



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENAPISAN POTENSI BAKTERI ENDOFITIK DARI TUMBUHAN
SURIAN (*Toona sureni* Blume Merr.) SEBAGAI PENGHASIL
ANTIBIOTIKA**

SKRIPSI



**DESMA YUNI
07 133 009**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS
ANDALAS PADANG, 2011**

Penapisan Potensi Bakteri Endofitik dari Tumbuhan Surian
(*Toona sureni* Blume Merr.) sebagai Penghasil Antibiotika

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi

Oleh :

Desma Yuni
BP. 07 133 009

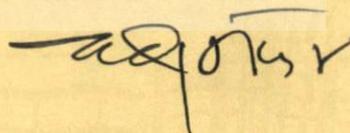
Padang, Agustus 2011

Pembimbing I

Pembimbing II

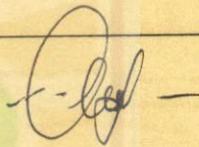
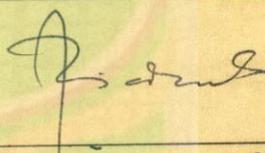
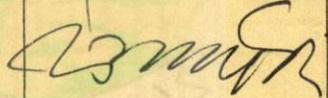


(Dr. Anthoni Agustien, MS)
NIP. 196208121988111001



(Prof. Dr. Akmal Djamaan, MS, Apt)
NIP. 196402101989011001

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Andalas, Padang
pada hari Jum'at tanggal 29 Juli 2011.**

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. phil.nat Nurmiati	Ketua	
2.	Dr. Anthoni Agustien, MS	Sekretaris	
3.	Prof. Dr. Akmal Djamaan, MS, Apt	Anggota	
4.	Dr. phil.nat Periadnadi	Anggota	
5.	Dr. Nasril Nasir	Anggota	

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis sampaikan kepada Allah SWT, atas berkat rahmat dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “Penapisan Potensi Bakteri Endofitik dari Tumbuhan Surian (*Toona sureni* Blume Merr.) sebagai Penghasil Antibiotika”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan Strata 1 (S-1) di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Anthoni Agustien, MS dan Bapak Prof. Dr. Akmal Djamaan, MS, Apt selaku dosen pembimbing yang telah memberikan petunjuk, pengarahan dan bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada :

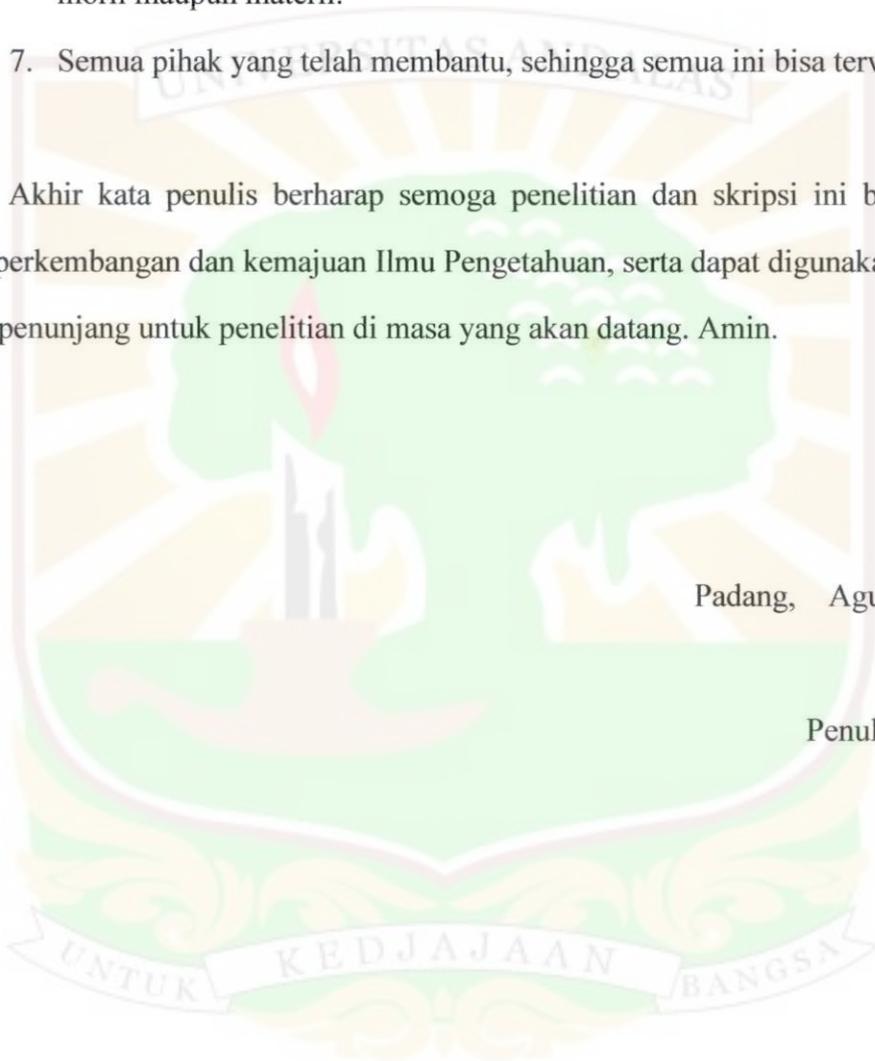
1. Bapak Prof. Dr. Syamsuardi, M.Sc selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan nasehat, bimbingan dan motivasi selama masa pendidikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.
2. Bapak Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bapak Kepala Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas beserta analis yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian bagi penulis.
3. Bapak Kepala Laboratorium Biota Sumatra bagian Bioteknologi Universitas Andalas.
4. Bapak Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas yang telah memberikan kemudahan dalam penyelesaian studi penulis.

5. Segenap Dosen, Analis dan Karyawan/Karyawati Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas yang telah memfasilitasi penulis selama masa perkuliahan.
6. Keluarga yang telah banyak memberikan do'a, motivasi dan bantuan baik moril maupun materil.
7. Semua pihak yang telah membantu, sehingga semua ini bisa terwujud.

Akhir kata penulis berharap semoga penelitian dan skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan dan kemajuan Ilmu Pengetahuan, serta dapat digunakan sebagai bahan penunjang untuk penelitian di masa yang akan datang. Amin.

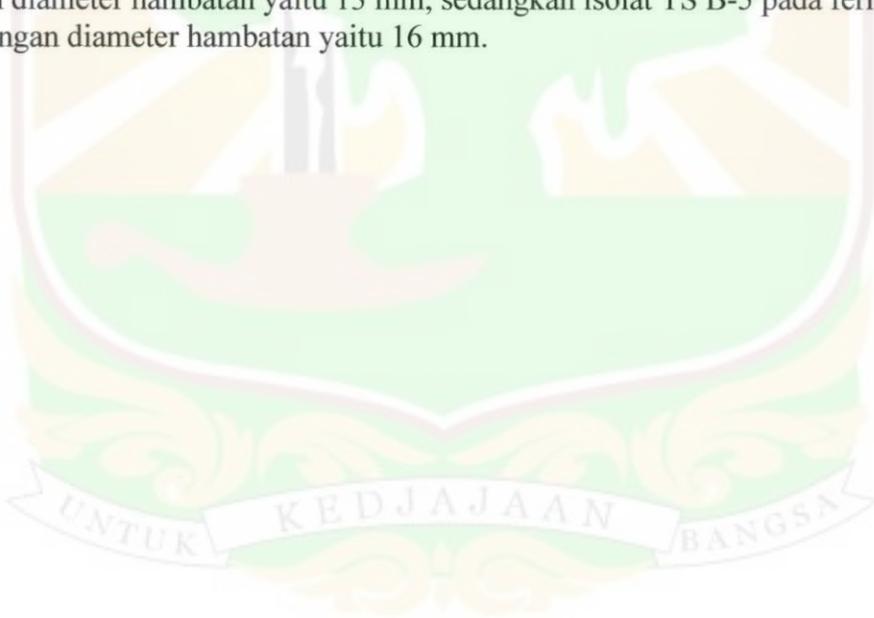
Padang, Agustus 2011

Penulis



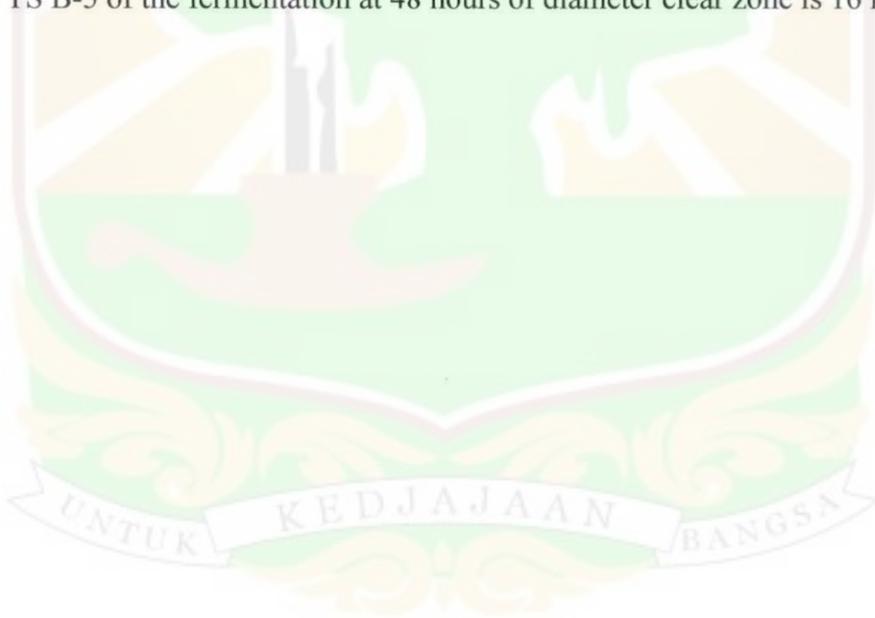
ABSTRAK

Penelitian mengenai “Penapisan Potensi Bakteri Endofitik dari Tumbuhan Surian (*Toona sureni* Blume Merr.) sebagai Penghasil Antibiotika” telah dilakukan dari bulan April sampai dengan bulan Juni 2011 di Laboratorium Biota Sumatra bagian Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unand, Padang. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan *purposive sampling* dengan analisa data secara deskriptif. Seleksi bakteri penghasil antibiotika dilakukan dengan metode *wells* (lubang sumuran) dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil isolasi bakteri endofitik dari daun surian diperoleh 14 isolat bakteri, dimana 14 isolat tersebut terindikasi menghasilkan antibiotika dengan 6 isolat bakteri memiliki zona bening terhadap *E. coli*, 14 isolat terhadap *S. aureus* dan 6 isolat terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat TS A-5 memiliki diameter zona bening tertinggi terhadap *Escherichia coli* (10 mm) dan isolat TS B-5 memiliki diameter zona bening tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* (13 mm). Uji aktivitas isolat TS A-5 menunjukkan pada fermentasi 42 jam menghasilkan antibiotika tertinggi dengan diameter hambatan yaitu 13 mm, sedangkan isolat TS B-5 pada fermentasi 48 jam dengan diameter hambatan yaitu 16 mm.



ABSTRACT

Research about “Filtering Potential of Endophytes Bacteria of Surian Plants (*Toona sureni* Blume Merr.) Antibiotics as Production” has been carried out from April until June 2011 in Laboratory Biota Sumatra, of section Biotechnology and Laboratory Microbiology, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Andalas University. Research was used Experiment and Purposive Sampling method by data were analysed with Descriptive. Wells method (wells hole) was used in selection of bacterial productions antibiotics which *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as testing bacteria. Result showed endophytes bacteria of surian’s leaves acquired 14 isolates bacteria, which for 14 isolated of indication as production antibiotics with 6 isolate bacteria have antibacterial to *E.coli*, 14 isolate to *S. aureus*, and 6 isolate to *E.coli* and *S. aureus* bacteria. Isolate of TS A-5 have highest diameter clear zone to *E. coli* (10 mm) and isolate of TS B-5 have highest diameter clear zone to *S. aureus* (13 mm). Test of activity from isolate TS A-5 was resulted at 42 hours of the fermentation produced high antibiotics of diameter clear zone is 13 mm, whereas isolate TS B-5 of the fermentation at 48 hours of diameter clear zone is 16 mm.



