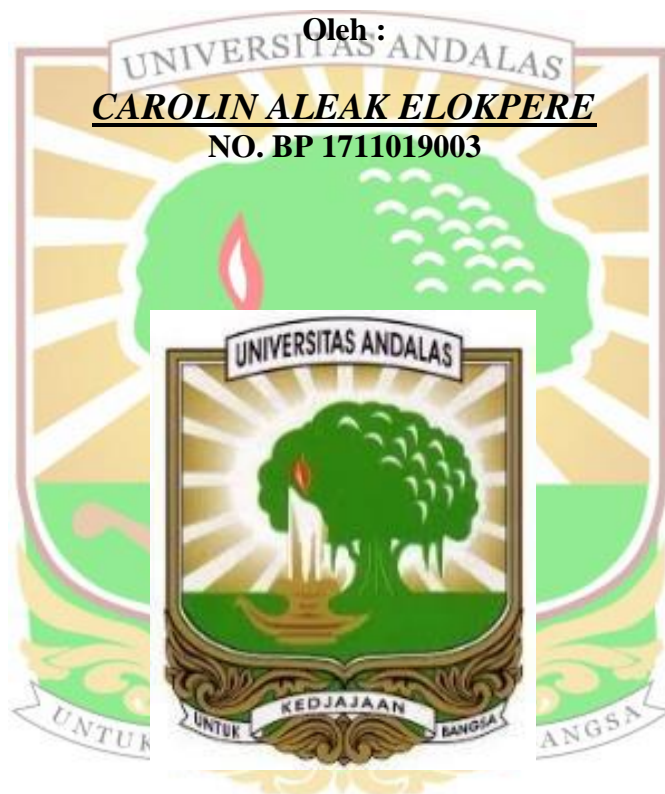


SKRIPSI SARJANA FARMASI

ISOLASI BAKTERI ENDOFITIK DARI TANAMAN LABU KOTEKA

***Langenaria siceraria* (Molina) Standl, FERMENTASI DAN UJI
AKTIVITAS METABOLIT SEKUNDERNYA TERHADAP BAKTERI
*Salmonella thypi***



Pembimbing 1 : Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D

Pembimbing 2 : Dr. apt. Rustini, M.Si

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

2022

ISOLASI BAKTERI ENDOFITIK DARI TANAMAN LABU KOTEKA
Langenaria siceraria (Molina) Standl, **FERMENTASI DAN UJI**
AKTIVITAS METABOLIT SEKUNDERNYA TERHADAP BAKTERI
Salmonella thypi

Oleh :

CAROLIN ALEAK ELOKPERE

NO. BP 1711019003



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

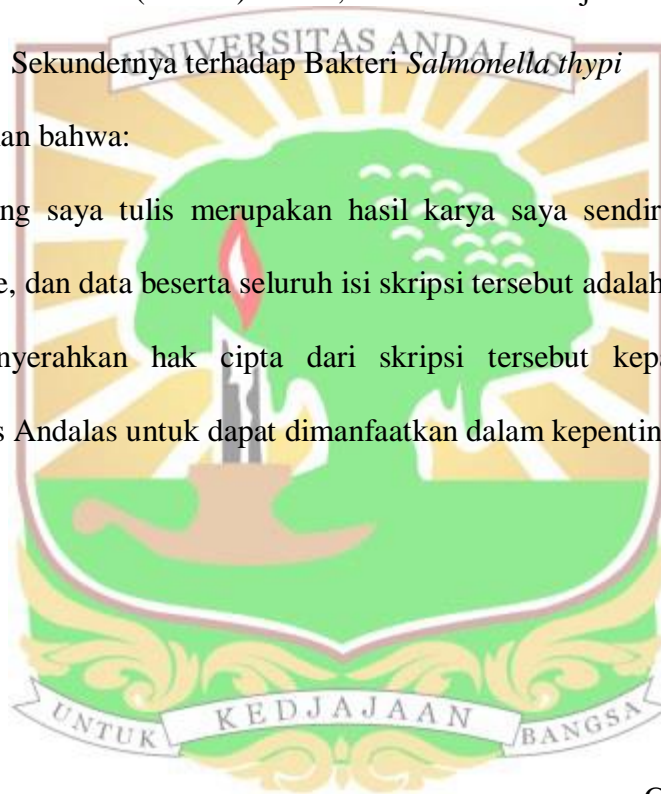
Nama : Carolina Aleak Elokpere

No. BP : 1711019003


Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Endofitik dari Tanaman Labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Fermentasi dan Uji Aktivitas Metabolit Sekundernya terhadap Bakteri *Salmonella thypi*

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 dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.



Padang, 9 Mei 2022


Carolina Aleak Elokpere

HALAMAN PENGESAHAN

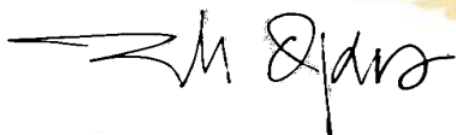
Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh
Ujian Sarjana Farmasi
Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas
Padang

Nama : Carolina Aleak Elokpere
NIM : 17110139003
Judul Penelitian : Isolasi Bakteri Endofitik dari Tanaman Labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Fermentasi dan Uji Aktivitas Metabolit Sekundernya terhadap Bakteri *Salmonella thypi*

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

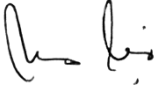

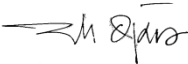



Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D
NIP. 196402101989011001



Dr. apt. Rustini, M.Si
NIP. 196506031992032003

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Seminar Hasil Penelitian
Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Pada tanggal : 04 Januari 2022**

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. apt. Regina Andayani, M.Si	Ketua	
2	Prof. apt. Marlina, MS, Ph.D	Pembahas	
3	apt. Fithriani Armin, S.Si, M.Si	Pembahas	
4	Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D	Pembimbing I	
5	Dr. apt. Rustini , M.Si	Pembimbing II	



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas berkat dan rahmat Allah Yang Maha Esa sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “ **Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Fermentasi dan Uji Aktivitas Metabolit Sekundernya terhadap Bakteri *Salmonella thypi*** ”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu (S1) prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do'a, dukungan dan bimbingan dari orang-orang tercinta. Oleh karena itu, perkenankan penulis untuk mengucapkan rasa hormat dan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. apt. Akmal Djamaan, MS, Ph.D, sebagai pembimbing I dan Ibu Dr. apt. Rustini, M.Si. sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasehat, pengarahan, petunjuk serta dukungan kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Orang tua tercinta (Lazarus Yegama Elokpere dan Bernadetta Muryani) dan keluarga yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan dari masa perkuliahan sampai berakhirnya penelitian.
3. Ibu Prof. Dr., Fatma Sri Wahyuni, Apt. sebagai penasehat akademik yang telah memberikan nasehat terkait akademik kepada penulis selama masa perkuliahan.
4. Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh Civitas Akademika Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu pengetahuan, membantu penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Bapak Prof. Adek Zambrud Adnan selaku orang tua di Ranah Minang yang selalu memberikan dukungan do'a dan semangat dalam perkuliahan.
6. Bapak Alm. Prof. Harrizul Rivai, yang dengan sabar mendampingi dan mendukung dalam penyusunan proposal penelitian dan perkuliahan.
7. Sobat Rantauku (Mercy, Oliv, Apri, Ezekiel, Titin, Selvy, Nelce, Adel, Jeko,

Edward, Elivas, Stevanus) yang telah memberikan warna-warni selama masa perkuliahan.

8. Warga Laboratorium Bioteknologi Biota Sumatera (Kak Mitha, Kak Lola, Kak Silvy, Kak Riri, kak Syuhada, Kak Eka, Dira, Fuji, Apri)
9. Teman-teman Farmasi Angkatan 2017 dan Keluarga Besar Mahasiswa Farmasi (KBMF) Universitas Andalas.
10. Diri penulis sendiri yang selalu pantang menyerah dalam melewati berbagai tantangan dan hambatan dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas do'a dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah Yang Maha Esa 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 ilmupengetahuan kedepannya.



Padang, 9 Mei 2022

Penulis

ABSTRAK

ISOLASI BAKTERI ENDOFITIK DARI TANAMAN LABU KOTEKA *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, FERMENTASI DAN UJI AKTIVITAS METABOLIT SEKUNDERNYA TERHADAP BAKTERI *Salmonella thypi*

Oleh:
CAROLINA ALEAK ELOKPERE
NIM : 1711019003
(Program Studi Sarjana Farmasi)

Bakteri endofitik merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tumbuhan tanpa menyebabkan penyakit dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui terdapatnya bakteri endofitik yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi*, profil pertumbuhan, kandungan metabolit sekunder dan karakteristiknya. Adapun tahap penelitian terdiri dari sterilisasi sampel, isolasi bakteri, pembuatan medium produksi antibiotik menggunakan molase dengan variasi konsentrasi 1, 5, 10% dan waktu fermentasi selama 72 jam dimana akan dilakukan pencuplikan kultur isolat tiap 12 jam sekali guna mengukur absorbansi profil pertumbuhan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm, pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, pengujian kandungan metabolit sekunder dan karakterisasi isolat seperti pewarnaan Gram, endospora, pengujian katalase dan motilitas. Hasil penelitian diperoleh sebanyak 10 isolat bakteri endofitik, diantaranya terdapat 2 isolat bakteri endofitik dari sampel buah yakni isolat 1 dan isolat 2 dan 8 isolat lainnya dari sampel daun yakni isolat 3, isolat 4, isolat 5, isolat 6, isolat 7, isolat 8, isolat 9 dan isolat 10. Berdasarkan uji antibakteri diperoleh 2 isolat bakteri endofitik sebagai antibakteri terhadap *Salmonella thypi* yakni isolat-1 dengan konsentrasi molase 1 % pada jam ke-60 dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 12,79 mm. Sedangkan pada isolat-3 dengan konsentrasi molase 5 % pada jam ke-60 dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 12,02 mm. Profil pertumbuhan isolat 1 dan 3 menunjukkan fase pertumbuhan yang sama. Kandungan metabolit sekunder pada isolat 1 terdiri atas Alkaloid, sedangkan pada isolat 3 mengandung alkaloid dan flavonoid. Isolat 1 dan 3 keduanya merupakan bakteri Gram positif, memiliki endospora, bersifat aerob. Sedangkan pada uji motilitas, isolat 1 tidak memiliki flagel dan isolat 3 memiliki flagel.

Kata Kunci : Bakteri, Endofitik, Labu Koteka, *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Metabolit sekunder

ABSTRACT

ISOLATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM KOTEKA PUMPLE PLANT *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, FERMENTATION AND SECONDARY METABOLIT ACTIVITY TEST AGAINST *Salmonella thypi* BACTERIA

By:

CAROLINA ALEAK ELOKPERE

ID : 1711019003

(Bachelor of Pharmacy Study Program)

Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues without causing disease and produce the same secondary metabolites as their host plants. The purpose of this study was to determine the presence of endophytic bacteria that have antibacterial activity against *Salmonella typhi*, growth profile, secondary metabolite content and characteristics. The research phase consisted of sample sterilization, bacterial isolation, manufacture of antibiotic production medium using molasses with varying concentrations of 1, 5, 10% and a fermentation time of 72 hours where isolate cultures were sampled every 12 hours to measure the absorbance of the growth profile using a spectrophotometer at 600 nm wavelength, antibacterial activity testing using disc diffusion method, secondary metabolite content testing and isolate characterization such as Gram staining, endospores, catalase and motility testing. The results obtained as many as 10 isolates of endophytic bacteria, of which there were 2 isolates of endophytic bacteria from fruit samples namely isolate 1 and isolate 2 and 8 other isolates from leaf samples namely isolate 3, isolate 4, isolate 5, isolate 6, isolate 7, isolate 8, isolate 9 and isolate 10. Based on the antibacterial test, 2 isolates of endophytic bacteria were found as antibacterial against *Salmonella typhi*, namely isolate 1 with 1% molasses concentration at 60 hours with an average inhibition zone diameter of 12.79 mm. Meanwhile, isolate 3 with 5% molasses concentration at 60 hours with an average inhibition zone diameter of 12.02 mm. The growth profile of isolate 1 and isolate 3 showed the same growth phase. The secondary metabolite content in isolate 1 consisted of alkaloids, while isolate 3 contained alkaloids and flavonoids. Isolate 1 and 3 are both Gram positive bacteria, possess endospores, are aerobic. Meanwhile, in the motility test, isolate 1 did not have flagella and isolate 3 had flagella.

Keywords: Bacteria, Endophytic, Koteka Pumpkin, *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Secondary metabolites

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Labu Koteka <i>Langenaria siceraria</i> (Molina) Standl	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2 Kandungan Kimia	6
2.1.3 Morfologi Tanaman	6
2.1.4 Kegunaan Tradisional oleh Suku Dani	7
2.1.5 Aktivitas Farmakologi	8
2.2 Bakteri	10
2.2.1 Metabolisme Bakteri	10
2.2.2 Reproduksi Sel Bakteri	11
2.2.3 Pertumbuhan Sel Bakteri	11

2.2.4	Fase-fase Pertumbuhan Sel bakteri	11
2.2.5	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Sel Bakteri.....	13
2.3	<i>Salmonella thypi</i>	16
2.3.1	Klasifikasi <i>Salmonella thypi</i>	16
2.3.2	Morfologi <i>Salmonella thypi</i>	17
2.3.3	Anatomi <i>Salmonella thypi</i>	17
2.4	Kloramfenikol	18
2.5	Bakteri Endofitik	19
2.5.1	Peranan Bakteri Endofitik pada Tanaman	19
2.5.2	Kontrol Biologis Penyakit oleh Bakteri Endofitik	20
2.5.3	Mekanisme Pengendalian Penyakit oleh Bakteri Endofitik	21
2.6	Teknologi Fermentasi.....	23
2.6.1	Komponen-komponen Utama proses fermentasi.....	23
2.6.2	Jalur-jalur Utama Fermentasi.....	23
2.6.3	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi	24
2.7	Molase	26
2.8	Uji Antibakteri	27
2.8.1	Metode Difusi Cakram	27
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....		28
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2	Alat dan Bahan.....	28
3.2.1	Alat	28
3.2.2	Bahan.....	28
3.3	Prosedur Penelitian.....	29
3.3.1	Persiapan Sampel	29
3.3.2	Sterilisasi Alat dan Desinfeksi Permukaan Sampel	29
3.3.3	Pembuatan Media NA (<i>Nutrient Agar</i>)(Merck®).....	29
3.3.4	Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Labu Koteka.....	29
3.3.5	Pemurnian Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Labu Koteka.....	30
3.3.6	Pembuatan Medium Fermentasi Menggunakan Molase sebagai Sumber Karbon	30

3.3.7	Fermentasi Medium.....	31
3.3.8	Uji Antibakteri	32
3.3.9	Uji Kandungan Metabolit Sekunder.....	33
3.3.10	Identifikasi dan Karakterisasi Isolat bakteri Endofitik Potensial.....	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		36
4.1.	Isolasi Bakteri Endofit	36
4.2.	Uji Antibakteri	38
4.3.	Pengukuran Profil Pertumbuhan Bakteri.....	43
4.4.	Uji Kandungan Metabolit Sekunder.....	48
4.5.	Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Endofitik Potensial.....	50
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		58
5.1	Kesimpulan	59
5.2	Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....		60
LAMPIRAN.....		65



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Diameter Rata-rata Zona Hambat Isolat 1 dan 3	39
Tabel 2. Hasil Uji Kandungan Metabolit Sekunder	48
Tabel 3. Diameter Hambat Rata-rata ke-8 Isolat Bakteri Endofitik Lainnya	65



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Labu Koteka.....	5
Gambar 2. Pakaian Adat Kaum Pria Suku Dani (Koteka).....	8
Gambar 3. <i>Salmonella thypi</i>	17
Gambar 4. Kloramfenikol	18
Gambar 5. Isolasi Bakteri Endofitik	37
Gambar 6. Diagram Zona Hambat	40
Gambar 7. Pengamatan Uji Antibakteri Terhadap <i>Salmonella thypi</i>	42
Gambar 8. Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofitik	44
Gambar 9. Pengamatan Hasil Pengujian Pewarnaan Gram	52
Gambar 10. Pengamatan Hasil Pengujian Pewarnaan Endospora.....	53
Gambar 11. Pengamatan Hasil Pengujian Katalase.....	55
Gambar 12. Pengamatan Hasil Pengujian Motilitas	57
Gambar 13. Kurva Pertumbuhan Ke-8 Bakteri Endofitik Lainnya	67
Gambar 14. Uji Metabolit Sekunder.....	71



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Analisis	65
Lampiran 2. Data Penunjang	71



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Papua adalah daerah eksotis yang berada di ujung timur Indonesia. Keindahan dan kekayaan alam bumi Cenderawasih selalu menjadikannya dambaan hati. Papua kaya akan keberagaman suku, budaya, adat istiadat dan bahasa daerah yang khas serta kekayaan sumber daya alamnya yang melimpah. Oleh karena keunikan dan kekhasan sumber daya alamnya baik flora maupun fauna endemik Papua, banyak dimanfaatkan untuk berbagai pengobatan tradisional dan dapat dijadikan sebagai pengembangan obat modern (1).

Salah satu jenis tanaman endemik khas Papua yang memiliki potensi sebagai obat adalah labu koteka atau *Langenaria siceraria* (Molina) Standl yang tergolong ke dalam famili *Curcubitaceae* (2). Masyarakat suku Dani mengenal dan menamai labu air ini sesuai dengan pemanfaatannya. Masyarakat suku Dani mengenal jenis labu ini dalam tiga nama yakni Holim, Isoak, dan Ngio. Holim atau yang lebih dikenal sebagai koteka adalah pakaian adat untuk kaum pria, Isoak yang berarti tempat penyimpanan dan Ngio sebagai sayuran dan obat tradisional. Namun, tanaman labu air ini lebih dikenal oleh masyarakat suku Dani dengan nama labu koteka (3).

Langenaria siceraria yang dikenal dengan nama biji labu air adalah tanaman yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti fenol, tanin, alkaloid, steroid dan flavonoid. Senyawa metabolit yang dikandung oleh *Langenaria siceraria* (Molina) Standl memiliki aktivitas farmakologi yang beragam salah satunya sebagai antibakteri (4). Masyarakat suku Dani, di Kabupaten Jayawijaya memanfaatkan tanaman buah labukoteka sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit demam tifoid yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi*. Labu koteka dikonsumsi dengan cara meminum air parutan buah labu koteka muda. Air parutan buah labu koteka ini diminum selama beberapa hari. Dengan demikian, demam akan berangsur-angsur menurun.

Adanya komponen senyawa metabolit sekunder dari tanaman labu koteka diasumsikan bahwa terdapat bakteri endofitik yang memiliki aktivitas sebagai

antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi*. Bakteri endofitik merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa menyebabkan penyakit pada tanaman inangnya. Bakteri endofitik menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antimikroba terhadap mikroorganisme patogen. Kemampuan bakteri endofitik menghasilkan metabolit sekunder akibat adanya hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofitik dan tanaman inangnya, dengan demikian bakteri endofitik akan memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inang tempat bakteri endofitik hidup (5).

Untuk memperoleh suatu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri maka digunakan metode fermentasi. Fermentasi merupakan suatu proses perombakan senyawa organik seperti glukosa menjadi alkohol yang dilakukan oleh mikroorganisme dan terjadi dalam keadaan anaerob dengan bantuan enzim pengkatalis (6). Salah satu faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah komposisi dari suatu media. Salah satu komposisi suatu media adalah sumber karbon, pemilihan sumber karbon sebagai substrat harus yang efisien karena dapat menekan biaya, dimana produksi Tetes tebu (molase) merupakan limbah pengolahan gula yang mengandung gula cukup tinggi sehingga sangat potensial dimanfaatkan sebagai media fermentasi. Fermentasi tetes tebu (molase) untuk menghasilkan bioetanol menjadi salah satu upaya mengurangi jumlah limbah (7).

Berdasarkan informasi yang didapatkan, diketahui bahwa keberadaan bakteri endofitik pada tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl belum diketahui sejauh ini. Untuk itu, perlu dilakukannya suatu penelitian/kajian ilmiah. Diharapkan, dengan dilakukannya eksplorasi bakteri endofitik yang terdapat pada tanaman labu koteka memberikan data secara ilmiah bahwa pada tanaman labu koteka terdapat bakteri endofitik yang metabolit sekundernya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi*. Dengan demikian, penelitian ini diberi judul **“Isolasi Bakteri Endofitik dari Tanaman Labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, Fermentasi dan Uji Aktivitas Metabolit Sekundernya Terhadap Bakteri *Salmonella thypi*”**.

1.2 Rumusan Masalah

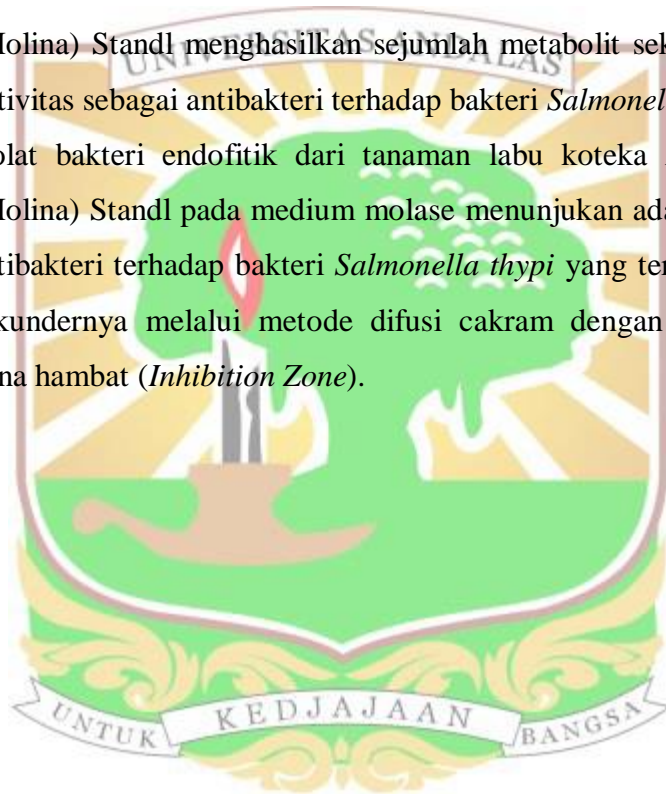
1. Apakah terdapat bakteri endofitik yang berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* yang diisolasi dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl ?
2. Bagaimanakah profil pertumbuhan isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl ?
3. Apa sajakah kandungan metabolit sekunder isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl ?
4. Bagaimanakah karakteristik dari isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui terdapatnya bakteri endofitik penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl.
2. Untuk mengetahui profil pertumbuhan isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl.
3. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl.
4. Untuk mengetahui karakteristik dari isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Pada tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl terdapat sejumlah isolat bakteri endofitik potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi*.
2. Isolat bakteri endofitik dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl dengan menggunakan medium molase 1, 5 dan 10% memperlihatkan profil pertumbuhan.
3. Isolat bakteri endofitik dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl menghasilkan sejumlah metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi*.
4. Isolat bakteri endofitik dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl pada medium molase menunjukkan adanya aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* yang terujikan oleh metabolit sekundernya melalui metode difusi cakram dengan menunjukkan adanya zona hambat (*Inhibition Zone*).



