



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.

KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFITIK PENGHASIL SENYAWA ANTIBIOTIKA PADA DAUN TANAMAN SURIAN (*Toona sureni* (Blume.) Merr)

SKRIPSI

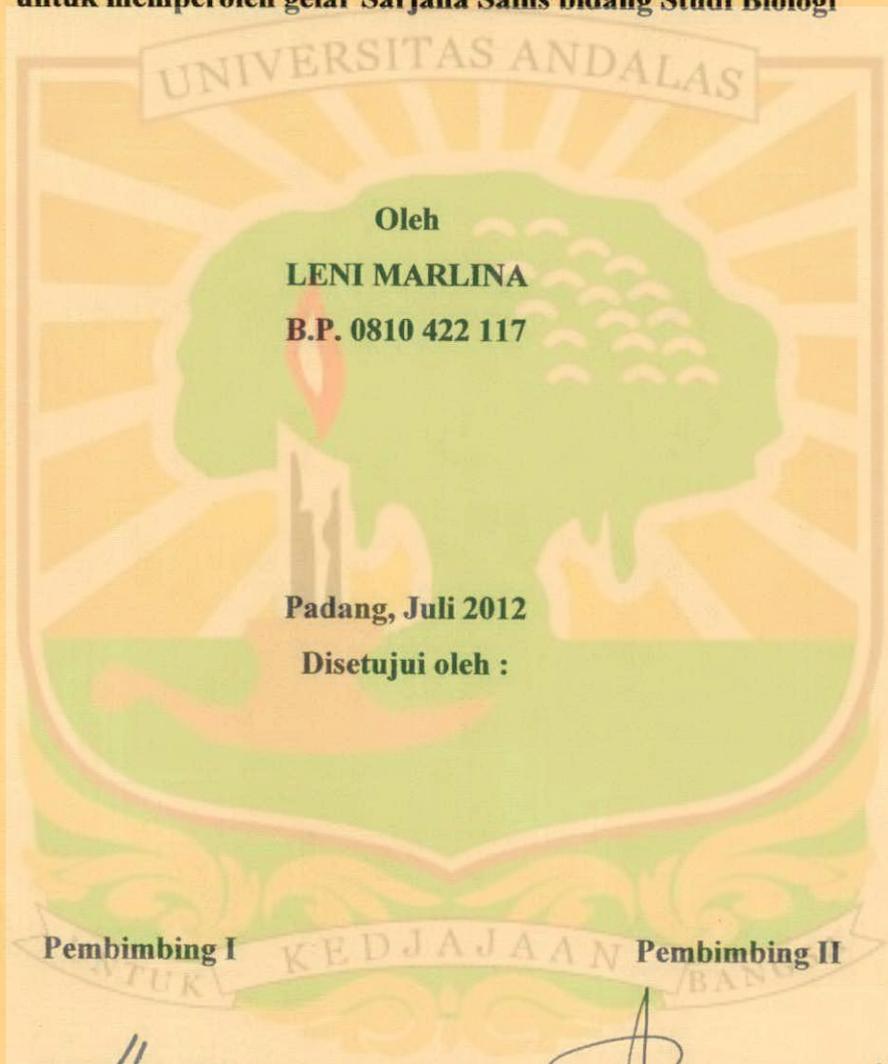


LENI MARLINA
0810422117

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2012

**KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFITIK PENGHASIL SENYAWA
ANTIBIOTIKA PADA DAUN TANAMAN SURIAN (*Toona sureni* (Blume.) Merr.)**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang Studi Biologi**



Oleh

LENI MARLINA

B.P. 0810 422 117

Padang, Juli 2012

Disetujui oleh :

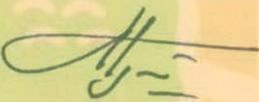
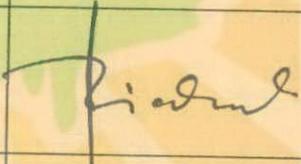
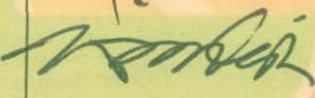
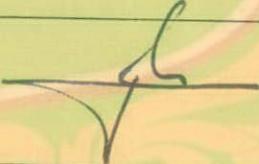
Pembimbing I

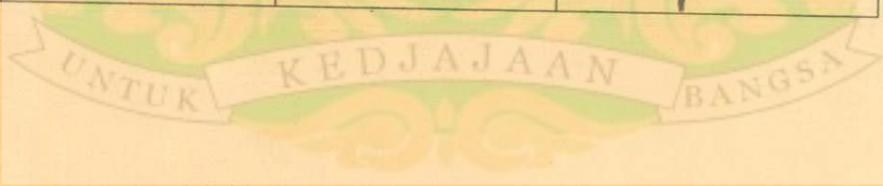
Pembimbing II

Dr. Anthoni Agustien
NIP. 196208121988111001

Dr. Phil. nat. Periadnadi
NIP. 195907251986031017

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi, Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang
pada hari Kamis tanggal 19 Juli 2012

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. phil.nat. Nurmiati	Ketua	
2.	Dr. Anthoni Agustien	Sekretaris	
3.	Dr. phil.nat. Periadnadi	Anggota	
4.	Dr. Nasril Nasir	Anggota	
5.	Dr. Tesri Maideliza	Anggota	



ABSTRAK

Penelitian tentang Karakterisasi Bakteri Endofitik Penghasil Senyawa Antibiotika Pada Daun Tanaman Surian (*Toona sureni* (Blume.) Merr.) telah dilaksanakan dari bulan Maret sampai Mei 2012. Penelitian ini menggunakan metoda eksperimental dengan tahapan isolasi dan karakterisasi. Hasil penelitian diperoleh 10 isolat bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika dengan dua isolat yang membentuk diameter daerah halo tertinggi terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yakni LSA 1.5 (11.94 mm; 9.96 mm) dan LSA 2.2 (10.53 mm; 11.99 mm). Karakterisasi dilakukan pada isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 dan didapatkan hasil Isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 memiliki karakter morfologi koloni circular, elevasi flat, sel berbentuk basil, non motil, optimal pada suhu 30° C, pH 7, kadar toleransi NaCl 3%, bersifat proteolitik, amilolitik, selulolitik, katalase positif dan uji TSIA positif dan terdapat perbedaan morfologi yakni margins LSA 1.5 bermargin entire dan permukaan koloni kasar sedangkan LSA 2.2 bermargin lobate dengan permukaan koloni halus mengkilat.



ABSTRACT

Research on on the Characterization of Endophytic Bacterials Producing Antibiotic Compounds from Leaves of Surian (*Toona sureni* (Blume.) Merr.) Was held from March to May 2012. This research uses experimental methods to the stages of isolation and characterization. The results obtained 10 isolates of bacteria producing endophytic with two isolates of antibiotic compounds that form the halo diameter high against the test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* LSA 1.5 (11.94 mm; 9.96 mm) and the LSA 2.2 (10.53 mm; 11.99 mm). Characterization performed on isolates LSA 1.5 and LSA 2.2 and obtained the isolates LSA 1.5 and LSA 2.2 has the character of morphological colony circular, elevation flat, cell-shaped bacill, non-motile, optimal at 30° C, pH 7, the salinity of NaCl 3%, is proteolytic, amilolytic, cellulolytic, catalase positive and the TSIA test positive and there are differences in the morphology of the LSA 1.5 margin entire margins and a rough colony surface while the LSA 2.2 margin lobate colonies with smooth shiny surface.



