensi-disc[®]).

3.2.3 Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri Gram negatif *Escherichia coli* ATCC 8739, bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25157 dan bakteri resisten *Methilin Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Pengambil Sampel

Sampel tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) diperoleh dari Sawah Limau Manis, Padang, Sumatera Barat. Sampel yang di ambil adalah batang padi (*Oryza sativa* L.).

3.3.2 Identifikasi Sampel

Sampel padi yang telah diambil kemudian dilakukan identifikasi di Herbarium Universitas Andalas Padang (ANDA).

3.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Alat kaca seperti gelas ukur, tabung reaksi, dan Erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas yang telah dibungkus dengan kain kassa, lalu dibungkus dengan kertas aluminium foil. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat besi seperti pingset dan jarum ose disterilkan dengan cara *flambier* pada lampu spiritus. *Laminar Air Flow* (LAF) disterilkan dengan cara menyalakan lampu UV-nya selama 15-30 menit.

3.3.4 Isolasi Bakteri Endofit

Sampel batang padi (*Oryza sativa* L.) dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dikeringkan. Selanjutnya disterilisasi permukaan menggunakan natrium hipoklorit selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit, dan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali. Sampel dikeringkan menggunakan tisu steril. Untuk memastikan sterilisasi permukaan berhasil, air bilasan terakhir

diinokulasi pada media NA, lalu diinkubasi pada suhu 37⁰C di inkubator selama 2 hari. Setelah dilakukan sterilisasi permukaan, sampel di potong dengan ukuran 1-2 cm menggunakan gunting steril. Potongan sampel diletakkan di cawan petri yang sudah berisi media NA. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh dengan bentuk berbeda dengan koloni lainnya dianggap sebagai isolat berbeda. Koloni bakteri dimurnikan sampai diperoleh isolat murni pada media NA yang baru.

3.3.5 Pemurnian Isolat Bakteri Endofit

Bakteri yang tumbuh dimurnikan satu per satu dengan cara memindahkan isolat bakteri yang berbeda dari media NA lama ke media NA baru dalam cawan petri. Jika masih ada koloni yang berbeda secara makroskopis pada media maka harus dilakukan pemisahan kembali untuk mendapatkan isolat murni.

3.3.6 Pembuatan Media

3.3.6.1 *Nutrient Agar* (Merck[®])

Ditimbang serbuk nutrient agar sebanyak 20 gram, lalu larutkan dalam 1 liter aquadest dalam Erlenmeyer. Kemudian panaskan di atas *hotplate* sambil diaduk hingga terbentuk larutan jernih. Mulut Erlenmeyer ditutup dengan kapas yang sudah dibalut dengan kain kassa. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit.

3.3.6.2 Pembuatan Media Fermentasi Menggunakan Molase sebagai Sumber Karbon Isolat Bakteri Endofit dari Batang Padi (*Oryza sativa* L.)

a) Pembuatan larutan mineral

Komposisi larutan mineral terdiri dari 1,98 g MnCl₂.4H₂O; 0,25 g CuSO₄.5H₂O; 0,29 g ZnSO₄.7H₂O; 0,12 g CoCl₂.6H₂O; 0,31 g H₃BO₃; 0,12 g

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,08 gr KI dan add aquadest hingga 1 liter. Kemudian larutan mineral disterilkan.

b) Dapar fosfat pH 6

Larutan dapar fosfat pH 6 dibuat dengan cara melarutkan 3,7 g KH_2PO_4 dan 5,8 g K_2HPO_4 kedalam 1 liter *aquadest*, pH larutan diatur hingga mendekati 6. Jika pH lebih dari 6 maka diturunkan dengan menambahkan HCl 0,1 M. Kemudian larutan dapar ini disterilkan.

c) Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen dibuat dengan melrutkan 1,1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ kedalam 1 liter *aquadest*. Kemudian sumber nitrogen ini disterilkan.

d) Pembuatan Larutan dengan Berbagai Variasi Konsentrasi Molase

Penelitian ini, menggunakan molase sebagai substrat/sumber karbon. Adapun variasi konsentrasi molase yang digunakan terdiri dari tiga konsentrasi yaitu 1% , 5% dan 10% .

e) Pembuatan Media Fermentasi Menggunakan Molase sebagai Sumber Karbon dengan konsentrasi 1%, 5% dan 10% (Inokulum)

Komposisi media fermentasi terdiri dari 1 ml larutn mineral, 10 ml sumber nitrogen, variasi konsentrasi molase yaitu 1%, 5% dan 10%, dapar fosfat ph 6 masing-masing Erlenmeyer berisikan 20 ml inokulum disterilkan. Selanjutn ambil 1-2 ose bakteri dari isolate bakteri endofit kedalam media fermentasi. Kemudian, media *dishaker* pada kecepatan 120 rpm dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3.3.7 Optimasi Sumber Inokulum Isolat Bakteri Endofit pada Media Fermentasi pada Media Produksi Antibiotik (1%, 5% dan 10%)

Variasi sumber inokulum yang ditambahkan kedalam media fermentasi 100 ml terdiri dari sumber inokulum 1%, 5% dan 10%. Media yang sudah ditambahkan inokulum bakteri endofit, lalu *dishaker* pada kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C

selama 54 jam, dengan waktu pencuplikan tiap 6 jam yaitu jam ke-30, 36, 42, 48, dan 54 untuk pengamatan OD (*Optical Density*) pertumbuhan bakteri dan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Methilin Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

Media yang telah difermentasi selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat bakteri terhadap bakteri uji. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ml media yang telah difermentasi selanjutnya disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk di uji daya hambat terhadap bakteri uji dengan metode difusi cakram.

3.3.8 Pemisahan Biomassa dan Supernatan

Setelah difermentasi dilakukan proses pemisahan biomassa dan supernatan dengan proses sentrifugasi. Media yang telah difermentasi disentrifus dengan menggunakan alat sentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Lapisan bening supernatan dipisahkan dari endapan biomassa dengan cara pipet. Lapisan supernatan digunakan untuk menentukan pH, sedangkan biomassa dikeringkan dengan oven untuk ditentukan berat kering kandungan sumber karbon (57).

3.3.9 Uji Aktivitas Antibakteri

3.3.9.1 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji dari stok kultur murni dipindahkan ke dalam media agar miring NA dengan metode gores. Diambil biakan bakteri menggunakan jarum ose dan digoreskan pada permukaan agar miring. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.3.9.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Koloni bakteri uji diambil dari agar miring 1-2 ose, lalu disuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc Farland pada latar belakang hitam dan cahaya terang.

3.3.9.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Pencuplikan sebanyak 1 ml kultur isolat bakteri endofit tiap 6 jam selama 54 jam diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* steril lalu disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 20 μ L suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan Petri menggunakan mikropipet dan disebar diatas media NA. Selanjutnya cakram steril ditetesi sebanyak 20 μ L kultur isolat bakteri yang telah disentrifugasi dan tanamkan cakram tersebut diatas media NA, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati pertumbuhan mikroba dan diukur diameter hambatnya. Sebagai kontrol negatif digunakan *aquadest steril* dan sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol 30 μ g/disk. Lalu diamati dan diukur daerah hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

3.3.10 Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Isolat Bakteri Endofit

Substrat bakteri endofit ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 v/v ke dalam Erlenmeyer yang berisi media fermentasi. Kemudian dimaserasi selama 24 jam. Kemudian dipindahkan larutan ke dalam corong pisah untuk memisahkan ekstrak etil asetat. Kocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (media) dimaserasi lagi menggunakan pelarut etil asetat 1:1 v/v selama 1 hari dan lapisan atas (ekstrak etil asetat) diuapkan menggunakan rotary evaporator.

3.3.11 Profil Kromatografi Lapis Tipis

Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk menunjukkan jumlah komponen senyawa yang terkandung pada ekstrak metabolit sekunder dari isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Jumlah komponen senyawa yang terkandung dapat dilihat dari bercak yang terbentuk dan penentuan Rf. Fase gerak yang digunakan adalah Etil asetat : Metanol (9: 1). Penampak bercak menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Bercak dilihat dibawah UV kemudian diukur nilai Rf-nya (49)

3.3.12 Pemeriksaan Metabolit Sekunder

1. Uji Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid menggunakan metode *Culvenor-Fitzgerald*. Sampel dicampur dengan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak kemudian dipanaskan, dikocok, dan disaring. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2N pada masing-masing filtrat, kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan jingga, coklat, dan putih (58).

2. Uji Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid menggunakan metode *Shinoda Test*. Sebanyak 2 mL ekstrak dilarutkan dalam 2 mL etanol lalu dipanaskan. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat. Hasil positif flavonoid apabila terbentuk larutan berwarna merah jingga sampai merah ungu (59).

3. Uji Polifenol (Tannin)

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan Fe(III) klorida 10%. Hasil positif polifenol apabila terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan (60).

4. Uji Saponin

Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Hasil positif saponin apabila terbentuk buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit (61).

5. Uji Triterpenoid dan Steroid

Pemeriksaan steroid dan terpenoid menggunakan metode Simes Test. Sebanyak 2 mL ekstrak dilarutkan dalam 5 mL kloroform dan 5 mL air dalam

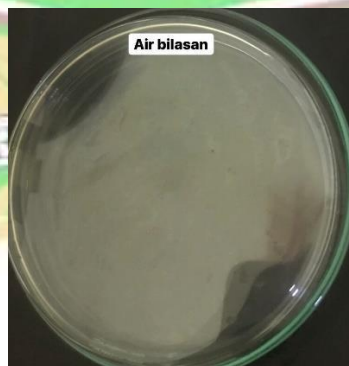
tabung reaksi, lalu dikocok dan diamkan beberapa menit sampai terbentuk lapisan. Lapisan kloroform digunakan untuk pemeriksaan terpenoid dan steroid dengan menambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat. Hasil positif terpenoid apabila terbentuk warna merah, hasil positif steroid apabila terbentuk warna biru (62).



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Endofit

Padi (*Oryza sativa* L.) diperoleh dari Sawah Limau Manis, Padang, Sumatera Barat dengan varietas Anak daro dan diidentifikasi di Herbarium ANDA Universitas Andalas. Bakteri endofit diisolasi dari bagian batang padi (*Oryza sativa* L.). Untuk isolasi bakteri endofit terlebih dahulu dilakukan sterilisasi permukaan yang dimulai dengan pencucian batang padi dibawah air mengalir kemudian direndam dengan natrium hipoklorit selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit, dan dibilas menggunakan *aquades* steril sebanyak 3 kali. Tujuan dilakukan proses ini untuk menghilangkan mikroorganisme yang berada pada permukaan tumbuhan sehingga bakteri yang tumbuh pada media isolasi (*Nutrient Agar*) merupakan bakteri endofit (63). Natrium hipoklorit dan alkohol 70% yang digunakan memiliki aktivitas yang berbeda. Natrium hipoklorit merupakan senyawa yang mengandung klorin yang bekerja dengan mengoksidasi secara *irreversible* dan mengganggu fungsi metabolik dari sel bakteri sedangkan alkohol mendenaturasi protein dengan cara dehidrasi dan menginaktifkan enzim (64). Selanjutnya air bilasan terakhir diambil dan diisolasi ke media NA berfungsi sebagai kontrol sterilisasi permukaan dari batang padi (65). Batang yang sudah steril dipotong menggunakan gunting steril sepanjang 2 cm kemudian ditumbuhkan pada media NA. Bakteri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (66).




Gambar 3. Air Bilasan Terakhir Batang Padi (*Oryza sativa* L.)




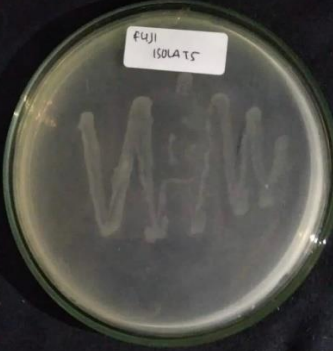


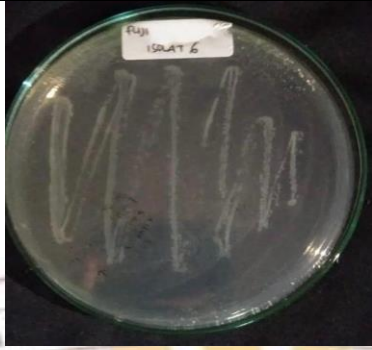

Gambar 4. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Batang Padi (*Oryza sativa* L.)

Pada masa inkubasi, bakteri telah tumbuh disekitar batang dimurnikan dengan memindahkan bakteri ke media NA baru hingga diperoleh isolat murni. Pada penelitian ini diperoleh tujuh isolat bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) diidentifikasi dengan cara mengamati secara makroskopik yang meliputi warna koloni, permukaan koloni dan bentuk koloni seperti yang terlihat dalam tabel (66) :

Tabel 1. Morfologi Isolat Bakteri Endofit dari Batang Padi (*Oryza sativa* L.)

No	Kode Sampel	Gambar	Morfologi
1	Isolat 1		Warna koloni putih kekuningan, permukaan rata, tekstur berlendir.

2	Isolat 2		<p>Warna koloni putih kekuningan, permukaan tidak rata bergerigi diujung, tekstur berlendir.</p>
3	Isolat 3		<p>Warna koloni putih dengan bentuk koloni bulat, permukaan tidak merata, tekstur halus mudah menyebar di media.</p>
4	Isolat 4		<p>Warna koloni putih, permukaan sedikit rata namun menipis keujung, tekstur halus mudah menyebar di media.</p>
5	Isolat 5		<p>Warna koloni putih pudar, permukaan merata, tekstur ringan.</p>

6	Isolat 6		<p>Warna koloni putih pudar, Permukaan tidak merata, menonjol bagian ujung, tekstur ringan mudah diambil dengan ose.</p>
7	Isolat 7		<p>Warna putih pada bagian tepi putih memudar, permukaan rata, tekstur ringan.</p>

4.2 Fermentasi Isolat Bakteri Endofit

Fermentasi isolat bakteri endofit batang padi (*Oryza sativa* L.) menggunakan media tetes tebu (molase). Tetes tebu (molase) merupakan limbah pengolahan tebu yang mengandung gula yang cukup tinggi sehingga sangat potensial digunakan sebagai media fermentasi. Media fermentasi yang digunakan untuk fermentasi harus dapat digunakan oleh sel untuk pertumbuhan optimal sel dan pembentukan produk. Oleh sebab itu dalam formulasi media, komponen-komponen yang harus dipenuhi antara sumber karbon (glukosa, laktosa, molase), sumber nitrogen (inorganik : garam ammonia atau nitrat dan organik : asam amino, protein, urea), mineral (magnesium, sulfur, kalium, fosfor, kalsium), vitamin dan dapar fosfat pH 6 yang berfungsi mempercepat terbentuknya produk. Molase secara umum mengandung biotin, asam pantotenat, tiamin, fosfor dan sulfur. Mengandung 62% gula yang terdiri dari sukrosa 32%, glukosa 14% dan fruktosa 16% (67). Molase dapat mempercepat terbentuknya asam laktat serta menyediakan sumber energi yang cepat tersedia dalam bakteri dan juga ditambahkan oleh Kusmiati dkk. (2007) bahwa molase mengandung nutrisi cukup

tinggi untuk kebutuhan bakteri, sehingga dijadikan bahan alternative sebagai sumber karbon dalam media fermentasi (68). Pada media fermentasi tetes tebu (molase) ini dibuat sebanyak tiga konsentrasi yaitu 1%, 5% dan 10%.

Fermentasi dilakukan menggunakan alat *incubator shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 54 jam dengan waktu pencuplikan 30, 36, 42,48 dan 54 jam. Shaker digunakan untuk mengaduk media selama fermentasi sehingga nutrisi dapat tersebar merata dan produksi metabolit sekunder maksimal. Pada proses pengadukan mampu menyediakan suplai oksigen dalam media, dimana oksigen dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya (69).

Pencuplikan pada jam ke-30, 36, 42, 48 dan 54 dilakukan bertujuan untuk menentukan waktu pertumbuhan bakteri yang optimum dikarenakan bakteri endofit yang diisolasi belum diketahui kapan waktu fase stasionernya. Fase stasioner ketika nutrisi pada medium semakin menipis atau ketika adanya akumulasi produk sampingan lain yang menghambat pertumbuhan bakteri. Pada fase stasioner tidak terdapat penurunan atau kenaikan jumlah sel yang signifikan, sehingga laju pertumbuhan biakan adalah nol. Karena jumlah sel yang membelah dan sel yang mati hampir sama. Nutrisi pada medium biakan yang terus menipis dan adanya akumulasi produk sampingan yang terjadi terus menerus akan menyebabkan biakan mengalami fase kematian dimana jumlah sel menurun secara bertahap (70).

Setelah proses fermentasi dilakukan pemisahan antara supernatan dan biomassa menggunakan sentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Pemisahan ini dilakukan agar mikroorganisme dapat mensekresikan metabolit sekunder ke luar sel selama proses fermentasi. Supernatan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan ekstraksi sedangkan biomassa digunakan untuk menentukan berat sel bakteri yang terbentuk selama proses fermentasi. Hasil biomassa bakteri endofit diukur dari bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri.

Tabel 2. Hasil Biomassa Bakteri Endofit Batang Padi (*Oryza sativa* L.)

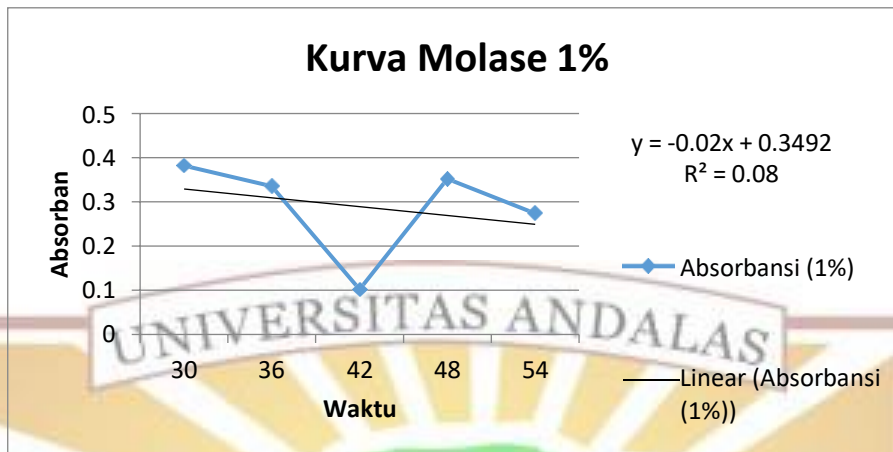
Isolat Bakteri Endofit	Media dan konsentrasi	Waktu Pengukuran (Jam)	Berat (g)
Isolat 1	Molase 1%	36	0,004 g
Isolat 4	Molase 1%	42	0,011 g
Isolat 7	Molase 10%	30	0,300 g

4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri (OD)

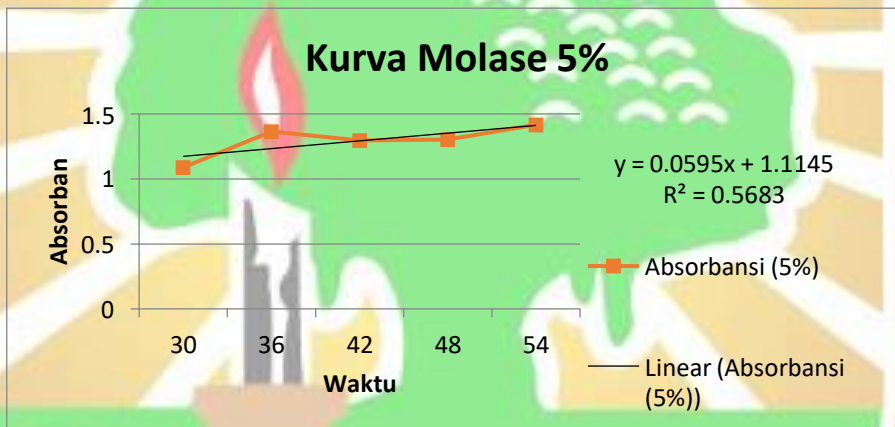
Kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengukur nilai *Optical Density* (OD). Cara perhitungannya dengan mengukur nilai absorbansi dari media yang difermentasi menggunakan spektrofotometer uv *visible* untuk melihat tingkat kekeruhan. Kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan sel dan pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan sel. Pada penelitian ini digunakan panjang gelombang (λ) 600 nm, dimana pada panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang yang optimal. Dari 7 isolat yang diamati didapatkan 3 isolat yang diukur kurva pertumbuhan bakteri endofit berdasarkan dari aktivitas antibakterinya yaitu isolat 1, isolat 4, dan isolat 7.