BAB II

TINJAUAN TEORI

2.1 Tanaman Labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl



Gambar 1. Tanaman Labu Koteka (10)

Langenaria siceraria (Molina) Standl termasuk ke dalam famili *Curcubitaceae*, tanaman ini merupakan tanaman tahunan yang mampu merambat secara luas. Tanaman ini di negara tropis seperti India, Jepang dan Thailand dibudidayakan sebagai tanaman sayuran. Buah *Langenaria siceraria* (Molina) Standl banyak digunakan dalam Ayuverda dan dijadikan sebagai obat tradisional (8).

Langenaria siceraria (Molina) Standl digunakan sebagai kardioprotektif, immunosupresif, antiproliferatif, antifertilitas, kardiotonik, diuretik, penangkal racun tertentu, pencahar alternatif, memiliki efek pendinginan, penurun demam dan buah *Langenaria siceraria* (Molina) Standl dapat mengobati batuk, asma dan penyakit bronkial lainnya (8).

Famili *Curcubitaceae* yang terdiri dari tanaman *Langenaria siceraria* (Molina) Standl kebanyakan digunakan sebagai sumber buah-buahan oleh suku Dayak Tamambaloh karena tanaman *Langenaria siceraria* (Molina) Standl mudah untuk dibudidayakan, mudah diproses, mengandung nilai nutrisi yang tinggi dan hampir semua bagian tanamannya dapat digunakan sebagai sayuran (9).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Orde : *Cucurbitales*
Famili : *Cucurbitaceae*
Genus : *Lagenaria*
Spesies : *L. siceraria* (10)

2.1.2 Kandungan Kimia

Analisa fitokimia pada bagian buah menunjukkan adanya kandungan glukosa dan fruktosa. Komposisi asam amino pada buah diantaranya leusin 0,8; fenilalanin 0,9; valin 0,3; tirosin 0,4; alanine 0,5; treonin 0,2; asam glutamate 0,3; serin 0,6; asam aspartate 1,9; sistin 0,6; sistein 0,3. Buah labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl merupakan sumber vitamin B yang baik dan mengandung asam askorbat. Buah labu koteka yang memiliki rasa pahit menghasilkan sekitar 0,013 % busa padat yang mengandung kurkubitasin B, D, G dan H. terutama kurkubitasin B. Rasa pahit yang dihasilkan menandakan adanya kandungan aglikon (10).

Pada daun terkandung senyawa kurkubitasin B, sedangkan pada akar terdapat kurkubitasin B, D dan E. *Langenaria siceraria* menunjukkan adanya kandungan senyawa flavon-C-glikosida. Sebuah polisakarida larut dalam air, yang diisolasi dari buah *Langenaria siceraria* terkandung metil- α -d-galakturonat, 3-O-asetil metil- α -d-galakturonat dan β -d-galaktosa dengan perbandingan hamper 1:1:1. Polisakarida ini menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik secara in vitro yang dapat melawan sel adenocarcinoma pada payudara manusia (10).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Morfologi tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl terdiri dari bagian daun, batang, akar, buah dan biji. Daun labu koteka memiliki panjang 10

cm dengan lebar daun 5 cm dan memiliki bentuk daun bulat atau bundar (*Orbicularis*). Pada daun labu koteka yang masih muda tampak berwarna hijau keputihan. Tulang daun tampak jelas, tipe daun tunggal, pada permukaan atas daun memiliki bulu halus (*Villosus*), tekstur daun agak lunak dan ujung daun meruncing (*Acuminatus*) (11).

Bentuk batang pada tanaman labu koteka hampir keseluruhan berbentuk segitiga, memiliki warna hijau tua, tekstur permukaan batang labu koteka sedikit kasar, batang tumbuh menjalar dan sifat batang pada tanaman labu koteka berair. Jenis akar pada tanaman labu koteka adalah akar tunggang dan tidak bercabang jika pada akar terdapat percabangan, maka percabangan tersebut merupakan akar-akar halus yang berbentuk serabut (11).

Buah tanaman labu koteka terdiri dari lapisan kulit luar dan lapisan daging buah. Pada lapisan kulit luar teksturnya sedikit keras. Lapisan daging buah pada tanaman labu koteka dijadikan sebagai tempat timbunan makanan. Bentuk buah pada tanaman labu koteka bervariasi ada yang berbentuk panjang, oval, bulat pipih dan beralur. Biji pada tanaman labu koteka umumnya pipih, ujungnya meruncing, berada ditengah-tengah daging buah dan biji berwarna kuning hingga cokelat muda (11).

2.1.4 Kegunaan Tradisional oleh Suku Dani

Tanaman *Langenaria siceraria* (Molina) Standl secara tradisional digunakan oleh masyarakat suku Dani di Kabupaten Jayawijaya sebagai pakaian adat kaum pria yang dikenal dengan istilah “Holim atau Koteka” yang terbuat dari kulit buah tanaman *Langenaria siceraria* (Molina) Standl. Oleh karena itu, tanaman ini lebih dikenal dengan sebutan labu koteka oleh masyarakat Papua khususnya suku Dani (11).

Koteka yang merupakan pakaian adat kaum pria dari suku Dani, biasanya dikenakan juga pada saat acara festival budaya Lembah Baliem. Koteka memiliki berbagai ukuran dan bentuk yang bervariasi. Koteka pada umumnya digunakan untuk menutupi bagian vital kaum pria. Selain digunakan sebagai pakaian adat, buah labu *Langenaria siceraria* (Molina) Standl ini dapat juga dijadikan sebagai wadah penyimpanan ataupun dapat juga dijadikan sebagai obat tradisional.



Gambar 2. Pakaian Adat Kaum Pria Suku Dani (Koteka) (11)

Bentuk koteka bulat dan panjang. Agar koteka yang dihasilkan nantinya panjang dan lurus, maka pada ujungnya akan gantungkan sebuah pemberat. Pembuatan koteka melalui beberapa proses seperti diantaranya dipilih buah labu koteka yang masih muda, daging buah dikeluarkan hingga bersih dan dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan tungku api. Selanjutnya, setelah kulit buah kering dan mengeras hingga berubah warna menjadi cokelat. Bagian pangkal labu inilah yang dipakai untuk menutup aurat pria dan pada bagian ujungnya akan diikat dengan tali dan tali ini kemudian diikatkan dipinggang (11).

2.1.5 Aktivitas Farmakologi

1. Antioksidan

Pada aktivitas antioksidan dari sampel daun dan kulit labu air *Langenaria siceraria* (Molina) Standl menunjukkan nilai inhibisi (IC_{50}) masing-masing secara berturut-turut yaitu 9,268 mg/L dan 9,332 mg/L. berdasarkan hasil yang diperoleh, kedua nilai konsentrasi penghambatan tersebut nilainya kurang dari 50 ppm. Oleh karena itu, kedua sampel yaitu sampel daun dan kulit labu air digolongkan kedalam antioksidan alami yang bersifat sangat kuat (12)

2. Antimikroba

Ekstrak n-heksana *Langenaria siceraria* memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Melalui metode difusi cakram, diperoleh luas zona hambat sebesar 17,25-17,80 mm pada konsentrasi 30 g/disc. Ekstrak n-heksana menunjukkan aktivitas antimikroba yang signifikan dalam membunuh bakteri *Escherichia coli* (17,20 mm) dan *Salmonella typhi* (17,80 mm). Akan tetapi, ekstrak n-heksana *Langenaria siceraria* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dalam membunuh bakteri *Vibrio cholera*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (13)

3. Antihiperlipidemia

Efek antihiperlipidemia berasal dari empat ekstrak *Langenaria siceraria* yang berbeda diantaranya ekstrak petroleum eter, ekstrak kloroform, ekstrak alkohol dan ekstrak air. Kemudian hiperlipidemia diinduksi oleh triton. Ekstrak kloroform dan ekstrak alkohol pada dua dosis yang berbeda (200 dan 400 mg/kg, p.o) menunjukkan efek yang signifikan dalam menurunkan total kolesterol, trigliserida dan LDL seiring dengan peningkatan HDL (14)

4. Diuretik

Ekstrak air *Langenaria siceraria* mampu meningkatkan ekskresi pada tiga parameter yang ditentukan seperti volume urin, kadar Na^+ dan kadar Cl^- yang signifikan secara statistik dan sebanding dengan standar diuretik hidroklorotiazid dan menurunkan ekskresi K^+ (15)

5. Analgesik, antiinflamasi dan antiulcerogenik

Ekstrak petroleum eter *Langenaria siceraria* menunjukkan aktivitas analgesik sentral yang diinduksi oleh asam asetat. Ekstrak *Langenaria siceraria* pada dosis 200 dan 400 mg/ml menunjukkan penurunan yang signifikan dalam asam asetat diamati adanya geliatan pada hewan percobaan dengan maksimum 32 % pada 200 mg/ml dan 58 % pada 400 mg/ml (16)

Selain memiliki aktivitas analgesik, ekstrak *Langenaria siceraria* memiliki aktivitas antiinflamasi dan menunjukkan efek antiulcerogenik yang dianggap

memiliki efek yang sangat menguntungkan jika dibandingkan dengan antiinflamasi lainnya seperti Indometasin. Dengan demikian, ekstrak petroleum eter *Langenaria siceraria* mampu memberikan efek analgesik, antiinflamasi dan antiulcerogenik (16)

6. Antikanker

Pengujian aktivitas antikanker yang berasal dari ekstrak metanol *Langenaria siceraria* pada *Ehrlich's Ascites Carcinoma* (EAC) dengan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Setelah sel EAC diinokulasikan pada hewan percobaan maka selanjutnya dilakukan perawatan dengan ekstrak metanol *Langenaria siceraria* (200 dan 400 mg/kg⁻¹) dan obat standar 5-Fluorourasil (20 mg/kg⁻¹) (17). Ekstrak metanol *Langenaria siceraria* memberikan efek antikanker karena adanya efek sitotoksik langsung dari ekstrak pada sel tumor atau karena efek lokal tidak langsung dari adanya aktivitas makrofag dan penghambatan permeabilitas vaskular. Aktivitas antikanker ini dipotensiasi oleh adanya sifat antioksidan yang sangat signifikan (17).

2.2 Bakteri

Bakteri merupakan sel prokariotik (tidak memiliki inti sel), sel bakteri berukuran kecil yaitu sekitar 1-10 µm, tidak memiliki plasmid, bahan inti dan asam nukleat tersebar dalam sitoplasma karena sel prokariotik tidak memiliki membran dalam, bereproduksi secara aseksual dengan cara membelah diri dan sel prokariotik mengambil nutrisi melalui absorpsi (18).

2.2.1 Metabolisme Bakteri

Metabolisme adalah reaksi-reaksi kimia dalam menghasilkan energi yang dibutuhkan sel bakteri dalam melakukan sintesis komponen-komponen sel, produksi senyawa-senyawa metabolit dan berbagai aktivitas sel lainnya. Pada metabolisme sel, melibatkan dua reaksi kimia yaitu reaksi katabolisme dan anabolisme (18).

Reaksi katabolisme merupakan reaksi penguraian senyawa kimia (substrat) atau molekul-molekul kompleks menjadi molekul-molekul kecil untuk memperoleh energi dalam bentuk ATP. Reaksi-reaksi kimia yang termasuk dalam reaksi katabolisme seperti : katabolisme lipid, katabolisme protein dan katabolisme karbohidrat (18).

Reaksi kimia anabolisme merupakan reaksi pembentukan senyawa kompleks (makromolekul) dengan menggunakan energi. Reaksi anabolisme terdiri dari : pergerakan sel (motilitas), sintesis makromolekul, perubahan substansi, produksi panas dan pengangkutan nutrien (18).

2.2.2 Reproduksi Sel Bakteri

Ketika sel bakteri diinokulasikan ke dalam satu medium optimum, maka pada rentang waktu yang singkat jumlah sel bakteri akan mengalami kenaikan cukup tinggi. Tiap sel bakteri akan menunjukkan kenaikan jumlah sel yang berbeda-beda walaupun dalam kondisi rentang waktu yang sama dan dalam medium yang sama. Reproduksi bakteri terjadi secara aseksual yaitu dengan cara pembelahan sel. Reproduksi sel bakteri terdiri dari pembelahan sel secara melintang dan dengan cara lainnya yang dilakukan oleh beberapa jenis bakteri (18).

Pada pembelahan sel secara melintang mula-mula akan terbentuk dinding sel melintang, dengan demikian sel tunggal akan melakukan pembelahan menjadi dua sel (sel anak). Dalam melakukan proses pembelahan, sel bakteri akan membutuhkan waktu tertentu. Waktu yang dibutuhkan oleh sel bakteri saat melakukan proses pembelahan disebut dengan waktu generasi. Selain itu, pada beberapa jenis bakteri akan melakukan reproduksi dengan cara lain seperti: fragmentasi pertumbuhan berfilamen dan membentuk spora vegetatif (18).

2.2.3 Pertumbuhan Sel Bakteri

Pertumbuhan merupakan pertambahan yang terjadi secara teratur pada sel hidup. Pertumbuhan pada organisme multiseluler ditandai dengan adanya pertambahan ukuran sel yang menjadi lebih besar dan tidak terjadi pertambahan jumlah organisme (tetap). Sedangkan pada organisme uniseluler (bakteri), pertumbuhan mengakibatkan adanya pertambahan jumlah sel dan terjadi pertambahan organisme baru (18).

2.2.4 Fase-fase Pertumbuhan Sel Bakteri

1. Fase Adaptasi (A)

Pada fase adaptasi ini, sel bakteri melakukan tahap penyesuaian diri terhadap

lingkungan pertumbuhannya. Pada fase adaptasi, jumlah sel bakteri tetap karena sel bakteri belum melakukan pembelahan hal ini terkait dengan beberapa enzim yang belum disintesis. Lamanya proses pertumbuhan bakteri pada fase adaptasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya :

a) Medium dan Lingkungan Pertumbuhan

Bila medium pertumbuhan sel bakteri yang digunakan sama dengan medium sebelumnya, maka sel bakteri tidak perlu melakukan penyesuaian. Akan tetapi, jika medium pertumbuhan merupakan medium baru dengan kondisi lingkungan pertumbuhan yang berbeda maka sel bakteri perlu melakukan penyesuaian agar dapat menghasilkan enzim-enzim tertentu dalam membantu proses metabolisme sel (18).

b) Jumlah Inokulum

Fase adaptasi akan berlangsung dengan cepat, apabila jumlah inokulum yang diinokulasikan ke dalam medium jumlahnya semakin tinggi. Namun, ada beberapa faktor yang dapat memperlambat berlangsungnya fase adaptasi ini seperti: kultur berada pada medium dengan kandungan nutrisi yang terbatas, terjadinya mutasi dan kultur yang dipindahkan ke dalam medium baru dari medium statis dengan komposisi yang sama seperti sebelumnya (18).

2. Fase Pertumbuhan Awal (B)

Pada fase pertumbuhan sel bakteri telah mampu beradaptasi dengan medium dan lingkungannya sehingga, dengan kecepatan yang masih rendah sel bakteri telah melakukan pembelahan (18).

3. Fase Eksponensial (C)

Fase eksponensial dikenal juga dengan fase logaritmik karena pada fase ini sel bakteri aktif melakukan pembelahan dengan sangat cepat dan stabil karena pembelahan terjadi dengan cepat dan jumlah sel semakin meningkat, maka energi yang dibutuhkan pada fase ini lebih banyak daripada energi yang dibutuhkan difase-fase pertumbuhan lainnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan

pertumbuhan seperti: kelembaban udara, pH dan nutrisi (18).

4. Fase Pertumbuhan di Perlambat (D)

Saat bakteri berada pada fase ini, peningkatan jumlah populasi sel bakteri mulai diperlambat. Hal ini terjadi akibat berkurangnya nutrisi dan ketersediaan kadar oksigen (O_2) dan adanya metabolit yang bersifat toksik bagi pertumbuhan sel bakteri. Pada fase ini, pertumbuhan sel kurang stabil dan jumlah sel yang tumbuh populasinya semakin meningkat dibanding dengan populasi jumlah sel mati (18).

5. Fase Pertumbuhan Stasioner Maksimum (E)

Pada fase pertumbuhan stasioner, terjadi keseimbangan antara jumlah sel hidup dan sel mati (jumlahnya sama). Pada fase stasioner ini, sel bakteri memproduksi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai proteksi diri terhadap lingkungan yang ekstrim seperti radiasi, panas, dingin, bahan kimia dan lain-lain. Pada fase ini pertumbuhan sel akan berhenti akibat banyaknya tumpukan metabolit sekunder yang beracun sehingga menghambat pertumbuhan sel bakteri (18).

6. Fase Menuju Kematian (F)

Sel bakteri mulai menunjukkan tanda-tanda kematian sel yang diakibatkan pada fase ini, kandungan nutrisi pada medium pertumbuhan sudah habis, energi cadangan yang ada dalam sel habis dan jumlah zat-zat yang bersifat toksik semakin banyak (18).

7. Fase Kematian (G)

Pada fase kematian ini, sel-sel bakteri sudah tidak menampakan adanya aktivitas pertumbuhan sel akibat faktor-faktor yang mendukung proses pertumbuhan seperti nutrisi dan energi telah habis (18).

2.2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Sel Bakteri

Pertumbuhan sel bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya sebagai berikut :

1. Nutrien

Nutrien merupakan salah satu komponen penting bagi sel bakteri. Nutrien berperan penting dalam proses pertumbuhan sel bakteri. Beberapa hal yang mendasari bahwa sel bakteri membutuhkan nutrien karena :

- a) Sel bakteri membutuhkan energi
- b) Sel bakteri membutuhkan sumber nitrogen
- c) Sel bakteri membutuhkan sumber karbon
- d) Sel bakteri membutuhkan belerang (sulfur)
- e) Sel bakteri membutuhkan vitamin
- f) Sel bakteri membutuhkan air
- g) Sel bakteri membutuhkan unsur-unsur logam seperti Na, Ca, Mg, Zn, Pb dan Co

Nutrien-nutrien tersebut yang diutuhkan oleh sel bakteri akan masuk ke dalam sel melalui beberapa cara seperti: difusi pasif, difusi dipercepat, transport aktif dan translokasi (18).

2. Suhu

Pengaruh suhu dapat mempengaruhi ketahanan struktur sel bakteri dan kerja enzim. Sel bakteri yang memiliki spora akan memiliki ketahanan terhadap suhu yang tinggi. Sel bakteri dikelompokkan ke dalam tiga kelompok berbeda berdasarkan suhu pertumbuhannya diantaranya :

- a) Bakteri psikrofilik, suhu pertumbuhannya: $-5 - 30^{\circ}\text{C}$; suhu optimum: $10 - 20^{\circ}\text{C}$.
- b) Bakteri mesofilik, suhu pertumbuhannya: $10 - 45^{\circ}\text{C}$; suhu optimum: $20 - 40^{\circ}\text{C}$.
- c) Bakteri termofilik, suhu pertumbuhannya: $25 - 80^{\circ}\text{C}$; suhu optimum: $50 - 60^{\circ}\text{C}$.

3. Ketersediaan Oksigen (O_2)

Oksigen (O_2) dibutuhkan oleh sel bakteri dalam pertumbuhan. Sel bakteri dibedakan menjadi lima kelompok berdasarkan kebutuhan oksigennya diantaranya :

- a) Anaerob obligat, sel bakteri yang termasuk ke dalam kelompok ini hanya dapat tumbuh pada kondisi lingkungan tanpa adanya oksigen.
- b) Anaerob aerotoleran, bakteri kelompok ini dapat bertahan hidup secara optimum walau tanpa adanya ketersediaan oksigen (O_2).

- c) Anaerob fakultatif, bakteri ini mampu bertahan hidup dan tumbuh dengan baik dengan adanya oksigen atau tidak.
- d) Aerob obligat, bakteri yang selalu membutuhkan oksigen demi kelangsungan hidupnya.
- e) Organisme mikroaerofilik, pada kondisi tekanan oksigen yang rendah bakteri kelompok ini dapat tumbuh dengan baik, akan tetapi pada kondisi tekanan oksigen yang tinggi, pertumbuhan pada bakteri ini akan terhambat (18).

4. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau nilai pH pada bakteri berkisar antara 6,5-7,5. Pada beberapa jenis bakteri dapat hidup dan tumbuh pada lingkungan sangat asam maupun basa. Oleh karena itu, agar kondisi lingkungan pertumbuhan bakteri berada pada nilai pH yang sesuai, maka dibutuhkan suatu larutan penyangga. Larutan penyangga ini akan mempertahankan dan menjaga nilai pH medium pertumbuhan bakteri. Contoh larutan penyangga seperti KH_2PO_4 (18).

5. Air

Air menjadi salah satu kebutuhan penting bagi bakteri dalam kelangsungan hidup dan pertumbuhannya. Air digunakan untuk mengisi sitoplasma pada sel bakteri dan berperan sebagai bahan reaktan dalam proses reaksi biokimia sel bakteri (18).

6. Komponen Antimikroba

Jika dalam suatu medium pertumbuhan sel bakteri mengandung antimikroba, maka antimikroba tersebut dapat menghambat pertumbuhan pada sel bakteri. Komponen antimikroba ini terdapat pada medium melalui cara-cara sebagai berikut : terdapat dalam bahan makanan secara alamiah dan komponen antimikroba dapat terbentuk selama proses fermentasi makanan berlangsung oleh jasad renik (18).

7. Kondisi Lain

Pertumbuhan suatu bakteri juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain seperti pada bakteri halofilik. Bakteri halofilik merupakan bakteri yang akan tumbuh dengan baik pada keadaan lingkungan yang tinggi akan konsentrasi garamnya. Oleh karena itu, medium pertumbuhan bagi bakteri halofilik harus mengandung garam (18).

Bakteri halofilik dibedakan menjadi dua kelompok yakni bakteri halofilik obligat dan halofilik fakultatif. Bakteri halofilik obligat adalah bakteri yang membutuhkan garam cukup tinggi pada medium pertumbuhannya, sedangkan pada bakteri halofilik fakultatif adalah bakteri yang dapat tumbuh dalam medium pertumbuhan yang mengandung garam atau tidak (18).