KATA PENGANTAR

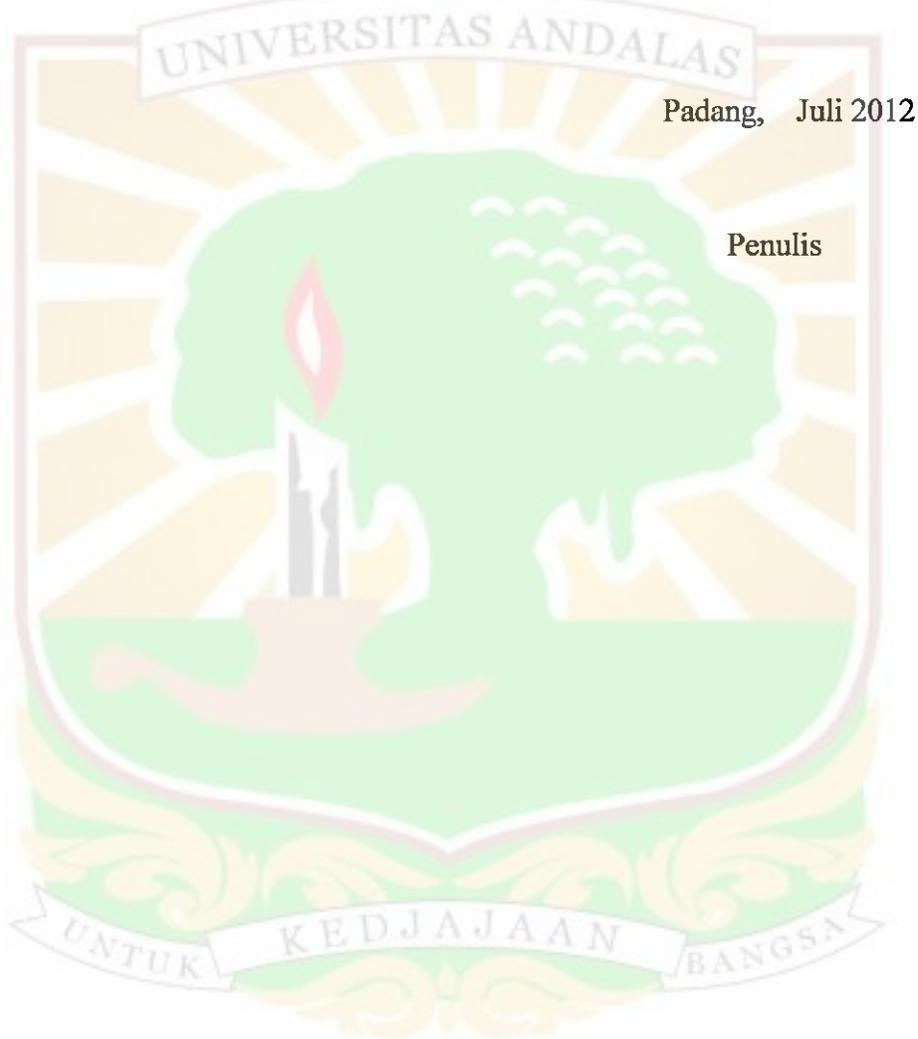
Segala puji dan syukur Kehadirat Allah SWT, atas izinNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Bakteri Endofitik Penghasil Senyawa Antibiotika pada Daun Tanaman Surian (*Toona sureni* (Blume.) (Merr.)”. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Riset Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Anthoni Agustien, MS dan Dr.phil.nat. Periadnadi yang telah meluangkan waktu dan memberikan petunjuk serta bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini juga penulis tujukan kepada :

1. Bapak Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Bapak Kepala Laboratorium beserta analis Laboratorium Riset Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian penulis.
3. Bapak Dr. Efrizal selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

5. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini.

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.



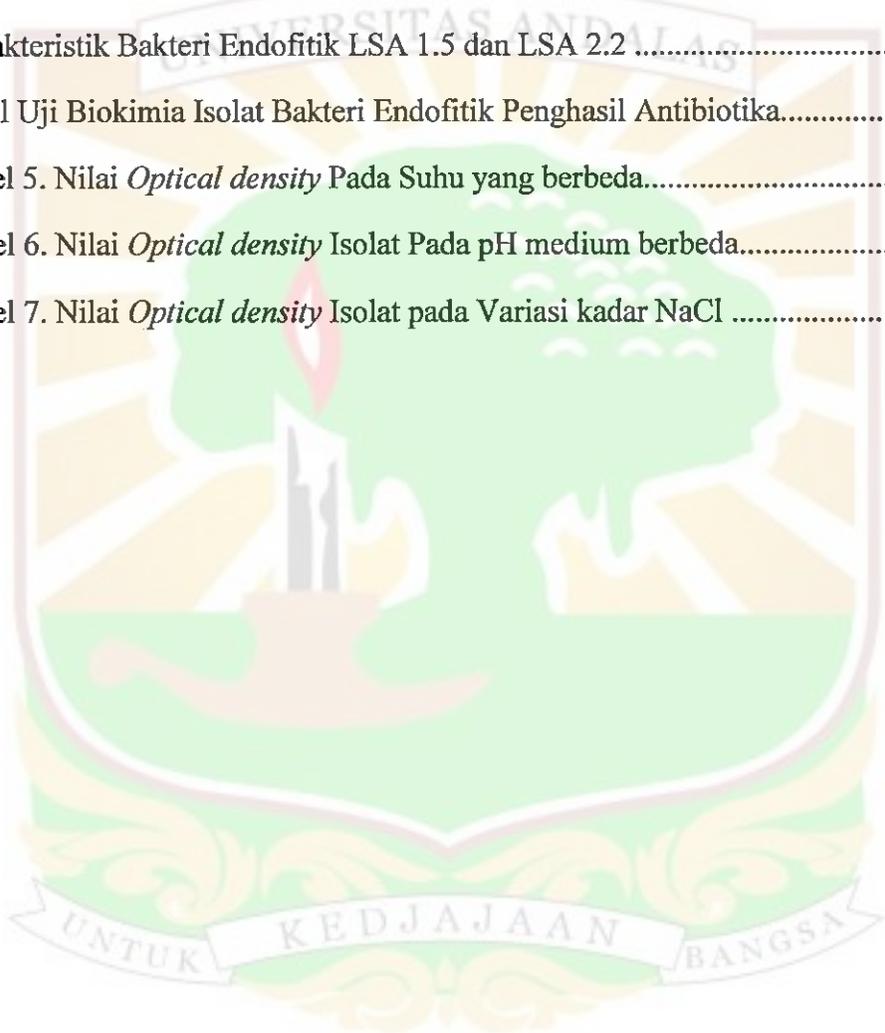
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Surian (<i>Toona sureni</i> (Blume.) Merr.)	4
2.2 Mikroba Endofitik	5
2.3 Antibiotika	6
2.4 Karakteristik Bakteri	7
2.5 Bakteri Uji	10

III. PELAKSANAAN PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Metode Penelitian.....	13
3.3 Alat dan Bahan	13
3.4 Prosedur Kerja	14
3.5 Analisis Data.....	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Isolat Bakteri Endofitik Penghasil Senyawa Antibiotika	22
4.2 Karakteristik Isolat Bakteri Endofitik LSA1.5 dan LSA 2.2.....	27
4.2.1 Makroskopis dan Mikrokopis.....	28
4.2.2 Faktor Abiotik Isolat Bakteri.....	31
4.2.3 Uji Biokimia dan Uji TSIA (<i>Triple sugar iron agar</i>).....	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan.....	
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Diameter Daerah halo yang terbentuk oleh Isolat Bakteri Endofitik.....	21
2. Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofitik pada daun Surian.....	26
3. Karakteristik Bakteri Endofitik LSA 1.5 dan LSA 2.2	26
4. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Endofitik Penghasil Antibiotika.....	32
5. Tabel 5. Nilai <i>Optical density</i> Pada Suhu yang berbeda.....	50
6. Tabel 6. Nilai <i>Optical density</i> Isolat Pada pH medium berbeda.....	50
7. Tabel 7. Nilai <i>Optical density</i> Isolat pada Variasi kadar NaCl	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon surian (<i>Toona sureni</i> (Blume.) Merr.)	5
2. Daerah halo yang terbentuk pada bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC dan <i>Escherichia coli</i> ATC.....	24
3. Morfologi Isolat bakteri endofitik LSA 1.5	27
4. Morfologi Isolat bakteri endofitik LSA 2.2	28
5. Uji Motilitas sel bakteri endofitik	29
6. Bentuk sel isolat bakteri endofitik.....	30
7. Histogram pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada suhu yang berbeda	31
8. Histogram pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada pH yang berbeda.....	32
9. Histogram pertumbuhan isolat bakteri endofitik 10. pada variasi kadar NaCl.....	34
11. Zona bening Isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 pada media pati agar.....	36
12. Zona bening isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 pada media skim Agar.....	37
13. Zona bening isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 Pada Media CMC Agar	38
14. Isolat Bakteri Endofitik pada Media Rhodamin B agar	39
15. Pembentukan gelembung udara Isolat setelah ditetesi	40
16. Isolat bakteri endofitik pada media TSIA (Triple sugar iron agar).....	40