Tabel 3. Nilai Absorban Isolat 1

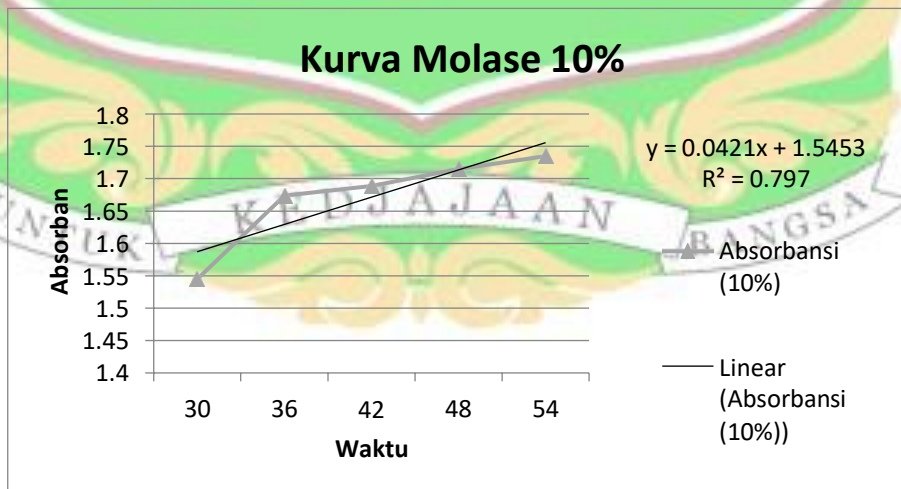
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.382	1.088	1.545
36	0.336	1.364	1.674
42	0.102	1.294	1.689
48	0.352	1.303	1.715
54	0.274	1.416	1.735



Gambar 6. Kurva Molase 1% Isolat 1



Gambar 7. Kurva Molase 5% Isolat 1

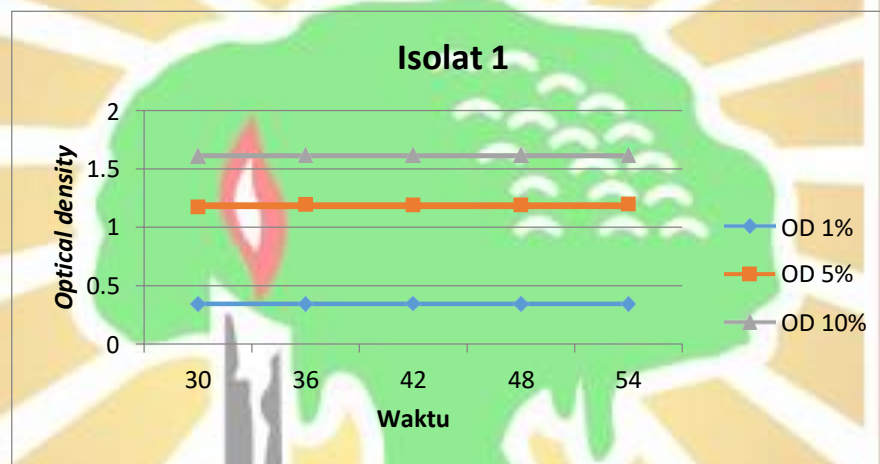


Gambar 14. Kurva Molase 10%

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 4. Nilai OD Isolat 1

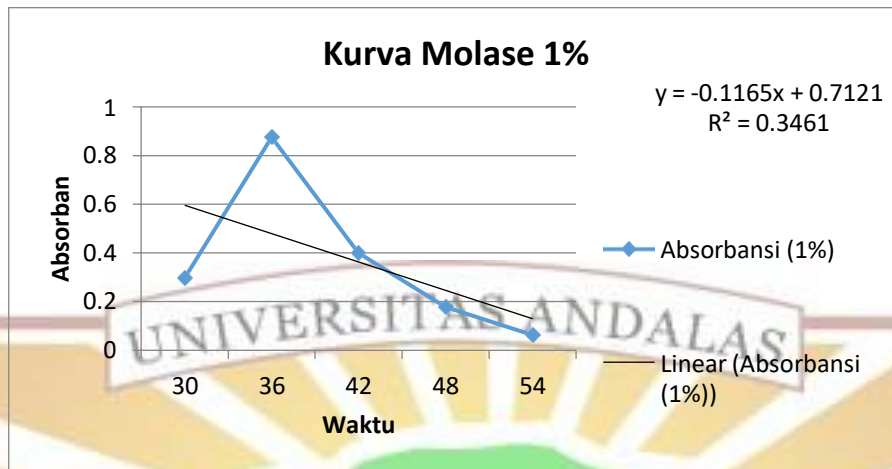
Pengkulturan	OD 1%	OD 5%	OD 10%
30	0.341	1.173	1.609
36	0.342	1.194	1.615
42	0.346	1.19	1.616
48	0.341	1.191	1.617
54	0.343	1.197	1.618



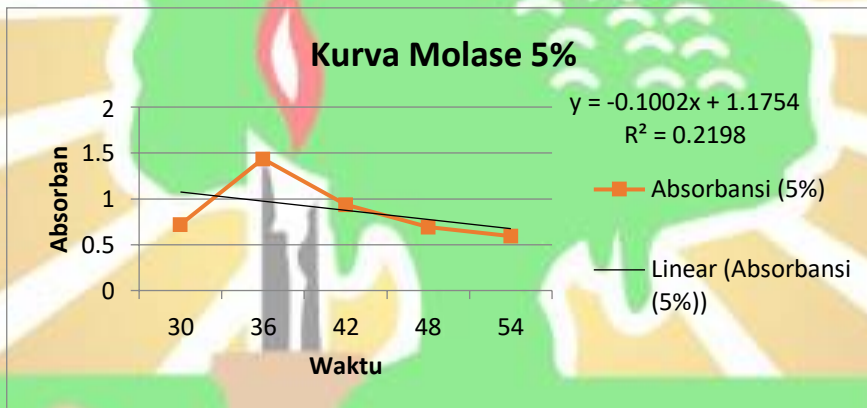
Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Isolat 1 Bakteri Endofit

Tabel 5. Nilai Absorban Isolat 4

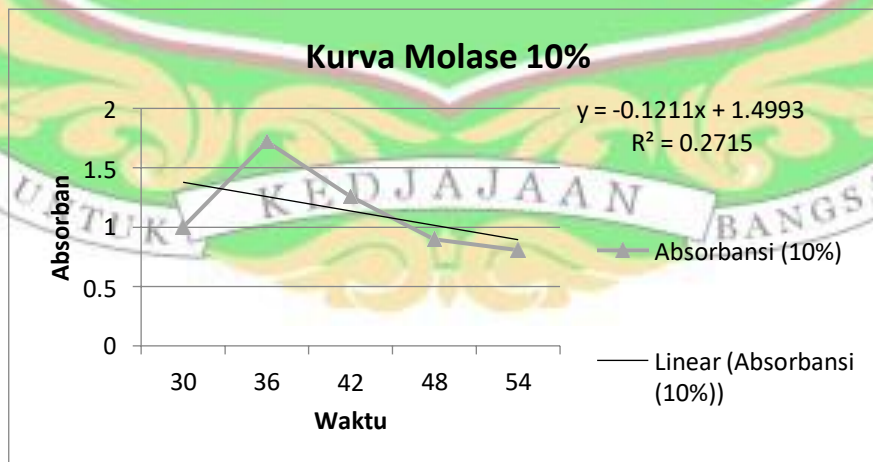
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.297	0.72	1
36	0.875	1.436	1.72
42	0.4	0.936	1.257
48	0.178	0.69	0.897
54	0.063	0.592	0.806



Gambar 9. Kurva Molase 1% Isolat 4



Gambar 10. Kurva Molase 5% Isolat 4

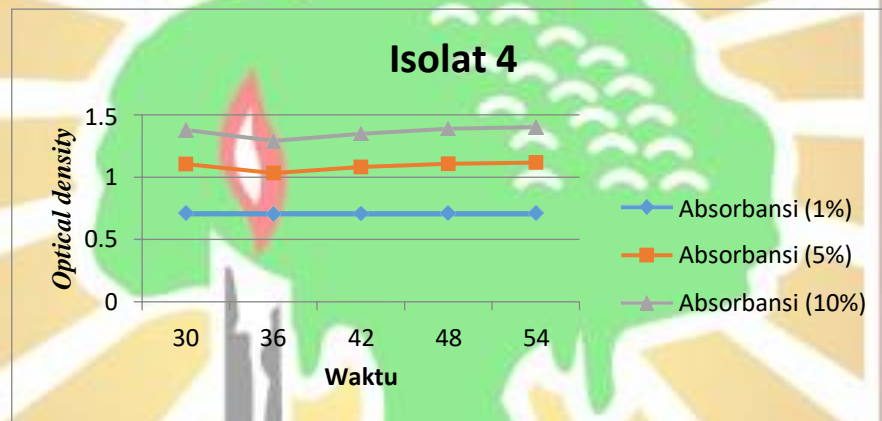


Gambar 11. Kurva Molase 5% Isolat 4

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 6. Nilai OD Isolat 4

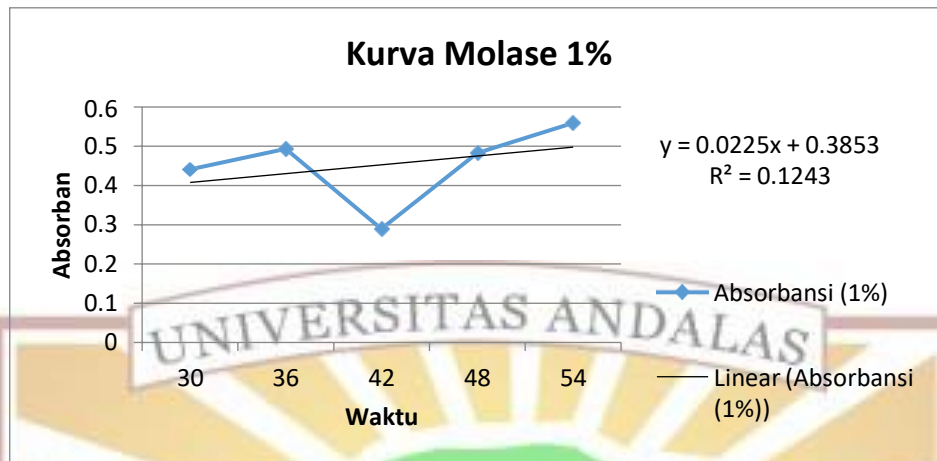
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.709	1.103	1.378
36	0.701	1.031	1.291
42	0.707	1.081	1.347
48	0.71	1.106	1.39
54	0.711	1.116	1.401



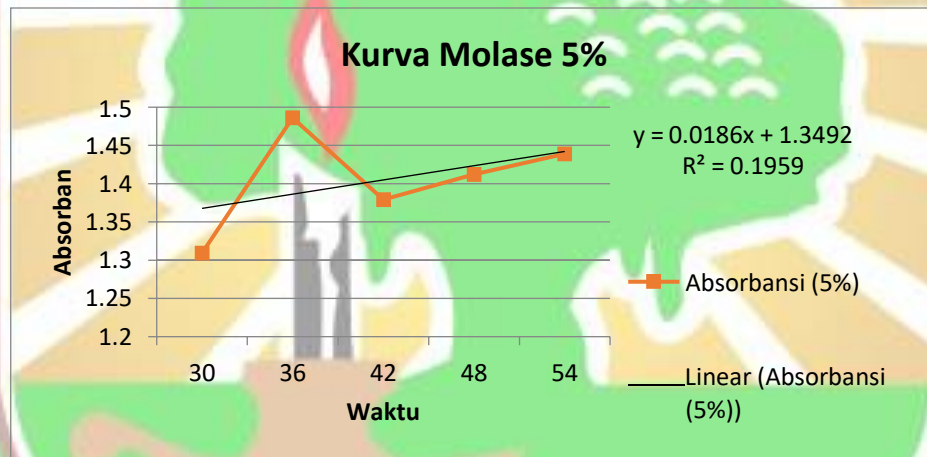
Gambar 12. Kurva Pertumbuhan Isolat 4 Bakteri Endofit

Tabel 7. Nilai Absorban Isolat 7

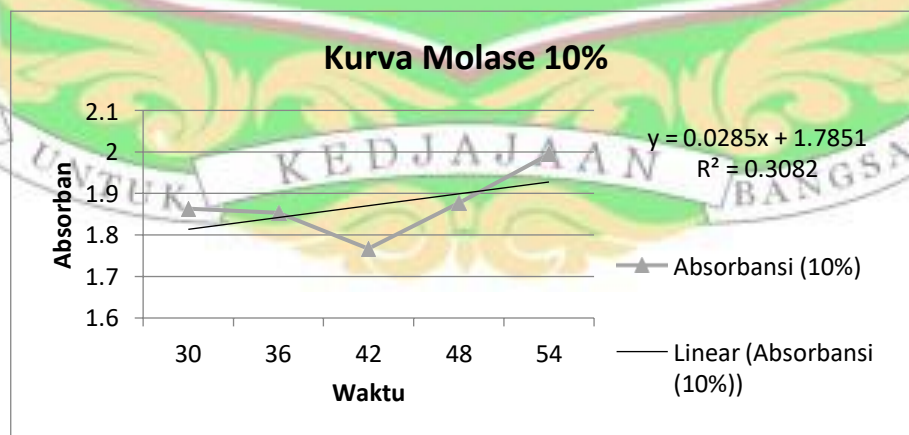
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.441	1.309	1.863
36	0.493	1.486	1.853
42	0.289	1.379	1.767
48	0.482	1.412	1.876
54	0.559	1.439	1.994



Gambar 13. Kurva Molase 1% Isolat 7



Gambar 14. Kurva Molase 5% Isolat 7

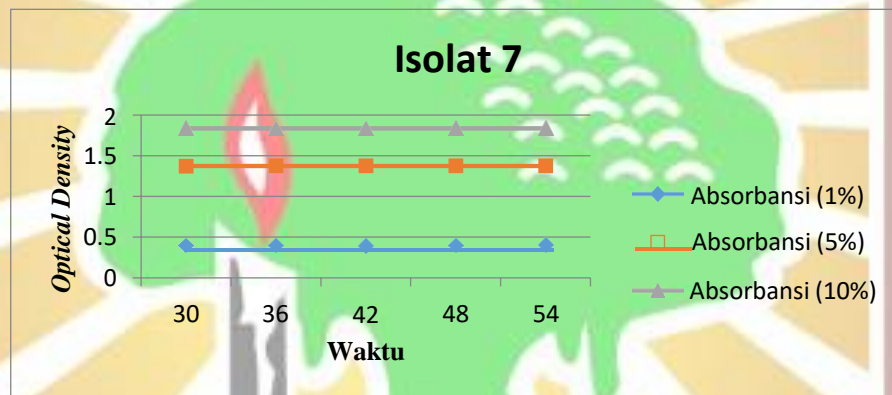


Gambar 15. Kurva Molase 10% Isolat 7

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 8. Nilai OD Isolat 7

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.395	1.372	1.837
36	0.396	1.376	1.836
42	0.391	1.374	1.834
48	0.395	1.374	1.838
54	0.401	1.375	1.84



Gambar 16. Kurva Pertumbuhan Isolat 7 Bakteri Endofit

Berdasarkan hasil penelitian, media fermentasi menggunakan molase 1%, 5% dan 10% mengalami peningkatan pertumbuhan selama fase stasioner. Hal ini dikarenakan pada bagian molase mengandung sumber karbohidrat dan nutrisi cukup tinggi untuk kebutuhan bakteri, sehingga dapat dijadikan bahan alternatif sebagai media fermentasi. Oleh karena itu bakteri endofit yang ada di dalam media saat proses fermentasi akan mengeluarkan metabolit sekunder sesuai yang diharapkan. Apabila tidak ada molase sebagai media fermentasi maka nutrisi pada bakteri akan kurang dan bahkan menyebabkan bakteri mati (68).

Fase stasioner dari isolat 1 dimulai dari jam ke-36, isolat 4 mulai mengalami fase stasioner pada jam ke-42 dan isolat 7 mulai mengalami fase stasioner pada jam ke-30. Pada fase stasioner jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama

dengan jumlah sel yang mati. Hal ini disebabkan oleh nutrisi dalam media sudah berkurang yang menimbulkan persaingan antara bakteri, sehingga merangsang produksi metabolit sekunder.

4.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25157, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Ketiga bakteri ini digunakan karena sudah mewakili mikroorganisme patogen yang menginfeksi tubuh manusia sehingga dapat menyebabkan berbagai macam penyakit. Kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol 30µg/disk karena memiliki spektrum kerja yang luas dan masih sensitif terhadap ketiga bakteri uji. Kontrol negatif menggunakan *aquadest steril* karena pelarut yang tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak menghasilkan zona bening (71).