Selain kelompok bakteri halofilik, terdapat kelompok bakteri tertentu yang membutuhkan bantuan cahaya untuk pertumbuhannya. Kelompok bakteri dikenal sebagai bakteri fotosintetik diantaranya seperti bakteri sulfur ungu, bakteri nonsulfur ungu dan bakteri sulfur hijau. Bakteri fotosintetik ini, pada proses fermentasi mampu menyerap (absorpsi) energi matahari karena memiliki klorofil (18).

2.3 *Salmonella thypi*

2.3.1 Klasifikasi *Salmonella thypi*

Klasifikasi bakteri *Salmonella thypi* adalah sebagai berikut :

- Kingdom : *Bacteria*
- Filum : *Proteobacteria*
- Kelas : *Gamma Proteobacteria*
- Ordo : *Enterobacteriales*
- Famili : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Salmonella*
- Spesies : *S.thypi* (19)

2.3.2 Morfologi *Salmonella thypi*



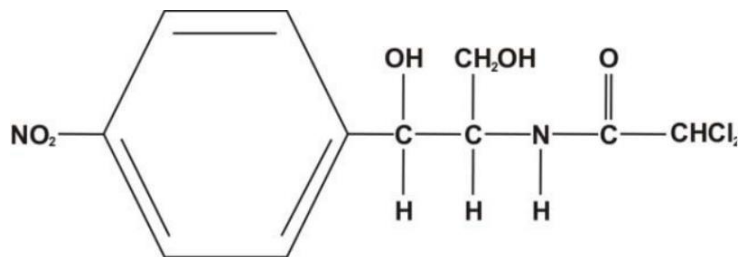
Gambar 3. *Salmonella thypi* (19)

Bakteri *Salmonella thypi* termasuk kedalam kelompok bakteri Gram negatif, bentuk selnya berupa batang atau basil, memiliki kapsul, motil, memiliki flagella yang berfungsi sebagai alat gerak dimana bergerak dengan rambut getar dan bakteri *Salmonella thypi* tidak memiliki spora. Bakteri *Salmonella thypi* mampu bertahan hidup pada suhu 15-41°C dengan suhu optimal 37°C dan hidup pada pH 6-8. Bakteri *Salmonella thypi* dapat mati jika dilakukan pemanasan hingga suhu 54,4°C selama satu jam lamanya atau dapat juga melalui proses pasteurisasi, pendidihan dan khlorinisasi. Penularan bakteri *Salmonella thypi* terjadi akibat kontaminasi makanan dan minuman yang kurang higienis dan penularan terjadi secara fekal-oral (19)

2.3.3 Anatomi *Salmonella thypi*

Bakteri *Salmonella typi* tersusun atas beberapa bagian yakni dinding sel dan isi sel. Pada bagian luar dinding sel terdapat kapsul atau selubung. Bakteri *Salmonella thypi* tidak memiliki endomembrane seperti mitokondria dan kloroplas. Adapun susunan struktur tubuh bakteri dari bagian luar hingga bagian dalam sel yaitu flagella, dinding sel, membrane sel, mesosom, lembaran fotosintetik, sitoplasma, DNA, plasmid, ribosom dan endospore (19)

2.4 Kloramfenikol



Gambar 4. Kloramfenikol

Kloramfenikol, merupakan antibiotik yang diisolasi dari *Streptomyces* dan merupakan pilihan pertama terapi demam tifoid pada anak yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi*. kloramfenikol mudah berdifusi ke dalam tubuh karena ukurannya yang relatif kecil. Antibiotik kloramfenikol ini termasuk ke dalam antibiotik spektrum luas yang bersifat bakteriostatik dan aktif terhadap organisme gram positif dan negatif aerob dan anaerob. Mekanisme kerja dari antibiotik kloramfenikol ini adalah dengan cara menghambat sintesis protein. Kloramfenikol akan bereaksi pada sub unit 50S ribosom dan menghambat aktivitas enzim peptidil transferase. Enzim peptidil transferase ini bertugas dalam membentuk ikatan peptida antara asam amino baru yang masih melekat pada tRNA dengan asam amino terakhir yang masih berkembang. Dengan demikian, sintesis protein bakteri akan langsung terhenti seketika (20) (21).

2.5 Bakteri Endofitik

Bakteri endofitik merupakan bakteri yang saling berinteraksi dengan tanaman inangnya tanpa menyebabkan kerusakan atau penyakit pada tanaman tersebut. Bakteri endofitik dikenal sebagai mikroorganisme yang sangat menguntungkan karena bakteri endofitik mampu menghasilkan berbagai senyawa kimia yang memiliki manfaat bagi kesehatan terutama bakteri endofitik yang diisolasi dari tanaman obat serta bakteri endofitik dapat memproduksi senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya (22)(23).

2.5.1 Peranan Bakteri Endofitik pada Tanaman

1. Penghasil Enzim

Bakteri endofitik adalah salah satu sumber penghasil senyawa ekstraseluler yaitu enzim. Produksi enzim yang dihasilkan oleh bakteri endofitik lebih menguntungkan dan cepat produksinya seperti enzim yang dihasilkan dari tanaman *Avicennia marina* isolate bakteri endofitik mampu menghasilkan empat enzim berbeda yakni enzim protease, enzim selulase, enzim gelatinase dan enzim amilase (24).

2. Penghasil Antibiotika

Antibiotika dapat dihasilkan oleh bakteri endofitik seperti bakteri endofitik yang diisolasi pada tanaman *Euchema cottoni* dari laut Galesong Utara, Distrik Takalar dengan menggunakan medium *nutrient agar* selanjutnya isolat dimurnikan dengan menggunakan metode strike plate pada medium *Kligler Iron Agar*. Selanjutnya dilakukan proses fermentasi untuk menghasilkan senyawa aktif dengan menggunakan medium *Yeast Malt Broth* (YMB). Hasil fermentasi diperoleh supernatan dan pelet. Aktivitas antimikroba diukur dengan menggunakan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa supernatan memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Setelah melakukan beberapa uji biokimia, bakteri penghasil antibiotik yang diisolasi dari tanaman *Euchema cottoni* adalah *Aeromonas* sp. Dimana, *Aeromonas* sp. menunjukkan adanya zona hambat pada uji aktivitas antibiotik (25).

3. Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman

Bakteri endofitik mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti pada tanaman tembakau yang terinfeksi *Meloidogyne* spp. Bakteri endofitik yang diisolasi dari akar tanaman Nilam meningkatkan pertumbuhan tanaman tembakau hal ini ditunjukkan dengan adanya penambahan jumlah daun dan peningkatan laju pertumbuhan tinggi tanaman oleh bakteri *Pseudomonas* spp. Hal ini dikarenakan bakteri *Pseudomonas* spp. dapat membantu kelarutan kalium, nitrogen dan fosfat. Unsur-unsur tersebut berperan penting dalam pertumbuhan vegetative maupun generative tanaman terutama N_2 . Adanya peningkatan laju pertumbuhan juga

dipengaruhi oleh adanya IAA (*Indole Acetic Acid*) yang dihasilkan oleh bakteri endofitik (26)(27).

4. Pengendali Hayati Hama dan Penyakit Tanaman

Bakteri endofit memiliki peranan penting dalam menjaga ketahanan dan kesehatan tanaman dari serangan nematoda, serangga ataupun patogen penyebab penyakit hal ini dikarenakan, bakteri endofitik menghambat perkembangan penyakit pada tanaman dengan cara menghasilkan suatu senyawa beracun bagi patogen. senyawa tersebut merupakan senyawa metabolit yang beracun bagi patogen. senyawa ini dikenal dengan siderofor (28).

Selain itu, bakteri endofitik mampu menghambat perkembangan penyakit pada tanaman karena adanya kompetisi nutrisi dan ruang serta bakteri endofitik memiliki kemampuan dalam mereduksi toksin yang dihasilkan oleh patogen penyebab penyakit sehingga tidak bersifat patogenik ataupun bakteri endofitik akan mereduksi ketahanan tanaman terhadap serangan nematoda, serangga ataupun patogen penyebab penyakit. Dengan demikian, bakteri endofitik dimanfaatkan sebagai agen hayati melalui interaksi yang terjadi secara antagonis dan kompetisi (28).

2.5.2 Kontrol Biologis Penyakit oleh Bakteri Endofitik

Organisme pengendali penyakit secara biologis yang efektif harus memenuhi beberapa hal seperti dibawah ini:

1. Dengan cepat mampu menjajah akar;
2. Bersaing dengan patogen untuk lokasi infeksi;
3. Menghasilkan senyawa untuk memacu pertumbuhan tanaman;
4. Memproduksi antibiotik terhadap mikroorganisme patogen;
5. Bersaing untuk mendapatkan substrat yang penting dalam pertumbuhan patogen;
6. Menghasilkan senyawa-senyawa pengkelat besi berafinitas tinggi yang disebut *Siderophore* yang mengakibatkan bakteri patogen kekurangan zat besi;

Ciri-ciri lain yang mungkin menguntungkan adalah induksi ketahanan tanaman terhadap patogen, penghambatan atau perpindahan bakteri rhizospfer penghambat non- patogen dan kemampuan untuk meningkatkan ketersediaan hara bagi tanaman (29).

2.5.3 Mekanisme Pengendalian Penyakit oleh Bakteri Endofitik

1. Antibiosis

Salah satu mekanisme utama bakteri endofitik dalam pengendalian biologis penyakit pada tanaman adalah dengan memproduksi senyawa antimikroba oleh agen pengendali penyakit. Antibiotik yang dihasilkan merupakan metabolit sekunder yang bersifat toksik seperti toksin spesifik yaitu bakteriosin. *Pseudomonas fluorescens* merupakan salah satu agen pengendali penyakit pada akar tanaman karena menghasilkan sejumlah metabolit sekunder yang bersifat sebagai antimikroba. Secara khusus, produksi metabolit sekunder dipengaruhi oleh pH, nutrisi anorganik, umur kultur dan prekursor senyawa (29).

Pseudomonas menghasilkan antibiotik tropolon. Tropolon bersifat bakteriostatik dan bakteriosida untuk berbagai spesies bakteri. Tropolon merupakan fungisida yang ampuh, menyebabkan lisis terhadap koloni jamur. Isolat *Pseudomonas cepacia* menghasilkan dua antibiotik asetilenik, cepacins A dan B. *Pseudomonas* lain mengoksidasi glisin menjadi hidrogen sianida. Peran antibiotik dalam pengendalian penyakit biologis contohnya isolasi dari rizosfer bibit kapas suatu strain *Pseudomonas fluorescens* (pf-5) yang bersifat antagonis terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pythium ultimum*. Isolat tersebut menghasilkan dua antibiotik fenilpirol: yoleutorin yang aktif melawan *P. Ultimum*, dan pyrrolnitrin yang aktif melawan *R.solani* (29).

2. Produksi Siderofor dan Kompetisi Zat besi

Siderofor adalah senyawa dengan bobot molekul rendah dan dapat mengkelat besi (Fe^{3+}). Siderofor dihasilkan pada kondisi keterbatasan unsur besi. Siderofor banyak dihasilkan oleh bakteri. Siderofor mampu mengkelat besi dan disuplai sel bakteri oleh reseptor membran luar. Ada tiga jenis siderofor utama yaitu katekolat, karboksilat dan hidroksamat (30).

Siderofor memberikan keuntungan bagi tanaman karena dapat menghambat penyakit yang disebabkan oleh patogen. Siderofor dan patogen akan saling berkompetisi untuk berikatan dengan Fe^{3+} . Akan tetapi, siderofor sudah berikatan dengan Fe^{3+} akibatnya patogen mengalami kekurangan Fe^{3+} . Perkembangan penyakit dipengaruhi oleh unsur besi, dengan terikatnya senyawa siderofor dan Fe^{3+} maka patogen kurang mampu menginfeksi, sehingga perkembangan penyakit menjadi terhambat (31).

Bakteri *B. subtilis* adalah bakteri yang mampu menghasilkan senyawa pengkelat besi yakni siderofor. Bakteri *B. subtilis* menghasilkan siderofor tipe hidroksamat dan katekolat. *B. subtilis* dengan kode isolat B298 mampu menekan patogen, meningkatkan pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan pada serapan Fe, volume akar, tinggi tanaman, bobot kering tanaman dan jumlah daun secara berturut-turut sebesar 45,62 %, 41,10 %, 25, 48 %, 34,89 %, 19,45 %. Penghambatan terhadap *C. gloeosporioides* sebesar 55,4 % dan zona hambat yang terbentuk sebesar 22 mm terhadap *R. solanacearum* (32).

3. Aktivitas Enzim Litik

Dalam melawan serangan patogen pada tanaman, bakteri endofitik akan memproduksi enzim litik. Enzim litik yang diproduksi dalam melawan patogen penyebab penyakit pada tanaman yakni enzim protease, selulase, kitinase, hemiselulase dan DNA yang secara langsung mampu menekan patogen. Bakteri endofitik dengan kode isolat E76 yang diisolasi dari tanaman padi menunjukkan adanya aktivitas enzim kitinase. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dengan rata-rata sebesar $0,9 \pm 0,1$ cm pada uji kitinase. Dengan demikian, isolat E76 mampu melawan patogen dengan enzim kitinase yang mampu menghidrolisis kitin pada dinding sel patogen (33).

Mekanisme enzim litik seperti melalui enzim kitinase dalam melawan patogen yakni dengan cara mendegradasi dinding sel patogen terutama dinding sel patogen yang mengandung banyak protease atau kitin (34). Beberapa enzim litik yang dihasilkan oleh bakteri endofitik seperti oligosakarida yang mana diproduksi dari dinding sel jamur, memiliki kemampuan dalam menekan patogen penyebab penyakit pada tanaman secara tidak langsung yakni dengan cara menginduksi

ketahanan tanaman (35).

2.6 Teknologi Fermentasi

Istilah 'fermentasi' berasal dari bahasa latin *fervere* yang berarti merebus (*to boil*). Fermentasi melibatkan peranan mikroorganisme seperti bakteri dan *yeast*. Pada proses fermentasi dihasilkan gelembung-gelembung karbon dioksida (CO₂) pada ekstrak pati atau ekstrak buah-buahan. Produksi gelembung-gelembung karbon dioksida (CO₂) ini diakibatkan karena adanya proses katabolisme gula yang ada dalam ekstrak pati dan buah-buahan yang berlangsung secara anaerob. Pada proses fermentasi, dihasilkan beberapa produk-produk penting yang terdiri dari: metabolit sekunder, enzim, biomassa, produk rekombinan dan fermentasi dapat memodifikasi suatu senyawa (36).

2.6.1 Komponen-komponen Utama Proses Fermentasi

Fermentasi perlu memperhatikan beberapa komponen penting diantaranya sebagai berikut:

1. Formulasi media yang akan digunakan pada kultur organisme selama proses pertumbuhan inokulum.
2. Sterilisasi media, fermentor dan peralatan pendukung lainnya.
3. Ketersediaan biakan murni (inokulum) yang aktif.
4. Kondisi pertumbuhan inokulum dalam keadaan optimum untuk pembentukan produk.
5. Ekstraksi produk dan pemurniaanya.
6. Pemisahan sisa-sisa (limbah) fermentasi (36).

2.6.2 Jalur-jalur Fermentasi

1. Fermentasi Asam laktat

Pada fermentasi asam laktat produk akhir yang dihasilkan adalah asam laktat. Fermentasi asam laktat ini berlangsung secara anaerob di otot (37).

Reaksi :

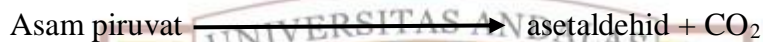


Enzim

2. Fermentasi Alkohol

Pada fermentasi alkohol, beberapa jenis mikroba pada peristiwa pembebasan energi terjadi akibat adanya perubahan asam piruvat menjadi asam asetat hingga akhirnya asam asetat diubah menjadi alkohol. Dalam fermentasi alkohol ini, dua molekul ATP dihasilkan dari satu molekul glukosa (37).

Reaksi :



Piruvat dekarboksilase (CH_3CHO)



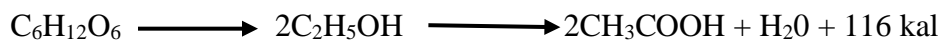
Enzim alkohol dehidrogenase

3. Fermentasi Asam Cuka

Fermentasi asam cuka merupakan fermentasi yang berlangsung secara aerob. Pada proses fermentasi asam cuka ini, dilakukan oleh bakteri *Acetobacter aceti* yang mana bakteri ini merupakan bakteri asam cuka dengan menggunakan etanol sebagai substratnya. Jika dibandingkan dengan fermentasi alkohol yang berlangsung secara anaerob, energi yang dihasilkan pada fermentasi asam cuka justru lima kali lebih besar (37).

Reaksi :

Aerob



(Glukosa) (Bakteri asam cuka) (Asam cuka)

2.6.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor penting yang dapat mendukung keberhasilan proses fermentasi diantaranya sebagai berikut :

1. Lama Fermentasi (Waktu)

Produk hasil fermentasi dipengaruhi oleh waktu atau lamanya suatu proses fermentasi, terjadinya peningkatan maupun penurunan kadar suatu produk sangat dipengaruhi oleh waktu fermentasi, dimana kadar bioetanol mengalami peningkatan pada hari ke-6 dan mengalami penurunan pada hari ke-7 dan 8. Adanya peningkatan ini diakibatkan karena pada hari ke-6 merupakan titik optimum waktu fermentasi dengan menggunakan kulit jagung sebagai substrat. Pada hari ke-6 ini, kadar etanol yang dihasilkan sebesar 4,50 %. Adanya peningkatan kadar bioetanol tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan ragi pada waktu fermentasi tersebut berada pada fase eksponensial. Dengan demikian, ragi bekerja secara optimum dalam mengubah glukosa menjadi etanol (38).

2. Konsentrasi Starter

Konsentrasi atau jumlah starter yang digunakan akan mempengaruhi produk hasil fermentasi. Jika konsentrasi starter ditambah, maka akan terjadi peningkatan aktivitas mikroba *Streptococcus thermophiles* dan *Lactobacillus burgalicus* serta bertambah banyaknya jumlah mikroba sehingga, asam laktat yang terbentuk jumlahnya semakin banyak. Konsentrasi starter 20 % merupakan konsentrasi optimum karena pada konsentrasi tersebut asam laktat yang dihasilkan paling banyak, dengan kadar asam laktat sebesar 1,31 %. Dengan demikian, semakin besar konsentrasi starter yang digunakan, maka semakin besar pula kadar asam laktat yang dihasilkan (39).

3. pH dan Suhu

pH dan suhu merupakan faktor penting dalam proses fermentasi karena kedua faktor tersebut mempengaruhi pertumbuhan mikroba. pH berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Pada proses fermentasi dari hidrosilat jerami padi, pH 4 merupakan pH optimum pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dengan demikian, *Saccharomyces cerevisiae* dapat bekerja secara maksimal dan menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 0,1352 %. Sedangkan suhu terbaik pada proses fermentasi didapatkan pada suhu 36°C. Suhu 36°C ini didapat melalui uji *Gas*

Chromatography (GC) (40).

4. Oksigen

Kadar oksigen selama proses fermentasi sangat mempengaruhi kondisi mikroba yang digunakan dimana, oksigen akan mempengaruhi lamanya fermentasi yang dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Pada kondisi lingkungan aerob, *Saccharomyces cerevisiae* mampu tumbuh dengan baik dan pada kondisi aerob ini *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan air dan CO₂ melalui hidrolisis gula. Pada kondisi anaerob, *Saccharomyces cerevisiae* gula akan diubah menjadi alkohol dan CO₂ (41). Dengan demikian, pada kondisi aerob *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh dengan baik akan tetapi, *Saccharomyces cerevisiae* membutuhkan kondisi anaerob pada proses fermentasi alkohol (42).

5. Substrat

Substrat merupakan salah satu komponen penting pada proses fermentasi, dimana substrat mengandung nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba. Selain itu, kandungan substrat pada proses fermentasi mempengaruhi mikroba dalam menghasilkan produk fermentasi seperti senyawa-senyawa metabolit sekunder. Nutrisi yang dibutuhkan salah satunya adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber energi bagi mikroba (42).

Substrat dalam bentuk gula oleh *Saccharomyces cerevisiae* akan diubah menjadi bioetanol. Kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* dalam mengubah gula menjadi bioetanol ini karena adanya bantuan enzim zymase dan intervas. Kedua enzim tersebut mampu mengkonversi gula monosakarida dan disakarida. Apabila gula yang ada pada substrat dalam bentuk gula disakarida, maka oleh enzim intervas akan dihidrolisis menjadi gula monosakarida. Selanjutnya oleh enzim zymase gula monosakarida tersebut diubah menjadi etanol dan CO₂ (42).

2.7 Molase

Molase merupakan hasil samping yang berasal dari olahan gula tebu (*Saccharum officinarum*). Kandungan gula pada molase cukup tinggi sehingga molase dijadikan sebagai sumber karbon bagi mikroba dalam proses fermentasi.

Selain itu, bahan baku bioetanol juga berasal dari molase (42). Molase merupakan cairan kental berwarna coklat gelap, berbau karamel tidak menyengat, titik didih > 100 °C, densitas relatif (20°C) 1,4- 1,44 kg/l, viskosita (20°) 5000-20000 cps, pH 5, memiliki kelarutan yang tidak terbatas dalam air, dan dekomposisi termal dimulai pada suhu 60°C (43).

Molase mengandung berbagai komponen senyawa organik seperti gula, mineral dan asam amino. Molase juga mengandung gula seperti sukrosa sebesar 25-40 % dan kadar gula reduksinya sebesar 12-35 %. Tebu yang belum masak memiliki kandungan gula reduksi tetes lebih besar dibandingkan dengan tebu yang sudah masak. Salah satu komposisi penting dalam molase adalah *Total Sugar as Inverti*, yang merupakan gabungan dari gula reduksi dan sukrosa. TSAI (*Total Sugar as Inverti*) yang dikandung molase sebesar 50-65 %. Semakin besar nilai TSAI yang dimiliki pada suatu substrat, akan semakin menguntungkan bagi industri farmasi (44).

2.8 Uji Antibakteri

2.8.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram (tes Kirby & Bauer) bertujuan untuk menentukan adanya aktivitas agen antimikroba. Prinsip kerja metode cakram ini yakni dengan terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana pada media padat tersebut telah diinokulasikan suatu mikroba uji. Adanya indikasi aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (45).