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan flora dan fauna yang melimpah dengan eksplorasi yang masih sangat kurang dan belum berkembang. Slogan yang selalu dibunyikan dan sering didengar yakni “back to nature” atau gerakan kembali ke alam seakan-akan membuat banyak kalangan memanfaatkan sumber daya alam, sebagai contoh penggunaan tanaman herbal atau obat yang berasal dari tumbuhan yang diyakini mampu menyembuhkan suatu penyakit. Hal ini menunjukkan bahwa adanya kemampuan suatu tumbuhan atau tanaman baik dari batang, daun, akar yang menghasilkan zat antimikroba yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme penyebab penyakit, namun penyediaannya masih dengan cara tradisional dan hanya untuk skala kecil sehingga banyak masyarakat lain yang tidak mengetahui tentang potensi tanaman-tanaman tertentu yang sebenarnya dapat digunakan sebagai obat (Katno dan Pramono, 2010).

Salah satu contoh tanaman yang banyak dimanfaatkan masyarakat secara tradisional sebagai obat adalah tanaman surian (*Toona sureni* (Blume.) Merr.) yang dikenal sebagai surian, suren dan surian amba. Beberapa bagian pohon, terutama kulit sering digunakan untuk ramuan obat diare, disentri dan demam. Kulit dan buahnya mengandung minyak atsiri (Juniarti, 2011). Daun surian ekstrak daun dipakai sebagai antimikroba dan bio-insektisida. Hal ini telah banyak dilaporkan oleh para peneliti untuk lebih meyakinkan masyarakat (Djam'an, 2006).

Antibiotika merupakan hasil metabolit sekunder dari mikroorganisme dan substansi serta produk metabolik yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup dalam konsentrasi rendah dapat menghambat atau membunuh organisme lain, bernilai

tinggi terutama di bidang kesehatan karena berguna dalam mengobati berbagai penyakit infeksi (Pelczar dan Chan, 1988; Ambarwati, 2007).

Antibiotika banyak berasal dari mikroorganisme diantaranya adalah mikroba. Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu, hidup bersimbiosis dan mampu hidup membentuk koloni dalam inangnya yang menghasilkan metabolit sekunder sama dengan inangnya dan sekitar satu juta mikroba endofitik yang belum tereksplorasi kegunaannya termasuk bakteri (Utami *et al.*, 2008; Goveas *et al.*, 2011).

Saat ini penelitian tentang antibiotika yang berasal dari bakteri endofitik belum banyak dilakukan salah satunya terhadap mikroba endofitik pada daun surian. Yuni (2011) melakukan penapisan potensi bakteri endofitik dari tumbuhan surian mampu menghasilkan antibiotika. Oleh karena itu, perlu dilakukannya isolasi dan karakterisasi bakteri endofitik yang menghasilkan antibiotika pada surian yang berasal dari Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Danalas. Mano dan Morisaki (2008) menyatakan bahwa perbedaan lingkungan akan mempengaruhi keberadaan bakteri endofitik karena bakteri ini berasal dari lingkungan sekitar.

Isolasi dilanjutkan dengan karakterisasi isolat bakteri secara umum yang digunakan sebagai suatu batasan atau pembandingan bahkan sebagai acuan untuk mengenal bakteri endofitik. Madigan, Martinko, dan Parker (2000) karakterisasi mikroorganisme sangat penting dimana kegunaannya adalah untuk identifikasi, data dan informasi yang diperoleh digunakan sebagai acuan untuk menentukan jenis bakteri yang dalam hal ini berpotensi menghasilkan zat antibiotika. Jika semakin banyak penemuan antibiotika baru dilakukan, maka permasalahan resistensi bakteri di Indonesia akan dapat diatasi.

1.2 Rumusan Masalah

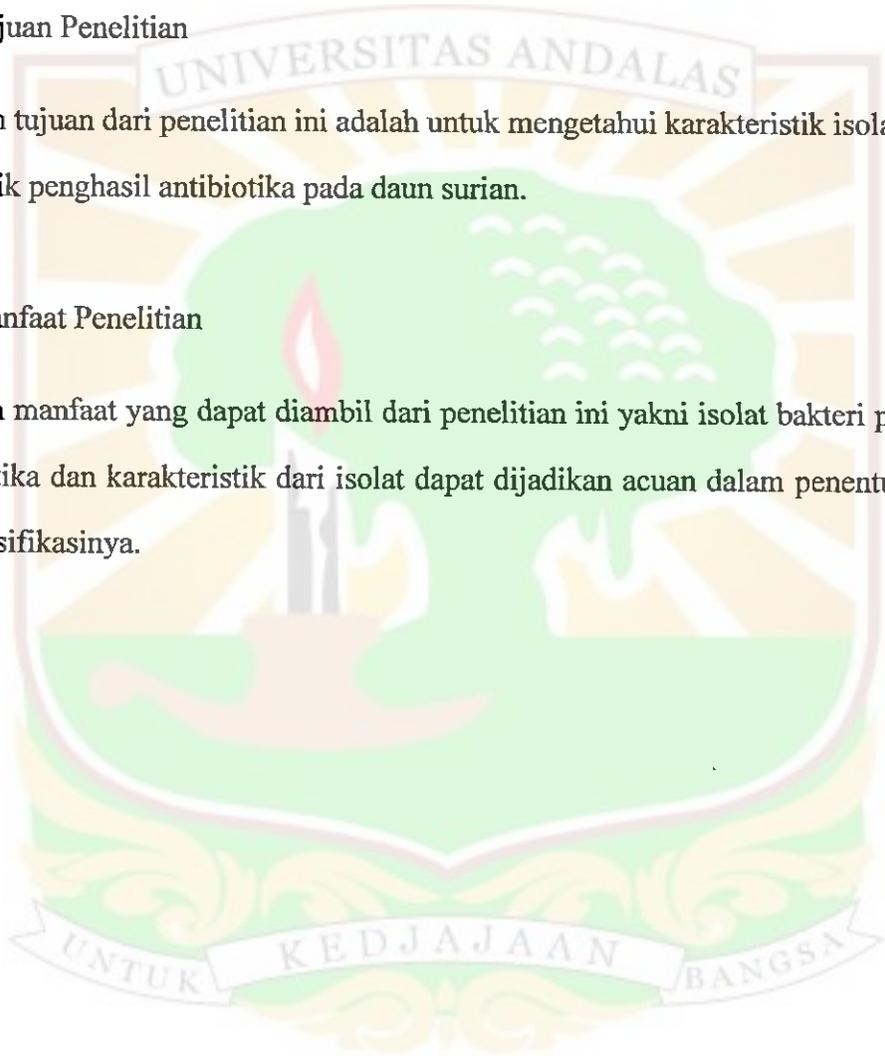
Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah Bagaimana karakteristik dari isolat bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika yang didapat ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik isolat bakteri endofitik penghasil antibiotika pada daun surian.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini yakni isolat bakteri penghasil antibiotika dan karakteristik dari isolat dapat dijadikan acuan dalam penentuan jenis dan klasifikasinya.