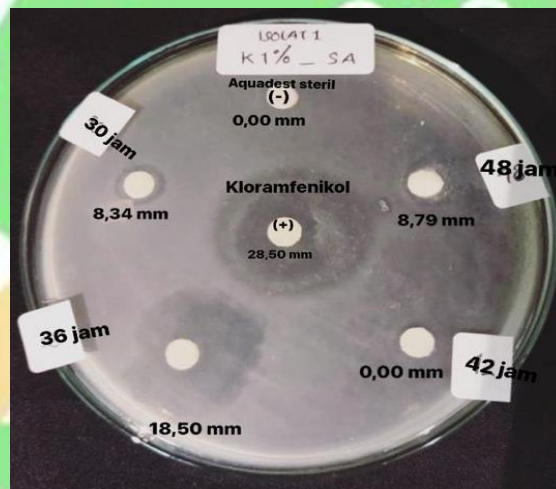
Hasil uji aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuk atau tidaknya zona bening disekitar kertas cakram. Semakin luas zona bening yang terbentuk menunjukkan semakin efektif sebagai senyawa antibakteri. Zona bening yang terbentuk diukur diameter hambatnya menggunakan jangka sorong sebagai hasil diameter hambat dari uji aktivitas antibakteri (71). Berikut tabel hasil pengujian aktivitas antibakteri.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

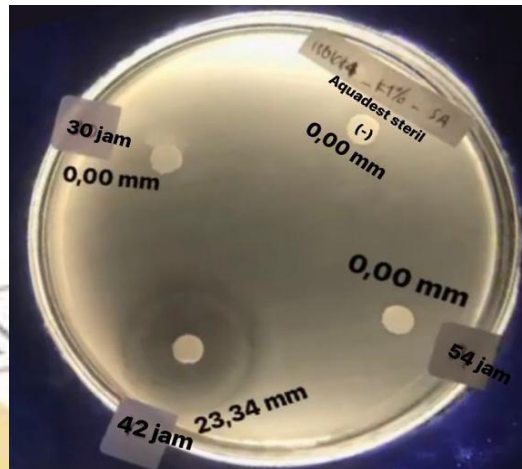
Isolat	Bakteri uji	Media Fermentasi	Waktu pencuplikan (Jam)	Rata-rata diameter daya hambat (mm) ± standar deviasi (STD)
Isolat 1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25157	Molase 1%	30	8,34 ± 0,00
			36	18,50 ± 0,00
			42	0,00 ± 0,00
			48	8,79 ± 0,00
			54	0,00 ± 0,00
		Molase 5%	30	0,00 ± 0,00
			36	0,00 ± 0,00

			42	$0,00 \pm 0,00$
			48	$6,96 \pm 0,00$
			54	$7,75 \pm 0,00$
		Molase 10%	30	$6,66 \pm 0,00$
		Molase 10%	36	$6,25 \pm 0,00$
		Molase 10%	42	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	48	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	54	$0,00 \pm 0,00$
Isolat 4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25157	Molase 1%	30	$8,40 \pm 0,00$
		Molase 1%	36	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	42	$23,34 \pm 0,00$
		Molase 1%	48	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	54	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 5%	30	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 5%	36	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 5%	42	$6,48 \pm 0,00$
		Molase 5%	48	$6,10 \pm 0,00$
		Molase 5%	54	$6,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	30	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	36	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	42	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	48	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	54	$0,00 \pm 0,00$
Isolat 7	MRSA ATCC 43300	Molase 1%	30	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	36	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	42	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	48	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 1%	54	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 5%	30	$7,78 \pm 0,00$
		Molase 5%	36	$6,84 \pm 0,00$
		Molase 5%	42	$6,06 \pm 0,00$
		Molase 5%	48	$6,52 \pm 0,00$
		Molase 5%	54	$7,57 \pm 0,00$
		Molase 10%	30	$10,06 \pm 0,00$
		Molase 10%	36	$6,01 \pm 0,00$
		Molase 10%	42	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	48	$0,00 \pm 0,00$
		Molase 10%	54	$0,00 \pm 0,00$

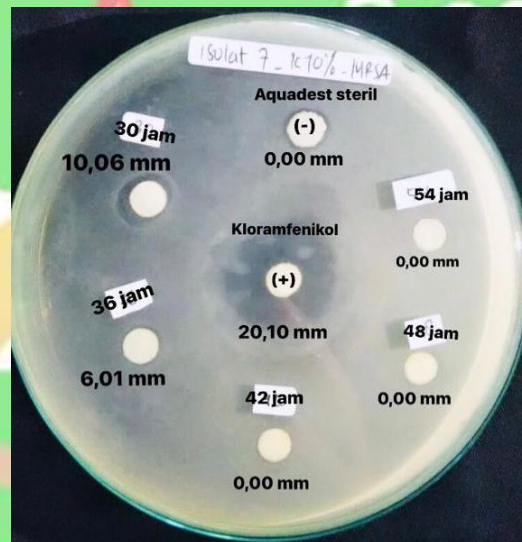
Diameter hambat diklasifikasikan menjadi empat jenis berdasarkan kemampuannya menghambat bakteri uji yaitu sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5 mm). Berdasarkan hasil pada tabel diatas bahwa isolat 1, 4 dan 7 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Isolat 1 memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap *Staphylococcus aureus* (18,50 mm) pada molase 1% pada jam ke 36. Isolat 4 memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat terhadap *Staphylococcus aureus* (23,34 mm) pada molase 1% pada jam ke 42 sedangkan pada Isolat 7 memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap MRSA (10,06 mm) pada molase 10% pada jam ke 30.



Gambar 17. Diameter Zona Hambat Isolat 1 Molase 1% Terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 18. Diameter Zona Hambat Isolat 4 Molase 1% Terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar 19. Diameter Zona Hambat Isolat 7 Molase 10% Terhadap MRSA

Terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa didalam substrat terdapat senyawa yang bersifat antibakteri. Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk pada pengujian aktivitas antibakteri tergantung pada jenis dan konsentrasi zat aktif yang terkandung dalam supernatan, perbedaan struktur dan komposisi dinding sel bakteri sehingga mempengaruhi sensitifitas dan kecepatan senyawa aktif dari metabolit sekunder ke dalam media untuk berdifusi. Penurunan diameter hambat terjadi karena isolat bakteri telah memasuki fase kematian akibat

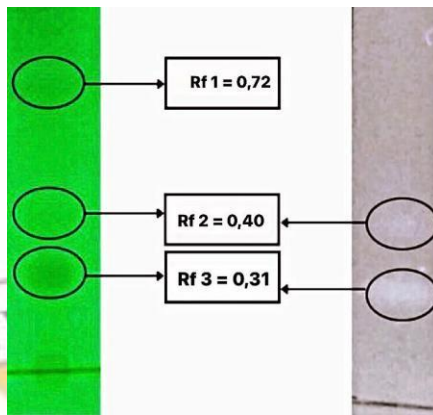
kurangnya nutrisi pada media. Adapun terlihat pada NA terjadi tidak meratanya bakteri uji dikarenakan saat pemberian suspensi bakteri uji yang tidak merata saat disebar menggunakan *cotton bat* steril (69) (72).

4.5 Ekstraksi Metabolit Sekunder

Ekstraksi bertujuan untuk menarik metabolit sekunder dari suatu sampel menggunakan pelarut tertentu. Teknik ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi. Hal ini disebabkan karena maserasi bersifat sederhana, mudah dilakukan, dan tidak membutuhkan waktu yang lama. Substrat yang telah dipisahkan dengan sel bakteri dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat perbandingan 1:1 v/v didalam botol infus selama 24 jam. Setelah dimaserasi larutan dipisahkan menggunakan corong pisah untuk mendapatkan ekstrak etil asetat. Bagian substrat yang telah dipisahkan dimaserasi lagi menggunakan etil asetat selama 24 jam. Ekstrak etil asetat dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C untuk menjaga senyawa aktif yang terkandung tidak rusak karena pemanasan (69).

4.6 Kromatografi Lapis Tipis

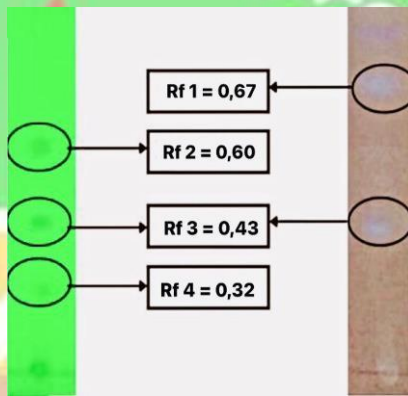
Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri kuat dilakukan pengujian kromatografi lapis tipis dengan menggunakan plat KLT berukuran 1×12 cm dengan jarak elusi 10 cm. Setelah melakukan *trial* dan *error*, eluen yang cocok pada pemisahan senyawa tersebut terdiri etil asetat : metanol (9:1) untuk isolat 1, 4 dan 7. Hasil pemisahan senyawa yang didapat pada masing-masing isolat adalah sebagai berikut :



(a)

(b)

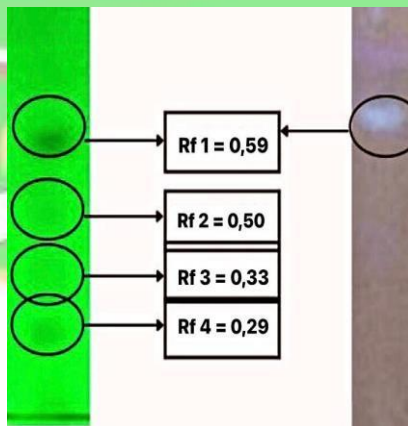
Gambar 20. Profil KLT Isolant 1 pada Lampu UV
(a.254nm, b.366 nm)



(a)

(b)

Gambar 21. Profil KLT Isolant 4 pada Lampu UV
(a.254nm, b.366 nm)



(a)

(b)

Gambar 22. Profil KLT Isolant 7 pada Lampu UV
(a.254nm, b.366 nm)

Senyawa yang terdapat pada plat KLT tersebut dihitung nilai Rf nya sehingga didapatkan nilai Rf yang bervariasi. Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Jika Rf terlalu tinggi, yang dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya. Nilai Rf pada KLT yang bagus berkisar antara 0,2-0,8 cm (73).

4.7 Pemeriksaan Metabolit Sekunder

Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak metabolit sekunder bakteri endofit batang padi (*Oryza sativa* L.). Mikroba endofit yang terdapat pada suatu tanaman biasanya menghasilkan metabolit yang memiliki aktivitas sama dengan tanaman inangnya. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rasidah (2019) dan pada penelitian Rahmania (2018) bahwa pada ekstrak kulit padi mengandung banyak senyawa fenolik termasuk golongan flavonoid, steroid, saponin dan tannin pada daun dan batang (7) (8). Berikut hasil dari pemeriksaan metabolit sekunder dari bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri:

Tabel . Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder

No	Pemeriksaan Metabolit Sekunder	Pereaksi	Isolat			Keterangan
			Isolat 1	Isolat 4	Isolat 7	
1	Alkaloid	Dragendorff	-	-	-	(-) Tidak terbentuk endapan jingga
		Mayer	-	-	-	(-) Tidak

						terbentuk endapan putih
		Wagner	-	-	-	(-) Tidak terbentuk endapan coklat
2	Flavonoid	Etanol 95% + serbuk Mg + HCl pekat	+	+	+	(+) Terbentuk warna merah jingga (-) Tidak terbentuk warna merah jingga
3	Tanin	FeCl ₃ 10%	-	+	-	(+) Terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan (-) Tidak terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan
4	Saponin	H ₂ O	-	+	-	(+) Terbentuk busa setinggi 1 cm selama 10 menit (-) Tidak terbentuk busa setinggi 1 cm selama 10 menit

5	Steroid dan Terpenoid	CHCl ₃ + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	-	-	+	(+) Terbentuk warna bitu (Steroid) (+) Terbentuk warna merah (Terpenoid)
---	-----------------------	--	---	---	---	---

Berdasarkan tabel pemeriksaan metabolit sekunder di atas, senyawa golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etil asetat bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) adalah senyawa flavonoid, tannin, saponin dan steroid.

4.8 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Secara Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi. Biokimia bakteri berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri. Identifikasi bakteri ini tidak dapat dilakukan dengan mengetahui sifat morfologinya saja, namun harus mengetahui sifat fisiologis bakteri juga. Sifat fisiologis bakteri sangat penting diketahui apabila melakukan identifikasi bakteri karena sifat morfologis bakteri dapat tampak serupa bahkan tidak dikenal sehingga dengan melakukan uji biokimia terhadap koloni bakteri dapat mengetahui sifat dan menentukan spesies bakteri. Identifikasi bakteri endofit batang padi (*Oryza sativa* L.) dilakukan di laboratorium Balai Veteriner Bukittinggi dengan hasil sebagai berikut (74) :

Tabel 11. Hasil Pemeriksaan Laboratorium Bakteriologi

No	Perlakuan	Koloni yang diproses						
		Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6	Isolat 7
1	Blood Agar (BA)							
2	Mac Conkey Agar							

3	Koloni (Warna, Bentuk, Sifat)			Putih				
4	Hemolysis							
5	Gram (Morfologi, Spora dll)	*1	*2	*3	*4	*5	*6	*7
6	Aerob/Anaerob	A	A	A	A	A	A	A
7	TSIA	M/M	M/M	M/M	M/M	M/K	M/K	K/K
8	Gas	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
9	H2S	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
10	Catalase							
11	Oxidase	(-)	(-)	(-)				
12	Mortilitas	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
13	Indol	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	Urea	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
15	Citrat	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
16	Laktosa	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
17	Glukosa	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
18	Sukrosa	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
19	Mannitol	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
20	MR	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
21	VP	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
22	OF	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
23	KCN	(+)	(+)	(-)				
24	Arginine	(-)	(-)	(-)				
25	Lyain	(-)	(+)	(-)				
26	Omithin	(-)	(-)	(-)				
27	Phenylalanin	(-)	(-)	(-)				
28	Aesculin	(-)	(-)	(-)				
29	Arabinose	(-)	(-)	(-)				
30	Raffinose	(-)	(-)	(-)				
31	Sorbitol	(-)	(-)	(-)				
32	Trehalase	(-)	(-)	(-)				
33	Xylose	(-)	(+)	(-)				
34	Dulcitol	(-)	(-)	(-)				
35	Malonat broth	(-)	(-)	(-)				
36	Nitrat				(-)	(-)	(-)	(-)
37	Gelatin	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan :

1. (-) ov-bac. pdk (Negatif, ovoid-bacil pendek)
2. (-) ov-coccobac. (Negatif, ovoid-coccobacil)
3. (-) ov-bac. pdk (Negatif, ovoid-bacil pendek)
4. (+) bac. Langsing (Positif, bacil langsing)
5. (+) bac. Spora (Positif, bacil spora)
6. (-) bac. Spora langsing (Negatif, bacil spora langsing)
7. (+) bac. (Positif, bacil)

Berdasarkan tabel hasil pemeriksaan laboratorium bakteriologi pada isolate bakteri endofit dari batang padi (*Oryza sativa* L.) secara biokimia didapatkan kesimpulan bahwa isolat 1, isolat 2, dan isolat 3 merupakan genus dari *Achromobacter* sp. Pada isolat 4 merupakan genus *Bacillus* sp 1, isolat 5 dan isolat 6 merupakan genus *Bacillus* sp 2 serta pada isolat 7 merupakan genus *Bacillus* sp 3. Genus *Achromobacter* sp merupakan bakteri hidrokarbonoklastik yang memiliki karakteristik antara lain bersifat anaerob, Gram positif dan Gram negatif, tidak berinti, berkoloni dan berwarna putih serta memiliki bentuk basil. Keanekaragaman spesies bakteri hidrokarbonoklastik pada perairan tercemar minyak bumi menunjukkan bahwa mampu mengurai senyawa hidrokarbon secara alamiah. Sedangkan genus *Bacillus* sebagai penghasil antibiotik diantaranya *Bacillus subtilis* BAC4 memproduksi antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens* ATCC 27117, *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Bacillus cereus* memiliki aktivitas terhadap bakteri *V. alginolyticus*. Antibiotik yang telah ditemukan diproduksi oleh genus *Bacillus* adalah antibiotik polymyxin dan bacitracin (75) (76).

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Tiga dari tujuh isolat memiliki aktivitas antibakteri kuat dengan diameter rata-rata >10 mm dan sangat kuat >20 mm, diantaranya :
 - Isolat 1 dengan genus *Achromobacter* sp pada molase konsentrasi 1% dengan daya hambat sebesar 18,50 mm (kuat) terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada jam ke-36.
 - Isolat 4 genus *Bacillus* sp 1 pada molase konsentrasi 1% dengan daya hambat sebesar 23,34 mm (sangat kuat) terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada jam ke-42.
 - Isolat 7 genus *Bacillus* sp 3 pada molase konsentrasi 10% dengan daya hambat sebesar 10,06 mm (kuat) terhadap bakteri uji MRSA pada jam ke-30.
2. Pemeriksaan metabolit sekunder menunjukkan bahwa isolat 1 mengandung flavonoid dan tanin. Isolat 4 mengandung flavonoid, tannin dan saponin. Sedangkan Isolat 7 mengandung flavonoid dan steroid.
3. Tujuh isolat bakteri endofit yang diisolasi dari batang padi (*Oryza sativa* L.) teridentifikasi sebagai genus *Achromobacter* sp, *Bacillus* sp 1, dan *Bacillus* sp 3.

5.2 Saran

1. Disarankan pada penelitian selanjutnya untuk mengisolasi bakteri endofit dari bagian lain tumbuhan padi seperti daun, kulit, buah, akar ataupun tanah tempat padi tumbuh.

2. Disarankan menggunakan media fermentasi bahan alam yang lainnya seperti substrat jagung.



DAFTAR PUSTAKA

1. Nurkusuma, D. Faktor yang berpengaruh terhadap *Metichillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada kasus infeksi luka pasca operasi di ruang perawatan bedah Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang. Tesis. Semarang : Universitas Diponegoro. 2009.
2. Dwidjoseputro, D. Pengantar fisiologi tumbuhan. Jakarta : Gramedia. 1980.
3. Dirga D, Khairunnisa SM, Akhmad AD, Setyawan IA, Pratama A. Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Rawat Inap di Bangsal Penyakit Dalam RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung. J Kefarmasian Indones. 2021;11(1):65–75.
4. Prihatiningsih N & Djatmiko HA. 2001. Eksistensi jamur patogen dan filoplan pada tanaman padi akibat perlakuan fungisida serta pengaruhnya terhadap penyelamatan produksi. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah PFI, Bogor, 22-24 Agustus 2001.
5. U. Magharaniq, S. Purwanto, F. H. Pasaribu, and M. Bintang, “Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L .) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri,” vol. 1, no. 1, pp. 51–57, 2014.
6. Eliza, Munif A, Djatnika I, Widodo. Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. J Hort. 2007. 17:150-160.
7. N. Rahmania, Herpandi, and Rozirwan. *Phytochemical Test of Mangrove Avicennia alba, Rhizophora apiculata and Sonneratia alba* from Musi River Estuary, South Sumatera. Biovalentia Biol. Res. J., 2018. Vol. 4, no. 2, pp. 1–8.
8. Rasidah, Syahmani, Rilia Iriani, Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tanaman Rambai Padi (*Sonneratia alba*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* ,Jurnal Jejaring Matematika dan Sains, 2019. Vol. 1 No. 2. 97-106.