Pada metode difusi cakram ini, menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap senyawa antimikroba yang telah dijenuhkan ke dalam bahan uji, kertas cakram tersebut selanjutnya diletakan di atas media agar yang telah diinokulasikan biakan mikroba uji. Media kemudiaan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, media diamati terbentuknya zona bening disekitaran kertas cakram yang menunjukkan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter zona hambat yang terbentuk adalah sebanding dengan jumlah mikroba uji yang di masukan pada kertas cakram. Metode cakram ini memiliki beberapa kelebihan yakni cepat, murah, mudah, dan jumlah zat yang digunakan dapat diatur (45).

BAB III PROSEDUR KERJA

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-September 2021 di Laboratorium Bioteknologi Biota Sumatera Barat Universitas Andalas.

3.2 Alat dan bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Autoclave (GEA[®]), tabung *Eppendorf*, *sentrifuge* (MPW-150R), *vortex*(VM-1000[®]), *hot plate*(Corning PC-6200[®]), timbangan analitik (METTER TOLEDO[®]), erlemeyer 250 ml (pyrex[®]), cawan petri, tabung reaksi (pyrex[®]), corong, bunsen, *plastic wrap* (Total[®]), mikropipet (Dia Line Elo[®]), *microtube*, *microtip*, *laminar air flow* (ELISA[®]), lumpang dan alu, jangka sorong, gelas ukur 100 ml (pyrex[®]), vial 100 ml, kain kassa (Promedik[®]), kertas cakram steril, *rotary shaker incubator* (Model VRN-400), *spectrophotometry UV* (*Thermo scientific*[®]) kapas steril (Promedik[®]), spatula, batang pengaduk dan alat-alat lain yang digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

3.2.2 Bahan

Tanaman labu Koteka *Langenaria siceraria* (Molinda) Standl bagian daun dan buah, alkohol (Brataco[®]), spiritus (Brataco[®]), media NA (*Nutrient Agar*) (Merck[®]), aquadest steril, kloramfenikol 3 mg/ml, larutan NaCl fisiologis 0,9%, etanol 70%, spiritus, bakteri patogen uji yang dikoleksi Laboratorium Bioteknologi Sumatera yaitu *S. thypi*, media produksi antibiotik yang terdiri dari konsentrasi molase 1, 5, 10% (b/v), larutan dapar fosfat pH 6, dan larutan mineral, pereaksi dragendroff, pereaksi meyer, FeCl₃ MnCl₂.4H₂O (Merck[®]), CuSO₄.5H₂O (Merck[®]), ZnSO₄.7H₂O (Merck[®]), CoCl₂.6H₂O (Merck[®]), H₃BO₃ (Merck[®]), Na₂MoO₄.2H₂O (Merck[®]), KI (Merck[®]), KH₂PO₄ 0,2 M (Merck[®]), NaOH 0,2 M (Merck[®]).

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Persiapan Sampel

Identifikasi sampel tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl.

3.3.2 Sterilisasi Alat dan Desinfeksi Permukaan Sampel

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen. Alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer) ditutup mulutnya dengan kapas steril yang dibalut dengan kain kasa steril lalu dibungkus dengan kertas perkamen, kemudian disterilkan didalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara *flambier*. *Laminar Air Flow* (LAF) disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 5 menit. Lemari aseptis dibersihkan dari debu lalu disemprot dengan alkohol 70%, dan dibiarkan selama 15 menit.

2. Desinfeksi Permukaan Sampel

Dilakukan desinfeksi permukaan sampel daun dan buah dengan cara merendam sampel dalam etanol 70% selama 30 detik, larutan sodium hipoklorit 5% selama 5 menit, etanol 70 % selama 30 detik dan bilas dengan air suling steril selama 3 menit. Setelah itu sampel dikeringkan diatas tisu steril.

3.3.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* NA (Merck®)

Ditimbang 20 gram NA dilarutkan ke dalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan hingga homogen. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

3.3.4 Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Labu Koteka

1. Isolasi Bakteri Endofit dari Sampel Daun Labu Koteka

Sampel daun yang telah dilakukan desinfeksi, dipotong dengan ukuran $\pm 1 \times 1 \text{ cm}^2$ menggunakan pisau steril dalam LAF dan sampel daun tersebut kemudian ditanam pada media NA. setiap media NA ditanami 2 potong sampel.

Setelah itu, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan amati koloni bakteri yang tumbuh.

2. Isolasi Bakteri Endofit dari Sampel Buah Labu Koteka

Sampel buah labu koteka yang telah didisinfeksi, digerus. Kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan NaCl 0,9 %. Selanjutnya, dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-4} (larutan dihomogenkan menggunakan vortex). Hasil pengenceran diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan disebar diatas media NA yang telah memadat. Setelah itu, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan amati koloni bakteri yang tumbuh.

3.3.5 Pemurnian Koloni Bakteri Endofit dari Tanaman Labu Koteka

Masing- masing koloni bakteri yang tumbuh diamati berdasarkan perbedaan morfologi secara makroskopik berdasarkan adanya perbedaan warna, bentuk dan tepian koloni. Koloni bakteri yang berbeda, selanjutnya dimurnikan dengan metode *streak plate*.

3.3.6 Pembuatan Medium Fermentasi Menggunakan Molase sebagai Sumber Karbon

1. Pembuatan larutan Mineral

Komposisi larutan mineral terdiri dari 1,98 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; 0,25 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 0,29 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,12 g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$; 0,31 g H_3BO_3 ; 0,12 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 0,08 g KI dan add aquadest hingga 1 liter. Kemudian larutan mineral disterilkan.

2. 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.

3. Sumber Nitrogen

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

4. Variasi Konsentrasi Molase sebagai Sumber Karbon (1 , 5 dan 10 % (b/v))

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

3.3.7 Fermentasi Medium Pertumbuhan

1. Pembuatan Inokulum Menggunakan Molase sebagai Sumber Karbon (1 %, 5 % dan 10 % (v/v))

Komposisi media fermentasi terdiri dari 1 ml larutan mineral, 10 ml larutan sumber nitrogen, variasi konsentrasi molase yaitu 1, 5 dan 10% (v/v), dapar fosfat pH 6. Selanjutnya, diinokulasikan 1-2 ose bakteri ke dalam 20 ml media fermentasi. Kemudian media *dishaker* pada kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Fermentasi Produksi Antibiotik dengan Variasi Inokulum 1, 5 dan 10 % (v/v)

Variasi sumber inokulum yang ditambahkan ke dalam 100 ml medium fermentasi terdiri dari sumber inokulum 1, 5 dan 10% (v/v). Media yang sudah ditambahkan inokulum bakteri endofit, lalu *dishaker* pada kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 72 jam, tiap interval waktu 12 jam sekali yaitu pada jam ke-0, 12, 24, 36, 48, 60 dan 72 dilakukan pencuplikan untuk pengamatan OD (*Optical Density*) pertumbuhan bakteri dan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Salmonella thypi*.

Medium yang telah difermentasi selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat bakteriterhadap 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 dilakukan pengujian terhadap bakteri uji dengan metode difusi cakram.

3.3.8 Uji Antibakteri

1. Peremanjaan Bakteri Uji

Isolat bakteri uji *Salmonella thypi* diinokulasikan sebanyak 1 ose pada permukaan medium agar miring secara aseptik, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (46).

2. Pembuatan Larutan Standar *Mc Farland*

Pembuatan larutan standar *Mc Farland* mengandung 99,5 ml larutan H₂SO₄ 1% dan 0,5 ml larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% b/v. Selanjutnya, kedua larutan tersebut dicampurkan ke dalam tabung reaksi yang telah disterilkan, dikocok dan ditutup (46).

3. Pembuatan Suspensi Kloramfenikol 30 µg/disk

Ditimbang kloramfenikol sebanyak 300 mg, kemudian ditambahkan dengan 10 ml aquadest steril dan homogenkan menggunakan vortex sehingga didapatkan konsentrasi 30 mg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara mengambil sebanyak 1 ml larutan kloramfenikol 30 mg/ml ditambah 9 ml aquadest lalu divortex selama 1 menit sehingga didapatkan konsentrasi 3 mg/ml. konsentrasi kloramfenikol 3 mg/ml kemudian diteteskan pada disk sebanyak 10 µl sehingga didapatkan konsentrasi kloramfenikol 30 µg/disk.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri *Salmonella thypi* diambil menggunakan jarum ose dan dilarutkan ke dalam 5 ml larutan NaCl steril 0,9 %. Suspensi bakteri kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Tingkat kekeruhan suspensi yang terbentuk lalu disetarakan dengan standar *Mc Farland* No. 0,5 yaitu 1,5 x 10⁸ CFU/ml (47).

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri Supernatan Isolat Bakteri Endofit

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Pencuplikan sebanyak 1 ml kultur isolat bakteri endofit tiap 12 jam selama 72 jam diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* steril lalu disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 50 µL 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 ditanamkan cakram tersebut diatas media NA, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati pertumbuhan mikrobadan diukur diameter hambatnya. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut aquadest dan sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol 3 mg/ml. Lalu diamati dan diukur zona hambat (*Inhibition Zone*) yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

3.3.9 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

1. Ekstraksi Supernatan Etil-Asetat Supernatan Bakteri Endofit

Supernatan hasil fermentasi kemudiaan diekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 (v/v). Supernatan dan pelarut etil asetat yang telah dicampurkan lalu, dikocok dan dimaserasi selama 3 hari (sesekali dikocok). Selanjutnya, dengan menggunakan *Rotary Evaporator* pelarut diuapkan hingga diperoleh ekstrak (48).

2. Pengujian Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder

a) Uji Flavonoid

2 ml ekstrak ditambah dengan etanol sebanyak 5 ml lalu, dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan selanjutnya ditambahkan sebanyak 0,2 g serbuk Mg. campuran kemudiaan dikocok. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau kuning (49).

b) Uji Alkaloid

2 ml ekstrak ditetaskan 3-5 tetes asam sulfat 2 N, kemudiaan diuji dengan pereaksi alkaloid Dragendorff. Hasil positif akan ditandai dengan terbentuknya warna merah hingga jingga. Untuk pereaksi Wegner akan tercipta endapan berwarna cokelat sedangkan dengan pereaksi Meyer, akan dihasilkan endapan putih kekuningan (49).

c) Uji Steroid

2 ml ekstrak diteteskan 3-5 tetes asam asetat anhidrat dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian ditambahkan sebanyak 3 tetes asam asetat pekat. Hasil positif adanya kandungan senyawa steroid ditandai dengan adanya warna biru (49).

d) Uji Terpenoid

2 ml ekstrak diteteskan 3-5 tetes asam asetat anhidrat dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian ditambahkan sebanyak 3 tetes asam asetat pekat. Hasil positif adanya kandungan senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga atau ungu (49).

3.3.10 Identifikasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri Endofit Potensial

1. Pewarnaan Gram

Kaca objek disterilkan dengan menggunakan alkohol 70 %, lalu diambil 1 ose isolat bakteri dan digoreskan diatas kaca objek selanjutnya dilakukan fiksasi diatas api bunsen. Sebanyak 2 tetes kristal violet diteteskan diatas isolat bakteri dan didiamkan selama satu menit. Selanjutnya, dilakukan pencucian isolat bakteri dengan aquadest dan dikeringkan. Setelah itu, isolat ditetesi iodin dan didiamkan selama satu menit. Setelah didiamkan selama satu menit, isolat kembali dicuci dengan menggunakan aquadest dan dikeringkan (50).

Setelah isolat dikeringkan, secara perlahan-lahan isolat bakteri ditetesi dengan alkohol 95 % dan didiamkan selama 30 detik. Kemudian isolat dicuci dengan aquadest dan dikeringkan. Isolat bakteri kemudian ditetesi dengan safranin selama 30 detik, dicuci dengan aquadest dan dikeringkan kembali. Selanjutnya, dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x. pengamatan dengan mikroskop ini guna melihat warna dan bentuk sel bakteri. Kelompok isolat bakteri Gram positif mampu mengikat zat warna kristal violet oleh karena itu, ciri khas bakteri Gram positif adalah berwarna ungu. Sedangkan kelompok bakteri Gram negatif memiliki ciri khas berwarna merah muda karena kelompok bakteri ini hanya terwarnai oleh safranin dan tidak mampu mengikat zat warna kristal violet (50).

2. Pewarnaan Endospora

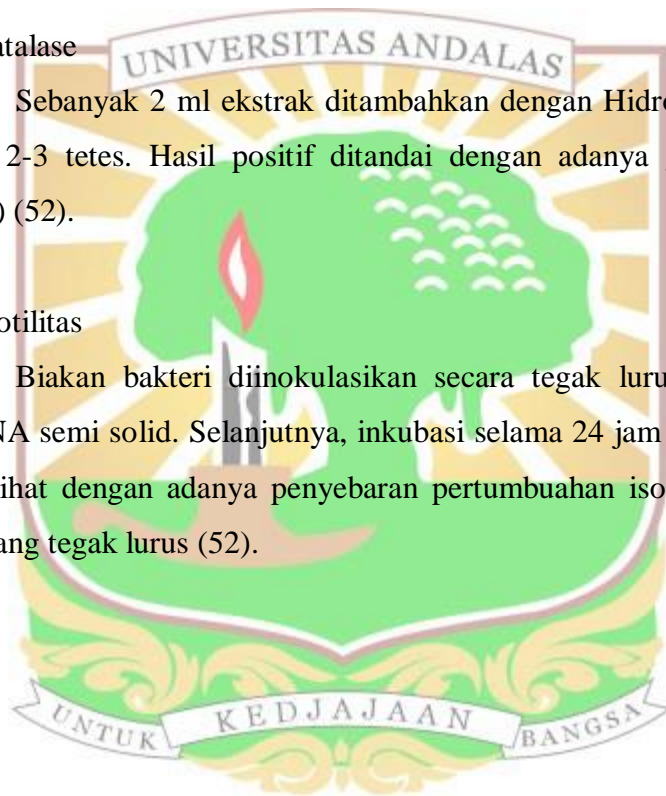
Sebanyak 1 ose isolat bakteri digoreskan diatas preparat steril dan dilakukan fiksasi. Selanjutnya, pereparat yang telah digoreskan isolat bakteri dibungkus dengan menggunakan kertas saring dan ditetesi malacite green sebanyak 1 tetes (diamkan selama 4 menit). Setelah itu, kertas saring diambil dan preparat dicuci dengan aquadest dan dikeringkan diatas api spirtus. Setelah itu, sebanyak 1 tetes safranin ditetaskan diatas permukaan preparat dan didiamkan selama 5 menit. Preparat kemudiaan diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x (51).

3. Uji Katalase

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan dengan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung-gelembung udara (O_2) (52).

4. Uji Motilitas

Biakan bakteri diinokulasikan secara tegak lurus (vertikal) ke dalam medium NA semi solid. Selanjutnya, inkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Hasil positif dilihat dengan adanya penyebaran pertumbuhan isolat bakteri diluar jalur tusukan yang tegak lurus (52).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

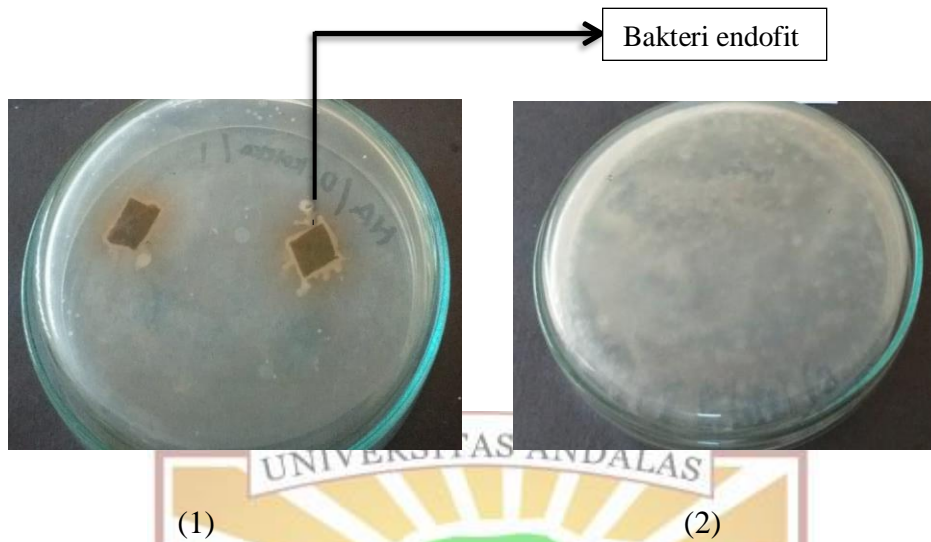
4.1 Isolasi Bakteri Endofitik

Bakteri endofitik yang diisolasi berasal dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl dimana, tanaman ini merupakan tanaman endemik yang berasal dari Kabupaten Jayawijaya, Papua. Bakteri endofitik yang diisolasi dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, berasal dari bagian buah dan daun. Sebelum dilakukan proses isolasi, terlebih dahulu sampel buah dan daun dilakukan proses pembersihan (sterilisasi) permukaan guna membersihkan sampel dari berbagai kontaminan.

Pada proses isolasi bakteri endofitik pada tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, sampel daun dan buah memiliki perlakuan yang berbeda. Pada proses isolasi bakteri endofitik dari bagian daun akan dipotong dengan ukuran $\pm 1 \text{ cm}^2$ dan tepat dibagian pertulangan daunnya akan diberi sayatan kecil, selanjutnya sampel daun sebanyak 2 bagian akan ditanam diatas medium NA yang telah memadat. Kemudian, medium diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .

Pada sampel buah, dimana sebanyak 2 g sampel buah digerus hingga halus dan dilakukan proses pengenceran bertingkat hingga 10^4 . Tujuan dilakukannya pengenceran ini adalah untuk memperkecil jumlah populasi sel bakteri yang ada. Selanjutnya, sebanyak 1 ml larutan yang berasal dari pengenceran bertingkat yakni 10^1 , 10^2 , 10^3 dan 10^4 dituangkan diatas medium NA yang telah memadat dengan menggunakan metode *pour plate*, lalu medium diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .

Isolasi bakteri endofitik, dilakukan dengan menggunakan metode *streak plate*. Metode *streak plate* ini memiliki beberapa kelebihan yaitu, dapat dengan mudah membedakan bakteri yang kontaminan, koloni bakteri hasil isolasi merupakan koloni tunggal dan dapat membuat pola goresan tertentu (53). Proses isolasi bakteri endofitik yang berasal dari sampel buah dan daun dapat dilihat pada **Gambar 5** dibawah ini.



Gambar 5. Isolasi Bakteri Endofitik

Keterangan : (1) Isolasi Bakteri Endofitik dari Sampel Daun
 (2) Isolasi Bakteri Endofitik dari Sampel Buah

Hasil isolasi bakteri endofitik diperoleh sebanyak 15 koloni bakteri yang terdiri dari sampel buah sebanyak 5 koloni bakteri endofitik dan pada sampel daun sebanyak 10 koloni bakteri endofitik. Tahapan selanjutnya adalah dengan melakukan pemurnian. Pemurnian ini, guna memisahkan koloni bakteri satu dengan yang lainnya secara makroskopis berdasarkan adanya perbedaan karakteristik morfologi seperti adanya perbedaan warna, bentuk tepian dan elevasi koloni.

Setelah dilakukannya pemurnian, maka selanjutnya dilakukan penyeleksian terhadap koloni bakteri endofitik yang memiliki kesamaan morfologi. Dengan demikian, diperolehlah sebanyak 10 isolat bakteri endofitik yang berbeda diantaranya 2 isolat berasal dari sampel buah yakni isolat 1 merupakan bakteri endofitik yang berasal dari proses pengenceran 10^1 dan isolat 3 berasal dari proses pengenceran 10^2 dan 8 isolat lainnya berasal dari sampel daun dengan kode isolat masing-masing yakni isolat 3, isolat 4, isolat 5, isolat 6, isolat 7, isolat 8, isolat 9 dan isolat 10.

4.2 Uji Antibakteri

Berdasarkan hasil isolasi bakteri endofitik dari tanaman labu koteka *Langenaria siceraria* (Molina) Standl, telah diperoleh sebanyak 10 isolat bakteri, dimana 2 isolat bakteri endofitik dengan kode isolat yakni isolat 1 dan 2 berasal dari sampel buah sedangkan, pada sampel daun terdapat sebanyak 8 isolat bakteri endofitik dengan kode isolat yakni isolat 3, isolat 4, isolat 5, isolat 6, isolat 7, isolat 8, isolat 9 dan isolat 10.

Selanjutnya, dari 10 isolat bakteri endofitik ini akan dilakukan penyeleksian guna memperoleh isolat bakteri endofitik potensial yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri melalui pengujian antibakteri terhadap *Salmonella thypi* ATTC 6539 dengan menggunakan metode difusi cakram (*Disc Diffusion*) dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatifnya. 10 isolat bakteri endofitik tersebut, diseleksi berdasarkan adanya aktivitas antibakteri melalui pengamatan luas zona hambat (*Inhibition Zone*) yang terbentuk dengan melakukan pengukuran menggunakan jangka sorong.

Dalam pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* konsentrasi substrat sumber karbon (molase) yang diberikan pada masing-masing isolat bakteri endofitik terdiri dari konsentrasi 1 %, 5 % dan 10 % sedangkan, variasi waktu lamanya fermentasi adalah 72 jam dimana dilakukan pencuplikan tiap 12 jam sekali yakni pada jam ke-12; 24; 36; 48; 60 dan 72. Adanya variasi konsentrasi substrat sumber karbon (molase) dan pencuplikan kultur isolat bakteri endofitik selama waktu fermentasi berlangsung bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan waktu terbaik dihasilkannya senyawa metabolit sekunder yang berperan aktif sebagai agen antibakteri.