II. TINJAUAN PUSTAKA

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

Surian atau suren merupakan nama lokal untuk (*Toona sureni* (Blume.) Merr.). Jenis ini banyak menyebar di daerah Nepal, India, Bhutan, Myanmar, Indo-China, Cina Selatan, Thailand dan sepanjang Malaysia hingga barat Papua Nugini. Di Indonesia, menyebar di Sumatra, Jawa, dan Sulawesi dengan rata-rata suhu tahunan 22°C. Tanaman ini sering dijumpai di hutan-hutan primer maupun sekunder dan banyak tumbuh di hutan pedesaan, sering ditemukan di sepanjang sungai di daerah bukit dan lereng-lereng, pada ketinggian 1.200 – 2.700 m dpl. Jenis ini memerlukan tanah yang subur (Departemen Perbenihan Tanaman Hutan, 2002; Suhono dan Tim LIPI, 2010).

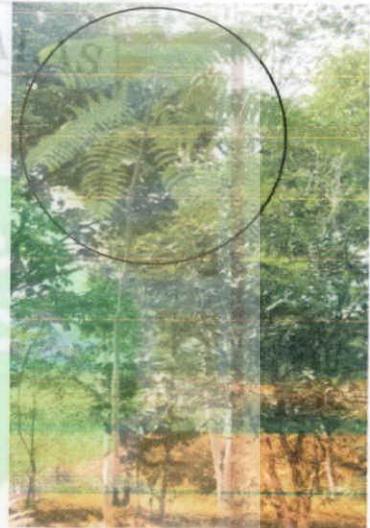
Pohon surian berukuran sedang sampai besar, dapat mencapai tinggi 35-40 m, diameter dapat mencapai 100 cm bahkan di pegunungan dapat mencapai hingga 300 cm. Kulit kayu bagian luar tanaman surian ini kasar dan berwarna abu-abu dan kulit kayu bagian dalam berwarna merah atau orange. Daunnya majemuk tersusun menjari, mengelompok di ujung cabang, panjang daun 9-15 cm, dengan 8-30 pasang anak daun berbentuk lanset bergerigi halus. Permukaan dan tulang daun sebelah atas umumnya berbulu. Malai bunga dijumpai di ujung, bercabang-cabang dan menggantung. Bunga kecil, putih kekuningan dan beraroma tajam (Heyne, 1972; Hariyanto, 2009).

Berdasarkan penelitian, suren memiliki kandungan bahan surenon, surenin dan surenolakton yang berperan sebagai penghambat pertumbuhan, insektisida dan antifedant (menghambat daya makan) terhadap larva serangga uji ulat sutera. Bahan-bahan tersebut juga terbukti merupakan *repellant* (pengusir atau penolak) serangga termasuk nyamuk (Juniarti, Yuhernita dan Endrini, 2011). Tanaman surian (*Toona sureni* (Blume.) Merr.) secara tradisional biasa digunakan masyarakat untuk

berbagai keperluan beberapa bagian pohon, terutama kulit dan daunnya sering digunakan untuk ramuan obat diare, disentri, demam, dan pembengkakan limpa, astringen dan tonikum terutama pada pucuk daunnya dapat mengatasi pembengkakan ginjal. Kulit dan buahnya mengandung minyak atsiri (Yuhernita, 2009).

Berikut merupakan Klasifikasi dari tanaman surian

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Famili	: Meliaceae
Genus	: <i>Toona</i>
Spesies	: <i>Toona sureni</i> (Blume.) Merr.



Gambar 1. Pohon surian

2.2 Mikroba Endofitik

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup di dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan tanaman inangnya. Mikroba endofit juga dapat diartikan sebagai organisme hidup yang berukuran mikroskopis (baik bakteri maupun jamur) yang hidup dalam jaringan tanaman (pada xylem dan phloem), daun, akar dan batang. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit. Mikroba endofit dapat bersimbiosis dengan makhluk hidup lain dengan dasar saling menguntungkan. Dalam hal ini, mikroba mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga dan

mikroba patogen, sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya. Mikroba endofit tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sesuai dengan senyawa bioaktif dari tanaman inangnya (Radji, 2005).

Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur (Strobel dan Daisy, 2003 *cit.* Radji 2005). Bakteri endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi. Hal ini merupakan prinsip pemanfaatan sumber daya alam untuk kepentingan manusia agar lebih optimal adalah dengan tidak merusak lingkungan yang berkelanjutan (Utami *et al.*, 2008).

Berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dan telah berhasil dibiakkan dalam media perbenihan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya. Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman dan ditumbuhkan pada medium fermentasi tertentu. Didalam medium fermentasi bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat menghasilkan senyawa sejenis yang terkandung pada tanaman inang dengan bantuan enzim tertentu. Asal isolat, jenis bakteri dan sistem perakaran akan menyebabkan perbedaan dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Clay, 1988).

2.3 Antibiotika

Antibiotika dapat didefinisikan suatu bahan atau substansi kimia atau produk metabolik yang dihasilkan oleh mikroba dalam jumlah yang kecil yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba lain dan merupakan hasil

sintesis atau semisintesis yang mempunyai struktur yang sama (Pelczar dan Chan, 1988). Antibiotika dibagi menjadi dua golongan berdasar kegiatannya yaitu antibiotika yang dapat mematikan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, antibiotika jenis ini diharapkan dapat mematikan sebagian besar bakteri termasuk virus tertentu dan protozoa. Golongan kedua adalah antibiotika yang hanya aktif terhadap beberapa jenis bakteri Gram positif atau Gram negatif saja (Wasitaningrum, 2009).

Mekanisme kerja dari antibiotika adalah sebagai berikut yakni merusak dinding sel struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubahnya, perubahan permeabilitas sel yang mana kerusakan pada membran sitoplasma akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim dan penghambatan sintesis asam nukleat (Pelczar, Chan dan Krieg, 1988).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penghambatan mikroorganisme oleh antibiotika adalah kepadatan populasi mikroorganisme, kepekaan terhadap bahan antimikroba, lamanya bahan antibiotika diaplikasikan pada mikroorganisme, konsentrasi bahan antibiotika, suhu dan kandungan bahan organik. Antibiotika mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam dinding sel (Yuari, 2009).

2.4 Karakteristik Bakteri

Berdasarkan klasifikasi artifisial yang dimuat dalam buku "Bergey's manual of Systematic Bacteriology" bakteri diklasifikasikan berdasarkan deskripsi sifat morfologi dan fisiologi. Didalam buku ini dijelaskan deskripsi sifat dari spesies bakteri, kunci taksonomi menuju berbagai macam famili dan genera bakteri serta tabel untuk identifikasi spesies bakteri dan bakteri dimasukkan dalam satu kehidupan yaitu prokariota atau monera. Menurut edisi ke 8 buku ini bakteri dibagi kedalam 19

kelompok, ciri yang dipakai berdasarkan sifat Gram, bentuk dan susunan sel, sifat nutrisi dan metabolisme serta kebutuhan akan oksigen (Garrity dan Holt, 2001).

Karakter morfologi tidak seperti jenis karakter mikroba lainnya, determinasi morfologi biasanya mempelajari sel dari individu yang berasal dari kultur asli dimana mikroorganisme berukuran sangat kecil biasanya dilambangkan dengan mikrometer (μm) maka dibutuhkan pengujian mikroskopik pada mikroorganisme (Pelczar, Chan dan Krieg, 1988). Karakteristik pertumbuhan Bakteri dalam medium pertumbuhan dengan menunjukkan morfologi, mekanisme pembelahan dan aktifitas metabolismenya dapat menjadi acuan dalam pengidentifikasian jenis dari bakteri (Suharni, Nastiti dan Soetarto, 2008).

Salah satu hal terpenting yang digunakan dalam menentukan perbedaan karakter mikroba dalam teknik mikrobiologi adalah pengkarakteran dengan pewarnaan Gram. Teknik ini dikenalkan oleh Christian Gram tahun 1884 pada teknik ini bakteri diberi pewarnaan dengan reagen seperti *crystal violet*, *iodine*, *alkohol*, *aseton*, *safranin*, *ismark brown*, atau *dilute carbol fuchsin*. Karakter bakteri berdasarkan Gram dibedakan menjadi dua jenis yakni bakteri Gram positif dan Gram negatif. Perbedaan mendasar pada bakteri Gram positif dan negatif adalah komposisi dari dinding sel nya yakni tebal atau tipisnya peptidoglikan. Uji Gram ini dilakukan untuk membantu dalam determinasi bakteri yang sebelumnya belum diketahui (Pelczar *et al.*, 1988).