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Hipotesis Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Botani Surian (<i>Toona sureni</i> (Blume) Merr.)	5
2.2 Kandungan Kimia Surian	6
2.3 Khasiat dan Kegunaan Surian	7
2.4 Mikroba Endofitik	9
2.5 Antibiotika	11
2.6 Mikroorganisme Uji	
2.6.1 <i>Escherichia coli</i> (bakteri Gram negatif)	14
2.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i> (bakteri Gram positif)	16

III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2 Metoda Penelitian	18
3.3 Alat dan Bahan	18
3.4 Prosedur Kerja	19
3.4.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	19
3.4.2 Sterilisasi Alat dan Medium	19
3.4.3 Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA)	20
3.4.4 Pembiakan Bakteri Uji	20
3.4.5 Isolasi Bakteri Endofit	21
3.4.6 Peremajaan Bakteri	21
3.4.7 Pembuatan Inokulum Produksi Antibiotika	21
3.4.8 Aktivitas Antibiotika	22
3.4.9 Penghasilan Biomassa Bakteri	22
3.4.10 Uji Antibiotika	22
3.5 Pengamatan Bakteri Endofitik	23
3.6 Analisa Data	23

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi bakteri endofitik dan uji antibiotikanya	24
4.2 Uji Aktivitas Antibiotika	28
4.3 Pengamatan Makroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika	35
4.4 Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika	36

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39

DAFTAR PUSTAKA40
LAMPIRAN45
BIODATA PENULIS55



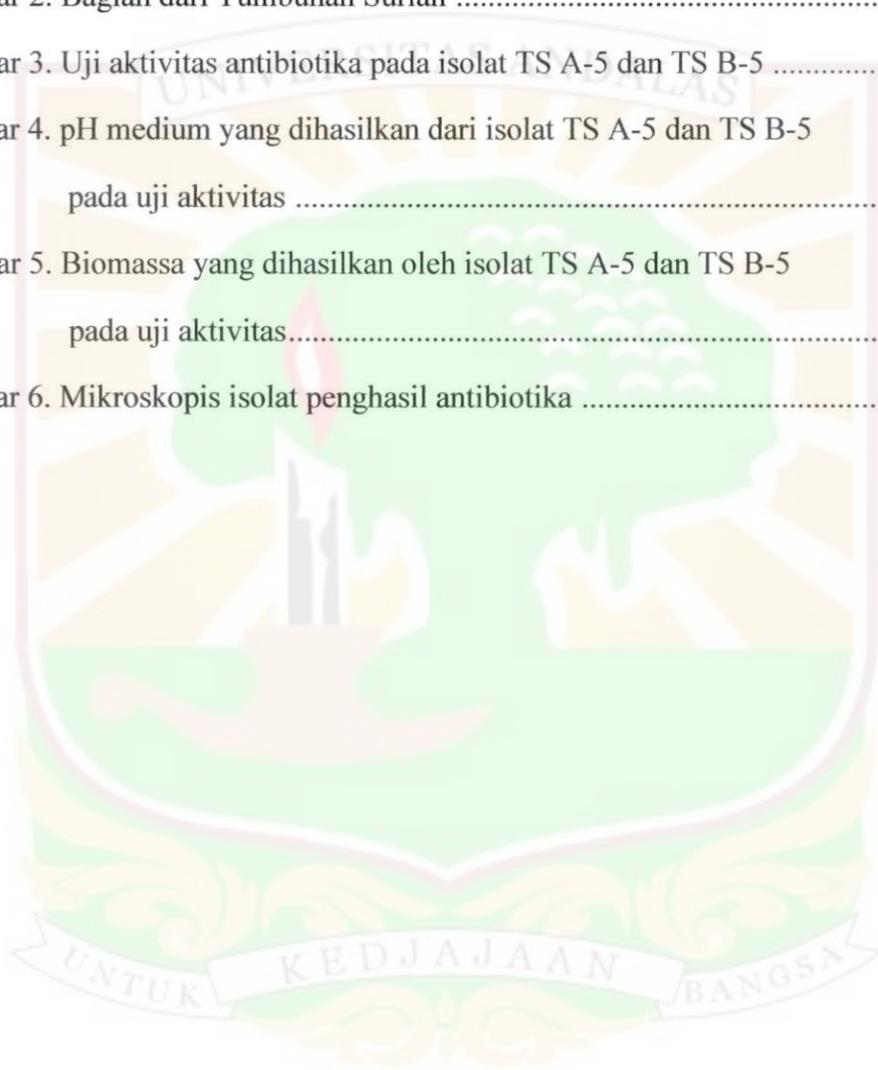
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Uji antibiotika dari bakteri endofitik	24
Tabel 2. Diameter zona bening dari isolat penghasil antibiotika	27
Tabel 3. Diameter zona bening isolat penghasil antibiotika terhadap kedua bakteri uji	28
Tabel 4. Pengamatan Makroskopis isolat bakteri endofitik	35
Tabel 5. Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri endofitik	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pohon Surian	6
Gambar 2. Bagian dari Tumbuhan Surian	9
Gambar 3. Uji aktivitas antibiotika pada isolat TS A-5 dan TS B-5	28
Gambar 4. pH medium yang dihasilkan dari isolat TS A-5 dan TS B-5 pada uji aktivitas	32
Gambar 5. Biomassa yang dihasilkan oleh isolat TS A-5 dan TS B-5 pada uji aktivitas.....	34
Gambar 6. Mikroskopis isolat penghasil antibiotika	37



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tumbuhan Surian	45
Lampiran 2. Skema Kerja.....	45
a. Sterilisasi Alat dan Bahan	45
b. Isolasi Bakteri Endofitik	46
c. Pembuatan Inokulum Produksi Antibiotika	46
d. Aktivitas Antibiotika	47
e. Penghasilan Biomassa Bakteri	47
f. Uji Antibiotika	48
Lampiran 3. Isolasi bakteri endofitik pada tumbuhan surian	48
Lampiran 4. Uji aktivitas isolat bakteri penghasil antibiotika.....	49
Lampiran 5. Pengamatan Makroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika dalam Biakan Miring	50
Lampiran 6. Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika	51
Lampiran 7. Data pengukuran diameter zona bening dari uji aktivitas isolat penghasil antibiotika	52
Lampiran 8. Data pengukuran nilai pH dari uji aktivitas isolat penghasil Antibiotika	53
Lampiran 9. Data pengukuran biomassa dari uji aktivitas isolat penghasil Antibiotika	53
Lampiran 10. Jadwal Pelaksanaan Penelitian	54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia sudah mengenal dan memakai tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi. Hal ini telah dilakukan jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tumbuhan obat merupakan warisan budaya bangsa secara turun temurun (Yuharmen *et al.*, 2002).

Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr.) merupakan salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini sangat jarang untuk dibudidayakan, padahal telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan, seperti kayunya yang digunakan sebagai bahan bangunan, bagian lain dari pohon ini seperti daun dan akarnya digunakan sebagai bahan untuk pengobatan seperti pada penyakit astringen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya. Sedangkan, pucuk daun surian juga dapat digunakan untuk mengatasi pembengkakan ginjal (Yuhernita dan Juniarti, 2009). Permintaan jenis kayu ini meningkat, khususnya diperuntukan untuk pembuatan *meubel*, interior ruangan, lemari, rangka pintu dan jendela, serta kegunaan lainnya. Kayu surian berkualitas tinggi karena sangat kuat dan tahan terhadap serangga, sehingga sering digunakan untuk bahan bangunan (Djam'an, 2003 *cit.* Yuhernita dan Juniarti, 2009).

Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit dalam jaringannya yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*). Secara teori, mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang relatif tinggi. Dengan demikian, tidak perlu menebang

tanaman aslinya untuk diambil sebagai *simplisia* yang kemudian diisolasi metabolitnya karena kemungkinan membutuhkan waktu tahunan untuk dipanen (Radji, 2005).

Indonesia adalah negara tropis yang kaya dengan flora dan fauna. Banyak jenis tumbuhan yang merupakan sumber plasma nutfah yang tidak ternilai. Beberapa tahun terakhir ini, penggalan sumber daya mikroba yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan (mikroba endofitik) mulai banyak mendapat perhatian. Mikroba tersebut mulai dipelajari untuk berbagai tujuan, karena mikroba endofitik yang berasal dari tumbuhan tersebut masih banyak yang belum diketahui karakter dan potensinya, khususnya di Indonesia (Clay, 1988 *cit.* Melliawati *et al.*, 2006).

Mikroorganisme endofitik merupakan mikroorganisme yang seluruh atau sebagian hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan (batang, cabang atau ranting tumbuhan), dimana diantara keduanya terjalin hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba ini hidup diantara sel tumbuhan dan bersimbiosis mutualisme dengan tanaman inangnya (Kumala, *et al.*, 2008). Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit (Radji, 2005).

Banyaknya mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antibiotika, telah memicu kebutuhan antibiotika baru yang lebih efektif. Produksi antibiotika dapat dilakukan dengan proses sintesis kimiawi dari tanaman dan mikroba (Crueger and Crueger, 1984 *cit.* Agustien, 2000). Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil (Tjay dan Raharja, 2002 *cit.* Djamaan, 2010). Schlegel dan Schmidt (1994) juga menyebutkan bahwa antibiotika merupakan bahan-bahan bersumber hayati yang

pada kadar rendah sudah membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Seiring dengan trend “*back to nature*” atau kembali ke alam, berbagai jenis tumbuhan obat kembali dicari sebagai penghasil antibiotika yang dapat dimanfaatkan masyarakat. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat adalah surian. Beberapa bagian dari pohon ini banyak digunakan untuk ramuan obat seperti diare, disentri, demam, dan pembengkakan limpa, astringen dan tonikum. Masyarakat di Sumatra Barat menggunakan daun surian ini untuk mengobati pendarahan setelah melahirkan, sedangkan kulit batangnya dimanfaatkan untuk mengobati diare (Rahmawati, 2008).

Dalam bidang kesehatan, daun surian yang berwarna merah dapat digunakan sebagai astrigen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya. Pucuk daun surian ini juga dapat digunakan untuk mengatasi pembengkakan ginjal (Perry, 1980 *cit.* Yuhernita dan Juniarti, 2009). Dari penelitian sebelumnya telah dilakukan penapisan hipokratik yang disertai dengan uji spesifik didapatkan bahwa ekstrak etanol dari daun surian mempunyai aktivitas yang menonjol yaitu dapat menurunkan darah tinggi (Suhatri dan Fairus, 1994 *cit.* Yuhernita dan Juniarti, 2009).

Selama ini belum pernah dilaporkan adanya mikroba endofitik dari tumbuhan surian ini. Padahal secara teoritis apabila suatu tanaman menghasilkan senyawa yang bersifat antibiotika, maka mikroba endofitik yang hidup dalam tanaman tersebut juga berpotensi menghasilkan senyawa yang bersifat antibiotika. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penapisan dan isolasi bakteri endofitik dari surian untuk menggali potensinya dalam menghasilkan senyawa bioaktif berupa antibiotika. Setelah diketahui adanya bioaktifitas bakteri penghasil antibiotika dari mikroba endofitik pada surian, tumbuhan ini dapat dikembangkan sebagai bahan dasar obat

antimikroba baru melalui penelitian lebih lanjut yang bisa digunakan sebagai bahan dasar pengobatan oleh masyarakat.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut, maka didapatkan perumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah dapat dilakukan isolasi bakteri endofitik dari daun surian ?
2. Apakah bakteri endofitik yang diisolasi dari daun surian menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ?

1.3 Tujuan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi bakteri endofitik penghasil antibiotika.
2. Mengetahui potensi bakteri tersebut dalam menghasilkan antibiotika.

1.4 Manfaat Penelitian

Diperolehnya bakteri endofitik yang potensial yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk menghasilkan antibiotika.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Diperoleh bakteri endofitik dari daun Surian (*Toona sureni* Bl. Merr).
2. Bakteri endofitik yang terdapat pada jaringan Surian memiliki kemampuan untuk menghasilkan antibiotika.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr.)

Di Indonesia, surian merupakan salah satu tumbuhan yang sangat banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan, karena mempunyai keistimewaan tersendiri yaitu selain kayunya yang digunakan sebagai bahan bangunan, bagian lain dari pohon ini seperti daun dan akarnya digunakan sebagai bahan untuk pengobatan seperti pada penyakit astringen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya. Sedangkan, pucuk daun surian juga dapat digunakan untuk mengatasi pembengkakan ginjal (Yuhernita dan Juniarti, 2009).

Pohon berukuran sedang sampai besar, dapat mencapai tinggi 40-60 m dengan tinggi bebas cabang hingga 25 m. Diameter batang dapat mencapai 100 cm, bahkan di pegunungan dapat mencapai hingga 300 cm, berbanir hingga tinggi 2 m. Kulit batang terlihat pecah-pecah dan seolah tumpang tindih, berwarna coklat keputihan, pucat hingga keabu abuan, dan mengeluarkan aroma apabila dipotong. Kayunya ringan, dengan gubal merah muda dan teras coklat. Kayu dan daunnya berbau harum sehingga tahan terhadap serangan rayap maupun bubuk kayu dengan warna kemerahan. Daun surian berbentuk oval dengan panjang 10-15 cm, posisi daun menyirip tunggal dengan 8-30 pasang daun, biasanya berbulu pada tulang daun bagian bawah (Djam'an, 2002).

Tumbuhan surian dijumpai di hutan-hutan primer dan sekunder, serta banyak tumbuh di hutan pedesaan yang sering di temukan disepanjang sungai di daerah bukit dan lereng-lereng pada ketinggian 1200 - 1700 m dpl. Di Indonesia, daerah penyebarannya yaitu di Sumatra, Jawa, dan Sulawesi, yang beriklim dengan rata-rata suhu tahunan 22⁰C. Tumbuhan ini juga menyebar di Nepal, India, Bhutan, Myanmar,

Indo-Cina Cina Selatan, Thailand, dan sepanjang Malaysia hingga Barat Papua Nugini (Djam'an, 2001).



Gambar 1. Pohon Surian (Djam'an, 2002)

Adapun klasifikasi dari tanaman surian adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Sapindales
 Family : Meliaceae
 Genus : *Toona*
 Species : *Toona sureni* (Blume) Merr. (Mabberley *et al.*, 1995).

2.2 Kandungan Kimia Surian

Kandungan kimia surian sudah mulai diteliti sejak tahun 1979, dimana Kraus *et al.*, melaporkan isolasi tiga senyawa triterpenoid dari daun surian, yaitu surenon, surenin dan sedrelon (Yuhernita dan Juniarti, 2009). Salome (1999) juga telah berhasil mengisolasi beberapa karotenoid yang diduga adalah trans- β -karoten, zeasantin dan laktukasantin. Studi Fitokimia mengenai jenis metabolit sekunder dalam daun surian,

dimana tumbuhan ini mengandung senyawa triterpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid (Ali, 1991; Junaidi, 1991; Afrimelyeti, 1996 *cit.* Rahayu *et al.*, 2008).

Penelitian terhadap surian juga menyebutkan bahwa daun tumbuhan ini mengandung senyawa kimia yang bernama metil galat yang memiliki bioaktivitas seperti antibakteri dan antioksidan. Selain metil galat, daun surian juga mengandung senyawa karotenoid, yaitu lutein yang berperan dalam pencegahan kerusakan macular mata dari sinar biru matahari. Daun surian juga mengandung beta-sitosterol yang mempunyai bioaktivitas menaikkan HDL-kolesterol atau menurunkan LDL-kolesterol darah, sehingga dapat mencegah penyakit jantung koroner (Djamaan, 2001). Kulit batang Surian mengandung tannin dalam jumlah yang cukup besar. Pucuk dan daun surian banyak mengandung karoten, asam amino, dan vitamin yang banyak di manfaatkan sebagai obat sakit perut (Jayusman, 2006).