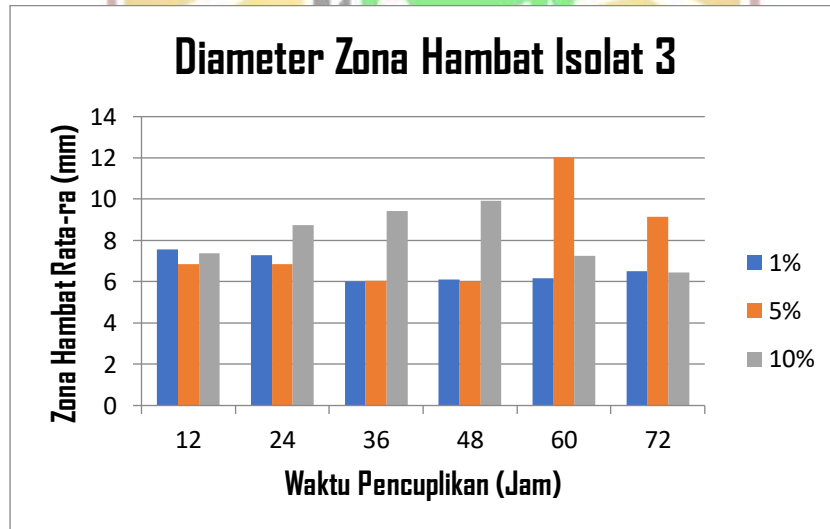
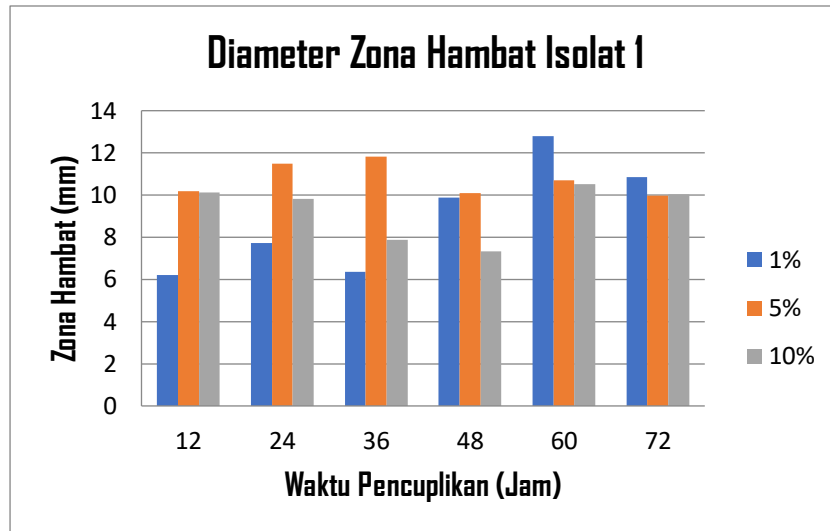
Kekuatan daya hambat yang terbentuk dibagi menjadi beberapa kategori melalui kriteria zona hambat yang terbagi ke dalam empat kategori diantaranya : diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat dan ≥ 20 mm dikategorikan sangat kuat (54). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat 1 yang berasal dari sampel buah tanaman labu koteka, dengan konsentrasi molase 1 % pada jam ke-60 memberikan aktivitas antibakteri, sehingga diperoleh diameter zona hambat rata-rata sebesar 12,79 mm. Sedangkan pada isolat 3 yang berasal dari sampel daun tanaman labu koteka

memiliki aktivitas antibakteri dan diperoleh dari konsentrasi molase 5 % pada jam ke-60 dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 12,02 mm. Dengan demikian, kekuatan daya hambat isolat 1 dan 3 terhadap *Salmonella thypi* termasuk ke dalam kategori kuat karena diameter zona hambat rata-rata yang terbentuk oleh isolat 1 dan isolat 3 berada pada rentang 10-20 mm.

Isolat 1 dan 3 merupakan bakteri endofitik potensial yang berperan sebagai antibakteri terhadap *Salmonella thypi* karena jika dibandingkan dengan 8 isolat bakteri endofitik lainnya, luas zona hambat rata-rata yang dibentuk oleh isolat 1 dan 3 lebih luas dan bening sehingga dapat membunuh bakteri *Salmonella thypi*. Nilai diameter zona hambat rata-rata isolat 1 dan 3 dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Gambar 6** dibawah ini, sedangkan nilai zona hambat rata-rata dari 8 isolat bakteri endofitik lainnya yakni isolat 2, isolat 4, isolat 5, isolat 6, isolat 7, isolat 8, isolat 9 dan isolat 10 dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Tabel 1. Diameter Rata-rata Zona Hambat

Kode Isolat	Waktu Pencuplikan	Diameter Zona Hambat (mm) ± Standar Deviasi (STD)		
		1%	5%	10%
Isolat 1	12	6,22 ± 0,26	10,17± 3,04	10,11± 2,87
	24	7,73 ± 3,03	11,49± 1,47	9,83 ± 1,52
	36	6,34 ± 0,59	11,83± 2,79	7,89 ± 0,34
	48	9,87 ± 0,09	10,09± 0,33	7,32 ± 0,24
	60	12,79 ± 4,57	10,69± 0,66	10,53± 0,34
	72	10,86 ± 2,00	9,97 ± 1,01	10,04± 0,91
Isolat 3	12	7,56 ± 1,88	6,85 ± 0,88	7,39 ± 0,49
	24	7,73 ± 1,80	6,87 ± 1,15	8,76 ± 0,33
	36	6,01 ± 0,01	6,04 ± 0,05	9,43 ± 0,49
	48	6,11 ± 0,15	6,03 ± 0,01	9,91 ± 0,25
	60	6,18 ± 0,06	12,02± 2,82	7,25 ± 1,68
	72	6,51 ± 0,50	9,15 ± 4,45	6,44 ± 0,55



(2)

Gambar 6. Diagram Zona Hambat

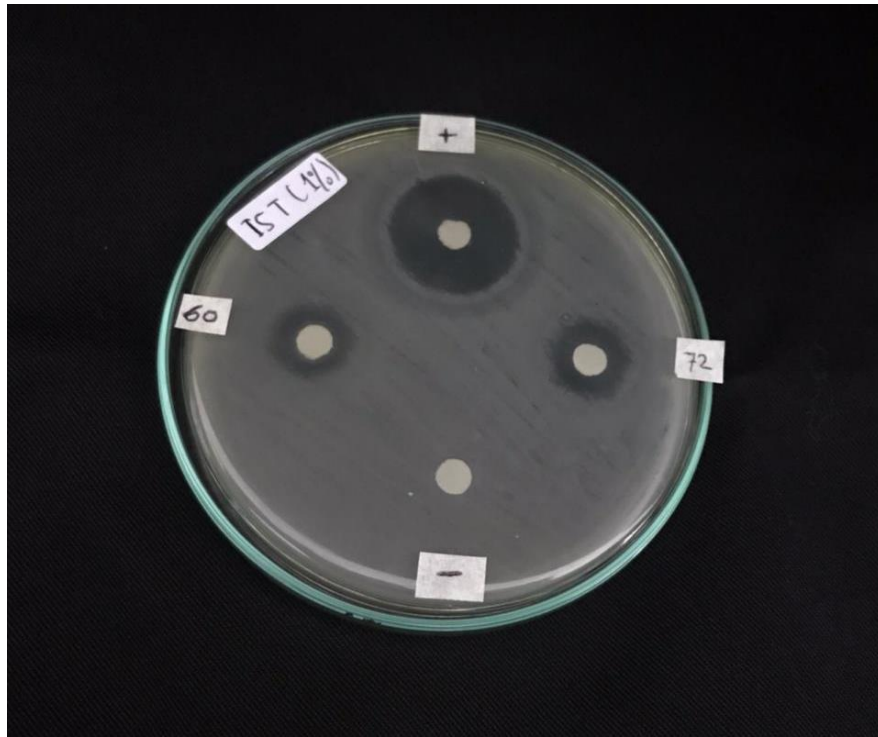
Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
 (2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

Dengan adanya variasi konsentrasi substrat sumber karbon (molase) dan variasi waktu fermentasi dapat mempengaruhi terbentuknya luas diameter zona hambat yang berbeda-beda sehingga, aktivitas antibakteri yang dimiliki tiap isolat akan berbeda pula. Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa pada konsentrasi molase 1 % dan 5 % isolat bakteri membentuk zona hambat paling luas dan mampu membunuh bakteri patogen *Salmonella thypi* dengan baik jika dibandingkan dengan konsentrasi molase 10 %. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa isolat dengan konsentrasi rendah akan menghasilkan aktivitas antibakteri paling baik. Aktivitas antibakteri dari isolat-1 dan isolat-3 dipengaruhi oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Produksi metabolit sekunder oleh sel bakteri dipengaruhi oleh jumlah nutrisi yang terkandung dalam medium pertumbuhan dan kemampuan metabolisme sel bakteri dalam menghidrolisis selulosa oleh enzim selulase.

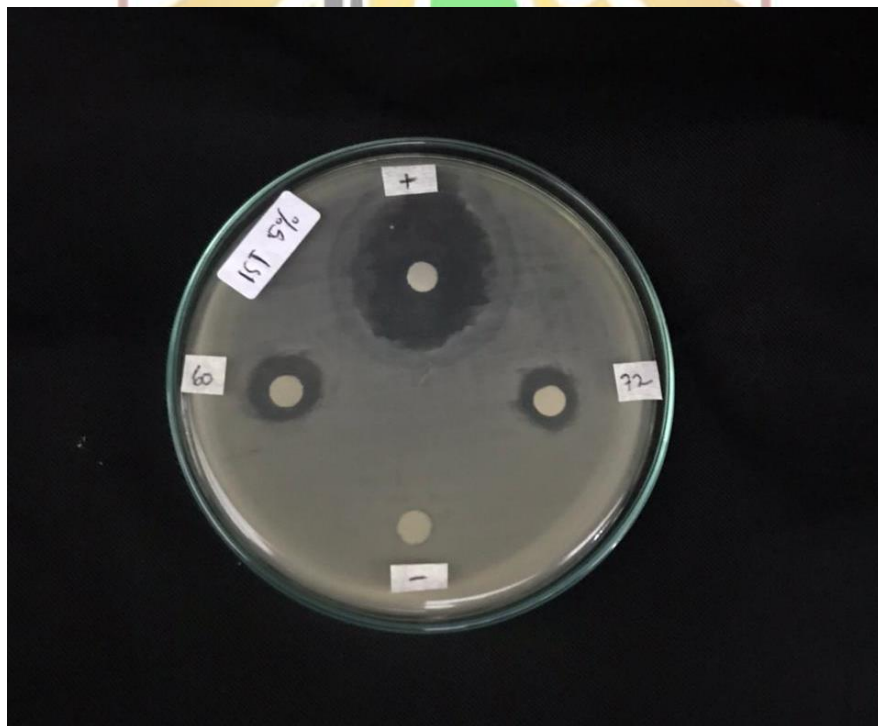
Pada konsentrasi molase 1 % dan 5 %, kandungan nutrisi yang dimiliki oleh sel bakteri lama kelamaan menjadi terbatas jumlahnya seiring dengan berjalannya waktu fermentasi. Oleh karena itu, bakteri mulai tertekan dan akhirnya akan terjadi metabolisme sel untuk mempertahankan viabilitas sel dengan memproduksi metabolit sekunder atau senyawa antibakteri sehingga, dalam keadaan tertekan dengan jumlah nutrisi yang semakin sedikit sel bakteri akan memproduksi metabolit sekunder. Selain itu, adanya enzim selulase yang dihasilkan oleh sel bakteri juga berperan penting dalam memecah senyawa kompleks selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa. Glukosa menjadi sumber energi utama bagi bakteri dalam menghasilkan suatu produk dan metabolit sekunder.

Enzim selulase termasuk enzim ekstraseluler sehingga dapat diekstrak dengan cara disentrifugasi. Fungsi utama enzim ini adalah mengubah nutrisi disekitar agar dapat masuk ke dalam sel dan dijadikan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sel. Enzim selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa dengan cara memutus ikatan β 1,4 glikosida yang menghasilkan oligosakarida turunan selulosa dan glukosa. Enzim selulase diklasifikasikan ke dalam 3 kelompok berdasarkan spesifitas dalam menghidrolisis selulosa, yakni β - D-glukosidase, ekso-1,4- β -glukanase dan endo-1,4- β -glukanase (CMCase) (55). Penampakan zona hambat isolat-1 dan isolat-3 dapat dilihat pada **Gambar 7**

dibawah ini:



(1)



(2)

Gambar 7. Pengamatan Uji Antibakteri Terhadap *Salmonella thypi*

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
(2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

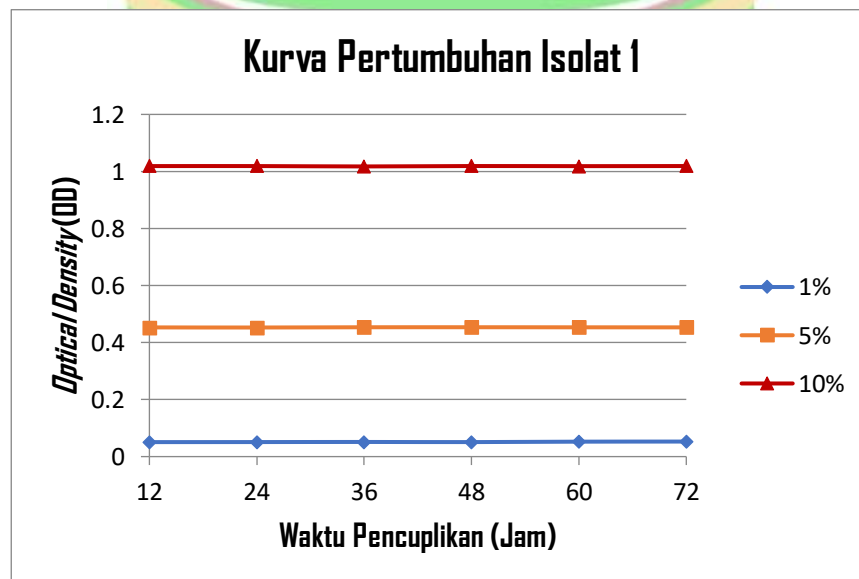
Berdasarkan pada **Gambar 7**, dapat dilihat bahwa isolat 1 dan 3 memiliki diameter zona hambat yang luas dan bening. Hal ini membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh adanya kandungan metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri terhadap *Salmonella thypi*. Selain itu, tinggi rendahnya kandungan gula sisa dalam media dipengaruhi oleh kemampuan bakteri dalam mengkonversi sumber karbon yang terdapat dalam substrat menjadi biomassa dan produk, glukosa yang tinggi sebagai substrat dapat menghambat pertumbuhan bakteri bila keberadaannya berlebih atau lebih besar dari nilai kritisnya, sehingga bakteri mengalami kesulitan dalam memecah gula untuk dijadikan sebagai sumber nutrisi. Oleh karena itu, konsentrasi substrat yang lebih rendah cenderung membantu bakteri dalam menghidrolisis gula lebih cepat sehingga bakteri dapat memperoleh energi yang cukup untuk produksi metabolit sekundernya.

4.3 Pengukuran Profil Pertumbuhan Bakteri

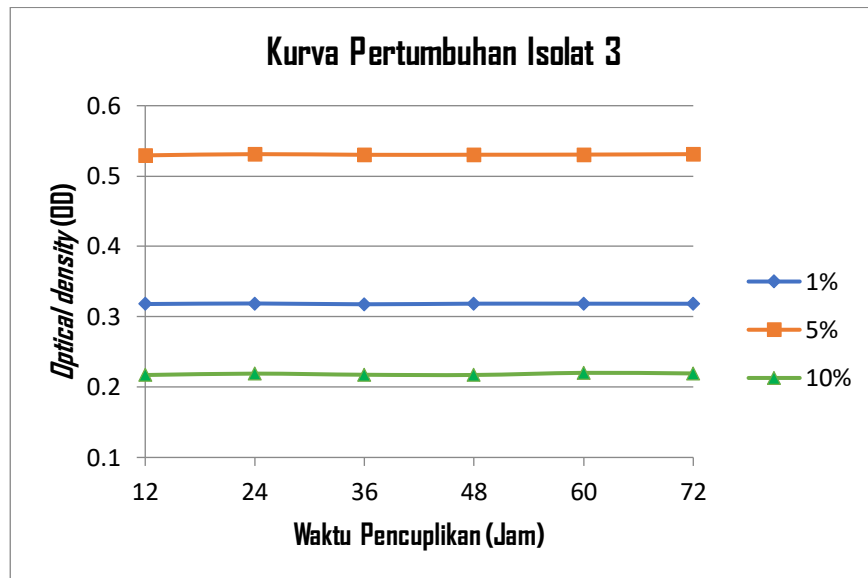
Pada tahap pengukuran profil pertumbuhan bakteri, dipilihlah dua isolat bakteri endofitik potensial yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri berdasarkan uji antibakteri terhadap *Salmonella thypi* yaitu isolat 1 dan 3. Pengukuran profil pertumbuhan isolat 1 dan 3 dilihat melalui data nilai absorbansi (*Optical Density*) yang diperoleh melalui alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Data pertumbuhan dari isolat 1 dan 3 dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml kultur isolat bakteri endofitik setiap selang waktu 12 jam selama 72 jam yakni pada jam ke-12; 24; 36; 48; 60 dan 72. Prinsip kerja alat spektrofotometer adalah dengan melewatkan cahaya pada panjang gelombang tertentu sesuai jenis atom pada suatu objek kaca yang disebut kuvet dimana, sebagian cahaya akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang dilewatkan sebanding dengan konsentrasi larutan OD dalam kuvet (56)

Pemilihan pemakaian spektrofotometer untuk menentukan nilai absorbansi (*Optical Density*) dikarenakan spektrofotometer memiliki beberapa keuntungan seperti : Penentuan kuantitas jumlah zat yang sangat kecil dapat diperoleh dengan cara yang sederhana dalam waktu yang singkat, mempunyai ketelitian yang tinggi, hasil yang diperoleh cukup akurat, pada pemilihan kondisi yang tepat dapat dicari panjang gelombang untuk zat yang dicari (selektif) dan dapat dipergunakan untuk menganalisis banyak zat baik organik dan anorganik. Penyerapan yang tampak dipengaruhi oleh lebar celah instrumen, kondisi filter, dan ukuran serta kondisi detektor. Tiap kali penggunaan spektrofotometer, maka perlu dilakukan kalibrasi terlebih dahulu, agar diperoleh hasil pengukuran yang akurat (56).

Berdasarkan data nilai absorbansi yang diperoleh dari isolat-1 dan isolat-3, maka kemudian dibuatlah kurva pertumbuhan bakteri, yaitu dengan cara meregresikan nilai absorbansi ke dalam persamaan regresi $y = ax + b$ dimana, $x =$ nilai absorbansi sehingga diperoleh $y =$ besarnya nilai *Optical Density* melalui persamaan tersebut. Kurva pertumbuhan dari isolat-1 dan isolat-3 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi*, dapat dilihat pada **Gambar 8** berikut ini :



(1)



(2)

Gambar 8, Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofitik

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
 (2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

Berdasarkan **Gambar 8**, dapat dilihat bahwa profil pertumbuhan dari dua isolat bakteri endofitik yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu, isolat 1 dan 3 menunjukkan adanya perbedaan profil pertumbuhan dengan adanya variasi konsentrasi substrat sumber karbon (molase). Pada **Gambar 8**, memperlihatkan bahwa isolat 1 memiliki nilai *Optical Density* (OD) tertinggi pada konsentrasi molase 10 % sedangkan, pada isolat 3 nilai *Optical Density* (OD) tertinggi diperoleh pada konsentrasi molase 5 %. Adanya perbedaan profil pertumbuhan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti banyaknya jumlah nutrisi yang diberikan (konsentrasi substrat) dan kemampuan sel bakteri dalam mengkonversi sumber karbon yang terdapat dalam substrat menjadi produk dan biomassa.

Pada isolat 1 menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi substrat (molase) yang tinggi, akan memberikan nilai *Optical Density* (OD) yang tinggi pula. Hal ini dikarenakan, kandungan glukosa yang terdapat pada substrat merupakan sumber

karbon (energi) bagi bakteri yang dapat digunakan untuk mempercepat pertumbuhan sehingga, populasi sel bakteri akan meningkat. Adanya peningkatan populasi sel bakteri ditandai dengan tingginya nilai *Optical Density* (OD). Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi substrat sumber karbon (molase), maka semakin tinggi pula jumlah biomassa sel yang dinyatakan dalam nilai *Optical Density* (OD) (57).

Sementara pada isolat 3 menunjukkan profil pertumbuhan yang berbeda dimana, isolat 3 pada konsentrasi substrat sumber karbon (molase) 5% justru memperlihatkan nilai *Optical Density* (OD) tertinggi. Hal ini bisa disebabkan karena pertumbuhan bakteri pada isolat 3 mencapai titik optimum pada konsentrasi molase 5 % sesuai dengan kemampuan sel bakteri isolat 3 dalam menghidrolisis kandungan gula yang terdapat pada medium pertumbuhan, dimana pada konsentrasi ini bakteri tumbuh dengan baik sesuai dengan jumlah nutrisi yang dibutuhkan. Dengan demikian, populasi sel bakteri pada isolat 3 meningkat pada konsentrasi molase 5 % yang ditunjukkan melalui nilai *Optical Density* (OD).

Sel bakteri isolat 1 dan 3 menunjukkan adanya perbedaan profil pertumbuhan akibat adanya variasi konsentrasi substrat sumber karbon (molase). Akan tetapi, sel bakteri pada isolat 1 dan 2 justru memperlihatkan kesamaan pada fase pertumbuhannya. Hal ini dapat dilihat pada **Gambar 8** dimana, sel bakteri isolat 1 dan 3 hanya memperlihatkan fase stasioner dan tidak memperlihatkan adanya fase lag/adaptasi, fase log/eksponensial dan fase kematian sel bakteri. Tidak terlihatnya fase lag/adaptasi dan fase log/eksponensial pada **Gambar 8**, disebabkan karena sebelum memasuki tahap fermentasi produksi antibiotik, terlebih dahulu dilakukan tahap inokulum dengan menggunakan medium pertumbuhan yang sama yakni molase yang berlangsung selama 24 jam. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan pertumbuhan sebelumnya, maka bakteri tidak perlu melakukan adaptasi.

Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi fase lag/adaptasi seperti kondisi morfologi maupun fisiologi sel bakteri, jumlah sel bakteri yang diinokulasikan dan kebutuhan medium kultivasi. Waktu adaptasi yang dibutuhkan oleh semua bakteri asam laktat pada umumnya relatif singkat, dimana bakteri asam laktat membutuhkan sekitar 0-3 jam untuk mencapai fase lag/adaptasi (58). Sedangkan pada fase log/eksponensial, merupakan periode dimana sel bakteri

melakukan pembiakan dengan cepat hal ini dikarenakan dengan laju pertumbuhan yang konstan, sel aktif melakukan pembelahan menjadi dua kali lipat, aktifitas metabolisme sel bakteri konstan sehingga keadaan pertumbuhan selpun menjadi seimbang (59).

Selain itu, pada fase log/eksponensial ini merupakan fase terbaik karena dengan laju pertumbuhan sel bakteri yang optimum dapat digunakan untuk menentukan waktu dalam melakukan uji metabolisme atau digunakan sebagai inokulum pada suatu perlakuan (60). Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa sel bakteri isolat 1 dan 3 telah mengalami fase lag/adaptasi dan fase log/eksponensial pada saat tahap inokulum yang berlangsung selama 24 jam. Dengan demikian, pada saat sel bakteri berada pada tahap fermentasi produksi antibiotik sel bakteri sudah berada pada fase pertumbuhan berikutnya yakni fase stasioner seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 8**.