Karakteristik bakteri secara makroskopik dapat dilihat dari penampakan koloni isolat seperti karakteristik optik yakni *Opaque*, *Translucent* dan *Transparent*, bentuk dari Koloni *circular*, *irregular*, *spindle*, *filamentous*, *punctiform* dan *rhizoid*, elevasi *flat*, *raised*, *convex*, *umbonate*, permukaan halus, mengkilap, kasar, berkerut kering seperti bubuk, margin *entire*, *lobate*, *undulate*, *serrate*, *felamentous* dan *curled*. Morfologi dari kultur mikroorganisme dapat dipelajari secara mikroskopik

dan bentuk bakteri itu sendiri dapat ditentukan dalam tipe tiga bentuk umum yakni *ellipshoidal (Spherical)*, *cylindrical (rodlike)* dan *spiral (Helical)*. Susunan karakter dan pengelompokan sel, ukuran, dan juga ada atau tidaknya lipid, spora, kapsul, granula, atau penyusun struktur lainnya (Cappuccino dan Sherman, 2005; Safitri, 2010).

Selain itu, karakteristik bakteri dapat dilihat dari pigmen sel, kemampuan tumbuh bakteri pada suhu tertentu, pH, kemampuan menghidrolisa berbagai senyawa organik. Mikroorganisme kromogenik sering memproduksi pigmen intraseluler, beberapa jenis lain memproduksi pigmen ekstraseluler yang dapat terlarut dalam media contohnya *Staphylococcus aureus* berwarna emas, *Chromobacterium violaceum* berwarna violet. Ada juga bakteri yang memiliki pigmen yang terlarut didalam air dan berpendar pada media koloni berwarna putih mengkilat atau biru kehijauan jika dibawah sinar UV (Pelczar *et al.*, 1988).

Pertumbuhan mikroba memerlukan kisaran suhu tertentu. Kisaran suhu pertumbuhan dibagi menjadi suhu minimum, suhu optimum, dan suhu maksimum. Suhu minimum adalah suhu terendah tetapi mikroba masih dapat hidup. Suhu optimum adalah suhu paling baik untuk pertumbuhan mikroba. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi untuk kehidupan mikroba. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, mikroba dapat dikelompokkan menjadi mikroba psikrofil (kriofil), mesofil dan termofil (Brock dan Brock, 1978).

Dalam hubungannya dengan kebutuhan oksigen dikenal dengan istilah aerob dan anerob, dimana bakteri aerob merupakan bakteri yang hanya hidup ketika oksigen ada sedangkan anerob bakteri yang tidak membutuhkan oksigen bebas untuk pertumbuhannya. Istilah obligat dan fakultatif digunakan dalam penentuan kebutuhan oksigen bagi bakteri dimana dikenal dengan aerob obligat-fakultatif dan anerob obligat-fakultatif. Obligat dapat dinyatakan bagi bakteri yang membutuhkan oksigen

atau sama sekali tidak membutuhkan oksigen bebas bagi pertumbuhannya, sedangkan fakultatif bakteri masih dapat hidup di keadaan lingkungan yang masih ada oksigen bahkan tidak ada (Black, 2005).

pH optimum merupakan pH dimana bakteri tumbuh dan berkembang dengan baik, bakteri biasanya tumbuh pada pH antara 6,5 – 7,5. Meskipun beberapa bakteri dapat hidup pada rentang pH yang cukup ekstrim, untuk sebagian besar jenis bakteri memiliki batas maksimum dan minimum pH antara 4 – 9 (Purnomo, 2004). Menurut Brock dan Brock (1978) bakteri yang mampu hidup toleran pada pH lebih dari 7 maka bakteri tersebut disebut bakteri alkalophiles dan acidophiles merupakan bakteri yang hidup pada pH dibawah pH netral.

2.5 Bakteri Uji

2.5.1 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri yang berbentuk batang, Gram negatif, fakultatif anaerob dan tak mampu membentuk spora. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut Buku “Bergey’s manual of Systematic Bacteriology” (2001) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bakteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

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 (Hogg, 2005).

Bakteri Gram negatif mengandung lipid, lemak, atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi (11–12%) dari pada yang kdanung bakteri Gram positif. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif tersusun 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram positif relatif sederhana karena hanya mempunyai lapisan tunggal (Pelczar dan Chan, 1988).

2.5.2 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Buku “Bergey’s manual of Systematic Bacteriology” (2001) termasuk dalam bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih sederhana dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Bakteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri Gram positif menurut Pelczar dan Chan (1988) dan Volk dan Wheler (1984), mempunyai struktur dinding sel yang tebal yaitu 15–80 nm dan berlapis tunggal (mono) sedangkan kdanungan lipidnya rendah yaitu 1–4%. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif ada sebagai lapisan tunggal dengan jumlah lebih dari 50% berat kering. Bakteri *Staphylococcus aureus* pada umumnya

membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulase dan dapat memfermentasikan glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik.



III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2012 di Laboratorium Riset Mikrobiologi Jurusan Biologi Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Matematika Universitas Andalas.

3.2 Metoda Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimental dengan beberapa tahapan yaitu isolasi bakteri penghasil antibiotika dari tanaman surian (*Toona sureni* (Blume.) Merr.) dan karakterisasi secara parsial terhadap isolat bakteri penghasil antibiotika.

3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini antara lain : tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet tetes, jarum ose, pinset, lampu spiritus, timbangan digital, pinset, kapas steril, mikrotube, inkubator, autoklaf, spektrofotometer A₆₀₀, pH meter digital, sentrifus, mikroskop, batang pengaduk, kaca objek dan kaca penutup. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Daun surian, bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, Alumunium veil, plastik wrap, tissue, media Natrium Agar (NA), TSIA (*Triple sugar iron agar*), CMC 1 %, skim milk agar, aquadest, congo red, lugol iodine, alkohol, HgCl₂, HCL, NaCl, NaOH, bacto agar, pati, sukrosa, minyak zaitun, rodhamin b, pepton, beef extract, air rendaman jagung, CaCO₃, FeSO₄, MgSO₄ dan ZnSO₄ dan set pewarnaan Gram.



cawan petri satu persatu dengan adanya koloni tunggal yang terbentuk dipindahkan ke biakan miring (Tomita, 2003).

3.4.4 Pembuatan Media

3.4.4.1 Nutrient Agar

Medium NA terdiri dari *beef extract* 3 gram, pepton 5 gram, dan agar 15 gram. Kemudian dipanaskan hingga homogen dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121° C tekanan 15 lbs selama 15- 20 menit (Alcarno, 1983).

3.4.4.2 Pembuatan Inokulum

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi air rendaman jagung (3%), glukosa (3%), CaCO₃ (0,5%), FeSO₄ (0,1%), MgSO₄ (0,2%), ZnSO₄ (0,01%), dan air suling steril hingga 100%, sebanyak 10 ml pada Erlenmeyer 50 ml yang telah disterilisasi. Biakan bakteri yang telah diremajakan diinokulasikan sebanyak 1-2 ose pada medium produksi antibiotika. Inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, agitasi 120 rpm.

3.4.4.3 Produksi Antibiotika

Disiapkan medium produksi antibiotika dengan komposisi air rendaman jagung (3%), sukrosa (3%), CaCO₃ (0,5%), FeSO₄ (0,1%), MgCl₂ (0,2%), ZnSO₄ (0,01%), dan air suling steril hingga 100% sebanyak 50 ml pada Erlenmeyer 150 ml yang telah disterilisasi pada Erlenmeyer. Diinokulasikan pada inokulum 10⁵ sel/ml (5%) pada medium produksi. Inkubasi pada suhu kamar pada suhu kamar selama 24 jam. Larutan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh diuji potensi antibiotiknya (Haryanto *et al.*, 1999).