2.3 Khasiat dan Kegunaan Surian

Tumbuhan surian juga berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai bahan untuk pengobatan. Masyarakat Sumatra Barat, khususnya masyarakat Solok menggunakan daun tumbuhan ini untuk mengobati pendarahan setelah melahirkan, sedangkan kulit batangnya dimanfaatkan untuk mengobati diare. Di Cina dan Malaysia daun surian dimanfaatkan sebagai sayur untuk dikonsumsi. Selain itu, kulit batang juga digunakan untuk mengobati demam, diare, disentri dan ginjal yang membesar (Tamin *et al.*, 1997 *cit.* Rahmawati, 2008). Sedangkan masyarakat Taiwan menggunakan daun dan kulit batang surian untuk mengobati diare, radang usus, disentri dan gatal pada kulit (Edmonds *et al.*, 1998 *cit.* Rahmawati, 2008).

Surian merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan mulai dari kayu, batang sampai daunnya telah digunakan secara tradisional karena mempunyai keistimewaan tersendiri. Ekstrak

daun surian mempunyai bioaktivitas sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus*, sehingga digunakan sebagai astringen, tonikum, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya (Yuhernita dan Juniarti, 2009).

Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak etanol daun surian aktif sebagai penurunan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, dan meningkatkan kadar HDL juga mempunyai aktivitas relaksasi otot dan parasimpatomimetik, kulit dan buahnya dapat digunakan untuk minyak atsiri. Selain digunakan sebagai obat, kayu dari tanaman ini biasa digunakan sebagai bahan bangunan dan perabotan rumah tangga (Djamaan, 2001).

Seiring dengan pemanfaatan batangnya, bagian-bagian lain dari tumbuhan ini pun dapat digunakan secara tradisional karena mempunyai keistimewaan tersendiri. Dalam bidang kesehatan, daun surian yang berwarna merah digunakan sebagai astringen, obat diare kronis, disentri dan penyakit usus lainnya. Pucuk daun surian juga dapat digunakan untuk mengatasi pembengkakan ginjal (Yuhernita dan Juniarti, 2009).

Secara tradisional petani menggunakan daun Surian untuk menghalau hama serangga tanaman (Jayusman, 2006). Kulit dan buahnya dapat digunakan untuk minyak atsiri, dimana minyak atsiri tumbuhan bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur sehingga dapat dipergunakan sebagai bahan pengawet pada makanan dan sebagai antibiotik alami (Aureli, 1992 ; Gundidza *et al*, 1993 *cit*. Yuharmen *et al.*, 2002).



Gambar 2. Bagian dari Tumbuhan Surian (Lemmens *et al.*, 1995 *cit.* Djam'an, 2002)

- Keterangan :
1. penampakan pohon
 2. cabang bunga
 3. irisan lintang bunga
 4. rangkaian buah
 5. benih

2.4 Mikroba Endofitik

Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup secara internal dan berasosiasi didalam jaringan tanaman. Asosiasi yang terjadi umumnya bersifat mutualistik yaitu mampu melindungi inang dari tekanan biotik dan abiotik (Petrini *et al.*, 1992 *cit.* Kumala *et al.*, 2008). Mikroba endofit biasanya terdapat dalam suatu sistem jaringan seperti daun, ranting atau akar tumbuhan. Mikroba ini dapat menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu yang mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika (Owen and Hundley, 2004). Selain itu, mikroba endofit juga dikenal sebagai penghasil senyawa metabolit yang mempunyai aktivitas sebagai anti virus, anti kanker, anti malaria, anti diabetes, anti oksidan dan senyawa immunosupresif (Radji, 2005).

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis seperti bakteri dan jamur yang hidup di dalam jaringan tanaman (xylem dan phloem), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis mutualisme atau saling menguntungkan, dimana dalam hal ini mikroba endofitik mendapatkan nutrisi dari

hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Tanaka *et al.*, 1999 *cit.* Simarmata *et al.*, 2007).

Mikroba endofitik mempunyai arti ekonomi yang sangat penting di masa depan. Dari studi yang telah dilakukan memberikan indikasi bahwa mikroba endofitik sangat prospektif sebagai sumber metabolit sekunder baru yang bermanfaat di bidang bioteknologi dan pertanian. Menurut Radu dan Kqueen (2002), mikroba endofitik menghasilkan berbagai enzim untuk menghidrolisa polisakarida. Enzim-enzim tersebut relatif langka ditemukan pada jenis mikroba yang bersumber dari tanah dan penting untuk kolonisasi dalam jaringan tanaman.

Menurut Petrini dan Fisher (1988) *cit.* Alamsjah (2004), di samping enzim dan hormon pertumbuhan tanaman, ternyata mikroba endofitik juga memproduksi senyawa aktif atau senyawa antibiotika yang dapat digunakan pada manusia serta pada patogen tanaman, sehingga mampu melindungi tanaman inang dari serangan hama insekta, mikroba patogen atau hewan pemangsanya.

Mikroba endofitik bersimbiosis mutualistik didalam jaringan tumbuhan, dimana mikroba endofitik tersebut mendapatkan nutrisi dan juga menghasilkan berbagai senyawa aktif yang bermanfaat untuk melindungi tumbuhan dari berbagai jenis penyakit dan juga bagi kehidupan manusia. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh mikroba endofitik pada tanaman Surian dapat berfungsi sebagai sumber obat dari berbagai jenis penyakit manusia maupun tumbuhan (Fabry *et al.*, 1998 ; Tanaka *et al.*, 2001 *cit.* Sukiman *et al.*, 2009).

Stobel dan Daisy (2003) *cit.* Kumala *et al.* (2008), menyatakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan mikroba endofit bermanfaat sebagai obat yang dapat digunakan untuk pengobatan penyakit pada manusia. Mikroba endofit juga

mampu mendegradasi polisakarida menjadi gula sederhana. Selama fase pertumbuhannya, mikroba tersebut menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu merombak komponen penyusun kayu seperti lignin, selulosa, hemiselulosa, xilan dan sebagainya (Wahyudi, 1997 *cit.* Kumala *et al.*, 2008).

Mikroba endofitik dapat menghasilkan suatu senyawa yang bersifat sebagai antibakteri untuk kelompok mikroba patogen penyebab penyakit pada tumbuhan dan manusia. Untuk mempelajari potensi mikroba endofitik, *enumerasi* dari masing-masing isolat telah diidentifikasi berdasarkan morfologi, metode molekuler, siklus infeksi dan variasi keberadaanya berdasarkan musim (Wilson, 2000 ; Ruth *et al.*, 2006 *cit.* Sukiman *et al.*, 2009).

Berbagai kegiatan penelitian membuktikan bahwa mikroba endofitik mempunyai nilai yang tinggi. Clay (1988) *cit.* Sukiman *et al.* (2009), melaporkan bahwa mikroba endofitik telah terbukti banyak digunakan untuk kepentingan sektor industri dan pertanian. Sukiman (2004) *cit.* Sukiman *et al.* (2009), juga melaporkan bahwa bakteri endofitik mampu menghasilkan hormon tumbuh IAA (*Indol Acetid Acid*), bahkan mempunyai kemampuan melakukan proses penambatan nitrogen secara hayati.

2.5 Antibiotika

Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tjay dan Raharja, 2002). Sejak penemuan antibiotika pertama yaitu *Penicillin* pada tahun 1929, perkembangan antibiotika berkembang amat pesat. Terlebih lagi sejak penemuan antibiotika semisintetik pada dekade 60-an berupa β -laktamin (Suwandi, 1993).

Antibiotik merupakan substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lain (Zahner, 1972 *cit.* Rahayu, 2006). Antibiotik mempunyai nilai tinggi terutama di bidang kesehatan karena berguna dalam mengobati berbagai penyakit infeksi. Selain mempunyai arti penting dalam bidang kesehatan manusia, antibiotik juga berguna dalam bidang kedokteran hewan untuk mengobati penyakit infeksi dan untuk meningkatkan pertumbuhan hewan ternak. Antibiotik diaplikasikan juga di bidang pertanian untuk meningkatkan hasil-hasil pertanian (Rahayu, 2006).

Adapun mikroorganisme yang telah dikenal dalam menghasilkan zat antibiotika adalah :

- Bakteri : seperti *Bacillus brevis* menghasilkan tirotrisin dan tirosidin, *Bacillus polymixa* menghasilkan Polimiksin, dan *Bacillus colistinus* menghasilkan Kolistin.
- Jamur : seperti *Penicillium notatum* menghasilkan penisilin dan *Penicillium groseofulvin* menghasilkan griseofulvin.
- Actinomycetes : seperti *Streptomyces aureofaciens* menghasilkan tetrasiklin, *Streptomyces venezuelae* menghasilkan kloramfenikol, *Streptomyces rimosus* menghasilkan oksitetrasiklin, *Streptomyces erythreus* menghasilkan eritromisin, *Streptomyces antibioticus* menghasilkan oleandomisin, *Streptomyces ambofaciens* menghasilkan spiramisin dan *Streptomyces lincolnensis* menghasilkan linkomisin (Rollins dan Joseph, 2000).

Antimikroba merupakan suatu zat kimia dengan kekuatan atau konsentrasi tertentu mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen, tetapi tidak membahayakan inangnya. Berdasarkan toksisitas selektif, antimikroba ada yang bersifat menghalangi pertumbuhan mikroba

yang disebut aktivitas bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh mikroba, disebut aktivitas bakterisida (Jewetz, 1996).

Menurut Volk dan Whester (1986) *cit.* Haniah (2008), faktor yang mempengaruhi kerja suatu antibiotika adalah sebagai berikut :

1. Konsentrasi

Konsentrasi zat yang digunakan tergantung pada zat aktif bahan zat tersebut dan mikroorganisme yang akan diuji. Pada umumnya konsentrasi yang tinggi bersifat bakterisida sedangkan konsentrasi rendah bersifat bakteristatik.

2. Waktu

Pemberian suatu zat antimikroba dalam waktu yang lama akan memberikan waktu yang cukup untuk zat tersebut berdifusi dalam bekerja.

3. Suhu

Secara umum peningkatan suhu akan mempercepat laju reaksi kimia sampai pada titik optimumnya. Demikian pula terhadap zat antimikroba, dengan naiknya suhu biasanya dapat mempercepat daya kerja zat tersebut.

4. pH

Keadaan pH dapat menentukan apakah suatu zat dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Umumnya pada pH asam akan menghambat pertumbuhan bakteri, bahkan sampai dapat mematikan.

Untuk mempertahankan diri dari serangan mikroorganisme lain, biasanya mikroorganisme akan memproduksi zat toksis yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain disekitarnya (sifat antagonis). Zat toksis yang dihasilkan mikroorganisme tersebut dikenal dengan antibiotika. Antibiotika ini merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada fase stasioner dari pertumbuhannya (Alexander, 1977).

2.6 Mikroorganisme Uji

Dalam skrining antibiotika diperlukan sejumlah mikroorganisme uji untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari metabolit sekunder yang dihasilkan dari mikroba sampel. Mikroorganisme uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif).

2.6.1 *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif)

Banyak bakteri yang termasuk golongan Gram negatif. Satu diantaranya adalah *Escherichia coli* yang digunakan sebagai mikroorganisme uji pada penelitian ini. Adapun klasifikasi dari *Escherichia coli* menurut Todar (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif anaerob fakultatif yang hidup sebagai flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. Selnya berbentuk tongkat pendek, tidak mempunyai kapsul, ada yang bergerak dan ada yang tidak bergerak, tetapi pergerakannya sangat sulit untuk dideteksi. *E. Coli* tumbuh baik pada temperatur 10 – 46⁰C dan temperatur optimum pada 37⁰C (Todar, 2008).

Pada proses pewarnaan Gram, bakteri Gram negatif akan terlihat berwarna merah atau merah muda jika dilihat dibawah mikroskop. Dinding sel bakteri ini hanya mengandung sedikit peptidoglikan. Akibatnya, warna ungu dari kristal violet yang diberikan pada pewarnaan Gram luntur pada saat pemberian zat pemucat. Dimana, warna merah atau merah muda berasal dari safranin yang ditambahkan terakhir kali (Irianto, 2006).

Dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai susunan kimia yang lebih rumit daripada bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan yang lebih sedikit, tetapi diluar lapisan peptidoglikan ada struktur membran kedua yang tersusun atas protein fosfolipida dan lipopolisakarida. Contoh bakteri Gram negatif : *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Volk, 1993).

Escherichia coli pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan jerman yaitu Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi yang diisolasi dari feses bayi yang baru lahir. Pada tahun 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri coli dengan membangun segala perlengkapan patogenitasnya di infeksi saluran pencernaan. Penyakit yang sering ditimbulkan oleh *E. Coli* adalah diare, infeksi saluran kemih, sepsis dan meningitis (Jawetz, 1996).

E. coli merupakan penyebab utama infeksi saluran kencing 90% dari seluruh kejadian infeksi. Neonatal meningitis mungkin terjadi apabila bakteri ini memasuki aliran darah. Selain itu, bakteri ini merupakan penyebab diare sedang dan berat (Todar, 2008).

2.6.2 *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif)

Staphylococcus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk menggerombol yang tidak teratur seperti anggur. *Staphylococcus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba (Jawetz *et al.*, 2001). Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Todar (2005) adalah :

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

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram Positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar, 2005). Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5 - 1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*, dimana asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Todar, 2005).

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob dan anaerob, fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, protease dan lipase. *Staphylococcus aureus* mengandung

lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* ini adalah haemolysin alfa, beta, gamma delta dan apilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotosin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Staphylococcus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 - 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengkilat (Jawetz, *et al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* mempunyai 4 karakteristik khusus, yaitu faktor virulensi yang menyebabkan penyakit berat pada normal hast, faktor differensiasi yang menyebabkan penyakit yang berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan dan manusia yang membawa gejala karier, dan faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik yang sebelumnya masih efektif. *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Jawetz *et al.*, 2001).

III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April sampai dengan Bulan Juni 2011, bertempat di Laboratorium Biota Sumatra bagian Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang.

3.2 Metoda Penelitian

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda deskriptif, yaitu dengan mengamati koloni bakteri dan melihat terbentuknya zona bening serta mengukur diameternya. Sedangkan pengambilan sampel yaitu dengan metoda *purposive sampling*. Tumbuhan surian yang digunakan adalah sebanyak 5 batang pohon, dimana setiap batang diambil masing-masing 5 sampel daun.