9. F. Hartina, A. Jannah, and A. Maunatin, "Fermentasi Tetes Tebu Dari Pabrik Gula Pagotan Madiun Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* Untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Variasi Ph Dan Lama Fermentasi," *Alchemy*, vol. 3, no. 1, 2014,
10. Ida, Parida, Tri A, Giyanto. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Endofit Sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Padi Terhadap Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Patologi Indonesia*. 2016. ISSN 0215-7950
11. Dahlan, D., Musa, .Y, dan Ardah M. I. Pertumbuhan dan Produksi Dua Varietas Padi Sawah pada Berbagai Perlakuan Rekomendasi Pemupukan. Tesis. Makasar : Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Hasanuddin. 2012.
12. Utama, M.Z.H. Budidaya Padi pada Lahan Marjinal. Yogyakarta. : Penerbit ANDI, 2015. Yogyakarta.
13. Purwono, L dan Purnamawa. Budidaya Tanaman Pangan. Jakarta : Penerbit Agromedia. 2007.
14. Meiliza, Rika. Pengaruh Pupuk terhadap Optimasi Produksi Padi Sawah di Kabupaten Deli Serdang, Medan. Universitas Sumatera Utara. 2006.
15. Chang TT, Bardenas EA. *The Morphology and Varietal Characteristics of Rice Plant*. 4th ed. Los Banos (PN): International Rice Research Institute (IRRI). 1976.
16. Departemen pertanian, Badan penelitian dan Pengembangan Pertanian, komisi Nasional Plasma Nutfah. Panduan Sistem Karakterisasi dan Evaluasi Tanaman Padi, Bogor : Sekretariat Komisi Nasional Plasma Nutfah. 2003.
17. Anwari. Berbudidaya Tanaman Padi. Kanisisus. Yogyakarta. 1995.
18. Yuliawan, T. Pengaruh Kenaikan Suhu Terhadap Produksi Tanaman Padi Sawah Irigasi dan Tadah Hujan di Indonesia Menggunakan Model Simulasi Pertanian Sheirary Rice Berbasis Sistem Informasi Geografis (SIG). Bogor: IPB. 46 hal.
19. J. B. Harborne and C. A. Williams, *Advances in Flavonoid research since 1992*, *Phytochemistry*, 2012. vol. 55, no. 6, pp. 481–504, 2000.
20. E. Jawetz, J. L. Melnick, and E. A. Adelberg, *Medical Microbiology*. The

- McGraw-Hill Companies, Inc, 2006.
21. Ariami, P., Ddanuyanti, I., Anggraeni, B. R. Efektifitas The Kulit Buah Manggis (*Garcia mangostana* L) sebagai Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Jurnal Teknologi Laboratorium. 2017;3(1)
 22. Sulistyani, N. M. Aktivasi Cairan Kultur 12 Isolat Actnimycetes Terhadap Bakteri Resisten Kesmas. 2013;7(2):55-112.
 23. Bacon, C.W and M.R. Siegel. *Isolation of Biotechnological Organisms from Nature*. Mc Graw-Hill Environment Biotechnology Series. US. 1990 : 259-279.
 24. Nursanty, Risa., Suhartono. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johat (*Cassia siamea* Lamk.). Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi Universitas Syiah Kuala. 2012:4(1)
 25. Hung, PQ., K, Annapurna. *Isolation and characterization of endophytic bacteria insoybean* (GLYCINE sp.). Omonrice. 2004:12:92-101).
 26. Tan, RX dan WX Zou. *Endophytes : a rich source of functional metabolites*. Nat Prod.Rep.2001:18 : 448-459).
 27. Hallmann, J., A. Q. Hallmann, W. F. Mahaffe, J. W. Kloepper. *Bacterial Endophytes in Agricultural Crops*. Can J Microbiol. 43 1997 : 895-914.
 28. Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A., Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan olehMudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 327-335, 362-363, Jakarta : Penerbit Salemba Medika, 2005.
 29. Radji, M, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 107, 118, 201-207, 295, Jakarta, Buku Kedokteran EGC. 2011
 30. Bisen PS. *Microbes in Practice*. New Delhi: I.K. International Publishing House; 2014. 139–155 p.
 31. Madigan MT, Martinko JM, Brock TD. *Brock Biology of Microorganisms*. New Jersey: Pearson Prentice Hall; 2006.

32. Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja. Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya. Edisi Keenam. 262, 269-271. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 2007.
33. Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10. EGC, Jakarta. 2011.
34. 2406 PMKRIN. Permenkes No 1077. Jakarta; 2011.
35. Utami, R. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang. 2012.
36. Depkes RI. Pedoman Informasi Obat Bagi Pengelola Obat di Puskesmas. Jakarta: DepkesRI. 2006.
37. Harborne, J.B. Metode Fitokimia, Edisi ke dua, ITB, Bandung. 1987.
38. Ditjen POM. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. DepKes RI, Jakarta. 2000. Halaman 3-5, 13-17, 30-31.
39. Desti widi novela. Evaluasi Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etil Asetat Dan Metanol Lichen Genus Cladonia. Universitas Andalas; 2020
40. Voight, R. Buku Pengantar Teknologi Farmasi, 572-574, diterjemahkan oleh Soedani, N., Edisi V, Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada Press. 1994.
41. Akmal Djamaan. Konsep Produksi Biopolimer P(3HB) dan P(3HB-ko-3HV) Secara Fermentasi. Andalas University Press. 2011.
42. PF S, A W, SJ H. Principle of Fermentation Technology. 1995
43. Hogg S. Essential Microbiology. Chichester. UK: Jhon Wiley & Sons. 2005
44. Pratiwi. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga. 2008.
45. N. Hidayat, M. Padaga, and S. Suhartini, Mikrobiologi Industri. Yogyakarta: Andi, 2006.
46. Pratiwi, D.A., Sri Maryati, Srikini, dkk. Biologi. Jakarta: Erlangga. 2007.
47. Darmadi. Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya. Jakarta. 2008.

48. Soemarno. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. AAK Yogyakarta DEPKES RI. 2000.
49. Rubiyanto D. Metode Kromatografi Prinsip Dasar, Praktikum, Pendekatan Pembelajaran Kromatografi. Yogyakarta: Deepublish; 2017.
50. Leba MAU. Ekstraksi dan Real Kromatografi. Yogyakarta: Deepublish; 2017.
51. Hamdiyati Y. Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.2011.
52. Jawetz et al., *Medical Microbiology*. 24th ed. North America: Lange Medical book.2008.
53. Irianto, Koes Bakteriologi, Mikologi, dan Virologi. Panduan Medis dan Klinis. Bandung: Penerbit Alfabeta.2014.
54. Sulistyو. Farmakologi dan Terapi. Yogyakarta: Penerbit EKG. 1971.
55. Ariami, P., Ddanuyanti, I., Anggraeni, B. R. Efektifitas The Kulit Buah Manggis (*Garcia mangostana* L) sebagai Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Jurnal Teknologi Laboratorium. 2017;3(1)
56. Martiansyah, Irfan. Optimasi prosedur sterilisasi permukaan eksplanstek mikro karet(*Hevea brasiliensis*Muell. Arg). Menara Perkebunan. 2013; 81(1):9-14.
57. Lestari K., Agustien A., Djamaan A. *The Potential of Endophytic Fungi Isolated from Leaves, Stems, Mangrove Roots Avicennia marina as a Producer of Antibiotics*. Jurnal Metamorfosa. 2019. 6(1) : 83-89
58. Harborne J. B. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Padmawinata K, Soediro I, editors. Bandung: ITB; 1987.
59. Saptarini NM, Herawati IE, Permatasari UY. *Total Flavonoids Content in Acidified Extract of Flowers and Leaves of Gardenia* (*Gardenia jasminoides* Ellis). Asian J Pharm Clin Res. 2016;9.

60. Jones WP, Kinghorn AD. *Extraction of Plant Secondary Metabolites*. Nat Prod Isol. 2006.
61. Indonesia DKR. Farmakope Indonesia Edisi Keempat. Empat. Jakarta; 1995.
62. Simes JJ., Tracey J., Webb L., Dunstan W. *Saponin in Eastern Australian Flowering Plants*. Melbourne: CSIRO; 1959.
63. Strobel, G. dan Daisy, B. 2003. *Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products*. American Society of Microbiology 67(4): 491-502.
64. Valera, M.C.,K. et al. *Antimicrobial Actifity of Sodium Hypochlorite Associated with Intracanal Medication for Candida albicans and enterococcus faecalis inoculated In Root Canals*. Journal Applied Oral Science. 17(6): 555-559. 2008.
65. Suhartina, Febby E.F et al. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku Asplenium nidus*. Jurnal MIPA UNSRAT. 7 (2) 24-28. 2018.
66. Kumala. *Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi*. Jakarta : ISFI. 2014.
67. Suhartini. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta. 2006.
68. Kusmiati, R. Swasono, Tamat, J. Eddy dan I. Ria. *Produksi Glukan dari dua Galur Agrobacterium sp. pada Media Mengandung Kombinasi Molases dan Urasil*. Biodiversitas. 2007. 8(1):123-129.
69. Rahmi. D. *Isolasi Mikroba Endofit dari Tanaman Mangrove Rhizophora apiculata Blume dan Uji Aktivitas Antimikroba*. Universitas Andalas; 2020.
70. D. P. Madigan, M.T., Martinko, J. M., Stahl, D., dan Clark. *Brock Biology of Microorganisms* (13th Edition). New York: 2012.
71. Gunarti N sri, Utari F. *Uji Aktifitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah*. J Farmasetiss. 2018;7:39-41.
72. Pradipta VI. *Penggunaan Medi Berbasis Jagung (Zea mays L.) Untuk Pengkulturan Bakteri Bacillus sp. ITPJ 24 Penghasil Antibiotik*. Universitas Dharma Andalas; 2021.
73. Alen Y, Agresa FL, Yuliandra Y. *Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)*

dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *J Sains Farm Klin.* 2017;3(2):146.

74. Handayani, Ekowati, dan Pakpahan. Karakterisasi Fisiologi dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung, 2013.

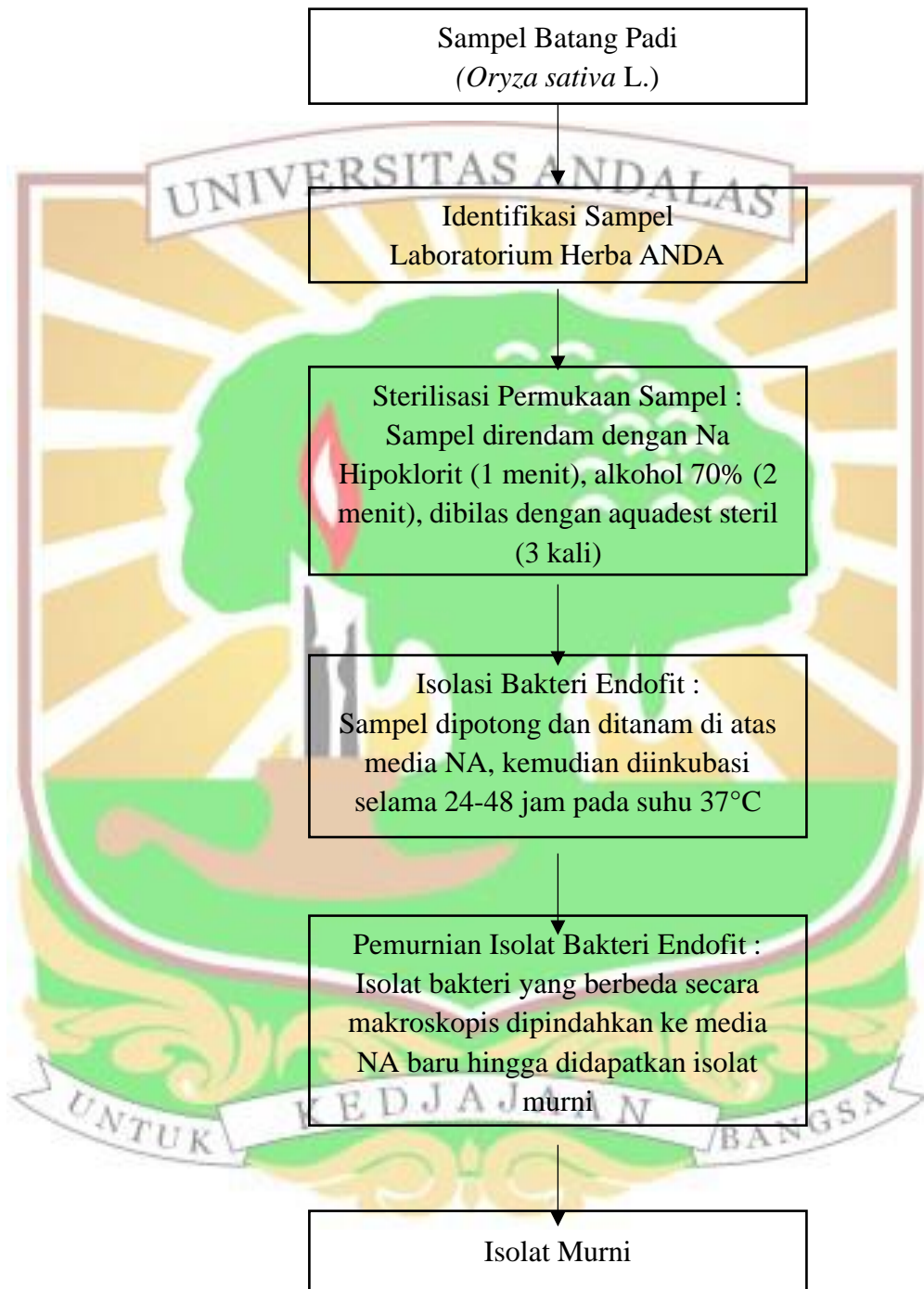
75. Mustamin HA, Larasati RP, Sumada K. Studi Kesesuaian Mikroorganismes pada Pengolahan Limbah Cair Industri. *J Chem Process Eng.* 2020;01:45–52.

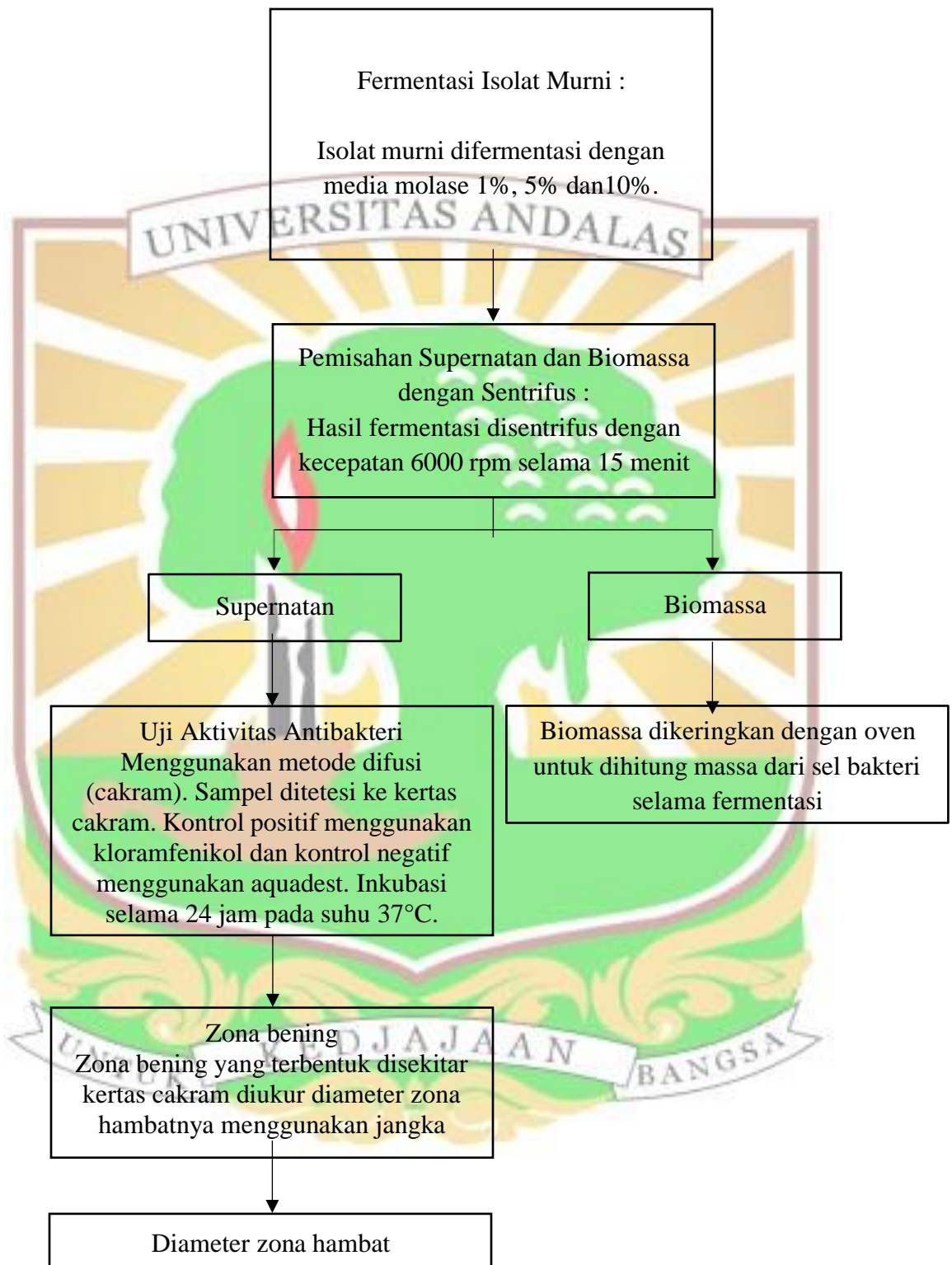
76. Supartono S, Wijayati N, Herlina L, Ratnaningsih E. Produksi Antibiotika oleh *Bacillus subtilis* M10 dalam Media Urea-Sorbitol. *Reaktor.* 2011;13(3):185.