3.4.4.8 Media Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Medium TSIA sebanyak 65 gram dilarutkan dengan *aquadest* 1000 ml kemudian dipanaskan dengan penangas air. Medium disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C tekanan 15 lbs selama 15 menit (Fardiaz, 1993)

3.4.5 Tahap pelaksanaan

3.4.5.1 Uji Antibiotika

Pengujian antibiotika dari masing-masing bakteri dilakukan menggunakan metode kertas cakram. Disediakan medium NA pada cawan petri. Selanjutnya masing-masing medium di dalam cawan petri dioleskan bakteri uji *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. Kertas cakram Whatman No. 42 dicelupkan ke dalam supernatan, kering anginkan dan ditanam dalam medium NA. Lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Diameter hambatan yang terbentuk diukur dengan bantuan Vernier kaliper digital (Madigan *et al.*, 2000).

3.4.5.2 Pengamatan karakteristik Parsial Isolat Bakteri Penghasil Antibiotika

Pengamatan makroskopis dilakukan pada isolat bakteri endofitik dengan diameter daerah halo yang tertinggi dalam menghambat bakteri uji dengan mengamati bentuk koloni, tepian koloni, elevasi dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi pengamatan terhadap reaksi pada pewarnaan Gram, bentuk sel dan tipe endospora, motilitas sel, suhu tumbuh optimal (30, 35, 37, 40, 45 °C), pH tumbuh optimal (4,5,6,7,8,9), efek kadar NaCl dengan konsentrasi 0, 3, 5, 7 %, kemudian dilanjutkan dengan uji TSIA, uji katalase dan dilanjutkan uji penghasilan amilolitik, proteolitik, lipolitik, dan selulolitik serta karakterisasi kultur.

3.4.5.2.1 Pewarnaan Gram

Dibersihkan kaca objek dengan alkohol hingga bebas lemak, kemudian difiksasi di atas bunsen. Ditetaskan suspensi bakteri di atas kaca objek, difiksasi di atas bunsen. Kemudian tetaskan kristal violet 1-2 tetes selama 1-2 menit dan dicuci dengan air mengalir lalu kering anginkan dan tetaskan lugol tunggu hingga 1 menit, setelah itu kembali cuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetaskan alkohol 96 % 1-2 tetes selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Ditetesi dengan safranin 1-2 tetes, biarkan selama 1-2 menit lalu kering anginkan dan amati dibawah mikroskop (Cappuccino dan Sherman, 2005).

3.4.5.2.2 Pewarnaan Endospora

Dibuat preparat oles bakteri, kemudian diberi larutan hijau malakit. Preparat dipanaskan selama 5 menit sehingga terlihat uap. Setelah preparat dingin dicuci dengan air. Selanjutnya diwarnai dengan safranin selama 1 menit. Preparat dikering anginkan dengan kertas saring dan diamati (Alcarno, 1983).

3.4.5.2.3 Motilitas Sel

Media NA semisolid disiapkan, lalu masukkan 1 jarum ose bakteri pada biakan miring kedalam testube yang berisi media kemudian diinkubasi pada suhu optimal. Diamati keadaan media setelah 24 jam (Cappuccino dan Sherman, 2005).

3.4.5.2.4 Suhu Pertumbuhan Optimal

Isolat diinokulasikan ke medium NB pada suhu pertumbuhan yaitu 30° C, 35°C, 37°C, 40°C dan 45° C sebanyak 1 ose pada setiap suhu. Lalu inkubasi selama 24 jam

dan ukur kekeruhan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang A_{600} nm (Seeley dan Vdanemark, 1972).

3.4.5.2.5 pH Pertumbuhan Optimal

Isolat bakteri diinokulasikan ke medium NB pada pH pertumbuhan yaitu 4, 5, 6, 7, 8, 9 sebanyak 1 ose pada setiap pH nya. Lalu diinkubasi selama 24 jam dan diukur kekeruhannya dengan spektrofotometer pada A_{600} (Seeley dan Vdanemark, 1972).

3.4.5.2.6 Uji Salinitas

Satu ose isolat bakteri ditumbuhkan pada medium Nutrient Broth yang mengandung NaCl 3%, 5%, dan 7%, Inkubasi pada suhu optimal selama 24 jam, lalu hitung kekeruhan pada spektrofotometer pada A_{600} (Alcamo, 1983).

3.4.5.2.7 Uji Amilolitik

Isolat bakteri diinokulasikan pada Medium Pati Agar 1%, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu optimal, setelah itu cawan petri ditetesi *lugol iodine*, jika terbentuk zona bening maka dapat diindikasikan isolat bakteri menghasilkan amilase.

3.4.5.2.8 Uji Lipolitik

Isolat diinokulasikan ke medium Rhodamin B agar, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu optimal dan biakan dilihat pada UV 350 nm. Produksi lipase ditandai dengan tampaknya warna orange pada isolat ketika disinari UV.

3.4.5.2.9 Uji Proteolitik

Biakan miring isolat bakteri diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose pada medium skim susu. Kemudian diinkubasi pada suhu optimal selama 48 jam. Koloni bakteri yang membentuk zona bening mendandakan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan protease.

3.4.5.2.10 Uji Selulolitik

Biakan murni pada biakan miring diinokulasi sebanyak 1 jarum ose pada media CMC 1 %, kemudian di inkubasi selama 48 jam pada suhu optimal. Setelah itu inokulan ditetesi dengan *congo red* dan amati reaksi dari media, apabila terbentuk zona bening berarti isolat mampu menghasilkan enzim selulase.

3.4.5.2.11 Uji TSIA

Isolat bakteri endofitik diinokulasi pada media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) selama 24-48 jam pada suhu optimal. Amati perubahan warna pada media, apabila media berubah menjadi berwarna kuning mendandakan bahwa isolat bakteri mampu memfermentasikan karbohidrat dan apabila warna media berubah menjadi hitam berarti adanya H_2S yang terbentuk.

3.4.5.2.12 Uji katalase

Isolat bakteri sebanyak 1 jarum ose diletakan diatas kaca objek, lalu ditetesi H_2O_2 jika terbentuknya gelembung maka hasilnya positif (Seeley dan Vandemark, 1972).

3.5 Analisa Data

Data yang didapatkan dari penelitian dianalisa secara deskriptif dengan mengacu pada referensi yang ada.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolat Bakteri Endofitik Penghasil Senyawa Antibiotika

Dari isolasi bakteri endofitik pada daun surian didapat sepuluh bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika yang membentuk daerah halo terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta diameter yang terbentuk terlihat pada Tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Diameter Daerah halo yang terbentuk oleh Isolat Bakteri Endofitik

Kode Isolat	Bakteri Uji	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
LSA 1.1	9.83	8.25
LSA 1.2	8.71	8.25
LSA 1.3	8.90	10.06
LSA 1.4	10.52	9.08
LSA 1.5	11.94	9.96
LSA 2.1	8.126	8.89
LSA 2.2	10,53	11.99
LSA 2.3	8.21	8.70
LSA 2.4	9.60	11.00
LSA 2.5	10.08	10.93

*satuan dalam milimeter (mm)

Pada Tabel 1 terlihat bahwa bakteri endofitik yang diisolasi dari daun surian dan kemudian diuji aktivitas antibiotika maka diperoleh 10 isolat bakteri endofitik yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah halo disekitar koloni bakteri uji.

Adanya daerah halo yang terbentuk disekeliling bakteri mendanakan adanya kemampuan isolat bakteri endofitik menghasilkan metabolit sekunder berupa

senyawa antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) antibiotika diproduksi melalui alur sintesis khusus yang digolongkan sebagai metabolisme sekunder yang dihasilkan dalam alur metabolisme dan enzim yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, dimana daerah halo yang terbentuk akibat difusi senyawa antibiotika keluar dari cakram yang mengandung supernatan ke dalam agar pada media dan mengakibatkan terbentuknya cincin hambatan pada pertumbuhan bakteri uji. Menurut Ardiyansyah (2009) bahwa diameter daya hambat menunjukkan kepekaan bakteri uji, semakin besar daya hambat terhadap bakteri maka antibakteri tersebut mempunyai aktivitas yang semakin baik. Daun surian dilaporkan dapat mengobati berbagai penyakit antara lain yakni penyakit diare yang mendasakan bahwa daun surian memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Djam'an, 2006).