3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain : gunting, pinset, pisau silet, tissue, *rotary evaporator*, *test tube mixer* (Vortex Sibata), *petridish*, timbangan analitik, tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, aluminium foil, kapas, erlenmeyer, labu evaporator, gelas ukur, beaker gelas, pipet takar, pipet mikro (pepetman), tabung apendrof, jarum ose, lampu spiritus, *Magnetic Stirrer Hotplate* (IEC), Vorteks (*Fisons Whirli Mixer*), pH meter, *objek glass*, *cover glass*, mikroskop, oven, Inkubator, Sentrifuse, *Laminar airflow*, *Autoclave* dan *Shaker*.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain : etanol/alkohol 70%, spiritus, aquadest, medium *Nutrient Agar* (NA), air suling steril, air rendaman jagung, Glukosa, CaCO_3 , FeSO_4 , MgSO_4 , ZnSO_4 dan Set Pewarnaan Gram. Bahan sampel

tumbuhan yang digunakan adalah daun surian, sedangkan bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.4 Prosedur Kerja

Secara skematis dapat dilihat pada skema kerja (Lampiran 2).

3.4.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

a. Di Lapangan

Sampel diperoleh di daerah Koto Pauh Kecamatan Sungai Limau Kabupaten Padang Pariaman. Sampel yang digunakan adalah daun surian yang masih segar. Sampel tersebut diambil sebanyak 5 helai pada satu batang pohon. Kemudian, sampel dimasukkan ke dalam kantong kertas yang sudah di steril dan selanjutnya di bawa ke Laboratorium.

b. Di Laboratorium

Pengolahan sampel di Laboratorium dilakukan dengan cara aseptis. Daun surian yang masih dalam keadaan segar dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dipotong dan direndam selama 1 menit di dalam alkohol 70%. Sampel dipotong dengan ukuran $2 \times 2 \text{ cm}^2$ pada bagian ujung, pangkal, sisi kiri, sisi kanan dan bagian tengah tulang daun.

3.4.2 Sterilisasi Alat dan Medium

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, lalu dibungkus dengan kertas koran. Kemudian, alat-alat dan medium yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 lbs selama 15-20 menit. Hal ini dilakukan untuk pencegahan kontaminasi

dari alat-alat dan medium yang akan digunakan. Sedangkan pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan diatas nyala api lampu spritus selama beberapa detik (Hadioetomo, 1990).

3.4.3 Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA)

Medium NA terdiri dari ekstrak daging 3 g, pepton 5 g, dan agar 15 g. Medium NA ditimbang sebanyak 23 g, lalu masukan ke dalam erlenmeyer yang berisi 1000 ml aquadest steril. Kemudian campuran ini dipanaskan di atas *hotplat* sambil diaduk dengan batang pengaduk sampai homogen dan mendidih. Selanjutnya, medium disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 lbs selama 15 menit (Atlas, 1993).

3.4.4 Pemiakan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Escherichia coli* dipilih mewakili bakteri gram negatif, karena merupakan bakteri patogen umum yang biasa menginfeksi saluran pencernaan manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* dipilih mewakili bakteri gram negatif, karena dapat menyebabkan infeksi pada setiap jaringan ataupun alat tubuh manusia (Jawet *et al.*, 2005). Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* didapatkan dari stok murni di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Unand Padang. Stok murni tersebut dibiakan kedalam agar miring yang dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan bakteri dari stok bakteri murni ke dalam biakan miring yang telah disediakan. Lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

3.4.5 Isolasi Bakteri Endofit

Sampel yang dikoleksi dari lapangan, kemudian dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya pada air mengalir. Kemudian sampel dipotong-potong dengan ukuran $2 \times 2 \text{ cm}^2$. Selanjutnya didalam *laminar air flow cabinet*, pada sampel dilakukan desinfeksi permukaan dengan cara merendamnya dengan alkohol 70 % selama 1 menit, lalu dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3 kali (Simarmata *et al.*, 2007).

Setelah itu, sampel dikeringkan di atas tissue yang sudah disterilkan. Kemudian, potongan sampel ditanam dengan menggunakan pinset ke dalam cawan petri yang sudah berisi medium NA. Setiap 1 buah cawan petri ditanamkan 5 potong sampel. Setelah itu, diinkubasi didalam inkubator selama 2–4 hari pada suhu kamar. Mikroba yang tumbuh secara bertahap dimurnikan satu per satu (Simarmata *et al.*, 2007).

3.4.6 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan bakteri dari stok bakteri pada cawan petri ke dalam biakan miring. Lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

3.4.7 Pembuatan Inokulum Produksi Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi air rendaman jagung (3%), glukosa (3%), CaCO_3 (0,5%), FeSO_4 (0,1%), MgSO_4 (0,2%), ZnSO_4 (0,01%), dan ditambahkan air suling steril hingga 100%. Medium dipanaskan sampai mendidih dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 lbs selama 15 menit. Kemudian diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam erlemeyer 50 ml yang telah disterilisasi. Biakan bakteri yang telah diremajakan, diinokulasikan

sebanyak 1-2 ose pada medium produksi antibiotika. Kemudian, inkubasi pada suhu kamar pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam (Rahayu dan Rahayu, 2006 ; Udin *et al.*, 1991).

3.4.8 Aktivitas Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika (dengan komposisi sama dengan langkah 3.4.7) dan diambil sebanyak 50 ml pada erlemeyer 150 ml yang telah disterilisasi. Diinokulasikan inokulum sebanyak 1×10^5 sel per ml atau 5% v/v dari medium produksi. Inkubasi pada suhu kamar pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam dengan dilakukan pencuplikan pada waktu 24, 30, 36, 42 dan 48 jam. Kemudian, larutan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh diuji potensi antibiotikanya dan di ukur juga pH dari masing-masing aktivitas (Rahayu, 2006).

3.4.9 Penghasilan Biomassa Bakteri

Pellet yang didapatkan dari hasil sentrifugasi, dicuci dengan air suling sebanyak 3 kali sehingga didapatkan pellet yang kemudian dimasukkan kedalam botol kecil dan dikeringkan pada oven dengan suhu 80°C sampai beratnya konstan, sehingga didapatkan biomassa dari bakteri (Budiwati *et al.*, 1990).

3.4.10 Uji Antibiotika

Pengujian antibiotika dilakukan dengan uji metode *Wells*. Medium yang digunakan adalah medium NA, dimana medium terlebih dahulu dioleskan dengan bakteri uji *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Setelah itu medium dilobangi seperti sumur yang setiap petrinnya ada 5 sumur. Kemudian, ke dalam lobang tersebut dipipetkan 0,1 mL supernatan (dari langkah 3.4.8) dari masing-masing aktivitas yang dilakukan

terhadap isolat bakteri. Lalu inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Kemudian, dilakukan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk (Rahayu dan Rahayu, 2009).

3.5 Pengamatan Bakteri Endofitik

Pengamatan Bakteri endofitik dilakukan secara makroskopik, dimana pengamatan yang dilakukan mencakup bentuk koloni, warna, dan permukaan. Sedangkan secara mikroskopiknya meliputi bentuk sel dengan pewarnaan gram.

3.6 Analisa Data

Hasil data yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif. Adapun parameter yang dianalisa adalah besarnya zona bening yang terdapat pada bakteri yang telah di seleksi sebagai penghasil antibiotika dan diukur besar diameter hambatan yang terbentuk. Data yang diperoleh akan ditampilkan dalam bentuk Tabel dan Grafik.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap isolasi bakteri endofitik pada tanaman Surian (*Toona sureni*) untuk menggali potensinya dalam menghasilkan antibiotika, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

4.1 Isolasi bakteri endofitik dan uji antibiotikanya

Isolasi bakteri endofitik dari daun surian diperoleh 14 isolat bakteri, dimana 14 isolat tersebut terindikasi menghasilkan antibiotika seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji antibiotika dari bakteri endofitik

No.	Kode Isolat	Bakteri Uji	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	TS A-1	-	+
2.	TS A-2	+	+
3.	TS A-4	-	+
4.	TS A-5	+	+
5.	TS B-1	-	+
6.	TS B-2	-	+
7.	TS B-3	-	+
8.	TS B-4	-	+
9.	TS B-5	+	+
10.	TS C-1	+	+
11.	TS C-4	+	+
12.	TS D-4	-	+
13.	TS D-5	+	+
14.	TS E-5	-	+

eterangan :

- (-) : tidak menghasilkan daya hambat antibakteri
- (+) : menghasilkan daya hambat antibakteri

Tabel 1 menunjukkan bahwa 6 isolat bakteri yaitu (TS A-2, TS A-5, TS B-5, TS C-1, TS C-4 dan TS D-5) menghasilkan daya hambat terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan 8 isolat sampel lainnya tidak menunjukkan daya hambat terhadap bakteri *E. coli*. Menurut Utami *et al.*, (2008), isolat-isolat bakteri endofitik yang tidak menghasilkan senyawa antibakteri, kemungkinan dapat menghasilkan senyawa potensial yang lain. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa mikroba endofitik dapat menghasilkan zat anti malaria dan memproduksi antioksidan (Simanjuntak *et al.*, 2001).

Pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*, 14 isolat bakteri menghasilkan daya hambat antibakteri, artinya bakteri tersebut berpotensi menghasilkan senyawa antibiotika. Menurut Crueger dan Crueger (1984) *cit.* Agustien (2000), mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotika jika mikroorganisme tersebut mengandung gen-gen yang mengkode antibiotika dan biosintesis antibiotika terjadi jika adanya *inducer*.

Antibiotik merupakan metabolit sekunder yang diproduksi ketika konsentrasi substrat melimpah. Pada keadaan substrat organik terbatas, antibiotik tidak terbentuk (Atlas and Bartha, 1993 *cit.* Ristrianto, 2010). Dari segi kerjanya, antibiotik dapat dibedakan dalam kelompok antibiotik bakteristatik dan antibiotik bakterisid. Kelompok bakteristatik mampu menghambat pertumbuhan atau perkembangan bakteri, sedangkan kelompok bakterisid bekerja mematikan bakteri (Wattimena *et al.*, 1991).

Berdasarkan Tabel 1 diatas, isolat bakteri penghasil antibiotika diketahui dari zona bening yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk dari isolat bakteri endofitik penghasil antibiotika tersebut diukur diameternya, seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona bening dari isolat penghasil antibiotika

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Bening terhadap Bakteri Uji (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	TS A-1	-	10
2.	TS A-2	8	10
3.	TS A-4	-	12
4.	TS A-5	10	7
5.	TS B-1	-	11
6.	TS B-2	-	13
7.	TS B-3	-	11
8.	TS B-4	-	12
9.	TS B-5	7	13
10.	TS C-1	9	13
11.	TS C-4	9	13
12.	TS D-4	-	9
13.	TS D-5	8	10
14.	TS E-5	-	12

Pada Tabel 2 terlihat dari 6 isolat bakteri yang menghasilkan zona bening terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, didapatkan pada isolat TS A-5 memiliki diameter zona bening yang tertinggi dengan besar diameter 10 mm. Sedangkan dari 14 isolat bakteri endofitik yang menunjukkan daya hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*, didapatkan 4 isolat yang memiliki diameter zona bening tertinggi yaitu isolat TS B-2, TS B-5, TS C-1 dan TS C-4 dengan besar diameter sama yaitu 13 mm.

Selain itu, pada Tabel 2 juga terlihat ada 6 isolat bakteri yang menunjukkan daya hambat terhadap kedua bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), yaitu isolat TS A-2 dengan diameter hambatan 8 dan 10 mm, isolat TS A-5 dengan diameter hambatan 10 dan 7 mm, isolat TS B-5 dengan diameter hambatan 7 dan 13 mm, isolat TS C-1 dengan diameter hambatan 9 dan 13 mm, isolat TS C-4

dengan diameter hambatan 9 dan 13 mm, dan isolat TS D-4 dengan diameter hambatan 8 dan 10 mm, seperti yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona bening isolat penghasil antibiotika terhadap kedua bakteri uji.

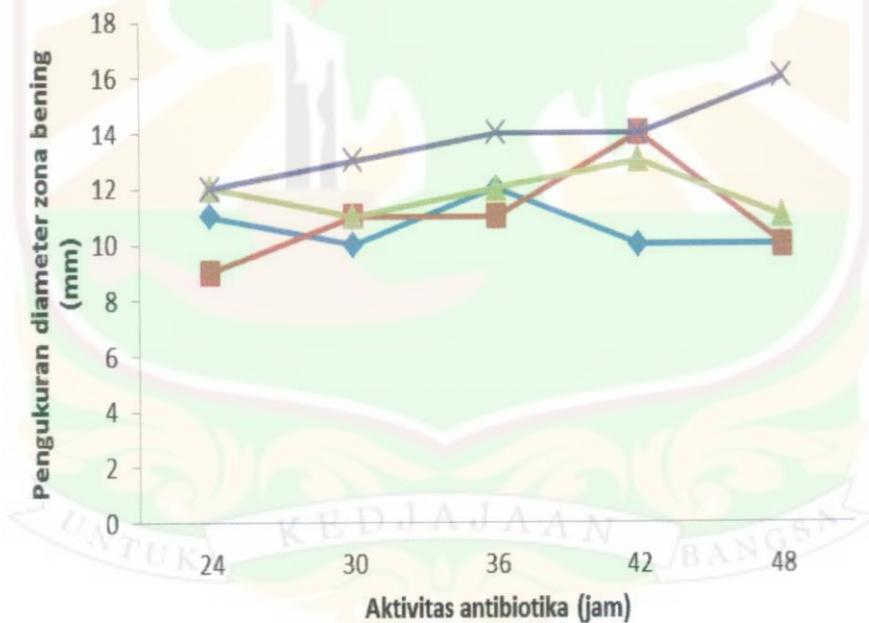
No.	Kode Isolat	Diameter Zona Bening terhadap Bakteri Uji (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	TS A-2	8	10
2.	TS A-5	10	7
3.	TS B-5	7	13
4.	TS C-1	9	13
5.	TS C-4	9	13
6.	TS D-5	8	10

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa isolat TS A-2 dan TS D-5 memiliki besar diameter zona bening sama terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu sebesar 8 mm dan 10 mm. Isolat TS C-1 dan TS C-4 juga memiliki besar diameter zona bening sama terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu sebesar 9 mm dan 13 mm. Sedangkan isolat TS A-5 dan TS B-5 menghasilkan besar diameter zona bening yang berbeda terhadap bakteri kedua bakteri uji.