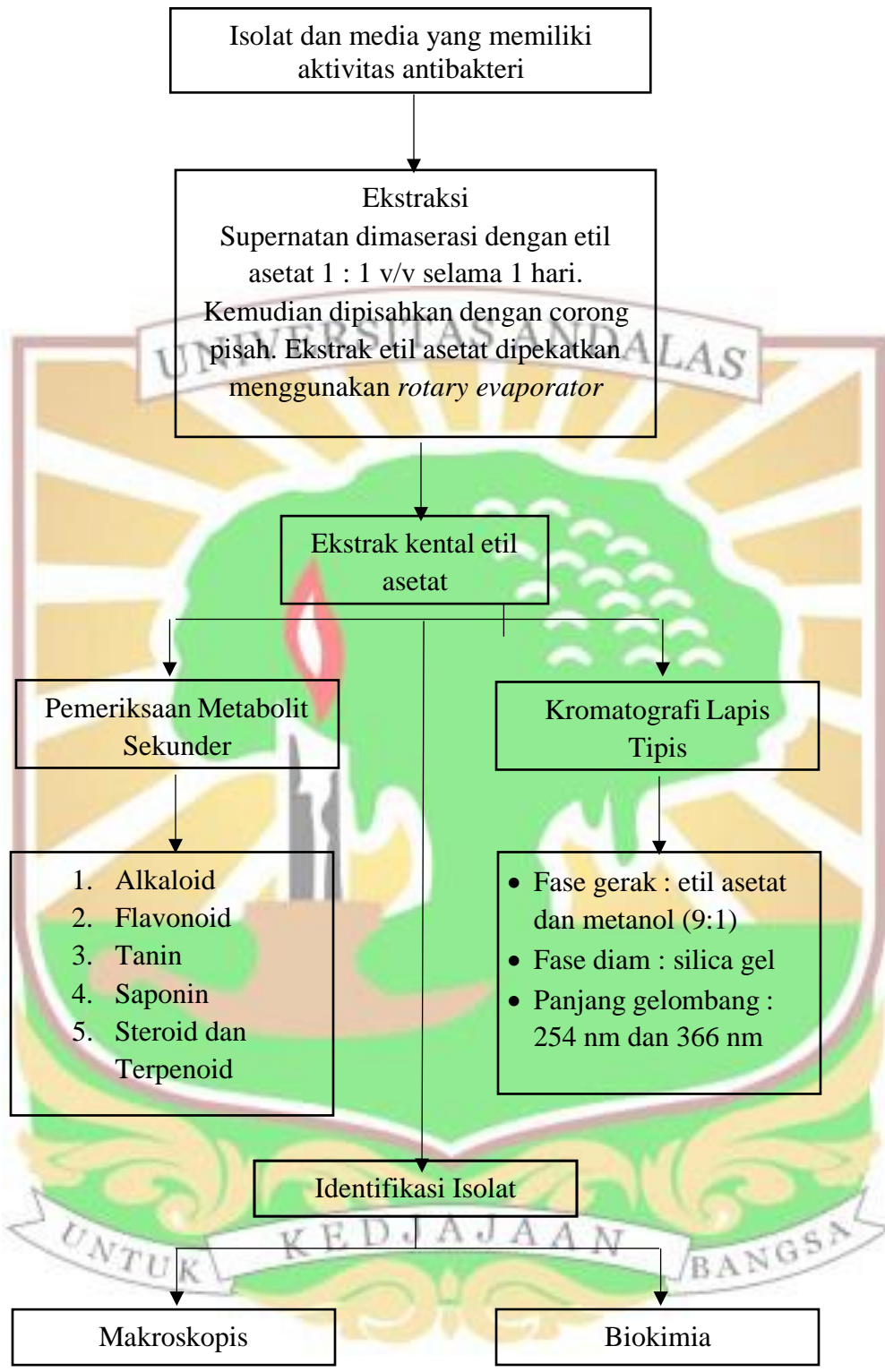


LAMPIRAN


Lampiran 1. Skema Kerja







Lampiran 2. Hasil Identifikasi Sampel

 **HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)**
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 067/K-ID/ANDA/1/2021
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Fuji Hafifah
Di
Tempat

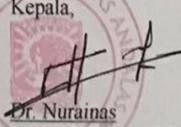
Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

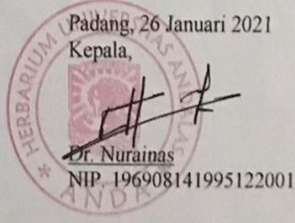
Nama : Fuji Hafifah
No. BP : 1711013008
Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Poaceae	<i>Oryza sativa</i> L.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 26 Januari 2021
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001



**Lampiran 3. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Batang Padi (*Oryza sativa* L.)
Secara Biokimia**



**KEMENTERIAN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN
BALAI VETERINER BUKITTINGGI**

Jl. Raya Bukittinggi - Piyakumbuh Km. 14 Sasao PO BOX 35
 Telepon : (0752) 28300 PAKSIBILLI : (0752) 28290
 E-Mail : bapr2_bukittinggi@yahoo.co.id

E-Mail : infovetbuktittinggi@gmail.com
 Website : vetbuktittinggi@jemberak.deptan.go.id

No. Surat : 3402 /PK.310/F4B.1/08/2021
 Lampiran :
 Perihal : Hasil Uji Laboratorium
 Tgl Kirim / No : 20 Agustus 2021 /0
 Tgl Terima : 20 Agustus 2021
 No EPI : P02210530
 Jenis Layanan : Penelitian
 Input Data : DANIEL FAIZAL

KEPADA YTH:
FUJI AFIFAH
Jl. Melayu Atas Nagari Saraso Kec. Tanjung Emas Kab. Tanah Datar.
Batusangkar

Hasil uji										
No	Kecamatan	Dosa	Pemilik	Lab Uji	Jenis Uji	Jum	Pos	Neg	Serot	Sero- Latanya
1.				Bakteriologi	Identifikasi Bakteri	7	0	0	0	0

Catatan:
 ACHROMOBACTER SP (BACILLUS SP 1 (1))
 BACILLUS SP 2 (1)
 BACILLUS SP 3 (1)



BALAI VETERINER BUKITTINGGI
 Kepala Balai
Dr. YUL FITRIA, M. Biomed
 NIP. 19750712 200112 2 001

Bukittinggi, 31 Agustus 2021
 Mengetes Teknis,

Dr. BUDI SANTOSA
 NIP. 19720113 200501 1 001

Tembusan :
 1. Direktur Kesehatan Hewan di Jakarta
 2. Arsip

Sertifikat Hasil Pengujian ini tidak boleh dipergunakan kecuali dengan persetujuan laboratorium

ERATINO SENTRA 0823 8671 3099 AKTIF 24 JAM	PENYERAPAN SAMPEL 0823 8400 4899 AKTIF 24 JAM	SINDHARA PRAP 0823 8323 8471 AKTIF 24 JAM	SATPAK 0823 8671 3099 AKTIF 24 JAM
--	---	---	--

Lampiran Hasil Pengujian No Epi.P02210539

No	Kode Sampel	Pemilik	Kabupaten/Kota	Kecamatan	Desa	Hasil Uji Identifikasi Bakteri			
						Achromobacter sp	Bacillus sp 1	Bacillus sp 2	Bacillus sp 3
1	Isolat 1	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso	Positif			
2	Isolat 2	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso	Positif			
3	Isolat 3	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso	Positif			
4	Isolat 4	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso		Positif		
5	Isolat 5	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso			Positif	
6	Isolat 6	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso			Positif	
7	Isolat 7	Fuji Hafifah	Tanah Datar	Tanjung Emas	Saruaso				Positif

Tanggal selesai pengujian : 26/08/2021



**LABORATORIUM PENGUJI
BALAI PENYIDIKAN DAN PENGUJIAN
VETERINER REGIONAL II BUKITTINGGI**

Form 4.6

No Agenda : 639
Tanggal Terima :
Tanggal Selesai :

Lampiran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Bakteriologi

No	Perlakuan	Koloni yang diproses						NA Kat Fuji 7
		NA Fuji 1	NA Fuji 2	NA Fuji 3	NA Fuji 4	NA Fuji 5	NA Fuji 6	
1	Blood Agar (BA)							
2	Mec Conkey Agar							
3	Koloni (Warna, Bentuk, Sifat)		putih	/				
4	Hemolysis							
5	Gram (Morfologi, Spora dll)	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
6	Aerob/Anaerob	A	A	A	A	A	A	A
7	TSIA	M/M	M/M	M/M	M/M	M/K	NA	V/E
8	Gas	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
9	H ₂ S	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
10	Catalase							
11	Oxidase	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
12	Motilitas	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
13	Indol	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
14	Urea	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
15	Citrat	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
16	Laktosa	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
17	Glukosa	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
18	Sukrosa	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
19	Mannitol	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
20	MR	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
21	VP	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
22	OF	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
23	KCN	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
24	Arginine	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
25	Lysin	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
26	Ornithin	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
27	Phenylalanin	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
28	Aesculin	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
29	Arabinose	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
30	Raffinose	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
31	Sorbitol	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
32	Trehalose	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
33	Xylose	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
34	Dulcitol	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
35	Malonat broth	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
36	Nitrat	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
37	Geletin	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Penyelia Bakteriologi
Paw 7
Muk 7
Ident 7 dent (35)
Pul 149

Achromobacter sp.
Bacillus sp.
Bacillus sp.
Halaman 2 dari
Peleksana
1. Muller
2.

Lampiran 4. Data-data Hasil Penelitian

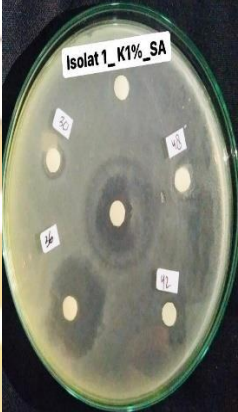
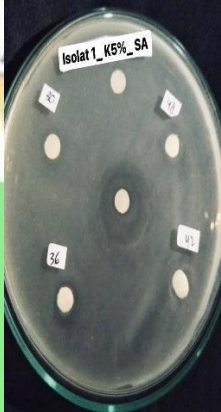
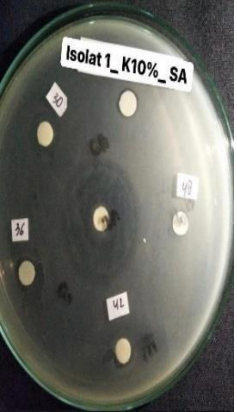
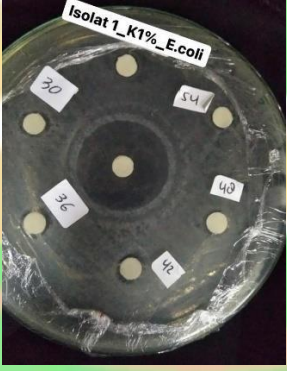
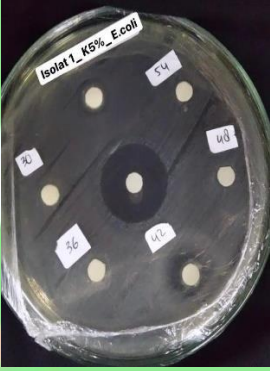
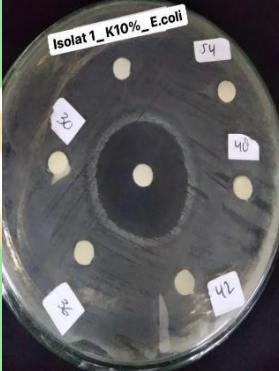
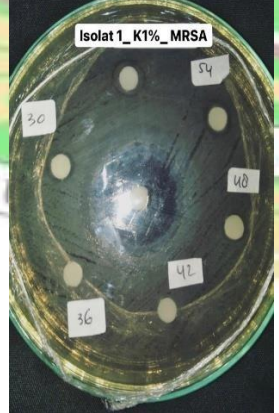
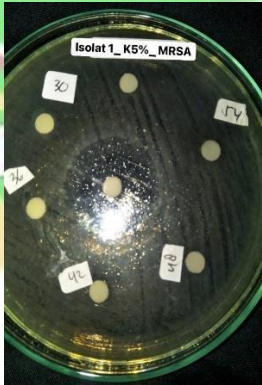

Tabel 12. Hasil Uji Aktivitas Semua Isolat Bakteri Endofit Batang Padi
(*Oryza sativa* L.)

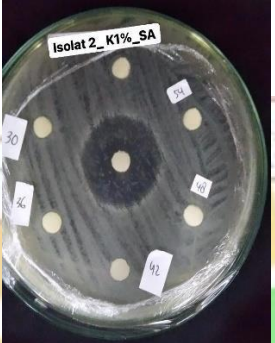
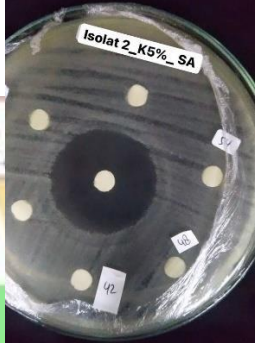
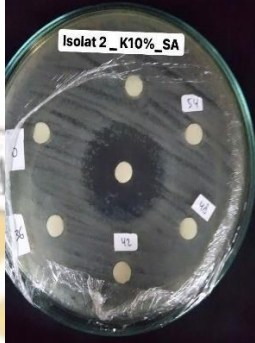
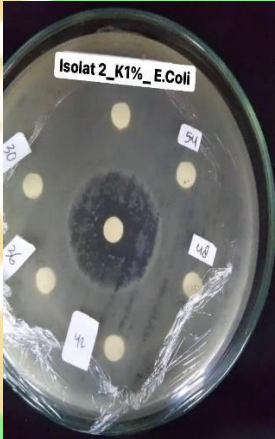
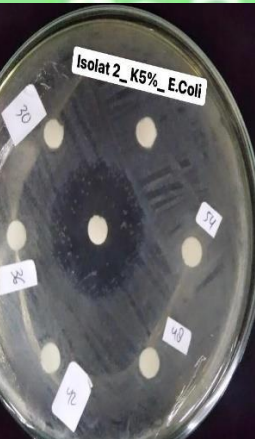




Bakteri uji	Media Fermentasi	Waktu pengkulturan (jam)	Rata-rata diameter hambat (mm) ± standar deviasi (STD)						
			Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6	Isolat 7
SA	Molase 1%	30	8,34	0,00	9,76	8,40	0,00	0,00	7,84
			±	±	±	±	±	±	±
		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
		36	18,50	0,00	6,16	0,00	0,00	0,00	0,00
			±	±	±	±	±	±	±
		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	42	9,06	0,00	6,01	23,34	0,00	0,00	0,00	
		±	±	±	±	±	±	±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	48	8,79	0,00	9,62	0,00	0,00	0,00	0,00	
		±	±	±	±	±	±	±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	54	0,00	0,00	6,64	0,00	0,00	0,00	0,00	
		±	±	±	±	±	±	±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	Molase 5%	30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
			±	±	±	±	±	±	±
		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
36		7,71	0,00	0,00	0,00	0,00	7,78	0,00	
		±	±	±	±	±	±	±	
0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
42	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00	0,00	0,00		
	±	±	±	±	±	±	±		
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
48	6,96	0,00	0,00	6,10	0,00	0,00	0,00		
	±	±	±	±	±	±	±		
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
54	7,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	±	±	±	±	±	±	±		
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
Molase 10%	30	6,66	6,60	6,41	0,00	0,00	0,00	0,00	
		±	±	±	±	±	±	±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	36	6,25	6,96	7,82	0,00	0,00	0,00	7,49	
		±	±	±	±	±	±	±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
42	0,00	6,05	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	±	±	±	±	±	±	±		
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			


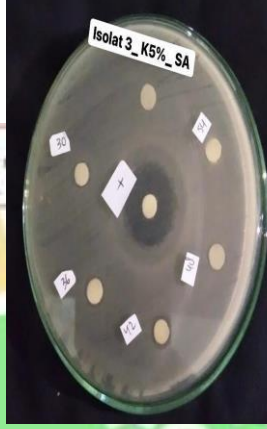
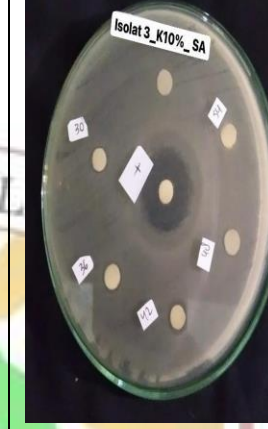

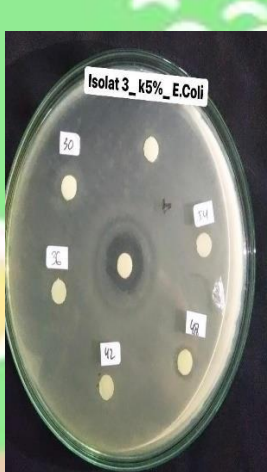
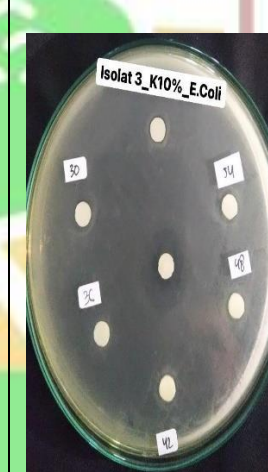

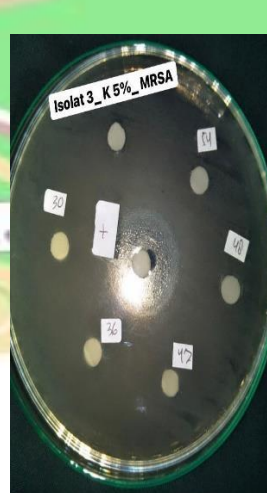

		48	0,00 ± 0,00	6,45 ± 0,00	7,28 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,38 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		54	0,00 ± 0,00	7,23 ± 0,00	7,57 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,49 ± 0,00	
<i>E.Coli</i>	Molase 1%	30	7,72 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,80 ± 0,00	
		36	9,25 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		42	7,38 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		48	6,78 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		54	7,59 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
	Molase 5%	30	7,29 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,99 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,90 ± 0,00	
		36	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,75 ± 0,00	
		42	11,79 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,08 ± 0,00	
		48	7,89 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,25 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		54	6,68 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,23 ± 0,00	8,33 ± 0,00	7,13 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,18 ± 0,00	
	Molase 10%	30	7,73 ± 0,00	6,96 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,44 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,61 ± 0,00	
		36	6,05 ± 0,00	6,89 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
		42	6,06 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,90 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,04 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,04 ± 0,00	
		48	7,41 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,53 ± 0,00	

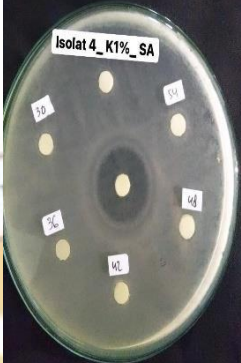
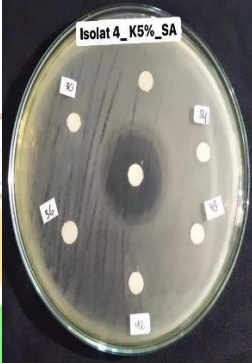
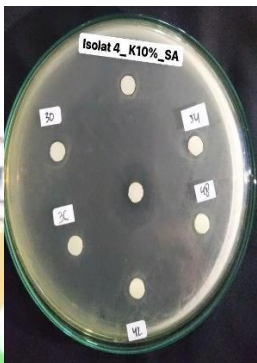
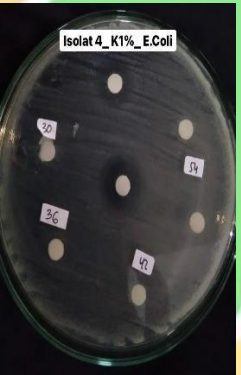
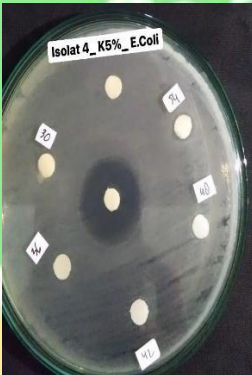

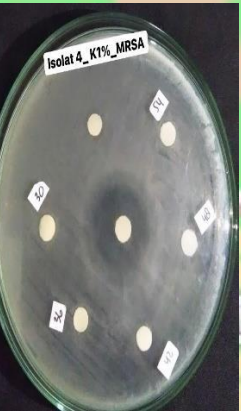

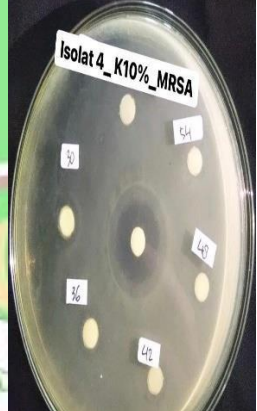
			0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,56 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,77 ± 0,00
MRSA	Molase 1%	30	8,65 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,97 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		36	6,23 ± 0,00	7,82 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,77 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		48	8,39 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,90 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	Molase 5%	30	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		36	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,23 ± 0,00	7,13 ± 0,00
		48	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,90 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		48	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,85 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	Molase 10%	30	7,21 ± 0,00	0,00 ± 0,00	6,57 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,20 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,06 ± 0,00
		36	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,48 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		48	8,42 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,62 ± 0,00
		48	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		54	6,86 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,33 ± 0,00

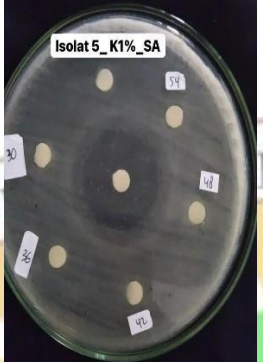
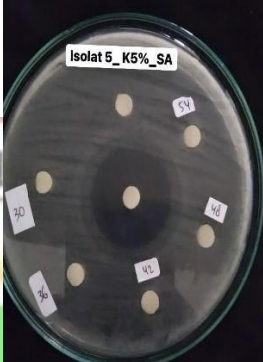

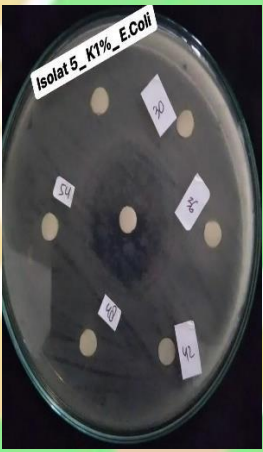


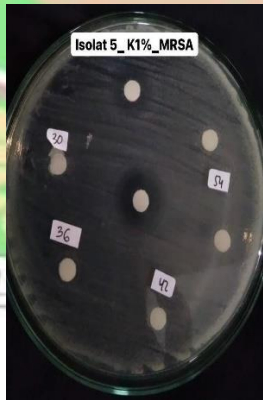

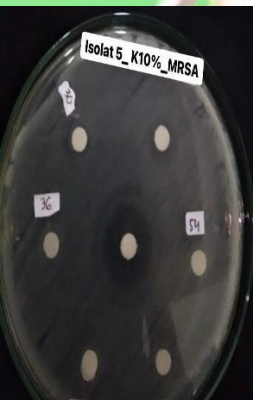
Tabel 13. Foto Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Batang Padi (*Oryza sativa* L.)