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa daerah halo yang terbentuk rata-rata berkisar 11,94 – 8,21 mm. Pada bakteri uji *Escherichia coli* dengan isolat LSA 1.5 memperlihatkan aktivitas antibiotika tertinggi dengan diameter daerah halo yang terbentuk 11,94 mm sedangkan pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* isolat LSA 2.2 membentuk diameter daerah halo sebesar 11,99 mm. Adanya perbedaan daerah halo yang terbentuk pada masing-masing isolat ini disebabkan oleh kemampuan dan jenis dari masing-masing antibiotika yang dihasilkan oleh masing-masing isolat bakteri endofitik adalah berbeda dan disamping itu juga disebabkan oleh konsentrasi antibiotika yang dihasilkan, aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri uji dan bakteri uji yang digunakan. Menurut Madigan *et al.* (2000) antibiotika merupakan metabolit yang diproduksi ketika konsentrasi substrat melimpah dan perbedaan diameter yang terbentuk diperkirakan karena konsentrasi serta jenis antibiotika yang berbeda dan Volk dan Wheeler (1988) menyatakan bahwa antibiotika bekerja secara selektif dengan berbagai mekanisme yakni penghambatan sintesis dinding sel

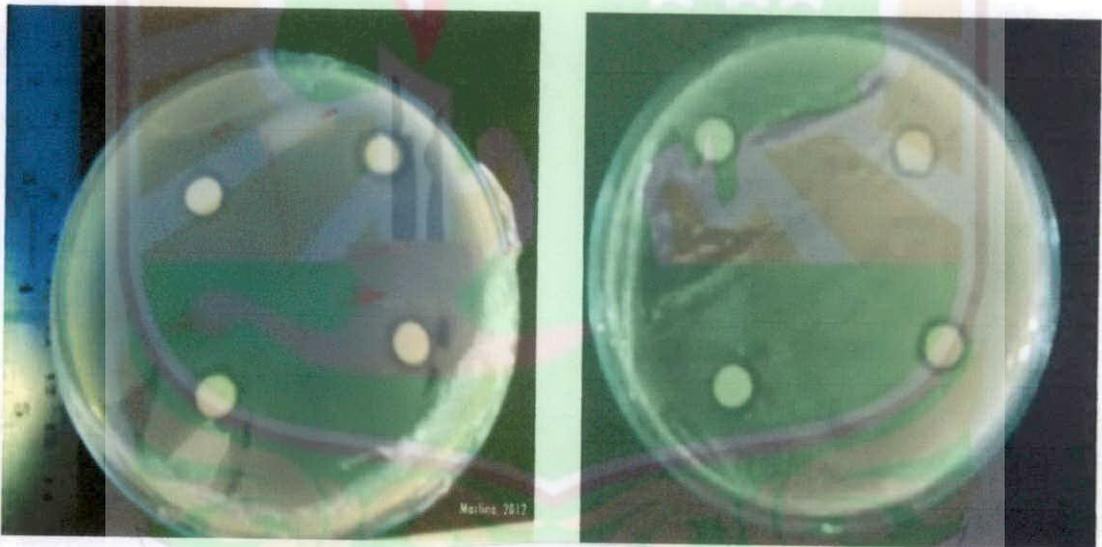
bakteri, penghambatan sintesis protein, kerusakan pada membran dinding sel dan penghambatan sintesis RNA dan RNA.

Pada penelitian ini fermentasi dilakukan selama 24 jam dimana inokulum isolat bakteri endofitik difermentasi didalam medium produksi yang terdiri atas glukosa dan garam organik yang kemudian menghasilkan supernatan yang berisi senyawa antibiotika yang dihasilkan oleh bakteri endofitik pada daun surian dan supernatan ini kemudian diuji aktivitasnya dengan bakteri uji. Hasil yang didapatkan terlihat pada Tabel 1 dengan aktivitas tertinggi yang ditunjukkan oleh isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2. Dari hasil diketahui bahwa supernatan isolat bakteri endofitik mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram negatif dan Gram positif. Hal ini dikarenakan oleh komponen penyusun dinding sel dari masing-masing bakteri berbeda, pada Gram positif struktur dinding sel berlapis tunggal dan kandungan lipid rendah sedangkan Gram negatif mempunyai dinding sel berlapis tiga terdiri atas lipoprotein, fosfolipid dan lipopolisakarida serta kandungan lipid yang tinggi (Volk dan Wheeler, 1984).

Selain itu, lama fermentasi dan kandungan bahan organik medium serta inducer menjadi faktor dalam produksi antibiotika oleh mikroorganisme dimana Yuni (2011) melaporkan bahwa dari hasil uji produksi antibiotika yang dihasilkan oleh bakteri endofitik pada daun surian dengan lama fermentasi 48 jam didapat isolat dengan diameter 14 mm dalam menghambat bakteri uji yang digunakan. Haryanto *et al.* (1999) menyatakan bahwa komposisi atau kandungan organik medium pertumbuhan dan lama fermentasi inokulum didalam medium mempengaruhi pembentukan antibiotika dan senyawa metabolit sekunder seperti sumber karbohidrat yang digunakan seperti glukosa dan senyawa sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen terpenting dalam medium fermentasi sebagian besar mengandung garam-garam organik dan mineral (Kusumaningtyas, Natasia dan Darmono, 2010).

Produksi antibiotik dipengaruhi oleh kondisi fermentasi seperti : pH awal medium, temperatur fermentasi, aerasi, pemilihan biakan, dan yang terpenting adalah komposisi nutrisi dalam medium untuk pertumbuhan sel dan untuk produksi antibiotik (Purwakusumah, 2010) dan mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotika jika mikroorganisme tersebut memiliki gen-gen yang mengkode antibiotika dan biosintesis antibiotika terjadi jika adanya inducer (Cruieger dan Cruieger, 1994).

Penggunaan bakteri uji yang berbeda bertujuan untuk membandingkan efektivitas antibiotika dalam supernatan ketika menghambat dan membunuh bakteri uji daerah halo yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini:



Gambar 2. Daerah halo yang terbentuk pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Pewarnaan Gram dari sepuluh bakteri endofitik yang berhasil diisolasi dan teruji mampu menghasilkan antibiotika disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofitik pada daun Surian.

Kode Isolat	Isolat Bakteri Endofitik	
	Gram	Bentuk Sel
LSA 1.1	Negatif	Basil
LSA 1.2	Negatif	Basil
LSA 1.3	Negatif	Basil
LSA 1.4	Negatif	Basil
LSA 1.5	Negatif	Basil
LSA 2.1	Negatif	Basil
LSA 2.2	Negatif	Basil
LSA 2.3	Negatif	Basil
LSA 2.4	Negatif	Basil
LSA 2.5	Negatif	Basil

Dari Tabel 2 didapatkan bahwa 10 isolat bakteri endofitik yang mampu membentuk daerah halo atau zona hambat pada bakteri uji merupakan bakteri Gram negatif dan bentuk sel basil. Yuni (2011) pernah melakukan penapisan bakteri endofitik penghasil antibiotika pada daun surian didapatkan isolat 11 isolat yang berpotensi menghasilkan antibiotika dengan bentuk sel coccus dan bakteri Gram positif dan hal ini berbeda dengan yang didapatkan pada penelitian ini dimana 10 isolat yang didapat bakteri berbentuk basil dan Gram negatif, hal ini dapat dikarenakan bahwa adanya perbedaan habitat atau lingkungan dimana tempat pengambilan sampel surian menjadi faktor adanya perbedaan isolat yang didapat. Menurut Mano dan Morisaki (2008) bakteri endofitik berasal dari lingkungan sekitarnya seperti daerah rhizosfer dan filosfer tumbuhan yang mampu menerobos ke dalam jaringan tumbuhan melalui stomata, lentikula ataupun area munculnya akar

lateral yang menyebabkan adanya perbedaan dari jenis bakteri endofit yang didapatkan dan metabolit sekunder yang dihasilkannya.