Pada tahap produksi antibiotik, laju pertumbuhan sel bakteri isolat 1 dan 3 tidak mengalami kenaikan maupun penurunan selama proses fermentasi berlangsung dalam kurun waktu 72 jam. Dengan kata lain, pada jam ke-12; 24; 36; 48; 60; dan 72 sel bakteri berada pada fase stasioner. Pada fase stasioner tidak memperlihatkan adanya penambahan jumlah sel bakteri sehingga, jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati. Hal ini disebabkan karena, persediaan cadangan makanan sudah mulai terbatas dan pada fase ini juga, sel bakteri berusaha bertahan hidup terhadap lingkungan dan serangan mikroorganisme lain dengan cara memproduksi senyawa metabolit sekunder (61). Contoh metabolit sekunder adalah antibiotik, toksin, pigmen, feromon, reseptor antagonis dan agonis, agen antitumor, inhibitor enzim, agen immunomodulasi, efektor kompetisi ekologi dan simbiosis serta promotor pertumbuhan pada binatang dan tumbuhan (62).

Pembentukan senyawa metabolit sekunder dipengaruhi oleh adanya ketersediaan nutrisi. Jika pada kondisi lingkungan dengan kandungan nutrisi yang terbatas maka dapat mengakibatkan penggunaan karbon oleh mikroorganisme dalam proses metabolisme seluler tidak digunakan untuk pertumbuhan melainkan sumber karbon yang ada akan digunakan dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder, sebagai contoh kandungan total flavonoid paling tinggi dihasilkan melalui pemberian konsentrasi sukrosa 40 g/L (63).

Selanjutnya, untuk fase kematian sel dapat dilihat melalui nilai absorbansi yang mulai menurun. Hal ini dikarenakan semakin banyak jumlah sel yang mati akibat kekurangan asupan nutrisi pada medium pertumbuhan oleh karena itu, populasi sel bakteri akan menurun dengan drastis. Fase kematian sel, akan diikuti dengan adanya proses lisis dari masing-masing sel. Pada **Gambar 8**, fase kematian sel bakteri isolat 1 dan 3 masih belum terlihat hal ini dikarenakan selama 72 jam waktu inkubasi pada tahap fermentasi produksi antibiotik, sel bakteri masih berada pada fase stasioner. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pada **Gambar 8**, mengenai profil pertumbuhan sel bakteri isolat 1 dan 3 sama-sama berada pada fase stasioner yakni dari jam ke-12; 24; 36; 48; 60 dan 72.

4.4 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Uji kandungan senyawa metabolit sekunder, dilakukan dengan menggunakan pereaksi kimia yang spesifik. Pada saat suatu pereaksi kimia ditambahkan ke dalam suatu larutan dan terjadi perubahan warna ataupun terbentuknya endapan hal ini disebabkan akibat terjadinya suatu reaksi kimia. Dengan adanya reaksi kimia ini, maka menandakan reaksi dinyatakan positif. Sebelum dilakukan proses pengujian kandungan metabolit sekunder, maka dilakukan ekstraksi terlebih dahulu. Dimana supernatan hasil fermentasi diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 (v/v). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji kandungan kimia metabolit sekunder. Kandungan metabolit sekunder yang diuji terdiri atas alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid. Hasil uji kandungan Metabolit Sekunder pada isolat 1 dan 3 dapat dilihat pada **Tabel 2** berikut ini :

Tabel 2. Hasil Uji kandungan Metabolit Sekunder

Metabolit Sekunder	Isolat 1	Isolat 3
Alkaloid	+	+
Flavonoid	-	+
Steroid	-	-
Terpenoid	-	-

Tabel 2 diatas, memperlihatkan hasil pengujian kandungan metabolit sekunder dari isolat 1 dan 3. Pengujian kandungan metabolit sekunder dari isolat 1 dan 3 ini diuji dengan menggunakan pereaksi spesifiknya dan diperoleh hasil yang berbeda-beda. Pada isolat 1 hanya mengandung kelompok senyawa alkaloid, sedangkan pada isolat 3 mengandung dua kelompok senyawa yang berbeda yakni alkaloid dan flavonoid. Senyawa metabolit sekunder bersifat antagonis sehingga memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang dapat digunakan oleh isolat 1 dan 3 dalam membunuh maupun menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella thypi*.

Berdasarkan uji alkaloid yang dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendroff memperlihatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kaliumalkaloid. Pereaksi Dragendroff, dibuat dengan cara melarutkan bismut nitrat dalam HCl. Hal ini dilakukan untuk mencegah garam-garam bismut terhidrolisis membentuk ion bismut (BiO^+). Reaksi hidrolisis bismut dapat dilihat berikut ini:



Ion bismut (BiO^+) ditambahkan asam agar tetap berada dalam larutan, akibatnya terjadi kesetimbangan yang akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya, Ion bismut (BiO^+) dari bismut iodida akan bereaksi dengan iodida dan membentuk Bismut(III) iodida yang ditandai dengan adanya endapan hitam. Kemudian, melalui Bismut(III) iodida yang terlarut dalam kalium iodida, akan membentuk tetraiodobismutat. Pada pereaksi Dragendroff, nitrogen berfungsi dalam pembentukan ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ yang merupakan ion logam (64). Sedangkan pada pengujian kandungan senyawa flavonoid, menggunakan pereaksi spesifiknya yakni FeCl_3 . Pereaksi FeCl_3 dengan ion fenolat akan bereaksi dan membentuk ion kompleks.

Dalam peranannya sebagai antibakteri senyawa alkaloid dan flavonoid memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Sebagai antibakteri, alkaloid

memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu komponen penyusun dinding peptidoglikan pada sel bakteri, akibatnya lapisan dinding sel pada bakteri menjadi rapuh dan tidak terbentuk secara utuh sehingga mengakibatkan kematian sel (65). Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri terbagi menjadi tiga mekanisme kerja seperti menghambat fungsi kerja sitoplasma, menghambat proses metabolisme energi sel bakteri dan menghambat proses sintesis asam nukleat (66).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid dengan merusak membran sitoplasma dapat mengakibatkan hilangnya metabolit penting dan menginaktivasi kerja enzim pada bakteri. Kerusakan membran sitoplasma ini menyebabkan asam amino dan nukleotida dapat meresap keluar dan bahan-bahan aktif sel tidak dapat masuk. Selain itu, ion hidrogen (H^+) yang berasal dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terhidrolisis menjadi asam fosfat, asam karboksilat dan gliserol. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak memiliki kemampuan dalam mempertahankan bentuk membran sitoplasma dengan demikian, sitoplasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan dapat menyebabkan kematian sel bakteri (67).

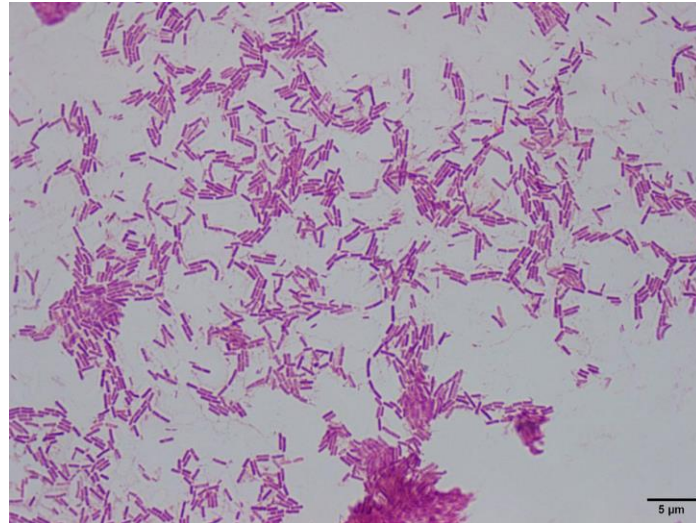
Dengan adanya kandungan metabolit sekunder ini, bakteri mampu mempertahankan diri terhadap pengaruh mikroorganisme patogen lainnya. Oleh karena itu, dapat disimpulkan kandungan metabolit sekunder inilah yang bekerja secara antagonis terhadap bakteri patogen *Salmonella thypi* dan terindikasi sebagai antibakteri.

4.5 Identifikasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri Potensial

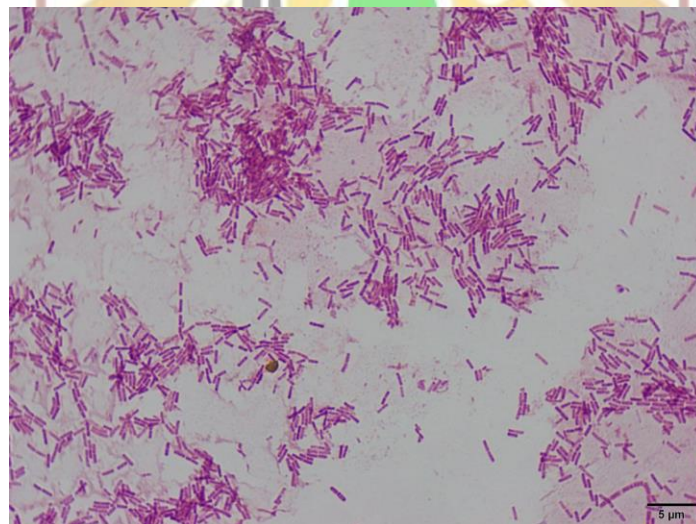
Isolat bakteri endofitik yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri yakni isolat 1 dan 3 akan diuji secara biokimia, dimana isolat 1 dan 3 akan dilakukan proses identifikasi secara mikroskopis dengan melakukan pengujian pewarnaan Gram dan endospora, sedangkan identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan uji katalase dan motilitas. Uji biokimia ini berhubungan erat dengan metabolisme sel dimana, melalui reaksi kimia sel bakteri akan menghasilkan energi. Energi yang dihasilkan ini akan digunakan untuk mensintesis komponen-komponen penyusun sel dan berbagai kegiatan sel lainnya. Adapun pengujian biokimia yang dilakukan

terhadap isolat 1 dan 3 meliputi : pewarnaan Gram, pengujian pewarnaan endospora, pengujian katalase dan pengujian motilitas.

1. Pewarnaan Gram



(1)



(2)

Gambar 9. Pengamatan Hasil Pengujian Pewarnaan Gram

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
(2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

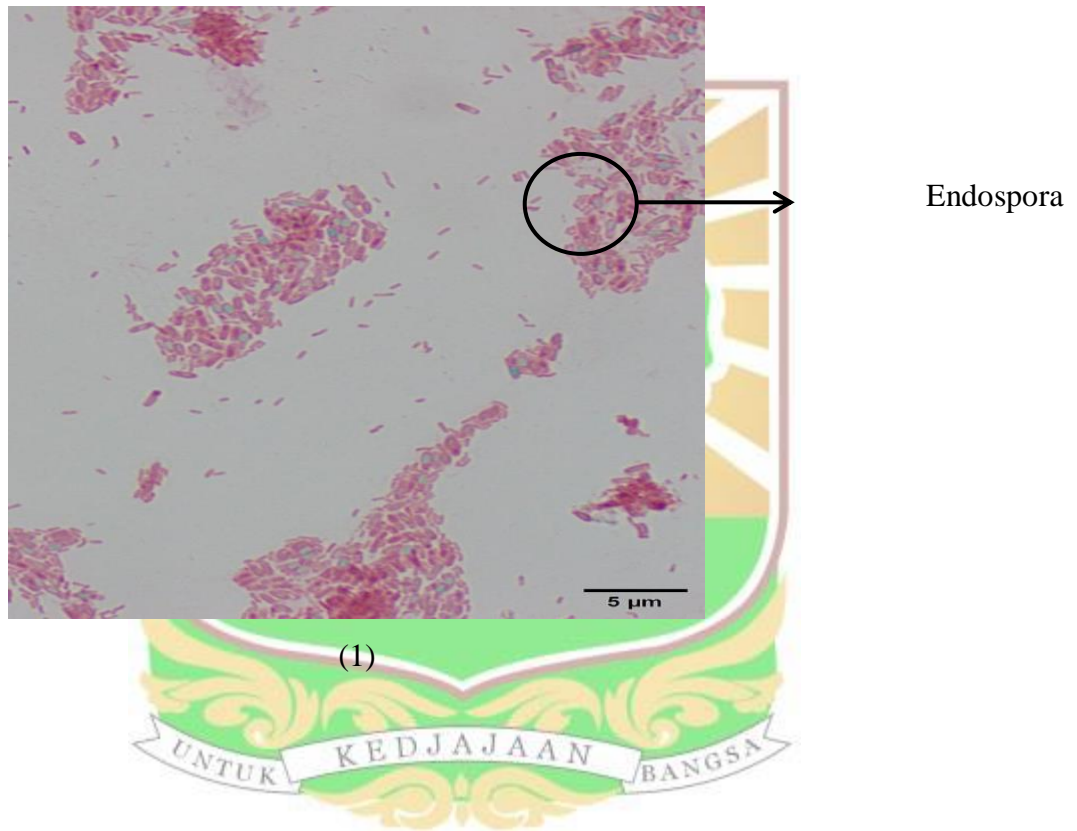
Tujuan dilakukannya pewarnaan Gram ini adalah untuk mengetahui kelompok bakteri dan morfologi sel bakteri. Perbedaan antara bakteri Gram positif dan negatif terletak pada warna sel bakteri. Bakteri Gram positif ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif selnya akan memperlihatkan warna merah muda. Hasil identifikasi pengujian pewarnaan Gram terhadap isolat 1 dan 3 dapat dilihat pada **Gambar 9** diatas :

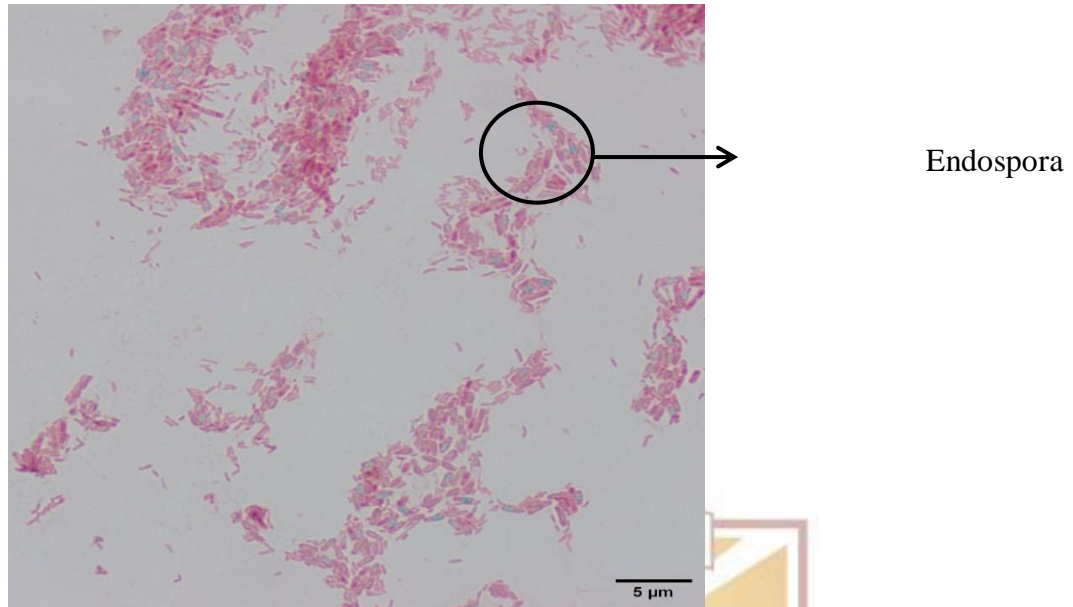
Berdasarkan hasil identifikasi pengujian pewarnaan Gram pada **Gambar 9**, isolat 1 dan 3 memperlihatkan sel bakteri berwarna ungu ketika diamati dibawah mikroskop. oleh karena itu, isolat 1 dan 3 termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif dan memiliki bentuk sel basil (batang). Dinding sel bakteri berwarna ungu karena dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas dua lapisan yakni peptidoglikan yang sangat tebal dan membran dalam sehingga dinding sel bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks zat warna kristal violet walaupun telah dicuci dengan larutan pemucat aseton alkohol, hal ini disebabkan karena terbentuknya protein ribonukleat kompleks dan lapisan peptidoglikan mengikat zat warna kristal violet tersebut. Peptidoglikan terbentuk atas ikatan tiga dimensi dari gula amino N-acetylglucosaminase dan N-acetyl murmaric acid akan mempertahankan Kristal violet karena memiliki kekuatan mekanik dinding sel yang lebih kuat. Kekuatan mekanik ini terbentuk akibat adanya hubungan silang peptida antara rantai peptida (68).

Zat penghilang warna akan mendehidrasi lapisan peptidoglikan, akan tetapi dalam keadaan dehidrasi ini dinding sel justru akan bertindak sebagai penghalang permeabilitas sehingga zat perwarna tertahan di dalam sel. komposisi lapisan dinding sel gram positif menyebabkan dinding sel akan terdehidrasi saat perlakuan pemberian alkohol. Ukuran pori-pori sel akan menurun, permeabilitas berkurang, dan kompleks CV-I tidak dapat terekstraksi, sehingga sel akan mempertahankan warna ungu. sebaliknya, pelarut aseton-alkohol dapat dengan mudah merusak membran luar bakteri Gram negatif karena lapisan peptidoglikan yang dimiliki bakteri Gram negatif relatif tipis akibatnya tidak dapat menahan kompleks warna. Selain itu, saat proses pewarnaan Gram dengan pemberian alkohol akan megekstraksi lipid sehingga permeabilitas sel akan meningkat. Bakteri Gram negatif juga dikolorisasi oleh pelarut organik dan mampu menyerap counterstrain

sehingga saat dilakukan pengamatan dibawah mikroskop sel tampak berwarna merah muda. Zat peluntur seperti aseton alkohol dapat mengganggu membran sel bakteri Gram negatif akibatnya kompleks zat warna kristal violet akan tercuci dari dinding sel bakteri Gram negatif (68).

2. Pewarnaan Endopora





(2)

Gambar 10. Pengamatan Pengujian Pewarnaan Endospora

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
 (2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

Tujuan dilakukannya pewarnaan endospora adalah untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu menghasilkan endospora. Reagen khusus yang digunakan pada pewarnaan endospora sel bakteri adalah *malachite green*. Hasil pewarnaan spora dari isolat 1 dan 3 dapat dilihat pada **Gambar 10** diatas :

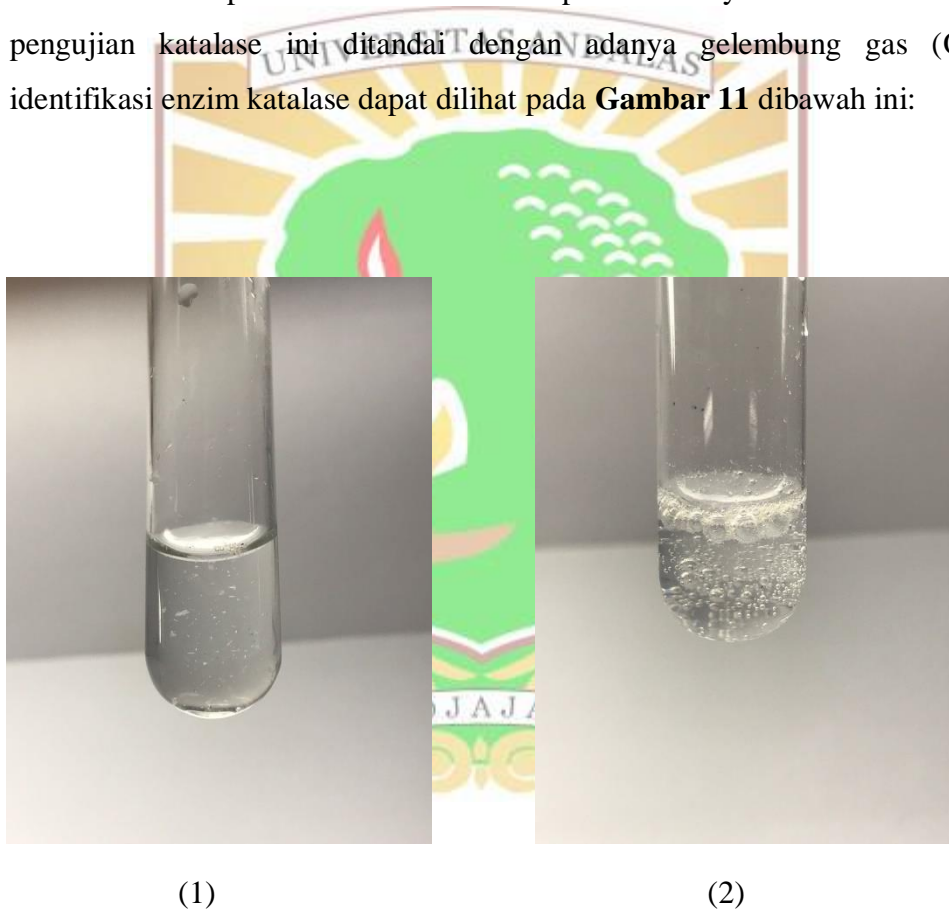
Berdasarkan hasil pewarnaan spora pada **Gambar 10**, memperlihatkan bahwa isolat 1 dan 3 memiliki spora pada sel bakterinya. Adanya endospora ini ditandai dengan warna hijau pada sel bakteri. Melalui pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop, diketahui bahwa letak spora dari isolat 1 dan 3 berada ditengah-tengah sel bakteri. Isolat 1 dan 3, menghasilkan spora yang berikatan kuat dengan senyawa pewarna yakni *malachite green* oleh karena itu, ketika dilakukan pewarnaan selanjutnya menggunakan safranin, sel spora tidak akan mengikat safranin karena sudah berikatan kuat dengan *malachite green* (69).

Endospora merupakan salah satu struktur dari sel bakteri yang berperan dalam melindungi sel bakteri terhadap berbagai kondisi lingkungan yang ekstrim seperti pada kondisi lingkungan yang asam, panas, kering dan adanya senyawa

yang bersifat toksik bagi bakteri. Hasil pewarnaan endospora pada sel bakteri akan memberikan warna hijau, sedangkan sel bakteri yang bersifat vegetatif akan berwarna merah muda. Dengan demikian, adanya spora yang dimiliki oleh isolat 1 dan 3 memungkinkan untuk melindungi sel bakteri terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim (69).