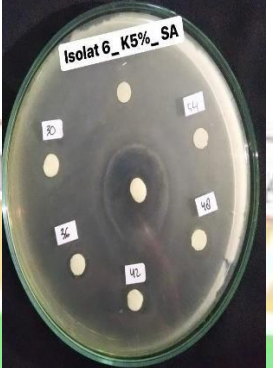
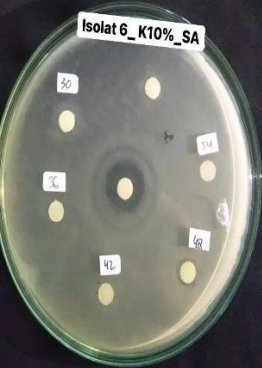
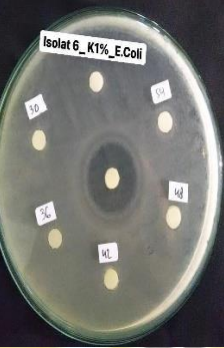
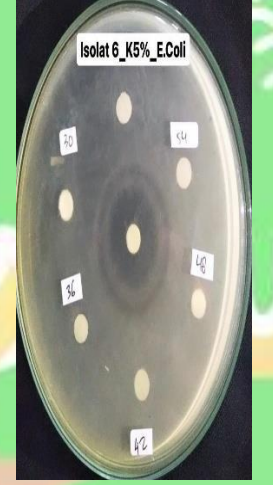

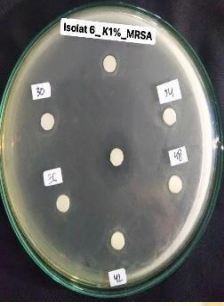
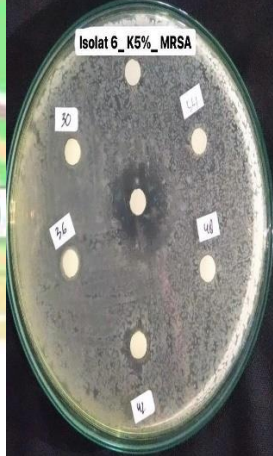

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 1	SA			
	E.Coli			
	MRSA			

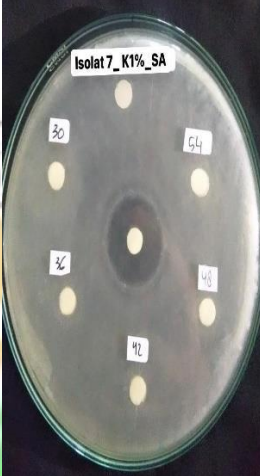
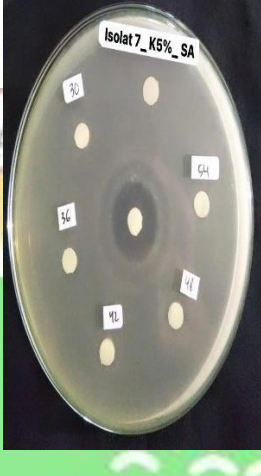
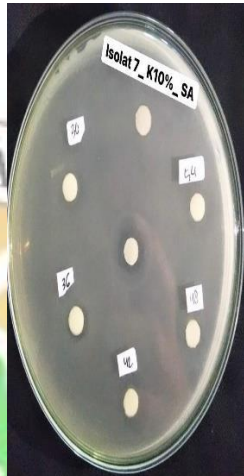

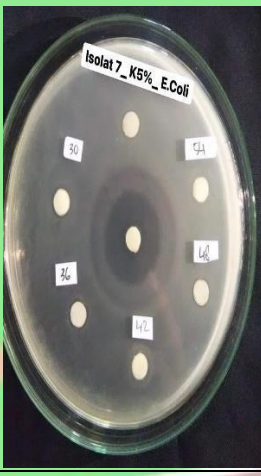
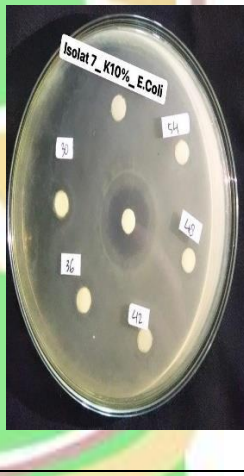
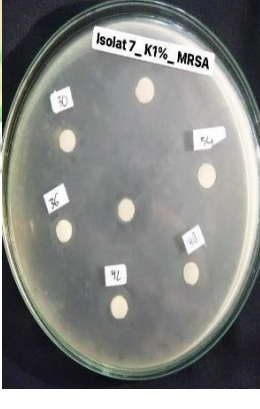
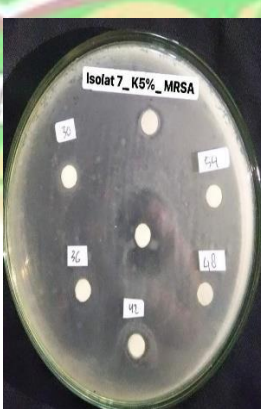
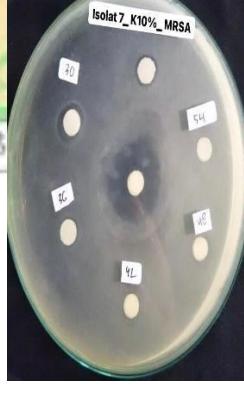
Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 2	SA			
	E.Coli			
	MRSA			

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 3	SA			
	<i>E.Coli</i>			
	MRSA			

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 4	SA			
	<i>E. Coli</i>			
	MRSA			

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 5	SA			
	<i>E.Coli</i>			
	MRSA			

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 6	SA			
	<i>E. Coli</i>			
	MRSA			

Isolat	Bakteri Uji	Hasil Uji Aktivitas		
Isolat 7	SA			
	<i>E. Coli</i>			
	MRSA			

Tabel 14. Nilai Absorban Fermentasi Bakteri Endofit Batang Padi (*Oryza sativa* L.)

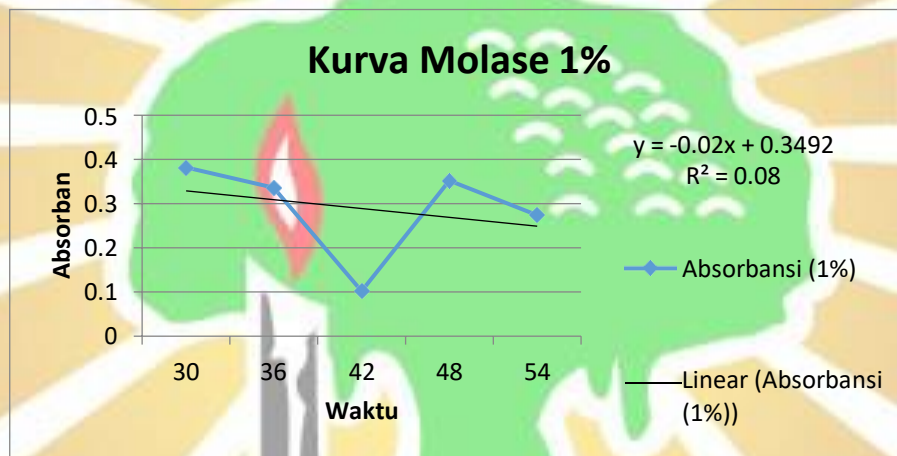
Waktu Pengkulturan (jam)	Media Fermentasi	Isolasi Bakteri Endofit						
		Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6	Isolat 7
30	Molase 1%	0,382	0,427	0,427	0,297	0,007	0,112	0,441
	Molase 5%	1,088	0,656	0,663	0,720	0,888	0,696	1,309
	Molase 10%	1,545	0,308	0,322	1,00	0,630	1,001	1,863
36	Molase 1%	0,336	0,382	0,371	0,875	0,003	0,192	0,493
	Molase 5%	1,364	0,604	0,610	1,436	1,047	0,690	1,486
	Molase 10%	1,674	0,261	0,278	1,720	0,593	1,108	1,853
42	Molase 1%	0,102	0,143	0,206	0,400	0,230	0,302	0,289
	Molase 5%	1,294	0,436	0,468	0,936	0,730	0,668	1,379
	Molase 10%	1,689	0,773	0,813	1,257	1,213	0,954	1,767
48	Molase 1%	0,352	0,303	0,340	0,178	0,018	0,445	0,482
	Molase 5%	1,303	0,589	0,547	0,690	0,644	1,008	1,412
	Molase 10%	1,715	0,878	0,298	0,897	1,003	1,389	1,876
54	Molase 1%	0,274	0,285	0,319	0,063	0,030	0,433	0,559
	Molase 5%	1,416	0,592	0,552	0,592	0,579	1,091	1,439
	Molase 10%	1,735	0,868	0,202	0,806	0,918	1,380	1,994



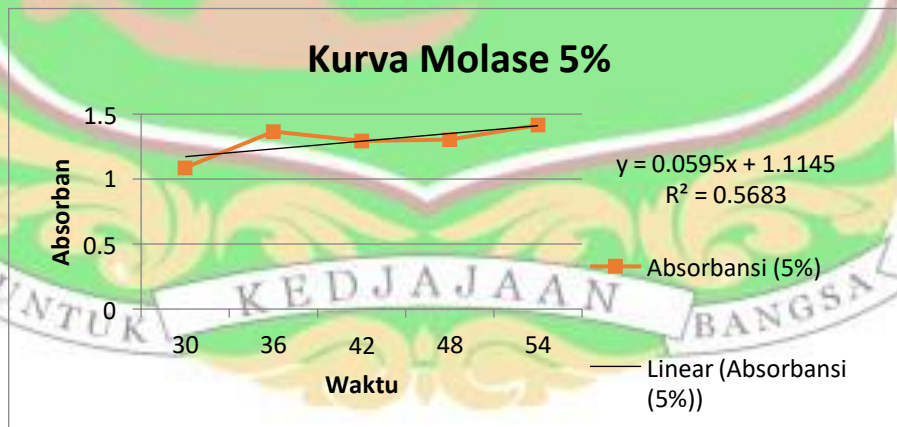
1. Isolat 1

Tabel 3. Nilai Absorban Isolat 1

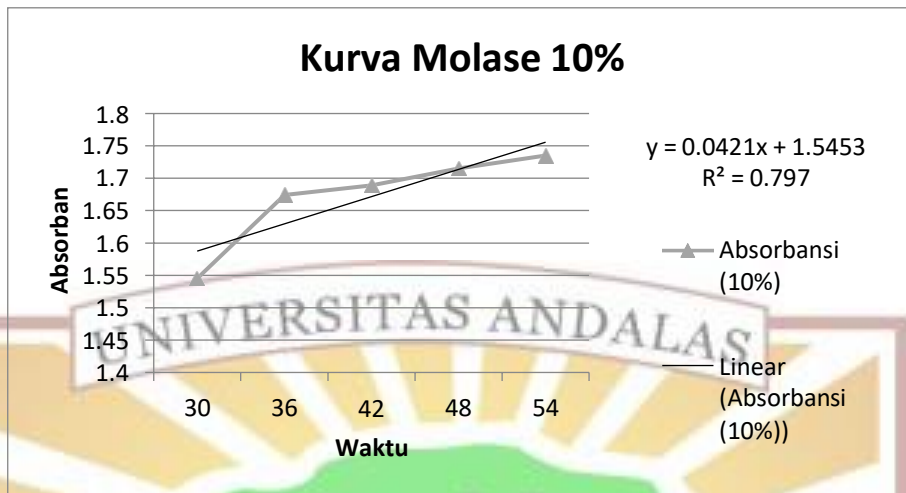
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.382	1.088	1.545
36	0.336	1.364	1.674
42	0.102	1.294	1.689
48	0.352	1.303	1.715
54	0.274	1.416	1.735



Gambar 5. Kurva Molase 1% Isolat 1



Gambar 6. Kurva Molase 5% Isolat 1

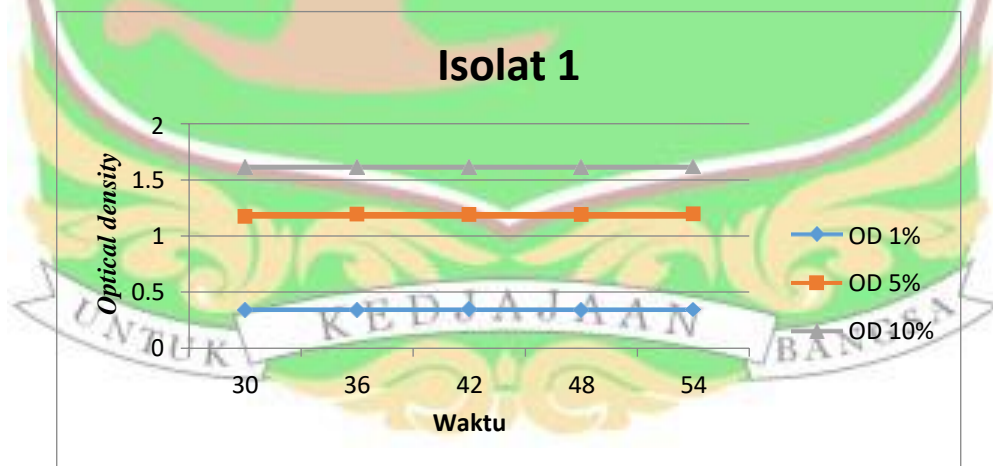


Gambar 7. Kurva Molase 10%

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 4. Nilai OD Isolat 1

Pengkulturan	OD 1%	OD 5%	OD 10%
30	0.341	1.173	1.609
36	0.342	1.194	1.615
42	0.346	1.19	1.616
48	0.341	1.191	1.617
54	0.343	1.197	1.618

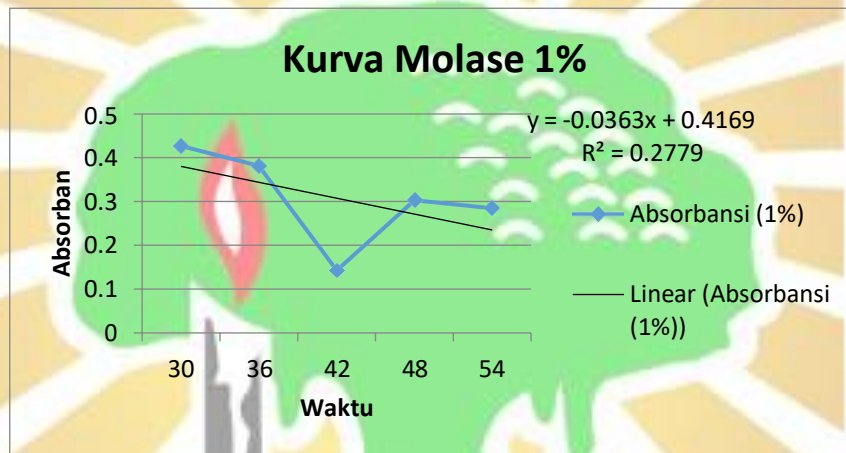


Gambar 8. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 1

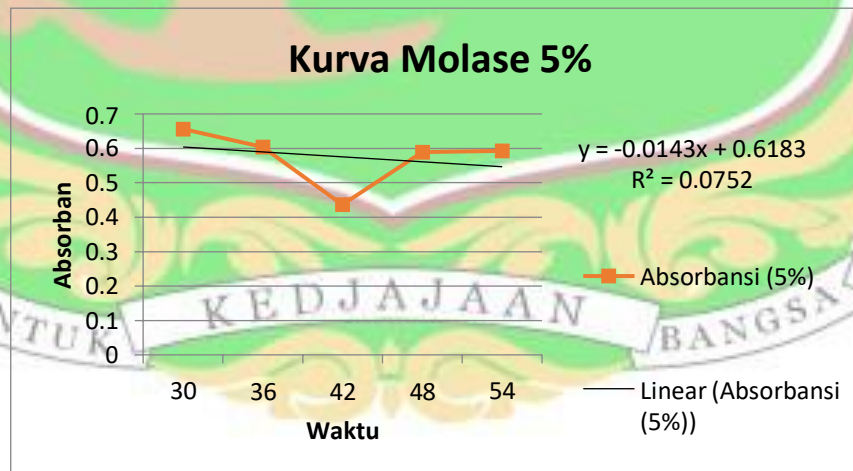
2. Isolat 2

Tabel 15. Nilai Absorban Isolat 2

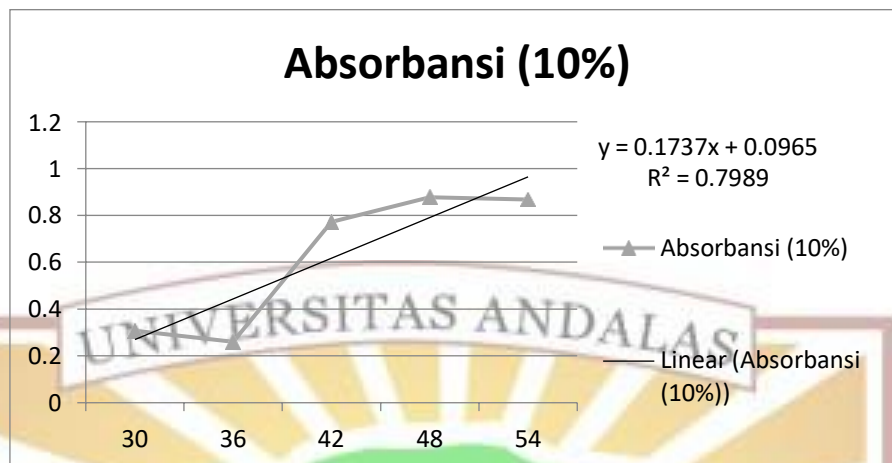
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.427	0.656	0.308
36	0.382	0.604	0.261
42	0.143	0.436	0.773
48	0.303	0.589	0.878
54	0.285	0.592	0.868