Pada tabel 3 tersebut menunjukkan bahwa masing-masing isolat bakteri mempunyai aktivitas antibiotika yang berbeda antara satu sama lainnya. Hal ini disebabkan kemungkinan jenis antibiotika yang dihasilkan dari masing-masing isolat bakteri adalah berbeda, atau jenis antibiotikanya sama tetapi konsentrasi antibiotika yang dihasilkan tidak sama, sehingga akan mempengaruhi kerja dari pada antibiotika tersebut. Menurut Madigan *et al.* (2000), jenis dan konsentrasi antibiotika merupakan faktor penentu pada aktivitas antibiotika terhadap mikroorganisme.

4.2 Uji Aktivitas Antibiotika

Berdasarkan dari hasil uji antibiotika dan pengukuran zona beningnya (Tabel 3), ada 2 isolat bakteri yang menunjukkan diameter hambatan tertinggi dan terendah terhadap kedua bakteri uji yaitu isolat TS A-5 dan TS B-5. Dimana, isolat TS A-5 memiliki diameter tertinggi pada bakteri uji *Escherichia coli* (10 mm) dan terendah pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* (7 mm). Sedangkan pada isolat TS B-5 memiliki diameter tertinggi pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* (13 mm) dan terendah pada bakteri uji *Escherichia coli* (7 mm). Kedua isolat bakteri ini dilakukan uji aktivitas antibiotika dengan perlakuan lamanya fermentasi yaitu pada waktu 24, 30, 36, 42 dan 48 jam yang ditampilkan dalam bentuk Grafik (Gambar 3).



Gambar 3. Uji aktivitas antibiotika pada isolat TS A-5 dan TS B-5

Keterangan :

- ◆ Diameter zona bening isolat TS A-5 terhadap E.coli
- Diameter zona bening isolat TS B-5 terhadap E.coli
- ▲ Diameter zona bening isolat TS A-5 terhadap S.aureus
- × Diameter zona bening isolat TS B-5 terhadap S. aureus

Pada Gambar 3 terlihat bahwa diameter zona bening yang terbentuk dari uji aktivitas pada isolat TS A-5 dan TS B-5 berkisar antara 9-16 mm (Lampiran 7). Semakin luas diameter zona bening yang terbentuk, maka akan semakin besar potensi antibiotiknya. Menurut Davis Stout dalam Hasim (2003) *cit.* Rahayu dan Rahayu (2006), kekuatan antibiotik dapat ditentukan sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih mempunyai potensi antibiotik “sangat kuat”, daerah hambatan 10-20 mm mempunyai potensi antibiotik “kuat”, daerah hambatan 5-10 mm mempunyai potensi antibiotik “sedang” dan daerah hambatan 5 mm atau kurang mempunyai potensi antibiotik “lemah”.

Berdasarkan hal tersebut, terlihat bahwa isolat TS A-5 dan TS B-5 pada aktivitas selama 30-48 jam berpotensi kuat dalam menghambat patogen *E. coli* dan *S.aureus* yang ditandai dengan besarnya diameter zona bening yang terbentuk berkisar antara 10-16 mm (Lampiran 7). Wahyudi (1997) menyatakan bahwa tingkat aktivitas zat atau senyawa antimikroba diukur berdasarkan besarnya diameter zona penghambatan yang dihasilkan. Semakin besar diameter zona bening yang lebih dari 15 mm mempunyai potensi yang besar dalam menghambat keberadaan patogen. Hal ini sesuai dengan diameter zona bening yang dihasilkan oleh isolat TS B-5 pada aktivitas selama 48 jam yang berpotensi tinggi dalam menghambat patogen *Staphylococcus aureus*.

Pada Gambar (Lampiran 4) dapat dilihat bahwa zona jernih yang terbentuk disekitar lubang sumuran menunjukkan adanya penghambatan bakteri uji oleh substansi antibakteri yang dihasilkan oleh isolat penghasil antibiotika. Substansi antibakteri tersebut kemungkinan merupakan senyawa metabolit sekunder yaitu suatu senyawa yang diproduksi oleh bakteri melalui alur sintesis khusus. Produksi metabolit sekunder tersebut terbentuk saat dalam fermentasi didalam inokulum produksi antibiotika (Rahayu dan Rahayu, 2006).

Pada penentuan aktivitas antibakteri, terbentuknya zona bening (clear zone) disekitar lobang sumuran membuktikan bahwa senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri. Diameter zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri penguji, dengan semakin besarnya zona hambat yang terbentuk maka antibakteri tersebut mempunyai aktivitas antibakteri yang semakin baik (Panagan dan Nirwan, 2009).

Ketidaksamaan isolat yang mempunyai diameter zona hambat terbaik pada kedua bakteri uji bisa disebabkan karena jenis metabolit antibakteri yang dihasilkan pada masing-masing isolat juga berbeda. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Siswandono (1995) *cit.* Haniah (2008), bahwa antibiotik mempunyai spesikasi dalam efektifitasnya. Antibiotik juga dapat dikelompokkan berdasarkan tempat kerja spektrum aktivitas dan struktur kimianya.

Banyak faktor yang menyebabkan zona hambat tidak bulat merata, salah satu faktor adalah media pembenihan dalam satu cawan Petri, populasi bakteri yang tumbuh tidak rapat disatu bagian sedangkan dibagian yang lain populasi tumbuh rapat. Hal ini disebabkan, pada saat pembuatan lapisan pembenihan dan penyebaran bakteri uji tidak merata. Akibatnya, sumuran yang mengandung zat antibakteri yang diletakkan pada bagian yang populasi bakterinya tidak rapat akan membentuk zona hambat yang lebih besar dari pada sumuran yang dibuat di bagian yang populasi bakterinya rapat (Panagan dan Nirwan, 2009).

Dari Grafik (Gambar 3) terlihat bahwa isolat TS A-5, memiliki aktivitas yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* yaitu waktu 36 jam sedangkan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* yaitu pada waktu 42 jam. Sedangkan isolat TS B-5, memiliki aktivitas yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* yaitu pada waktu 42 jam, sedangkan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* yaitu pada aktivitas selama 48 jam. Menurut Augustine *et al.*

(2004), untuk mendapatkan metabolit sekunder dilakukan isolasi kultur cair dalam 100 ml erlenmeyer pada suhu 37⁰C, dengan kecepatan 250 rpm, dengan lama fermentasi 2 sampai 7 hari. Produksi metabolit maksimal antibakteri dapat dicapai pada fase lag yang merupakan bagian dari fase stasioner, dan pada fase ini terjadi penambahan sel secara alami.

Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa potensi bakteri penghasil antibiotik tertinggi yaitu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hal ini disebabkan karena *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur dinding sel lebih sederhana dibandingkan dengan struktur dinding sel bakteri Gram negatif. Struktur yang sederhana pada Gram positif menyebabkan senyawa antibakteri mudah masuk ke dalam sel bakteri dan menyebabkan kerusakan komponen sel, sehingga pada kadar senyawa antibakteri yang relatif kecil, sudah mampu membunuh sel bakteri (Atlas, 1998).

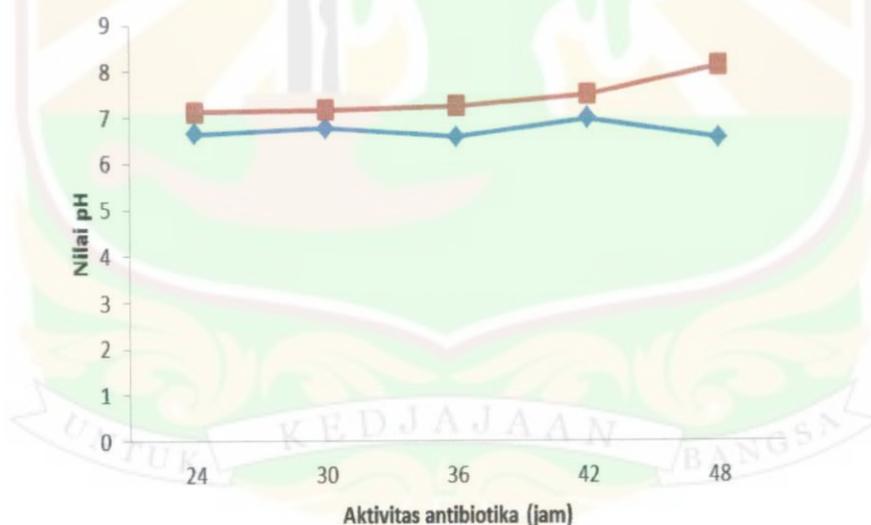
Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37⁰C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar 20⁰C dan pada media dengan pH 7,2 - 7,4 (Jawetz *et al.*, 2005). Seperti diketahui bahwa *S. aureus* merupakan patogen yang banyak menginfeksi manusia yang selama ini penanganannya banyak dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Berkembangnya ketahanan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan kemampuan antibiotik tersebut menurun (Sukiman *et al.*, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh lamanya fermentasi terhadap aktivitas antibakteri. Lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, karena semakin lama fermentasi, bakteri semakin aktif dan semakin banyak jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin besar. Dimana pada lama fermentasi 24 jam, diduga substrat sudah mulai

habis (Fardiaz, 1989), sehingga bakteri endofit yang dalam fermentasi antibiotik akan memecah substrat yang ada dalam tubuhnya.

Berdasarkan Grafik (Gambar 3) aktivitas antibakteri yang paling besar adalah pada lama fermentasi 42 dan 48 jam dengan pH 7,4 – 8,1 (Lampiran 8). Lama fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan awal yang terlihat apabila suatu sel mikroorganisme diinokulasikan pada nutrien agar adalah pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Sel-sel terus membelah secara eksponensial/secara cepat. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk (Buckle *et al.*, 1985).

Adapun pH medium yang dihasilkan dari isolat TS A-5 dan TS B-5 pada uji aktivitas yaitu seperti yang terlihat pada grafik (Gambar 4).



Gambar 4. pH medium yang dihasilkan dari isolat TS A-5 dan TS B-5 pada uji aktivitas

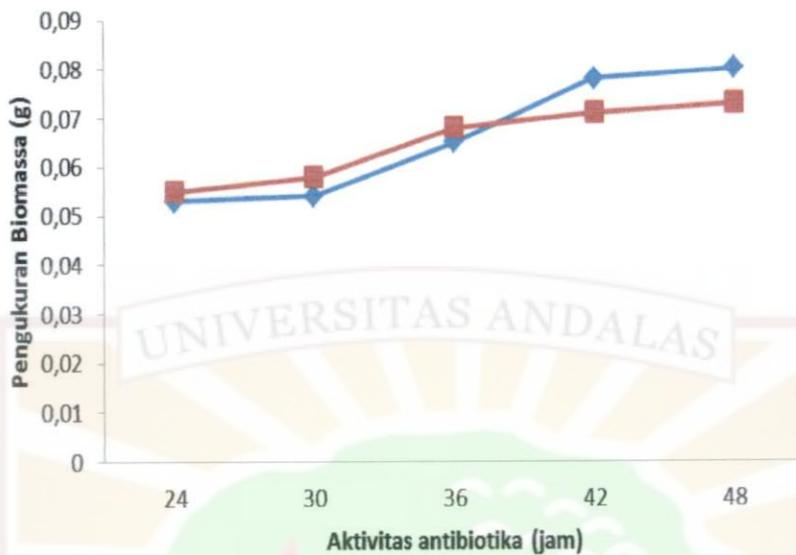
Keterangan :

- ◆ Isolat TS A-5
- Isolat TS B-5

Pada Gambar 4 terlihat bahwa pengaruh waktu inkubasi terhadap perubahan pH memperlihatkan adanya kenaikan pH dari fermentasi 24 – 48 jam pada isolat TS B-5 (Lampiran 8). Kenaikan pH media selama proses fermentasi ini terjadi karena adanya pengaruh hasil metabolit yang bersifat basa seperti amonia (Udin *et al.*, 1991). Sedangkan pada isolat TS A-5 pHnya tidak stabil yaitu pada fermentasi 24 – 30 jam pHnya meningkat, tetapi pada fermentasi 36 jam mengalami penurunan (Lampiran 7). Ini yang menyebabkan salah satu penurunan aktivitas antimikroba yang terjadi disamping jumlah sel dalam media fermentasi menurun, mungkin juga disebabkan karena pada pH yang sangat alkalis antibiotik yang dihasilkan mengalami penguraian (Udin *et al.*, 1991). pH yang rendah mempunyai fungsi sebagai antibakteri yaitu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti pada *E.coli*. Bakteri *E.coli* digunakan sebagai efek penghambatan karena merupakan bakteri patogen yang tumbuh optimum pada pH 6 -7 (Suroño, 2004).

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat kaitan antara pH dan waktu lamanya fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan antibakteri. Menurut Pelczar (1988) *cit.* Haniah (2008), mikroorganisme yang hidup pada pH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan yang basa.

Hal tersebut diatas berhubungan dengan jumlah sel yang tumbuh dalam media fermentasi selama aktivitas berlangsung, dimana pertumbuhannya diikuti dengan pengukuran berat sel (biomassa). Semakin banyak sel yang tumbuh, maka aktivitas antimikroba semakin bertambah (Udin *et al.*, 1991). Hal ini sesuai dengan hasil yang didapatkan dari pengukuran biomassa pada aktivitas yang dilakukan, seperti yang disajikan pada grafik (Gambar 5).



Gambar 5. Biomassa yang dihasilkan oleh isolat TS A-5 dan TS B-5 pada uji aktivitas

Keterangan :

- ◆ Isolat TS A-5
- Isolat TS B-5

Berdasarkan pada grafik (Gambar 5), terlihat bahwa semakin lama waktu aktivitas fermentasi berlangsung, semakin tinggi biomassa yang dihasilkan (Lampiran 9). Hal ini terjadi karena adanya kadar glukosa dalam media fermentasi dapat mengalami penurunan setelah proses fermentasi berlangsung. Penurunan kadar glukosa dimulai pada awal proses fermentasi hingga konsentrasinya semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa sebagai sumber karbon habis digunakan untuk pertumbuhan bakteri yang difermentasi (Ian and Tribe, 1990).