3. Pengujian Katalase

Pengujian katalase bertujuan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya enzim katalase pada sel bakteri. Hasil positif adanya enzim katalase melalui pengujian katalase ini ditandai dengan adanya gelembung gas (O_2). Hasil identifikasi enzim katalase dapat dilihat pada **Gambar 11** dibawah ini:



Gambar 11. Pengamatan Hasil Pengujian Katalase

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
(2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

Pada **Gambar 11**, memperlihatkan hasil pengamatan pengujian katalase terhadap isolat 1 dan 3 yang dilakukan secara makroskopis (visual). Berdasarkan pengamatan ini, isolat 1 dan 3 sama-sama menghasilkan gelembung gas (O_2) hal ini menandakan bahwa isolat 1 dan 3 merupakan bakteri yang menghasilkan enzim katalase dan bersifat aerob.

Katalase adalah enzim yang mengandung besi. Enzim katalase berperan dalam menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O_2 . Terbentuknya senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) terjadi selama metabolisme aerob oleh bakteri aerob. Dengan dilakukannya pengujian katalase ini, dapat mengetahui jumlah kuantitas O_2 yang dibebaskan hal ini berkaitan dengan ketebalan selaput lendir yang menyelimuti permukaan sel dalam mempenetrasi H_2O_2 ke dalam sel. bakteri penghasil enzim katalase akan menghasilkan gelembung gas sebagai hasil dari pemecahan H_2O_2 (70).

Enzim katalase termasuk dalam hemoprotein yang tersusun atas empat gugus heme. Enzim katalase mampu bereaksi dengan H_2O_2 akibat adanya heme. Hidrogen peroksida mampu merusak sistem metabolisme sel karena H_2O_2 bersifat toksik bagi sel bakteri karena bersifat toksik ini, apabila hidrogen peroksida tidak dipecah menjadi komponen senyawa lain yang tidak berbahaya maka, dapat mengakibatkan kematian sel. Hidrogen peroksida (H_2O_2) sangat berbahaya bagi bakteri karena merupakan suatu oksidator kuat. Penumpukan H_2O_2 dalam sel dapat mengakibatkan terjadinya mutasi sel (71).

4. Pengujian Motilitas

Pengujian motilitas ini bertujuan untuk mengetahui pergerakan dari sel bakteri isolat 1 dan 3. Pergerakan bakteri terjadi apabila bakteri memiliki alat bantu gerak berupa flagella. Akan tetapi, tidak semua bakteri memiliki alat gerak berupa flagella. Hasil pengujian motilitas pada isolat 1 dan 3 dapat dilihat pada **Gambar 12** dibawah ini :



(1)

(2)

Gambar 12. Pengamatan Hasil Pengujian Motilitas

Keterangan : (1) Bakteri Endofitik Isolat 1 dengan Konsentrasi 1 %, pada Jam Ke-60
 (2) Bakteri Endofitik Isolat 3 dengan Konsentrasi 5 %, pada Jam Ke-60

Pada **Gambar 12**, memperlihatkan hasil pengujian motilitas pada isolat 1 dan 3. Berdasarkan pengamatan secara makroskopis (visual), isolat 1 tidak menunjukkan adanya pergerakan sel bakteri hal ini dikarenakan hanya terlihat penumpukan koloni pada bagian tengah yang tegak lurus dengan jalur tusukan awal (tidak ada penyebaran koloni). Sedangkan pada isolat 3 justru memperlihatkan adanya penyebaran koloni diluar jalur tusukan awal yang tegak lurus. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa isolat 1 tidak memiliki alat gerak dan isolat 3 memiliki alat gerak yang dapat membantu pergerakan sel bakteri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Terdapat 2 isolat bakteri endofitik dari tanaman labu koteka yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, yakni isolat 1 yang berasal dari sampel buah dengan konsentrasi molase 1 % pada jam ke-60 dan isolat 3 yang berasal dari sampel daun dengan konsentrasi molase 5 % pada jam ke-60 .
2. Profil pertumbuhan isolat bakteri endofitik isolat 1 memiliki nilai OD tertinggi pada konsentrasi substrat molase 10% dan isolat 3 memiliki nilai OD tertinggi pada konsentrasi substrat molase 5%. Kedua isolat ini optimum pada jam ke-60.
3. Pemeriksaan metabolit sekunder pada isolat isolat 1 mengandung senyawa alkaloid, sedangkan pada isolat 3 mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid.
4. Berdasarkan hasil identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri, maka diperoleh:
 - Pewarnaan Gram : Isolat 1 dan isolat 3 merupakan bakteri Gram positif.
 - Pewarnaan endospora : Isolat 1 dan isolat 3 memiliki endospora yang letaknya ditengah (sentral).
 - Uji katalase : Isolat 1 dan Isolat 3 merupakan bakteri aerob
 - Uji motilitas : Isolat 1 tidak berflagel dan isolat 3 berflagel.

5.2 Saran

1. Perlu Identifikasi spesies pada isolat bakteri endofit potensial tanaman labu koteka penghasil antibiotik.
2. Perlu dilakukan perhitungan jumlah karbon tiap variasi konsentrasi substrat dan uji penampak noda pada plat KLT.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kartikasari SN, Marshall AJ, Beehler B. Ekologi Papua, Seri Ekologi Indonesia, Jilid VI. Yayasan Pustaka Obor Indonesia and Conservation International. 2012. 1023 p.
2. Mali VR, Bodhankar SL. Effect of *Lagenaria siceraria* (LS) powder on dexamethasone induced hypertension in rats. *Int J Adv Pharm Sci.* 2010;1(1):50–3.
3. Pascasarjana S. Keanekaragaman cucurbitaceae di cagar alam pegunungan cyclops dan *lagenaria siceraria* di lembah baliem amelia louisiane puhili. 2019.
4. Nurafni S, Mariam S, Kasriati K. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Labu Labu Air (*Lagenaria siceraria*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Farmamedika (Pharmamedica Journal).* 2016;1(2):71–9.
5. Nugraheni IA, Setianah H, Wibowo DS. Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Asal Akar Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Biomedika* [Internet]. 2021;13(1):48–55. Available from: <http://journals.ums.ac.id/index.php/biomedika/article/view/11009>
6. Faridah HD, Sari SK. Utilization of Microorganism on the Development of Halal Food Based on Biotechnology. *J Halal Prod Res.* 2019;2(1):33.
7. Hartina F, Jannah A, Maunatin A. Fermentasi Tetes Tebu Dari Pabrik Gula Pagotan Madiun Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Variasi pH Dan Lama Fermentasi. *Alchemy.* 2014;3(1).
8. Upaganlawar A, Balaraman R. Bottle Gourd (*Lagenaria Siceraria*) “a Vegetable Food for Human Health”-a Comprehensive Review. *Pharmacologyonline.* 2009;1:209–26.
9. Supiandi MI, Leliavia, Syafruddin D, Utami YE, Sekunda R. Plant fruits used as food by the dayak community of tamambaloh in Labian Ira'ang Village, Kapuas Hulu District, Indonesia. *Biodiversitas.* 2019;20(7):1827–32.
10. A.M. Algothary¹, Raid Al Baradie², O.A Ahmed-Farid³ AMA-E and AMA-S, 1Assistant. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research AN OVERVIEW ON CORIANDER.* *J Biomed Pharm Res.* 2015;4(2):67–70.
11. Ramandey JM, Pengajar S, Jurusan P, Satya U, Mandala W, Paniai D, et al. Pemanfaatan koteka selain digunakan untuk menutupi aurat kaum pria saat ini telah

dijadikan tambahan penghasilan karena koteka dijadikan souvenir dari daerah pengunungan papua . Kata Kunci : Koteka , identifikasi , tanaman labu air. 2020;1:49–59.

12. Masrifah M, Rahman N, Abram PH. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *J Akad Kim.* 2017;6(2):98.
13. Sen CK, Science N. Antimicrobial Activity of *Lagenaria siceraria* Crude Extract Obtained From Its Flowers Chinmoy Kumar Sen * , Binita Paul, Bishyajit Kumar Biswas and A. F. M. Shahid-Ud-Daula Department of Pharmacy, Noakhali Science and Technology University, Noakhali - 380. 2015;2(1):28–32.
14. Ghule B V., Ghante MH, Saoji AN, Yeole PG. Hypolipidemic and antihyperlipidemic effects of *Lagenaria siceraria* (Mol.) fruit extracts. *Indian J Exp Biol.* 2006;44(11):905–9.
15. Harini K. Evaluation of Analgesic Activity of *Lagenaria Siceraria* in Albino Rats. *J Med Sci Clin Res.* 2017;5(11):99–103.
16. Seed OF, Of E, Siceraria L, Standley M. *Pharmacophore.* 2014;5(2):325–30.
17. Saha, P, S, Kundu Shen, A.Bala. *Anticancer_LS.pdf.*
18. Didimus Tanah Boleng. 2015.”Bakteriologi Konsep-konsep Dasar”. Malang. Universitas Muhamadyah Malang.
19. Vivien Novarina A.Kasim. 2020. “ Peranan Imunitas pada Infeksi *Salmonella thypi* ”. Gorontalo. CV Artha Samudra.
20. Rusmini H. Analisis Efektivitas Penggunaan Kloramfenikol Dan Seftriakson Dalam Pengobatan Demam Tifoid Anak Di Rsud Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung Tahun 2012-2014. *J Kedokt Dan Kesehat.* 2015;2(Volume 2 Nomor 4, Oktober 2015):534–6.
21. Pratiwi, Sylvia T. "Mikrobiologi farmasi." (2008).
22. Desriani D, Safira UM, Bintang M, Rivai A, Lisdiyanti P. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *J Kesehat Andalas.* 2014;3(2):89–93.
23. Leonita S, Bintang M, Pasaribu FH. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria

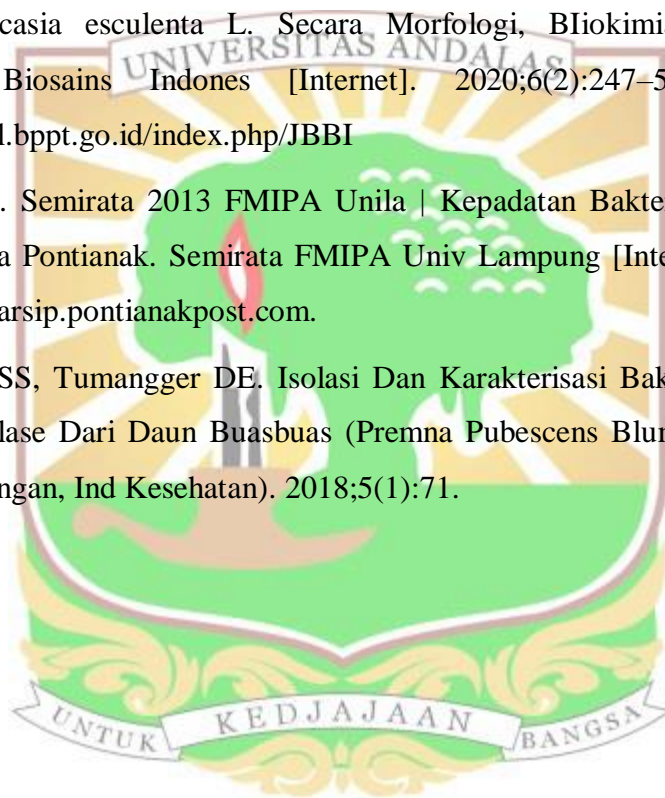
- from *Ficus variegata* Blume as Antibacterial Compounds Producer. *Curr Biochem.* 2016;2(3):116–28.
24. Rori CA, Kandou FEF, Tangapo AM. Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *J Bios Logos.* 2020;11(2):48.
 25. Hafsan H, Aziz I, Sukmawaty E, S S, Hasyimuddin H, Zulkarnain Z, et al. Antibiotic Activity of Endophytic Bacteria isolated from *Euchema cottoni* of North Galesong Sea, Takalar. 2019;(June).
 26. Murthi R, Lisnawita L, Oemry S. Potensi Bakteri Endofit Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Tembakau Yang Terinfeksi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* Spp.). *J Agroekoteknologi Univ Sumatera Utara.* 2016;4(1):1881–9.
 27. Tanjung SR, Uswatun D, Si HM, Pd S, Si M, Program M, et al. Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Fitohormon IAA (Indole Acetic Acid) Dari Kulit Batang Kulit Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylon*) Characterization of Fitohormon IAA Producing Endophytic Bacteria of Stem Skin Raru (*Cotylelo.* 2015;1(1):49–55.
 28. Yulianti T. Pemanfaatan Endofit Sebagai Agensia Pengendali Hayati Hama dan Penyakit Tanaman. *Bul Tanam Tembakau, Serat Miny Ind.* 2016;5(1):40.
 29. Nakas, J. P., & Hagedorn, C. (1990). *Biotechnology of plant-microbe interactions.* McGraw-Hill.
 30. Ali SS, Vidhale NN. Review Article Bacterial Siderophore and their Application : A review. *IntJCurrMicrobiolAppSci.* 2013;2(12):303–12.
 31. Sharma A, Johri BN. Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiol Res.* 2003;158(3):243–8.
 32. Prihatiningsih N, Djatmiko HA, Lestari P. Aktivitas Siderofor *Bacillus Subtilis* Sebagai Pemacu Pertumbuhan Dan Pengendali Patogen Tanaman Terung. *J Hama Dan Penyakit Tumbuh Trop.* 2017;17(2):170.
 33. Suryadi Y, Priyatno TP, Samudra IM, Susilowati DN, Patricia, Irawati W. Karakterisasi Dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofitik Penghambat Jamur Patogen Padi. *Bul Plasma Nutfah.* 2013;19(1):25–32.

34. Huang CJ, Wang TK, Chung SC, Chen CY. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. *J Biochem Mol Biol.* 2005;38(1):82–8.
35. Pliego C, Ramos C, de Vicente A, Cazorla FM. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant Soil.* 2011;340(1):505–20.
36. Stanbury PF, Whitaker A, Hall SJ. *Principles of Fermentation Technology: Third Edition.* Princ Ferment Technol Third Ed. 2016;1–803.
37. Nakas, J. P., & Hagedorn, C. (1990). *Biotechnology of plant-microbe interactions.* McGraw-Hill.
38. Agustina R, Ratman M, Said I. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap kadar Bioetanol Dari Kulit jagung Manis (*Zea mays saccharata*) The Effect of Fermentation Time on the Level of Bioethanol from Sweet Corn (*Zea mays Saccharata*) Bark. *J Akad Kim.* 2016;5(November):197–201.
39. Mawarni AN, Fithriyah NH. Kadar Asam Laktat Dalam Pembuatan Fruitghurt Dari Kulit Buah Semangka. *Pros Semin Nas Sains dan Teknol.* 2015;(November):1–5.
40. Hendrawan Y, Sumarlan SH, Rani CP. Pengaruh pH dan suhu fermentasi terhadap produksi etanol hasil hidrolisis jerami padi. *J Keteknikan Pertan Trop dan Biosist.* 2017;5(1):1–8.
41. Kunaepah U. Pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi glukosa terhadap aktivitas antibakteri, polifenol total dan mutu kimia kefir susu kacang merah. *Univ Diponegoro.* 2008;1–90.
42. Azizah N, Al-bAARI A, Mulyani S. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *J Apl Teknol Pangan [Internet].* 2012;1(2):72–7. Available from:
[/citations?view_op=view_citation&continue=/scholar?hl=id&as_sdt=0,5&scilib=1&citilm=1&citation_for_view=uuVIu5AAAAAJ:YsMSGLbcyi4C&hl=id&oi=p](#)
43. Safety M, Sheet D. *Molashine Molashine.* 2013;353(June):0–2.
44. Rochani A, Yuniningsih S. Pengaruh onsentration Gula Lerutan Molases Terhadap Kadar

- Etanol pada Proes Fermentasi. Reka Buana. 2015;1(1):43–8.
45. Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *J Teknol Has Peternak*. 2020;1(2):41.
 46. Noviyanto F, Hodijah S, Yusransyah Y. Aktivitas Ekstrak Daun Bangle (*zingiber purpureum roxb.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *J Syifa Sci Clin Res*. 2020;2(1):31–8.
 47. Kurniawan E, Dyah Jekti DS, Zulkifli L. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *J Biol Trop*. 2019;19(1):61–9.
 48. Deponda RA, Fitriana F, Nuryanti S, Herwin H. Isolasi Fungi Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam.*) Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Secara Metode KLT-Bioautografi. *J Ilm As-Syifaa*. 2019;11(2):147–53.
 49. Marlinda M, Sangi MS, Wuntu AD. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). *J MIPA*. 2012;1(1):24.
 50. Ismail YS, Yulvizar C, Putriani. Isolation, Characterization And Antimicrobial Activity Of Lactic Acid Bacteria From The Fermented Cacao Seed (*Theobroma cacao L.*). *Bioleuser*. 2017;1(2):45–53.
 51. Endah Pratita MY, Putra SR. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Tek Pomits*. 2012;Vol. 1(1):1–5.
 52. Panjaitan FJ, Bachtiar T, Arsyad I, Lele OK, Indriyani W. Karakterisasi mikroskopis dan uji biokimia bakteri pelarut fosfat (bpf) dari rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif. *J Kaji Masal Pertan*. 2020;1(1):9–17.
 53. Dahlia, Suprpto H, Kusdarwati R. Isolation and Identification Bacteria on the Seeds Cantang Grouper (*Epinephelus sp.*) From Nursey Pond at Fisheries Center Brackish Water Aquaculture, Sitodondo, East Java. *J Aquac Fish Heal*. 2017;6(2):57–66.
 54. Rita WS. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe*). *J Kim*.

- 2010;4(1):20–6.
55. Lee R Lynd et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals And Biotechnology. Microbiol Mol Bio Rev. 2002. Dec; 66 (4) 739.
 56. Seniati, Marbiah, Irham A. Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Cepat Dengan Menggunakan Spectrofotometer. Agrokompleks. 2019;19(2):12–9.
 57. Pari AUH. pISSN-1978-3000 eISSN-2528-7109. 2018;13(1):36–42.
 58. Rosyidah E, Pascasarjana S. Isolasi bakteri asam laktat dan selulolitik serta aplikasinya untuk meningkatkan kualitas tepung jagung. 2013;
 59. Sulistijowati R. Potensi Filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai Biopreservatif pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. Ijas. 2012;2(2012):58–63.
 60. Wahyuningsih N, Zulaika E. Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. J Sains dan Seni ITS. 2019;7(2):7–9.
 61. Khoiriyah H, Ardiningsih P. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED4. Jkk. 2014;3(4):52.
 62. Nofiani R. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. J Natur Indones. 2012;10(2):120.
 63. Julianti RF, Nurchayati Y, Setiari N. Produksi Flavonoid Pada Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Secara In Vitro Dalam Medium MS Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda. Metamorf J Biol Sci. 2021;8(1):141.
 64. Marlina SD, Suryanti V, Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of. Biofarmasi. 2005;3(1):26–31.
 65. Kesmavet L, Hewan FK. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro. 2012;1(3):337–51.
 66. Manik DF, Hertiani T, Anshory H. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-fraksi Daun Kersen (*Muntingia*

- calabura L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*. 2014;6(2):1–11.
67. Munira MM, Rasidah RR, Melani EM, Zakiah NZ, Nasir MN. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Warna Hijau dan Warna Merah serta Kombinasinya. *Indones J Pharm Nat Prod*. 2018;1(2):8–13.
68. Hamidah MN, Rianingsih L, Romadhon. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. Coli* dan *S.aureus*. *J Ilmu dan Teknol Perikan*. 2019;1(2)(2):11–21.
69. Wulandari D, Purwaningsih D. Identifikasi Dan karakterisasi Bakteri Amilolitik Pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler. *J Bioteknol Biosains Indones* [Internet]. 2020;6(2):247–58. Available from: <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
70. Khotimah S. Semirata 2013 FMIPA Unila | Kepadatan Bakteri Coliform Di Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Semirata FMIPA Univ Lampung* [Internet]. 2013; Available from: www.arsip.pontianakpost.com.
71. Pulungan ASS, Tumangger DE. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biol Lingkungan, Ind Kesehatan)*. 2018;5(1):71.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Analisis