Gambar 23. Kurva Molase 1% Isolat 2



Gambar 24. Kurva Molase 5% Isolat 2

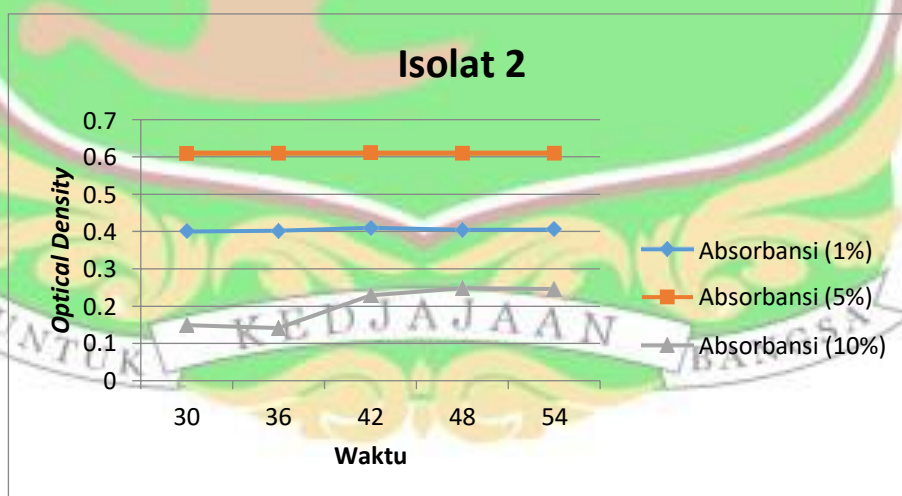


Gambar 25. Kurva Molase 10% Isolat 2

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 16. Nilai OD Isolat 2

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.4	0.609	0.149
36	0.402	0.61	0.141
42	0.41	0.612	0.229
48	0.405	0.61	0.248
54	0.406	0.61	0.246

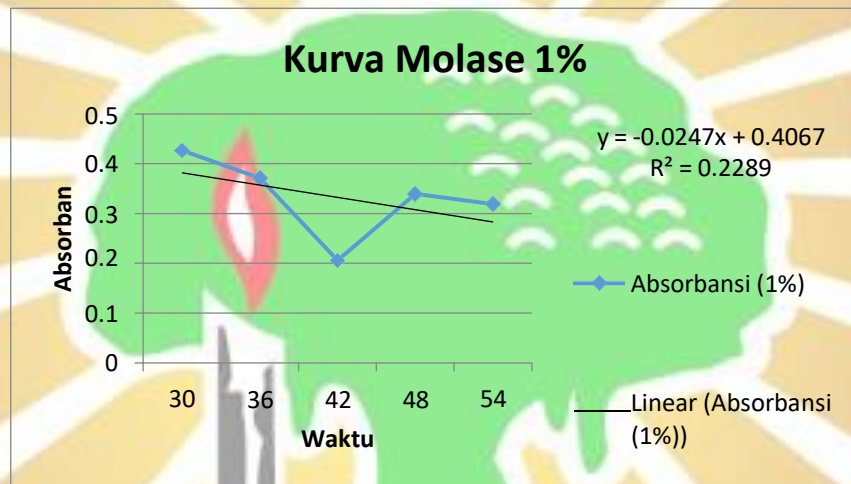


Gambar 26. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 2

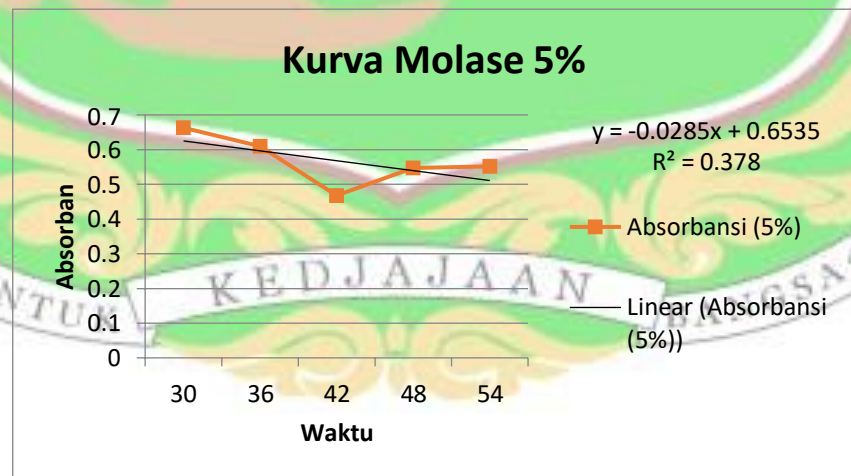
3. Isolat 3

Tabel 17. Nilai Absorban Isolat 3

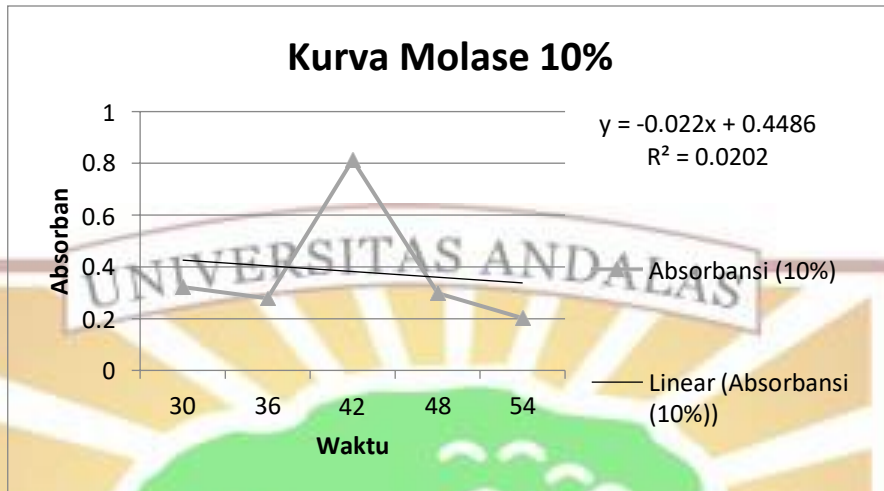
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.427	0.663	0.322
36	0.371	0.61	0.278
42	0.206	0.468	0.813
48	0.34	0.547	0.298
54	0.319	0.552	0.202



Gambar 27. Kurva Molase 1% Isolat 3



Gambar 28. Kurva Molase 5% Isolat 3

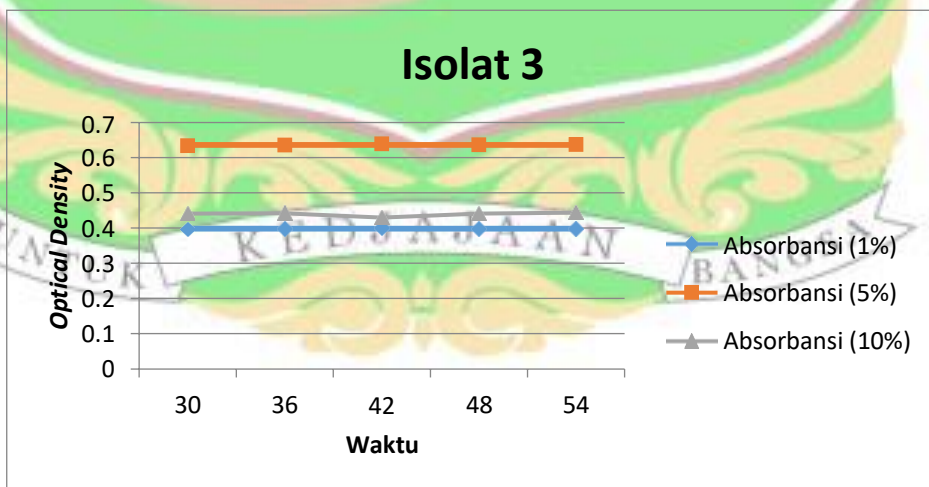


Gambar 29. Kurva Molase 10% Isolat 3

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 18. Nilai OD Isolat 3

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.396	0.634	0.441
36	0.397	0.636	0.442
42	0.401	0.639	0.43
48	0.398	0.637	0.441
54	0.398	0.638	0.444

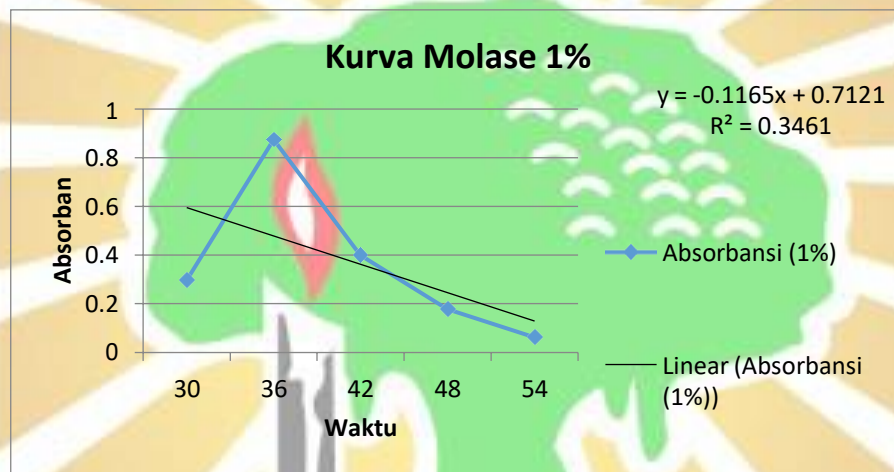


Gambar 30. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 3

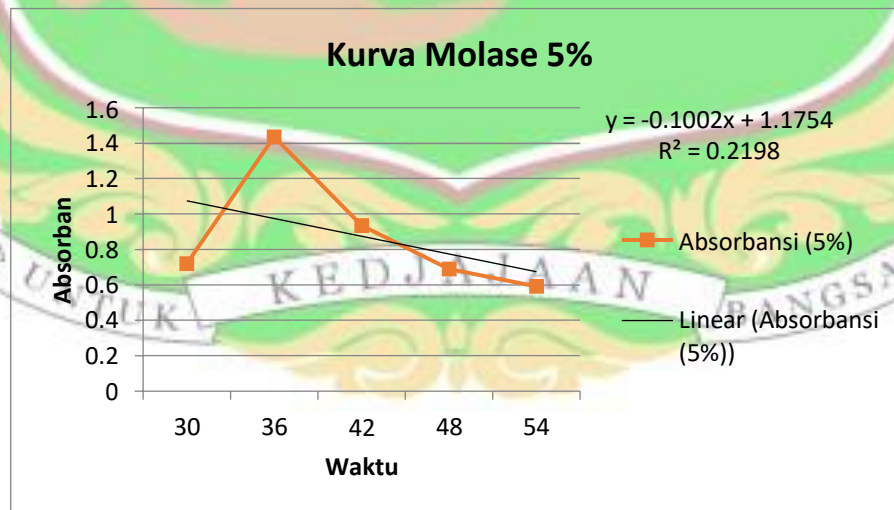
4. Isolat 4

Tabel 5. Nilai Absorban Isolat 4

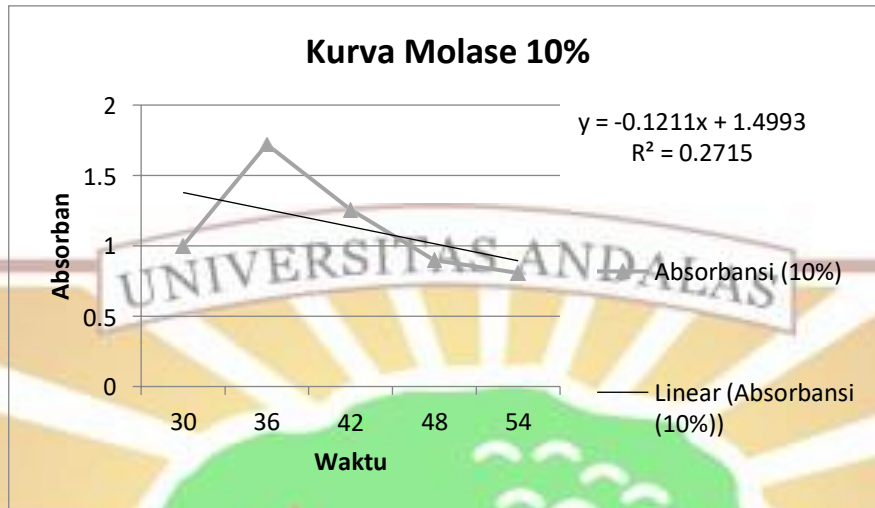
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.297	0.72	1
36	0.875	1.436	1.72
42	0.4	0.936	1.257
48	0.178	0.69	0.897
54	0.063	0.592	0.806



Gambar 9. Kurva Molase 1% Isolat 4



Gambar 10. Kurva Molase 5% Isolat 4

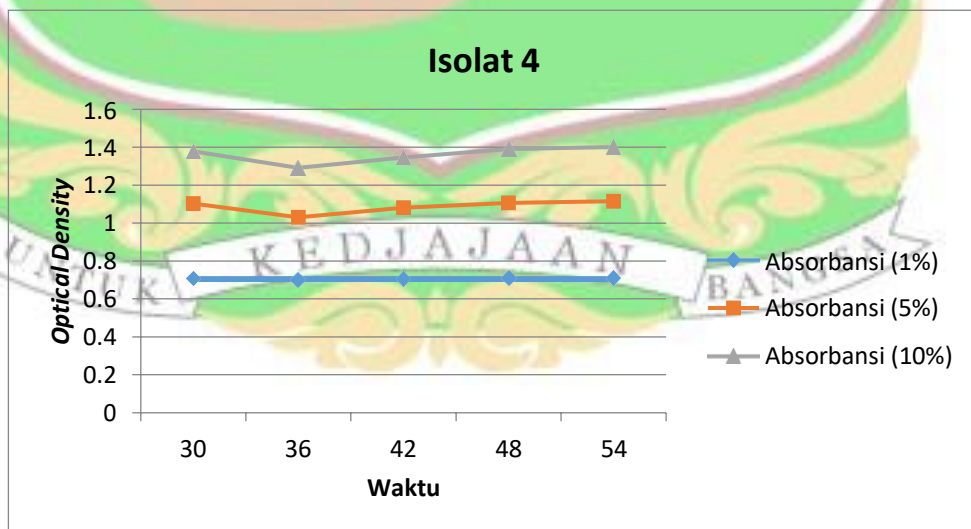


Gambar 11. Kurva Molase 5% Isolat 4

- Nilai *Optical Density* (OD)

Gambar 6. Nilai OD Isolat 4

Pengkulturaran	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.709	1.103	1.378
36	0.701	1.031	1.291
42	0.707	1.081	1.347
48	0.71	1.106	1.39
54	0.711	1.116	1.401

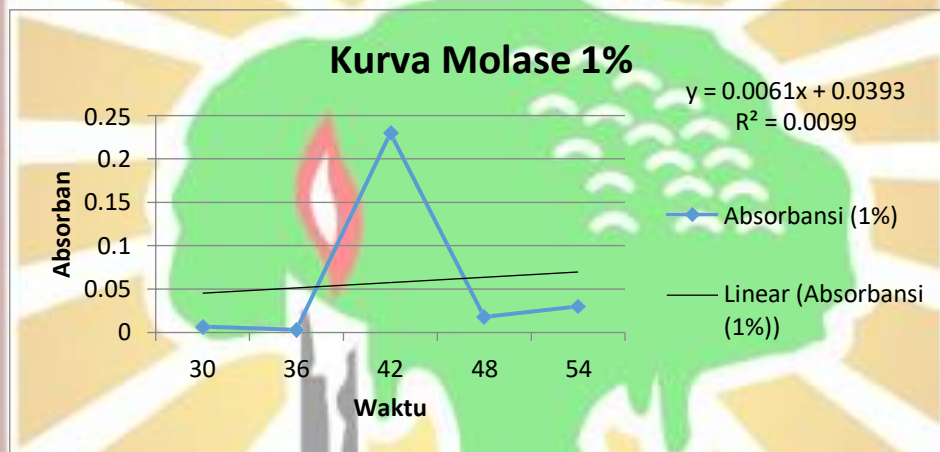


Gambar 12. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 4

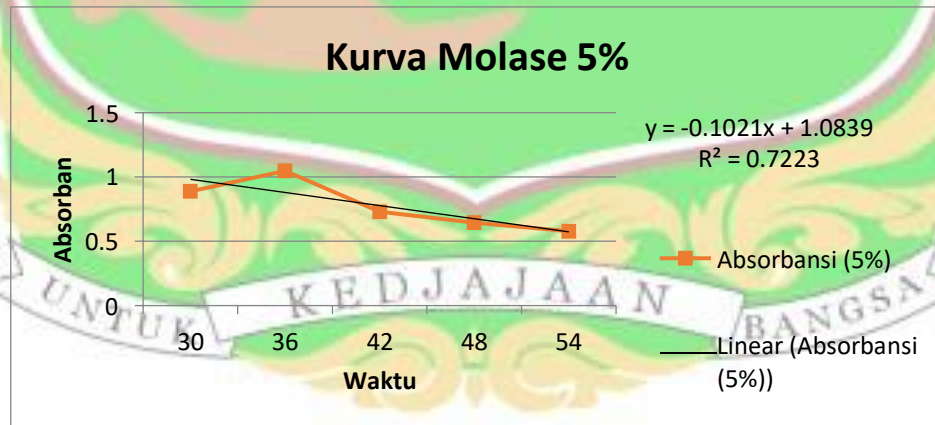
5. Isolat 5

Tabel 19. Nilai Absorban Isolat 5

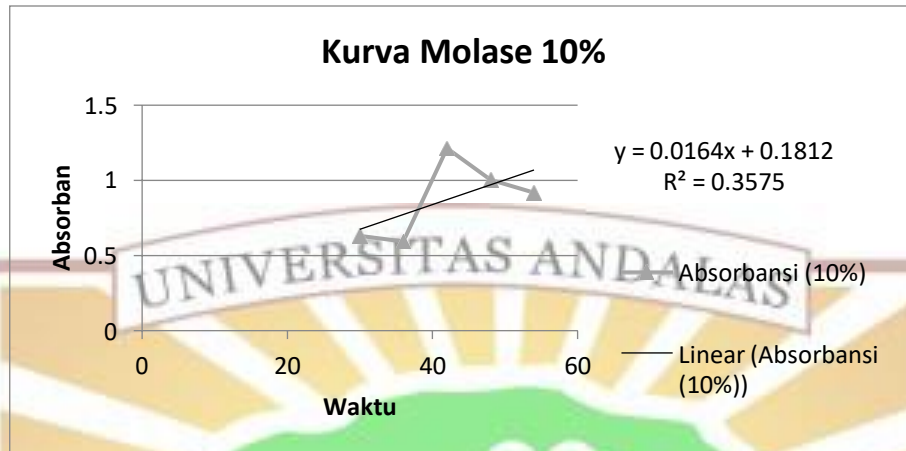
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.007	0.888	0.63
36	0.003	1.047	0.593
42	0.23	0.73	1.213
48	0.018	0.644	1.003
54	0.03	0.579	0.918