Melihat dari hasil uji aktivitas potensi antibiotik, menunjukkan bahwa isolat bakteri TS A-5 dan TS B-5 tersebut cukup berpotensi menghasilkan antibiotika, tetapi isolat TS B-5 potensi antibiotikanya lebih tinggi dibandingkan dengan isolat TS A-5. Hal ini terbukti dari uji potensi antibiotikanya terhadap bakteri *E. coli* dan *S.aureus*. Antibiotik digolongkan sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam

jalur metabolisme dan oleh enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel. Antibiotik merupakan suatu substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lainnya (Zahner dan Mass, 1972 *cit.* Hasim, 2003).

4.3 Pengamatan Makroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika

Isolat bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi bakteri endofitik penghasil antibiotika dilakukan pengamatan makroskopisnya, seperti yang tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengamatan Makroskopis isolat bakteri endofitik

No	Kode Isolat	Pengamatan Makroskopis		
		Warna	Bentuk Koloni	Permukaan
1.	TS A-1	kuning mengkilat	bulat	cebung
2.	TS A-2	kuning mengkilat	bulat	kasar
3.	TS A-4	kuning bening	bulat	cebung
4.	TS A-5	kuning mengkilat	bulat	kasar
5.	TS B-1	Kecoklatan	bulat	licin
6.	TS B-2	Putih	bulat	licin
7.	TS B-3	Kekuningan	bulat	datar
8.	TS B-4	Kekuningan	bulat	licin
9.	TS B-5	Putih	bulat	kusam kasar
10.	TS C-1	putih mengkilat	bulat panjang	licin
11.	TS C-4	Kuning	bulat	datar
12.	TS D-4	putih bening	bulat panjang	datar
13.	TS D-5	Putih	bulat	licin
14.	TS E-5	putih mengkilat	bulat	datar

Pada Tabel 4 terlihat bahwa dari 14 isolat bakteri penghasil antibiotik tersebut didominasi dengan koloni yang berwarna kuning mengkilat, bentuknya bulat dengan permukaan yang licin dan ada juga yang permukaannya cembung. Hasil pengamatan makroskopis terhadap penampakan koloni isolat bakteri endofit, dapat diketahui bahwa masing-masing isolat memperlihatkan penampakan yang berbeda meskipun diambil dari sampel yang sama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Atmosukarto

(2006) *cit.* Haniah (2008) yang mengatakan, karena mikroba ini tumbuh didalam jaringan tanaman, dimana tanaman yang satu tentunya berbeda dengan tanaman yang lainnya, maka tempat hidup mikroba juga sangat unik sifatnya sesuai dengan kondisi yang dibutuhkan dari masing-masing mikroba.

4.4 Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika

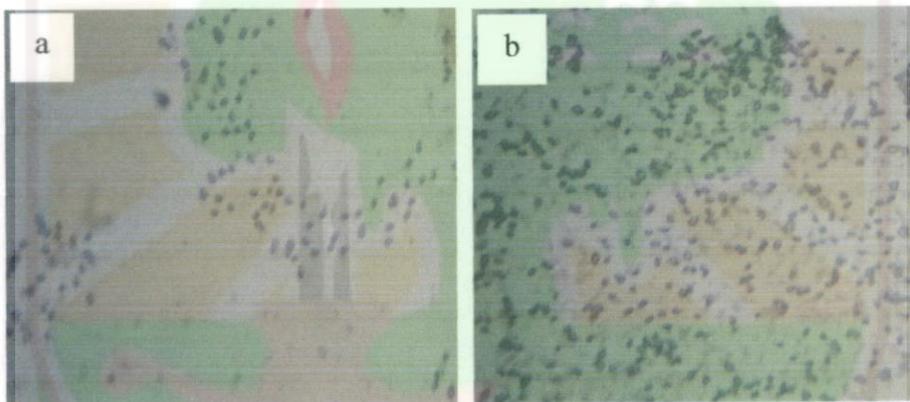
Isolat bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi bakteri endofitik penghasil antibiotik dilakukan pengamatan mikroskopisnya, seperti yang terdapat pada Tabel 5 dan secara morfologi dapat dilihat bentuk sel dan jenis pewarnaannya dibawah mikroskop (Lampiran 6).

Tabel 5. Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri endofitik

No.	Kode Isolat	Pengamatan Mikroskopis	
		Jenis Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1.	TS A-1	Gram Negatif	Coccus
2.	TS A-2	Gram Negatif	Spiral
3.	TS A-4	Gram Positif	Coccus
4.	TS A-5	Gram Negatif	Coccus
5.	TS B-1	Gram Negatif	Coccus
6.	TS B-2	Gram Positif	Coccus
7.	TS B-3	Gram Negatif	Coccus
8.	TS B-4	Gram Positif	Coccus
9.	TS B-5	Gram Positif	Coccus
10.	TS C-1	Gram Negatif	Coccus
11.	TS C-4	Gram Negatif	Coccus
12.	TS D-4	Gram Negatif	Spiral
13.	TS D-5	Gram Positif	Coccus
14.	TS E-5	Gram Negatif	Coccus

Berdasarkan Tabel 5 terlihat bahwa ada 12 isolat bakteri penghasil antibiotik yang selnya menunjukkan berbentuk coccus dan 2 isolat yaitu TS A-2 dan TS D-4 selnya berbentuk spiral. Sedangkan untuk pewarnaan Gram, 5 isolat menunjukkan

bakteri Gram positif (+) dan selnya berbentuk coccus dengan ukuran kecil-kecil dan berwarna keunguan yaitu isolat TS A-4, TS B-2, TS B-4, TS B-5, dan TS D-5. Sedangkan 9 isolat lainnya menunjukkan bakteri Gram negatif (-), yaitu isolat TS A-1, TS A-5, TA B-1, TA B-3, TS C-1, TS C-4, TS E-5 yang selnya berbentuk *coccus* dan isolat TS A-2 dan TS D-4 selnya berbentuk *spiral*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofitik penghasil antibiotik didominasi dengan kelompok bakteri Gram negatif dan selnya berbentuk *coccus*, dapat dilihat pada (Lampiran 6). Pada Gambar 6 terlihat bentuk mikroskopik dari isolat TS A-5 dan TS B-5 yang di uji aktivitas antibiotiknya.



Gambar 6. Mikroskopis isolat penghasil antibiotika

Keterangan :
 a. Bakteri Gram positif pada isolat TS B-5
 b. Bakteri Gram negatif pada isolat TS A-5

Dilihat dari Gambar 6(a) yaitu isolat TS B-5 menunjukkan golongan bakteri Gram positif dengan sel berbentuk coccus yang tampak berwarna keunguan. Bakteri Gram positif yaitu bakteri yang bila diwarnai dengan kristal ungu atau jodium lalu dicuci dengan alkohol akan tetap mempertahankan warna ungu setelah pewarnaan. Hal ini terjadi karena bakteri Gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal (Prasetyo, 2009).

Sedangkan pada isolat TS A-5 (Gambar 6(b)) terlihat selnya yang berbentuk coccus dengan warna kemerahan, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri TS A-5

termasuk kedalam golongan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif yaitu bakteri yang pewarnaannya ditandai dengan warna kemerahan, di mana bakteri tersebut akan kehilangan warna ungunya setelah diberi alkohol dan dicuci dengan aquadest. Hal ini disebabkan karena bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Prasetyo, 2009).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Diperolehnya 14 isolat bakteri endofitik dari tumbuhan Surian yang menghasilkan antibiotika, dimana 6 isolat bakteri memiliki zona bening terhadap *E. coli*, 14 isolat bakteri terhadap *S. aureus* dan 6 isolat bakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Isolat bakteri TS A-5 menghasilkan antibiotika tertinggi pada 42 jam inkubasi dengan besar diameter zona bening 13 mm dan isolat bakteri TS B-5 menghasilkan antibiotika tertinggi pada 48 jam inkubasi dengan besar diameter zona bening 16 mm.

5.2 Saran

Diharapkan agar penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mengidentifikasi isolat yang didapatkan dan menentukan senyawa antibiotika yang dihasilkan, agar dapat dikembangkan sebagai bahan dasar obat antimikroba baru melalui penelitian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2000. *Penapisan Jamur Endofitik Penghasil Antibiotika dari Hutan Pendidikan dan Biologi Universitas Andalas*. Jurusan Biologi FMIPA Unand. Padang.
- Augustine, S.K., S.P. Bhavsar dan B.P. Kapadnis. 2004. *Productions of A Growth Dependent Metabolite Active Againsts Dermatophytes By Streptomyces AK 39*. India. Departemen of Mikrobiologi. University of Pune. Pune.
- Alamsjah, F. 2004. *Potensi Mikroba Endofitik dari Tanaman Pisang Liar (Musa spp.) di Sumatra Barat sebagai Agen Hayati untuk Pengendalian Penyakit layu Fusarium*. Fakultas MIPA Universitas Andalas. Padang.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to soil Microbiology, 2nd*. John Wiley & Sons. New York.
- Atlas, R.M. 1993. *Handbook of Microbiological Media*. CRS Press. Florida.
- _____. 1998. *Principles of Microbiology. 2nd edition*. Mc.Grawhill Inc. pp 108-109.
- Budiwati, T.A., L.Z. Udin, A.T. Karossi. 1990. Penggunaan fodder Yeast dalam media tetes pada pembuatan antibiotika oleh *Streptomyces rimosus* ATCC 33022. *Bakteri Limbah Pangan*. 5 (1) : 437-446.
- Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet, and M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. UI Press. Jakarta.
- Djamaan, A. 2010. *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya dalam berbagai Bidang*. Andalas University Press. Padang.
- Djam'an, D.F. 2001. *Mengenal Kayu Andalan Jawa Barat : Suren (Toona sureni (Bl.) Merr.)*. [http://www.dephut.go.id/INFORMASI/MKI/06 II Kayu Andalan htm](http://www.dephut.go.id/INFORMASI/MKI/06%20II%20Kayu%20Andalan.htm). Diakses 22 September 2010.
- _____. 2002. *Informasi Singkat Benih Toona sureni (Blume) Merr*. Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Perbenihan, Bogor. Peter Ochsner, IFSP. No. 24.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.

- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta.
- Hasim. 2003. Menanam Rumput, Memanen Antibiotik. Jakarta. *Kompas*. No.127. Tahun ke-39.
- Haniah, M. 2008. *Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (Piper betle L.) sebagai Antimikroba terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. Skripsi Sarjana Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- Ian, P and D. Tribe. 1990. *Fermentation Technology*. Asean-Australia Biotechnology Project. Bangkok. Thailand.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi : Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Yrama Widya. Bandung.
- Jawetz. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 20*. EGC. Jakarta.
- Jawetz, E., J.L. Melnick dan E.A. Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- _____. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Jayusman. 2006. Teknik Penyiapan Bibit Surian. *Infotek*. 4 (1) : 35-43.
- Kumala, S., H.J. Dwi, W. Priyo. 2008. Isolasi Mikroba Endofit Ranting Tumbuhan Trengguli (*Cassia fistula* L.) dan Aktivitas Enzim Xilanase. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 6 (4) : 1412-2855.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko and J. Parker. 2000. *Biology of Microorganism, 9th ed*. Prentice Hall Inc. New Jersey. 432-438.
- Mabberley, D.J., C.M. Pannell and A.M. Sing. 1995. *Flora Malesiana, Series 1-Spermatophyta, Flowering Plants*. Rijksherbarium/Hortus Botanicus. Leiden University. 12 (1) (Meliaceae) : 362.
- Melliawati, R., N.W. Dian, C.D. Apridah, S. Harmastini. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif Untuk Proteksi Tanaman. *Jurnal Biodiversitas*. 7 (3) : 221-224.
- Owen, N.L and N. Hundley. 2004. *Endophytes – The Chemical Synthesizers Inside Plants*. <http://www.scilet.com/papers/scipro/sc872.pdf>. Diakses 19 Desember 2010.

- Panagan, A.T dan S. Nirwan. 2009. Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristania Abavata*) terhadap Bakteri *Echerichia Coli*. *Jurnal Penelitian Sains*. 9 (6) : 12.
- Prasetyo, T.U.W. 2009. *Pola Resistensi Bakteri dalam Darah terhadap Kloramfenikol, Trimethoprim/Sulfametoksazol dan Tetrasiklin di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (LKM FKUI)*. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 (3) : 113–126.
- Radu, S and C.Y. Kqueen. 2002. Preliminary Screening of Endophytic Fungi from Medicinal Plants in Malaysia for Antimicrobial and Antitumor Activity. *Malaysian Journal of Medical Science*. 9 (1) : 23-33.
- Rahmawati, N. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Daun dan Kulit Batang Surian (Toona sureni Bl. Merr.) terhadap Bakteri Penyebab Diare*. Skripsi Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang.
- Rahayu, T. 2006. Potensi antibiotik isolat bakteri Rizosfer terhadap bakteri *Escherichia coli* Multiresisten. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 7 (2) : 81-91.
- Rahayu dan Rahayu. 2006. *Potensi Cairan Kopi Hasil Fermentasi sebagai Obat Alternatif*. Laporan Penelitian. LPPM. UMS.
- Rahayu, R., Mairawita dan E.P. Satni. 2008. Sosialisasi dan Aplikasi Penggunaan Beberapa Tanaman Pengusir Nyamuk Kepada Masyarakat Kota Padang Di Daerah yang Rentan Terkena Penyakit Demam Berdarah. *Warta Pengabdian Andala*. XIV (20) : 72-82.
- Ristrianto, D. 2010. *Isolasi Rare Actinomycetes dari Pasir Pantai Depok Yogyakarta yang berpotensi menghasilkan Antibiotik terhadap Escherichia coli Multiresisten*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Rollins, D.M., & S.W. Joseph. 2000. *Actinomycetes Summary*. University of Maryland. <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/PathogenDescription/Actinomycetes.html>. Diakses 19 April 2011.
- Schlegel, H.G dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi Keenam*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