Tabel 3. Data Diameter Zona Hambat Rata-rata Bakteri Endofitik

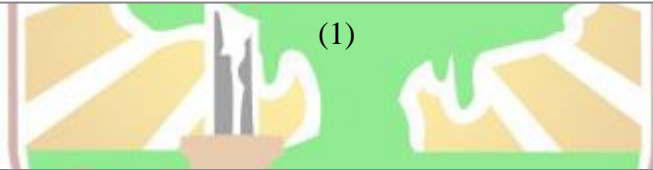
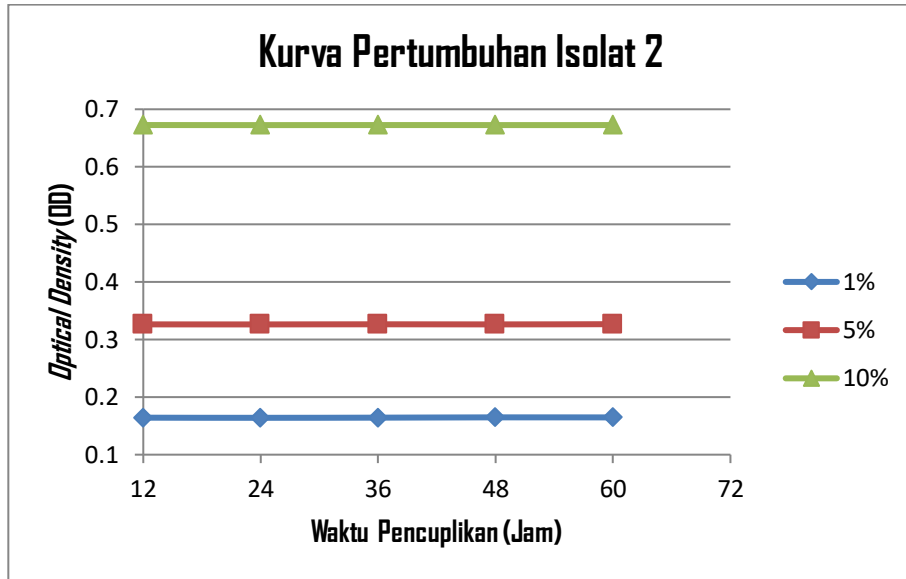
Kode Isolat	Waktu Pencuplikan	Diameter Zona Hambat (mm) ± Standar Deviasi (STD)		
		1%	5%	10%
Isolat 2	12	7,215 ± 1,64	8,43 ± 0,54	8,69 ± 1,49
	24	6,84 ± 1,10	6,74 ± 1,04	9,04 ± 0,72
	36	6,28 ± 0,11	7,12 ± 0,11	9,08 ± 1,62
	48	7,85 ± 1,44	6,88 ± 0,27	7,92 ± 0,25
	60	8,58 ± 0,66	6,84 ± 0,33	9,09 ± 2,22
	72	8,33 ± 2,40	7,58 ± 1,64	7,27 ± 0,57
Isolat 4	12	9,48 ± 1,35	8,36 ± 3,23	9,17 ± 0,84
	24	9,72 ± 2,75	8,14 ± 1,92	8,66 ± 1,47
	36	9,44 ± 1,42	7,04 ± 0,35	7,69 ± 1,72
	48	10,95 ± 2,09	6,97 ± 0,17	7,73 ± 1,09
	60	8,00 ± 1,71	8,20 ± 1,02	7,36 ± 0,93
	72	8,04 ± 1,06	6,56 ± 0,45	9,23 ± 1,11
Isolat 5	12	6,77 ± 0,12	8,52 ± 0,19	10,1 ± 1,80
	24	6,69 ± 0,91	9,13 ± 0,16	8,78 ± 0,68
	36	8,72 ± 1,86	9,25 ± 0,76	7,54 ± 0,92
	48	8,35 ± 1,33	7,77 ± 0,53	7,88 ± 0,74
	60	9,47 ± 3,29	8,56 ± 2,09	8,12 ± 2,29
	72	10,94 ± 1,69	9,82 ± 1,47	7,74 ± 2,09
Isolat 6	12	6,25 ± 0,14	7,50 ± 1,62	7,86 ± 1,01
	24	6,58 ± 0,82	7,14 ± 0,78	7,65 ± 0,74
	36	6,76 ± 1,04	7,25 ± 1,37	7,72 ± 0,32
	48	6,61 ± 0,86	7,51 ± 1,71	7,79 ± 0,60
	60	7,77 ± 2,50	8,30 ± 2,84	6,02 ± 0,03
	72	8,45 ± 1,95	8,07 ± 0,32	7,57 ± 0,85
Isolat 7	12	9,48 ± 1,35	8,36 ± 3,23	9,17 ± 0,84
	24	9,72 ± 2,75	8,14 ± 1,92	8,66 ± 1,47
	36	9,44 ± 1,42	7,04 ± 0,35	7,69 ± 1,72
	48	10,95 ± 2,09	6,97 ± 0,17	7,73 ± 1,09
	60	8,00 ± 1,71	8,20 ± 1,02	7,36 ± 0,93
	72	8,04 ± 1,06	6,56 ± 0,45	9,23 ± 1,11
Isolat 8	12	6,25 ± 0,14	7,50 ± 1,62	7,86 ± 1,01
	24	6,58 ± 0,82	7,14 ± 0,78	7,65 ± 0,74
	36	6,76 ± 1,04	7,25 ± 1,37	7,72 ± 0,32
	48	6,61 ± 0,86	7,51 ± 1,71	7,79 ± 0,60
	60	7,77 ± 2,50	8,30 ± 2,84	6,02 ± 0,03
	72	8,45 ± 1,95	8,07 ± 0,32	7,57 ± 0,85

Isolat 9	12	$6,77 \pm 0,12$	$8,52 \pm 0,19$	$10,15 \pm 1,80$
	24	$6,69 \pm 0,91$	$9,13 \pm 0,16$	$8,78 \pm 0,68$
	36	$8,72 \pm 1,86$	$9,25 \pm 0,76$	$7,54 \pm 0,92$
	48	$8,35 \pm 1,33$	$7,77 \pm 0,53$	$7,88 \pm 0,74$
	60	$9,47 \pm 3,29$	$8,56 \pm 2,09$	$8,12 \pm 2,29$
	72	$10,94 \pm 1,69$	$9,82 \pm 1,47$	$7,74 \pm 2,09$
Isolat 10	12	$9,48 \pm 1,35$	$8,36 \pm 3,23$	$9,17 \pm 0,84$
	24	$9,72 \pm 2,75$	$8,14 \pm 1,92$	$8,66 \pm 1,47$
	36	$9,44 \pm 1,42$	$7,04 \pm 0,35$	$7,69 \pm 1,72$
	48	$10,95 \pm 2,09$	$6,97 \pm 0,17$	$7,73 \pm 1,09$
	60	$8,00 \pm 1,71$	$8,20 \pm 1,02$	$7,36 \pm 0,93$
	72	$8,04 \pm 1,06$	$6,56 \pm 0,45$	$9,23 \pm 1,11$

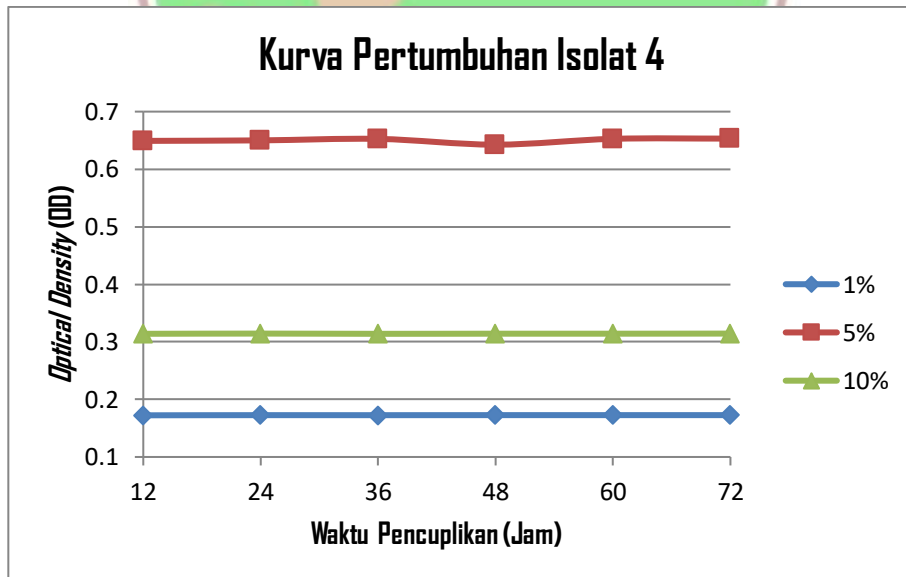


Lampiran 1. (Lanjutan)

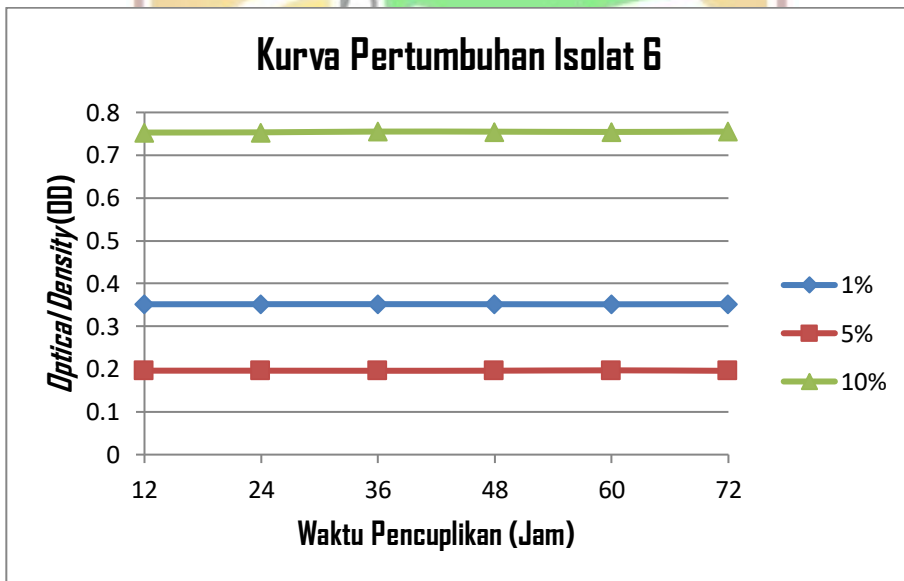
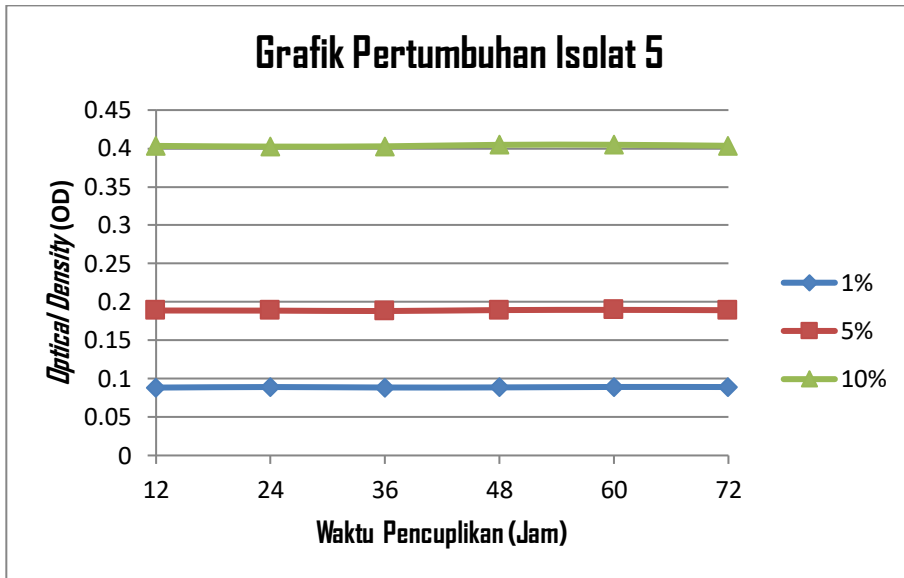
Gambar 13. Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik



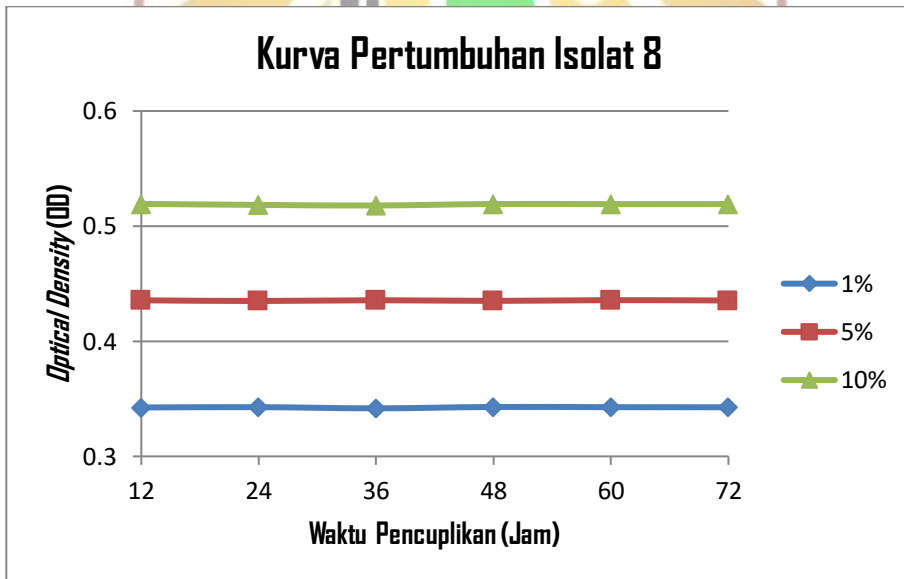
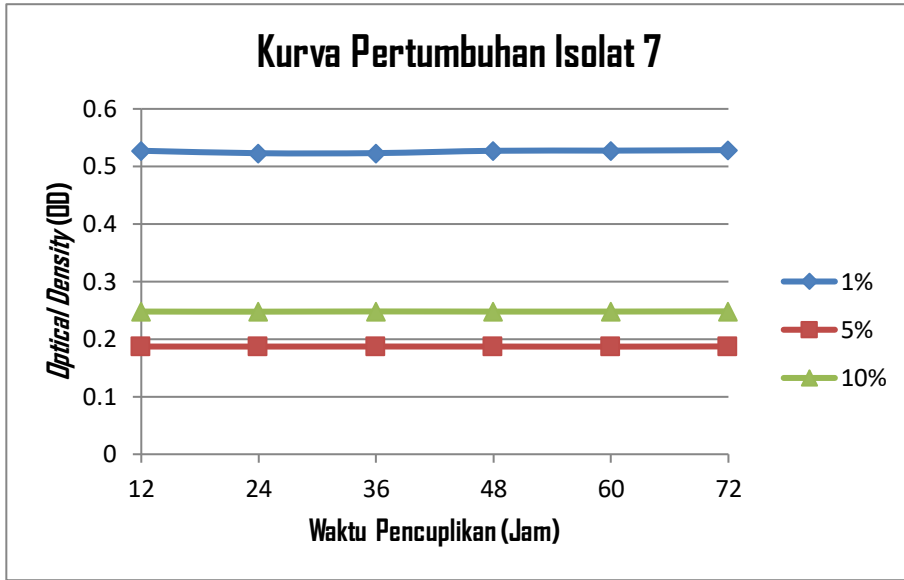
(1)



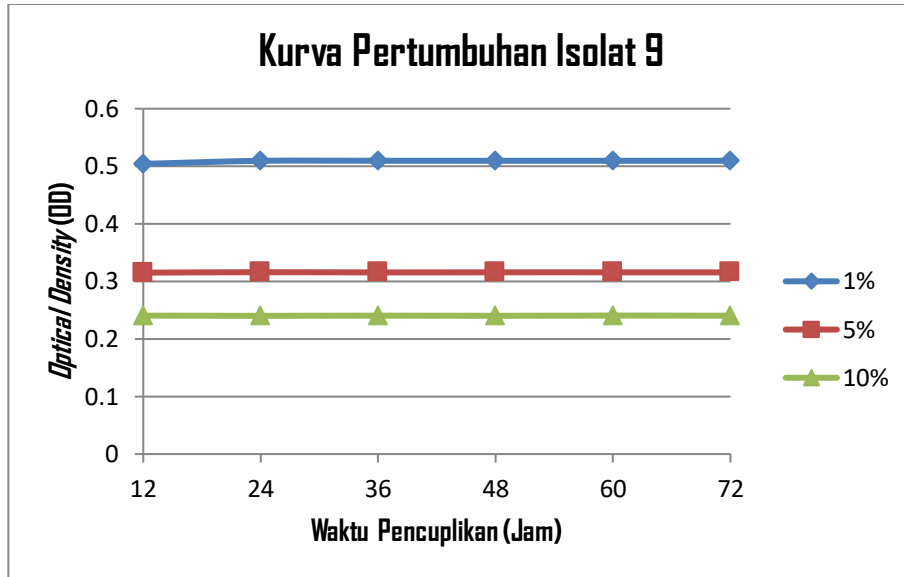
(2)



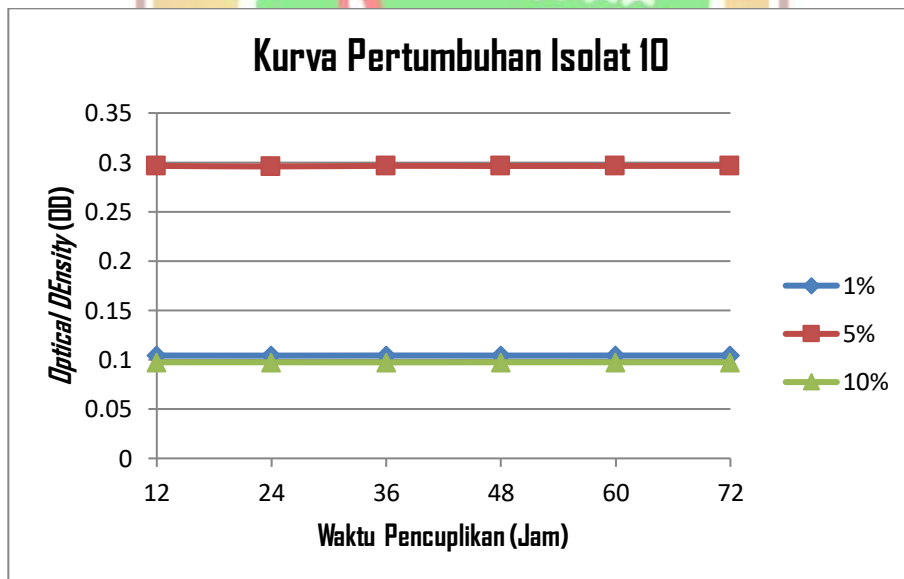
(4)



(6)



(7)



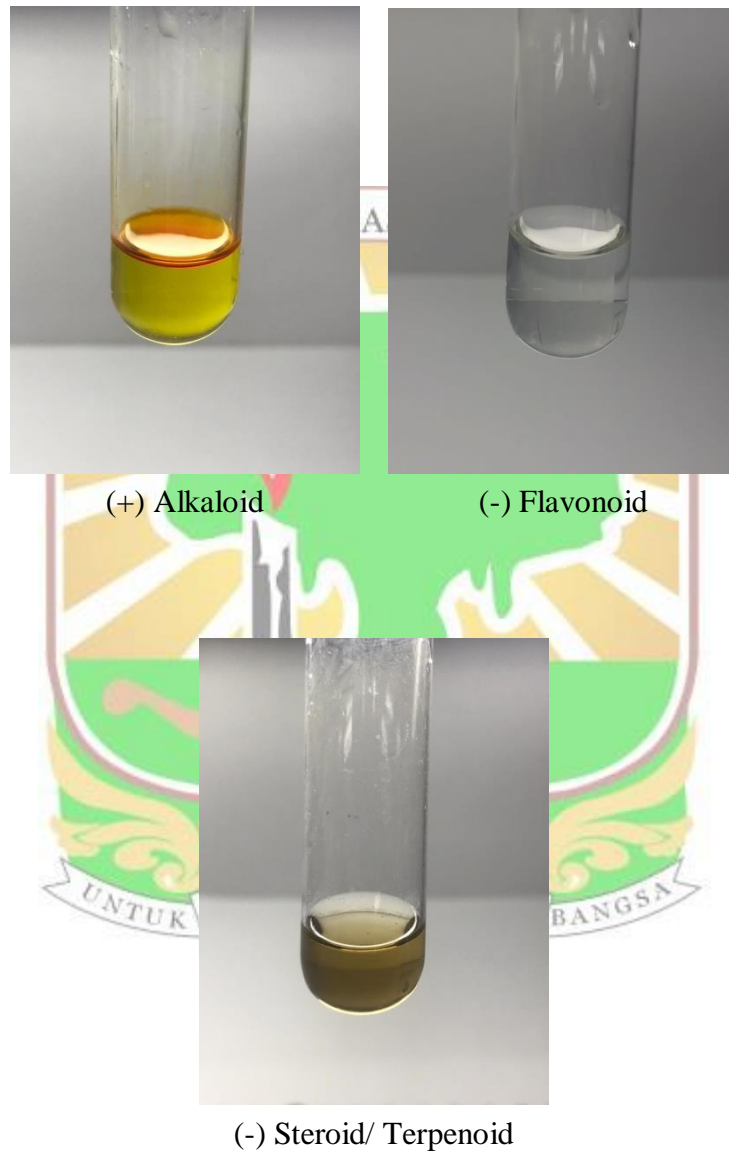
(8)

- Keterangan:
- (1) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 2
 - (2) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 4
 - (3) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 5
 - (4) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 6
 - (5) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 7
 - (6) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 8
 - (7) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 9
 - (8) Kurva Profil Pertumbuhan Bakteri Endofitik Isolat 10

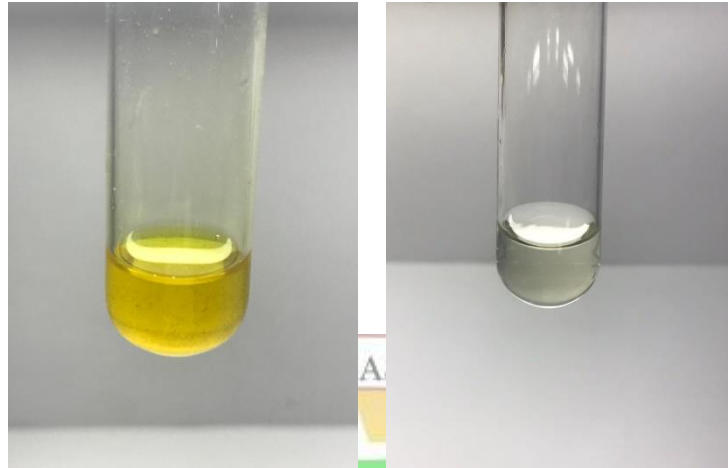
Lampiran 2. Data Penunjang

Gambar 14. Uji Metabolit Sekunder

1. Uji Metabolit Sekunder Isolat 1

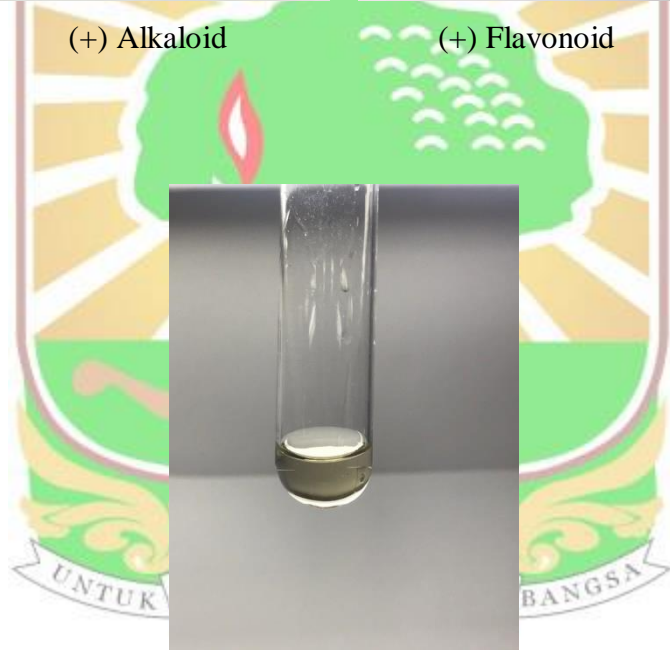


2. Uji Metabolit Sekunder Isolat 3



(+) Alkaloid

(+) Flavonoid



(-) Steroid/Terpenoid

ISOLASI BAKTERI ENDOFITIK DARI TANAMAN LABU KOTEKA Langenaria siceraria (Molina) Standl, FERMENTASI DAN UJI AKTIVITAS METABOLIT SEKUNDERNYA TERHADAP BAKTERI Salmonella typi

ORIGINALITY REPORT

0%

SIMILARITY INDEX

0%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

Exclude quotes Off

Exclude matches < 3%

Exclude bibliography On