Gambar 31. Kurva Molase 1% Isolat 5



Gambar 32. Kurva Molase 5% Isolat 5

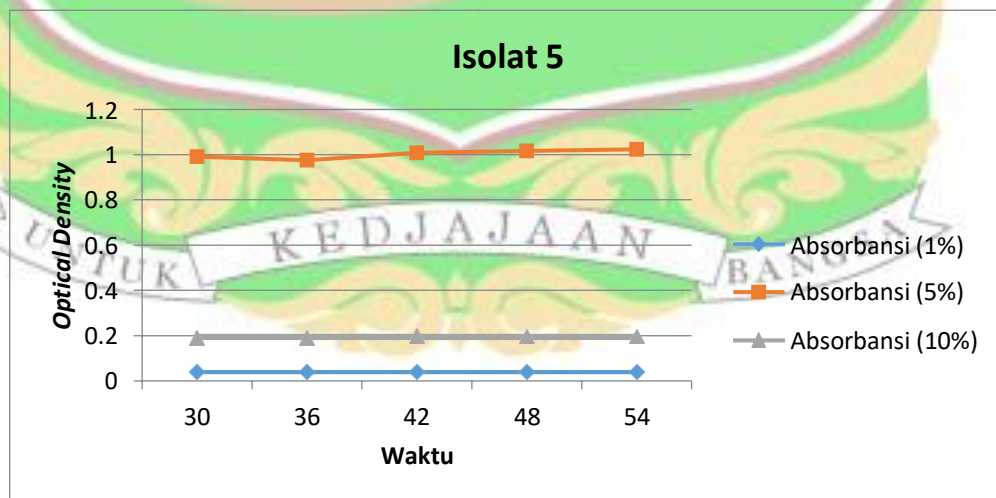


Gambar 33. Kurva Molase 10% Isolat 5

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 20. Nilai OD Isolat 5

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.039	0.992	0.191
36	0.039	0.976	0.19
42	0.04	1.009	0.2
48	0.039	1.017	0.197
54	0.039	1.024	0.196

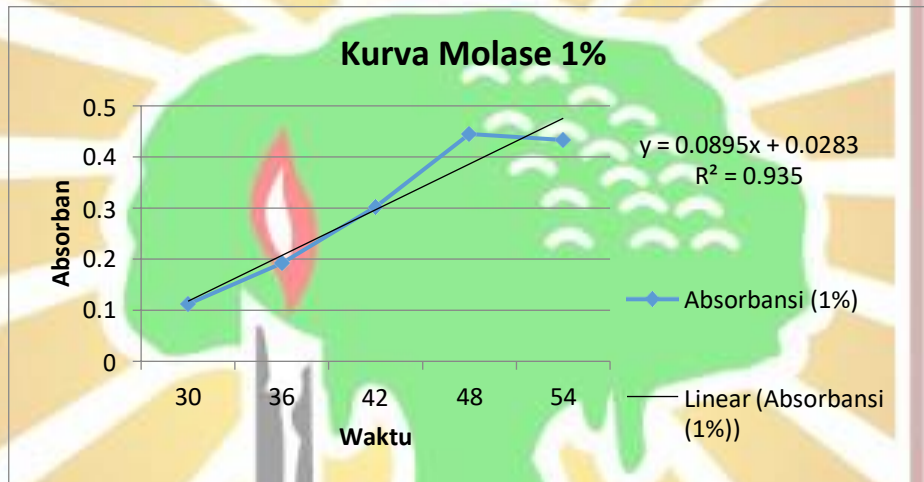


Gambar 34. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 5

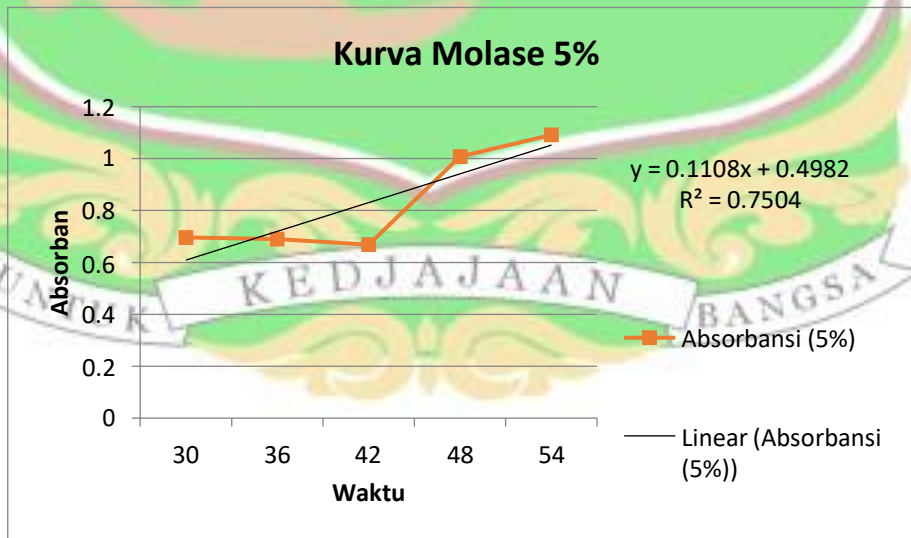
6. Isolat 6

Tabel 21. Nilai Absorban Isolat 6

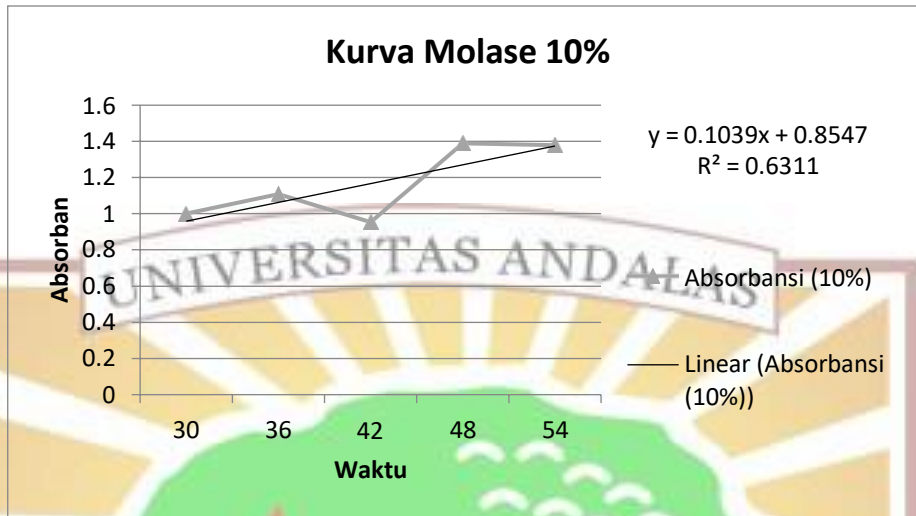
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.112	0.696	1.001
36	0.192	0.69	1.108
42	0.302	0.668	0.954
48	0.445	1.008	1.389
54	0.433	1.091	1.38



Gambar 35. Kurva Molasse 1% Isolat 6



Gambar 36. Kurva Molase 5% Isolat 6

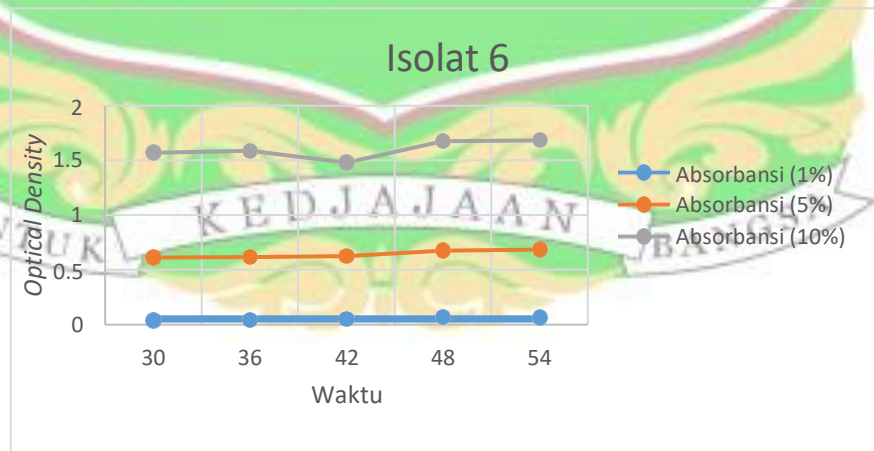


Gambar 37. Kurva Molase 10% Isolat 6

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 22. Nilai OD Isolat 6

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0,038	0,575	0,958
36	0,045	0,574	0,969
42	0,055	0,572	0,854
48	0,068	0,609	0,999
54	0,067	0,619	0,998

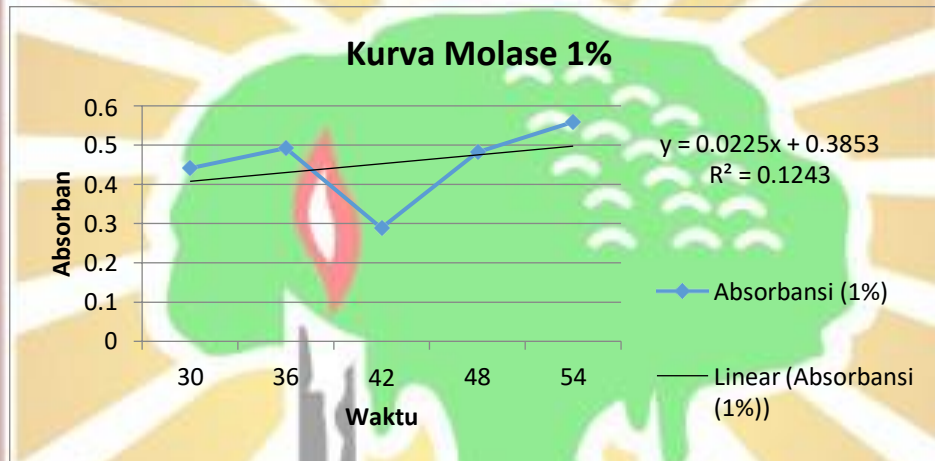


Gambar 38. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 6

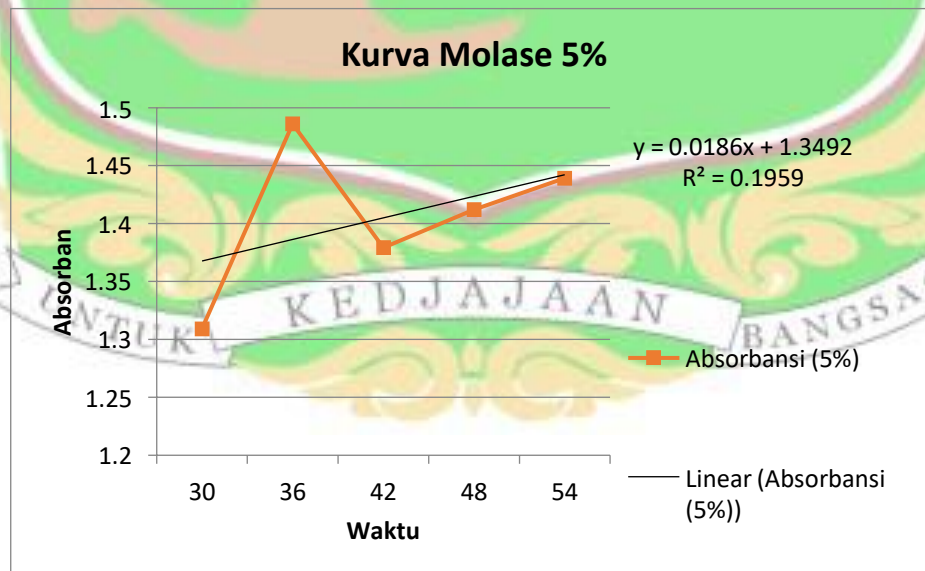
7. Isolat 7

Tabel 7. Nilai Absorban Isolat 7

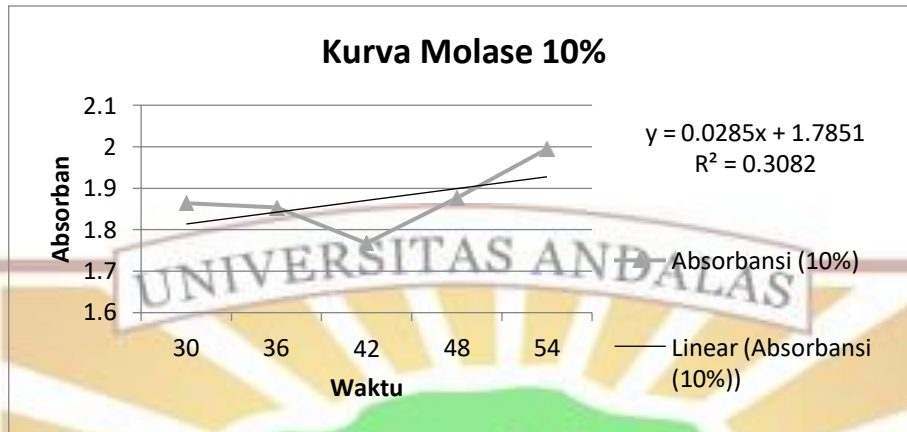
Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.441	1.309	1.863
36	0.493	1.486	1.853
42	0.289	1.379	1.767
48	0.482	1.412	1.876
54	0.559	1.439	1.994



Gambar 13. Kurva Molase 1% Isolat 7



Gambar 14. Kurva Molase 5% Isolat 7

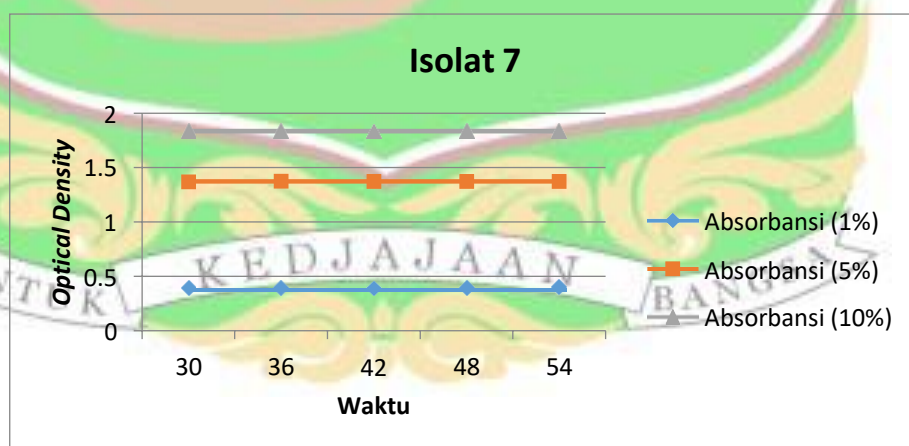


Gambar 15. Kurva Molase 10% Isolat 7

- Nilai *Optical Density* (OD)

Tabel 8. Nilai OD Isolat 7

Pengkulturan	Absorbansi (1%)	Absorbansi (5%)	Absorbansi (10%)
30	0.395	1.372	1.837
36	0.396	1.376	1.836
42	0.391	1.374	1.834
48	0.395	1.374	1.838
54	0.401	1.375	1.84



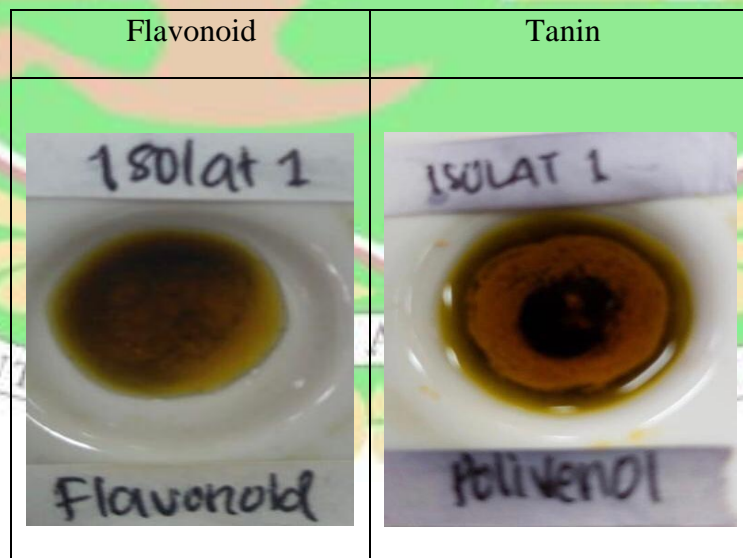
Gambar 16. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit Isolat 7

Biomassa Bakteri Endofit yang Memiliki Aktivitas Antibakteri


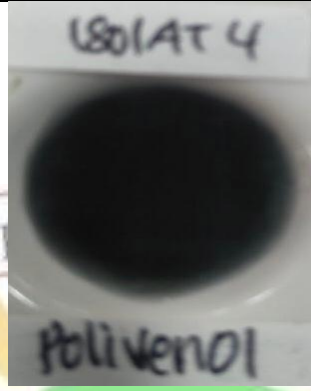



Gambar 39 . Biomassa setelah Fermentasi


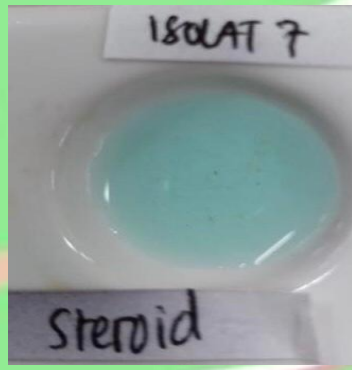
Pemeriksaan Metabolit Sekunder



Gambar 40. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 1

Flavonoid	Tanin	Saponin
		

Gambar 41. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 4

Flavonoid	Steroid
	

Gambar 42. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Isolat 7