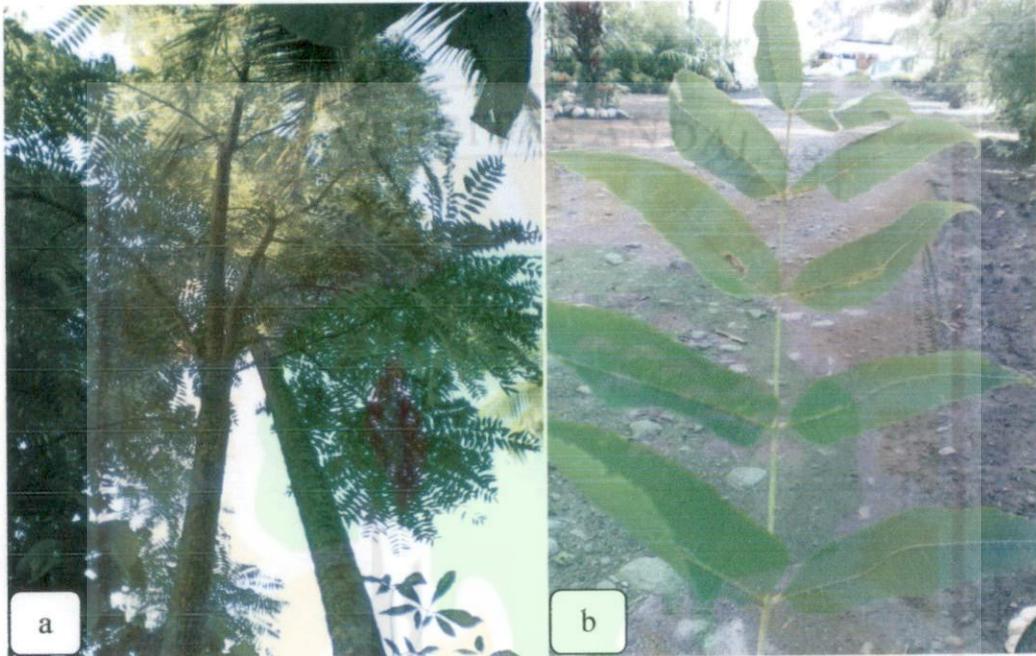
- Simarmata, R., L. Sylvia dan S. Harmastini. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik Dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Bogor. Berk. Penel. Hayati*. 13 (1) : 85-90.
- Simanjuntak, P., K.P. Titik, Bustanussalam, O. Kazuyoshi, S. Hirotaka. 2001. *Biochemical character of endophyte microbes isolated from Cinchona Plants*. Biotechnology for sustainable utilization Biological Resources in the Topics. Vol. 15.
- Sukiman, H., L. Sylvia, dan W. Tiwit. 2009. Mikroba Endofitik dari Taman Nasional Batang Gadis Sumatera Utara : Potensinya dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba terhadap Mikroba Patogen. *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Bogor*. 9 (6) : 801–807.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta.
- Suwandi, U. 1993. Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotika. *Cermin Dunia Kedokteran*. 89 (48) : 46-48.
- Tjay, T.H dan K. Raharja. 2002. *Obat-obat Penting. Edisi Kelima*. PT Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Todar, K. 2008. *Pathogenic E.coli : Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Dept of Bacteriology Kenneth Todar University. Wisconsin Maddison. <http://www.textbookofbacteriology.net/ecoli.html>. Diakses 25 Agustus 2010.
- . 2005. *Staphylococcus : Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Dept of Bacteriology Kenneth Todar University. Wisconsin Maddison. <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>. Diakses 25 Agustus 2010.
- Udin, L.Z., T.A. Budiwati dan A.T. Karossi. 1991. Pemanfaatan sukrosa sebagai sumber karbon *Streptomyces rimosus* pada produksi oksitetrasiklina. *Jurnal Teknologi Indonesia*. 14 (2).
- Utami, U., Soemarno, Y. Sumarno, Risjani. 2008. Aktivitas antibakteri endofit tanaman Mangrove terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Perikanan*. 11 (1) : 42-48.
- Volk, W.A. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.
- Wattimena, J.R., N.C. Sugiarto, M.B. Widiyanto, E.Y. Sukandar, A.A. Soemardji dan A.R. Setiadi. 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam-ITB. Gajah Mada University Press.

- Wahyudi. 1997. *Teknik skrining mikroba endofit penghasil antibiotik*. Subdirektorat Bioteknologi. BPPT. Jakarta.
- Yuharmen, E., Yum, Nurbalatif. 2002. *Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*)*. Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Riau. Hal 1-8.
- Yuhernita dan Juniarti. 2009. Skrining Awal Bioaktivitas Daun Surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.) dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan Perendaman 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 6 (2) : 33-36.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tumbuhan Surian



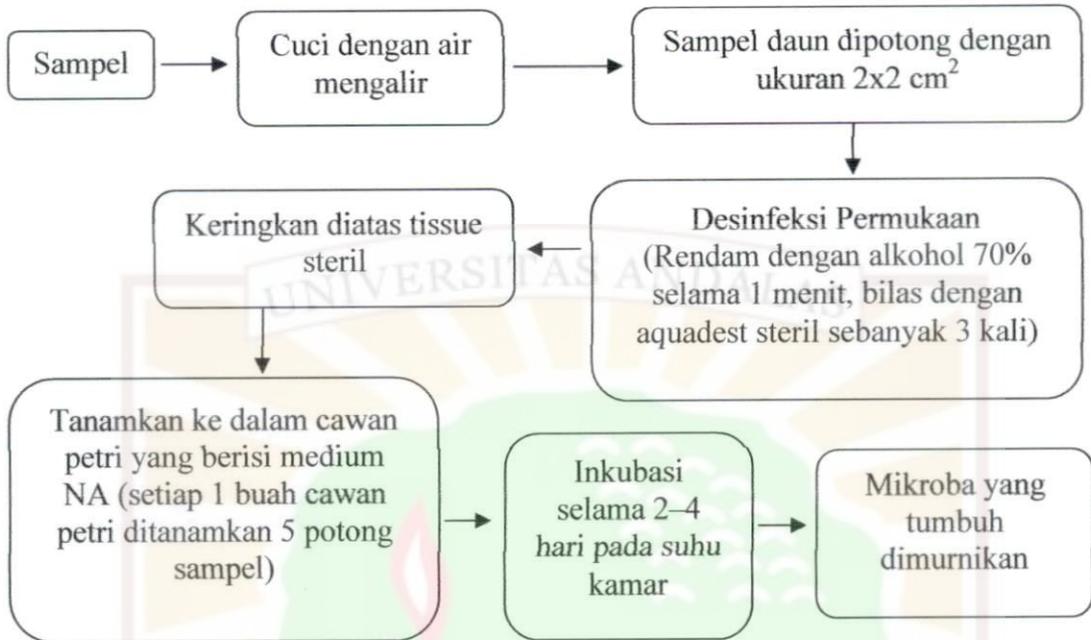
Keterangan : a. Bentuk Pohon ; b. Bagian Daun yang digunakan

Lampiran 2. Skema Kerja

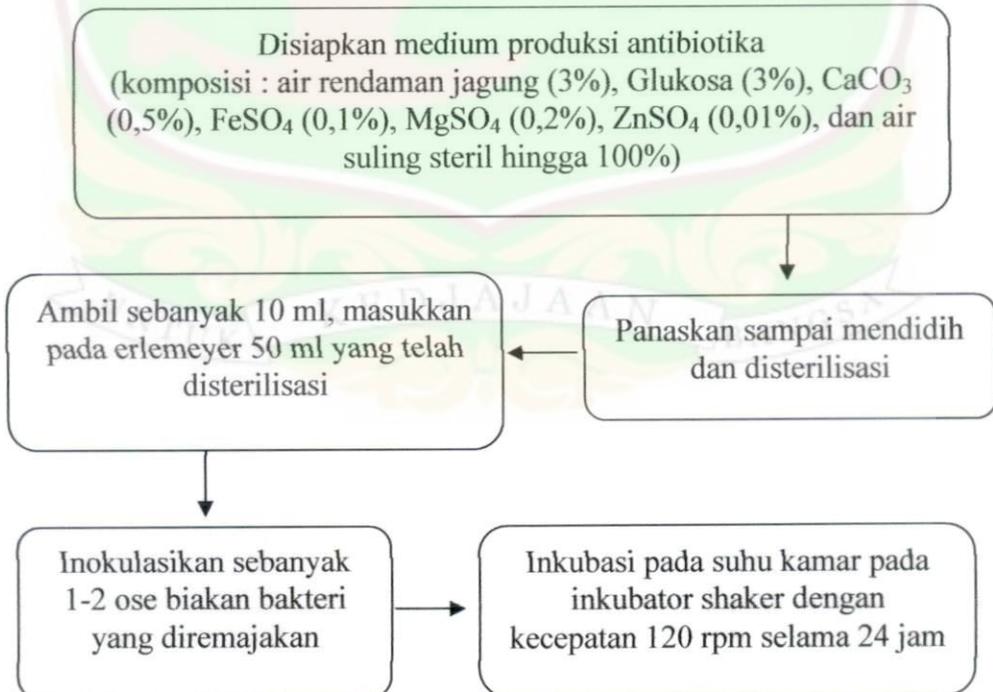
a. Sterilisasi Alat dan Bahan



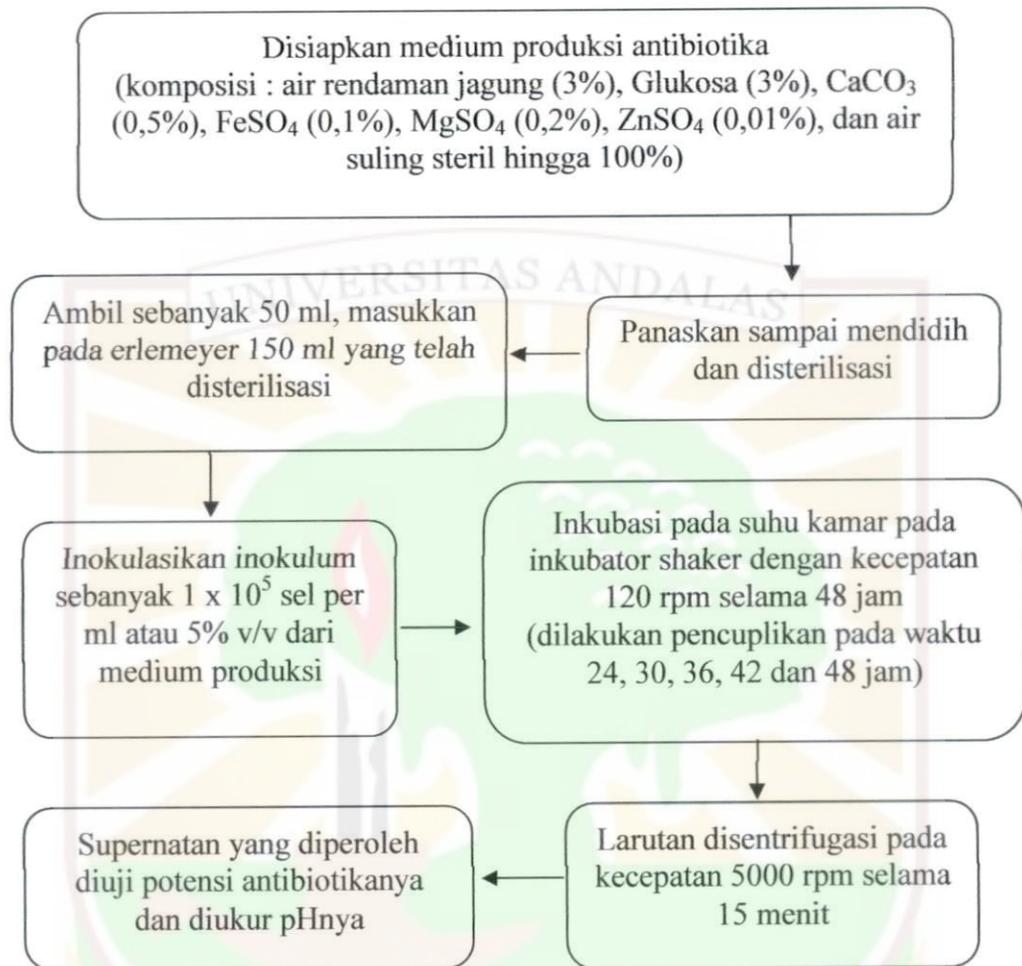
b. Isolasi Bakteri Endofitik



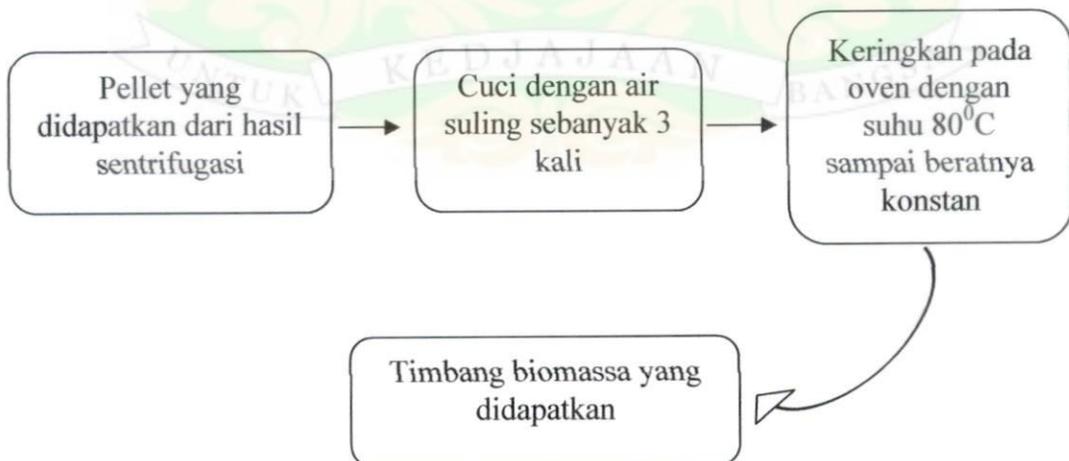
c. Pembuatan Inokulum Produksi Antibiotika



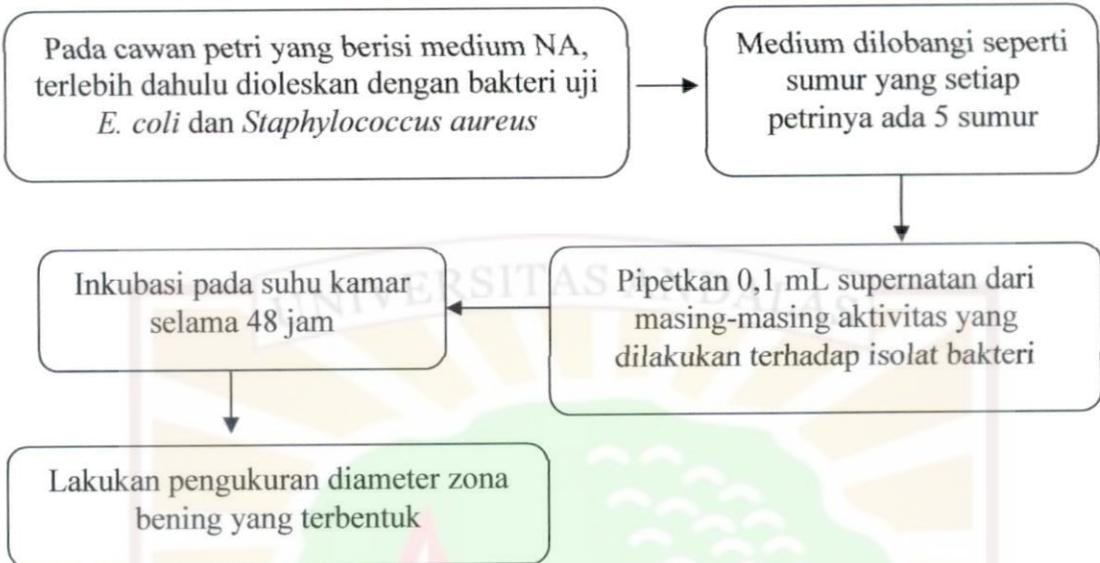
d. Aktivitas Antibiotika



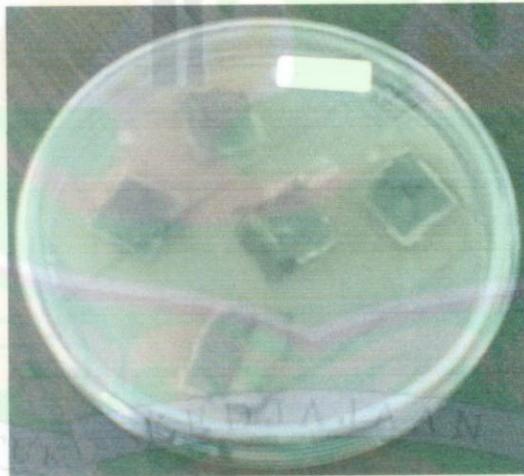
e. Penghasilan Biomassa Bakteri



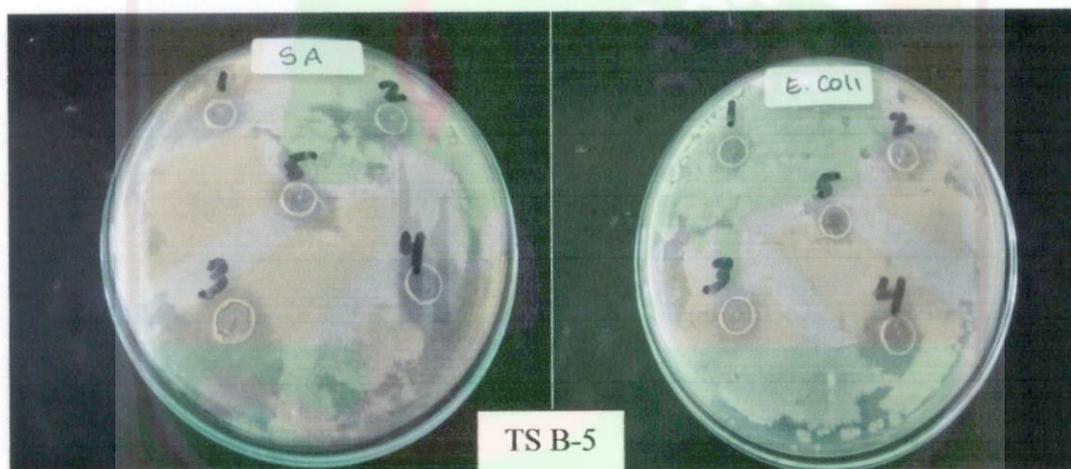
f. Uji Antibiotika



Lampiran 3. Isolasi bakteri endofitik pada tumbuhan surian



Lampiran 4. Uji aktivitas isolat bakteri penghasil antibiotika



Keterangan :

1. Fermentasi selama 24 jam
2. Fermentasi selama 30 jam
3. Fermentasi selama 36 jam
4. Fermentasi selama 42 jam
5. Fermentasi selama 48 jam

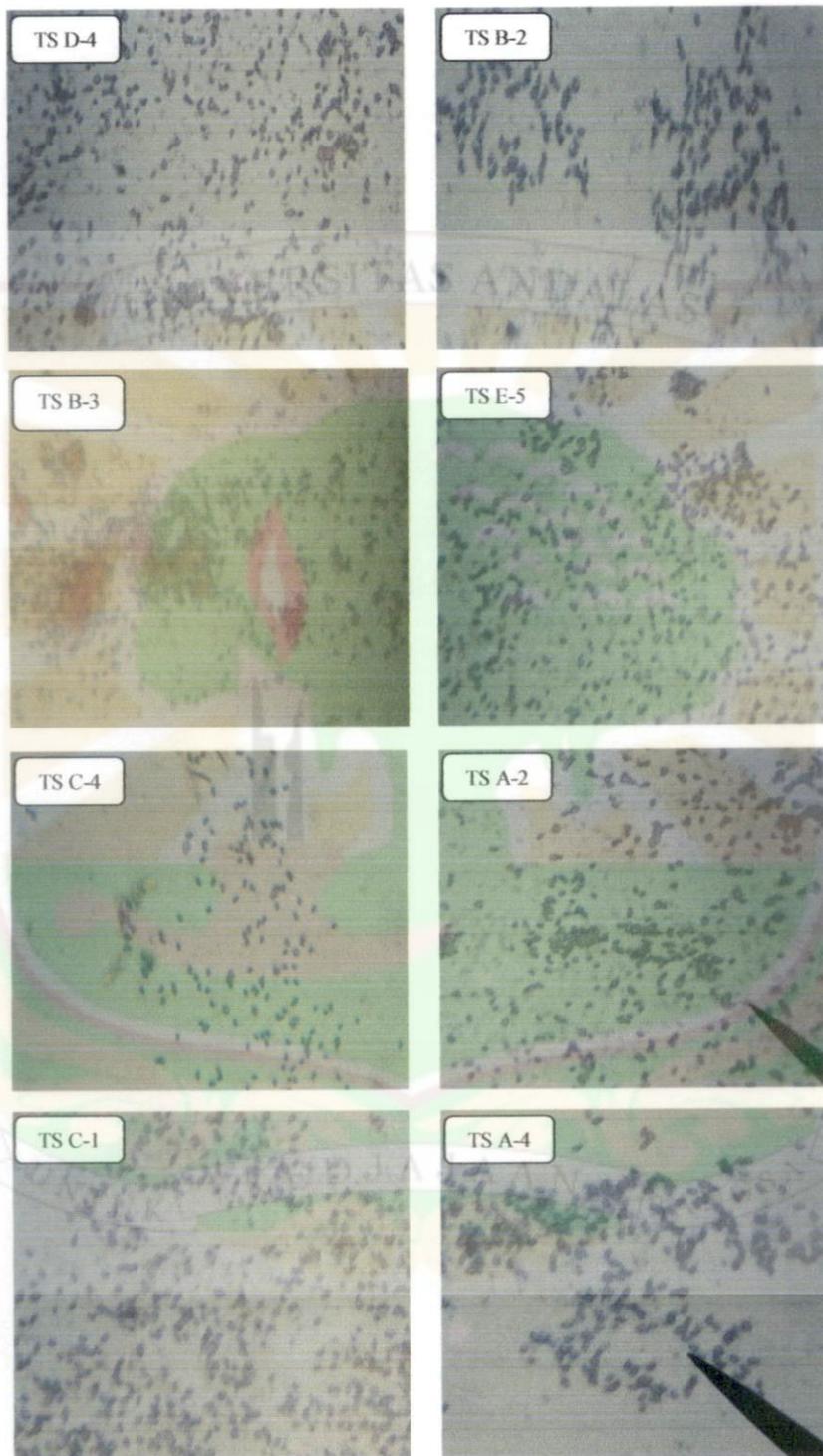
Lampiran 5. Pengamatan Makroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika dalam Biakan Miring

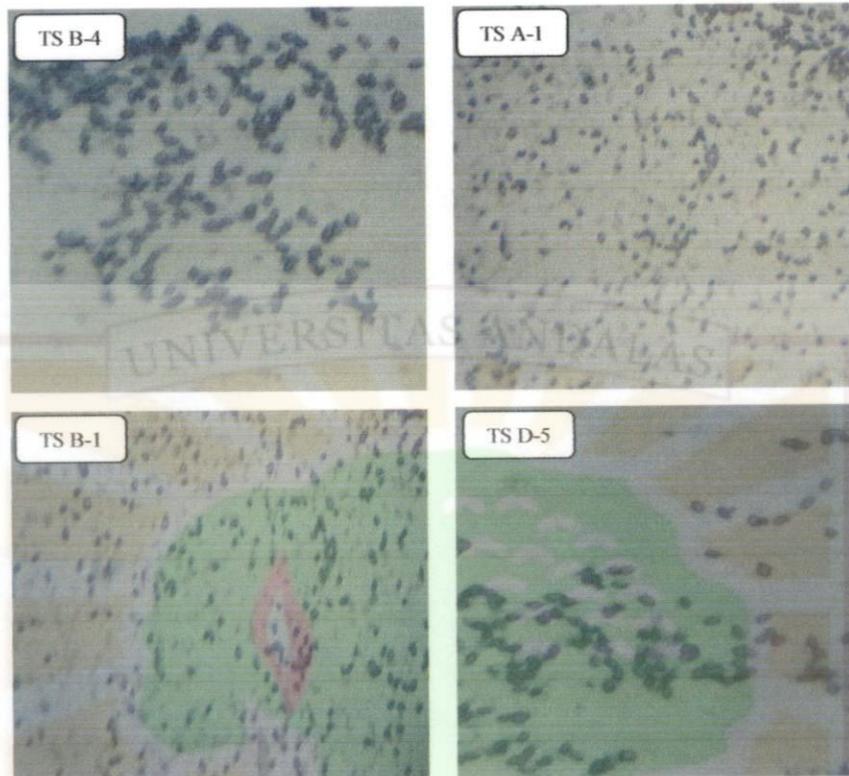


Keterangan :

- a. TS B-3 ; b. TS A-5 ; c. TS D-5 ; d. TS A-2 ; e. TS C-1 ; f. TS E-5 ; g. TS C-4 ;
 h. TS B-5 ; i. TS A-1 ; j. TS B-2 ; k. TS B-4 ; l. TS B-1 ; m. TS A-4 ; n. TS D-4

Lampiran 6. Pengamatan Mikroskopis isolat bakteri penghasil antibiotika





Lampiran 7. Data pengukuran diameter zona bening dari uji aktivitas isolat penghasil antibiotika

No	Aktivitas antibiotika (jam)	Uji terhadap <i>E. coli</i>		Uji terhadap <i>S. aureus</i>	
		Diameter zona bening isolat TS A-5 (mm)	Diameter zona bening isolat TS B-5 (mm)	Diameter zona bening isolat TS A-5 (mm)	Diameter zona bening isolat TS B-5 (mm)
1.	24	11	9	12	12
2.	30	10	11	11	13
3.	36	12	11	12	14
4.	42	10	14	13	14
5.	48	10	10	11	16

Lampiran 8. Data pengukuran nilai pH dari uji aktivitas isolat penghasil antibiotika

No	Aktivitas antibiotika (jam)	Nilai pH	
		Isolat TS A-5	Isolat TS B-5
1.	24	6,642	7,120
2.	30	6,766	7,165
3.	36	6,569	7,235
4.	42	6,970	7,487
5.	48	6,548	8,113

Lampiran 9. Data pengukuran biomassa dari uji aktivitas isolat penghasil antibiotika

No	Aktivitas antibiotika (jam)	Biomassa (g)	
		Isolat TS A-5	Isolat TS B-5
1.	24	0,053	0,055
2.	30	0,054	0,058
3.	36	0,065	0,068
4.	42	0,078	0,071
5.	48	0,080	0,073

Lampiran 10. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan ke-			
		1	2	3	4
1.	Persiapan Penelitian				
2.	Sterilisasi Alat				
3.	Pembuatan Medium				
4.	Pengambilan dan Pengolahan Sampel				
5.	Penanaman				
6.	Isolasi Bakteri Endofit				
7.	Peremajaan Bakteri				
8.	Pembuatan Inokulum				
9.	Uji antibiotika				
10.	Uji Aktivitas isolat penghasil Antibiotika				
11.	Analisa Data				
12.	Penulisan Skripsi/ Makalah Hasil				
13.	Persiapan Seminar Hasil				
14.	Ujian/Sidang Sarjana				



BIODATA



Nama lengkap : Desma Yuni
 Tempat dan tanggal lahir : Medan, 12 Desember 1988
 Jenis Kelamin : Perempuan
 Agama : Islam
 Pendidikan : S1 Biologi Universitas Andalas
 IPK : 3,21
 Lama Studi : 3 Tahun 11 Bulan
 Gol. Darah : O
 Alamat : Simp. 4 Sungai Sirah Pilubang Korong Pinjauan,
 Kec. Sungai Limau, Kab. Padang Pariaman
 Motto Hidup : *"Berani dan percaya diri, kesuksesan menanti"*
 Nama Orang Tua
 Ayah : Syahril
 Ibu : Jusnani (Alm)
 E-mail : Idescideluphzbua@gmail.com
 No. Hp : 085274143470
 Latar Belakang Pendidikan : SD N 12 Pinjauan (1995-2001)
 SLTP N 3 Sungai Limau (2001-2004)
 SMA N 2 Sungai Limau (2004-2007)
 S1 Biologi Universitas Andalas (2007-2011)