4.2 Karakteristik Isolat Bakteri Endofitik LSA 1.5 dan LSA 2.2

Dari hasil isolasi diperoleh dua bakteri endofitik yang membentuk diameter daerah halo tertinggi yakni isolat LSA 1.5 dan LSA 2.5 yang kemudian dikarakterisasi dengan hasil karakteristik yang didapat seperti Tabel 3 dibawah ini.

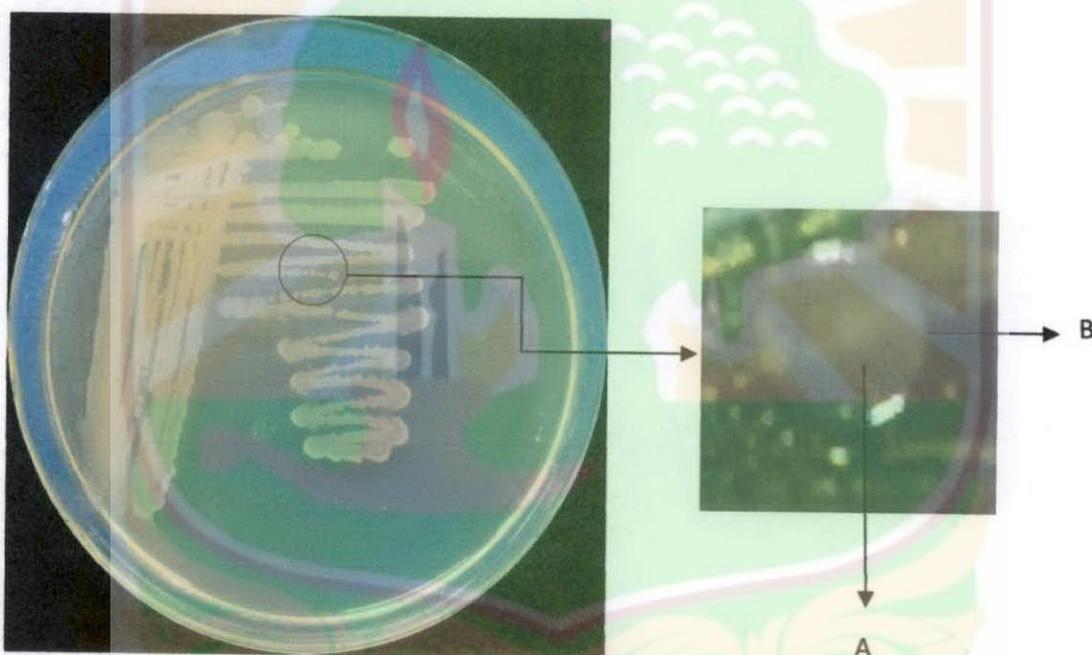
Tabel 3. Karakteristik Isolat Bakteri Endofitik

Karakteristik	Isolat	
	LSA 1.5	LSA 2.2
Motilitas	-	-
Bentuk Sel	Basil	Basil
Gram	Negatif	Negatif
Koloni	Bulat	Bulat
Elevasi	Datar	Datar
Margin	<i>Entire</i>	<i>Lobate</i>
Permukaan	Kasar	Halus mengkilat
Endospora	-	-
Suhu Optimal (OD)	30°C	30°C
pH optimal (OD)	7	7
Salinitas (OD)	3%	3%
Uji Enzimatik		
Proteolitik	Positif	Positif
Amilolitik	Positif	Positif
Lipolitik	Negatif	Negatif
Selulolitik	Positif	Positif
Uji Karbohidrat		
Glukosa	Positif	Positif
Sukrosa	Positif	Positif
Laktosa	Positif	Positif
Uji Katalase	Positif	Positif

4.2.1 Makroskopis dan Mikrokopis

Dari dua isolat bakteri endofitik yang diketahui memiliki diameter daerah halo tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, kedua isolat ini memiliki karakteristik yang terlihat pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 diatas terlihat bahwa kedua isolat LSA memiliki ciri morfologi koloni berbentuk bulat, elevasi atau datar dan untuk margin atau pinggiran koloni entire serta permukaan kasar pada LSA 1.5 seperti yang terlihat pada Gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3. Morfologi isolat bakteri endofitik LSA 1.5

- A. Koloni bakteri endofitik
- B. Margin/pinggiran koloni

Isolat LSA 2.2 merupakan isolat dengan ciri morfologi bermargin lobate dan permukaan koloni yang halus mengkilat yang dilihat pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 4. Morfologi isolat bakteri endofitik LSA 1.5

- A. Koloni bakteri endofitik
- B. Margin/ pinggiran koloni

Kedua isolat yakni isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 merupakan isolat yang termasuk kelompok bakteri Gram negatif, tidak membentuk endospora, bentuk sel basil dan tidak motil, motil atau tidak motilnya sel bakteri ditandai dengan adanya pertumbuhan sel yang menyebar pada media Natrium Agar semisolid dimana sel bersifat motil jika bergerak tumbuh keseluruhan media dan dikatakan tidak motil jika hanya tumbuh pada daerah inokulasi saja seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Uji motilitas sel bakteri endofitik

Isolat bakteri endofitik penghasil antibiotika dengan kode LSA 1.5 dan LSA 2.2 merupakan bakteri yang bersifat Gram negatif dimana bakteri Gram negatif menurut Pelczar dan Chan (1988) jika dilihat dari struktur dan komposisi dinding sel bakteri Gram positif relatif sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif yang lebih kompleks. Dinding sel bakteri Gram positif mempunyai lapisan tunggal (mono) sedangkan bakteri Gram negatif tersusun dari 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam yang banyak mengandung lipid atau lapisan

hidrofobik. Perbedaan mendasar pada bakteri Gram positif dan negatif adalah komposisi dari dinding sel nya yakni tebal atau tipisnya peptidoglikan.

Isolat bakteri LSA 1.5 dan LSA 2.2 tidak membentuk endospora. Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) endospora hanya terbentuk pada sekelompok kecil bakteri karena endospora merupakan bentuk ketahanan, endospora biasanya ada pada bakteri berbentuk sel batang dan Gram positif. Sel bakteri LSA 1.5 dan LSA 2.2 terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bentuk Sel bakteri Endofitik
 A. Bentuk Sel Isolat LSA 1.5
 B. Sel bakteri Isolat LSA 2.2

4.2.2 Faktor Abiotik Isolat Bakteri

Dari uji penentuan faktor abiotik didapat bahwa kedua isolat dapat tumbuh optimal pada suhu 30°C, pH 7 dan salinitas 3% yang ditandai dengan nilai *optical density* adsorban (kekeruhan sel) yang diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang A_{600} . Adsorbansi menunjukkan populasi atau jumlah sel bakteri yang terkandung pada media uji. Berikut nilai OD (*optical density*) kedua isolat dari hasil pengukuran yang diilustrasikan pada Gambar 7.

hasil pengujian yang ditunjukkan pada Gambar 3.

Zona reduksi yang pada media uji. Hasil uji ini O₂ (mg/L) pada isolasi dan bakteri selulosa yang akan digunakan sebagai substrat untuk isolasi sel bakteri selulosa (Karyanti, 2011) yang dapat menunjukkan elektrolisis dengan pada suhu 30,0°C dan pH 7 dan selulosa 30g yang digunakan dengan uji selulosa yang O₂ yang diberikan untuk media dengan pH/keasaman isolasi dapat diperoleh optimal.

4.2.5 Faktor/Prinsip Isolasi Bakteri

B. Sel bakteri isolasi 127 / 12

A. Benih sel isolasi 127 / 12

Campuran benih sel bakteri selulosa

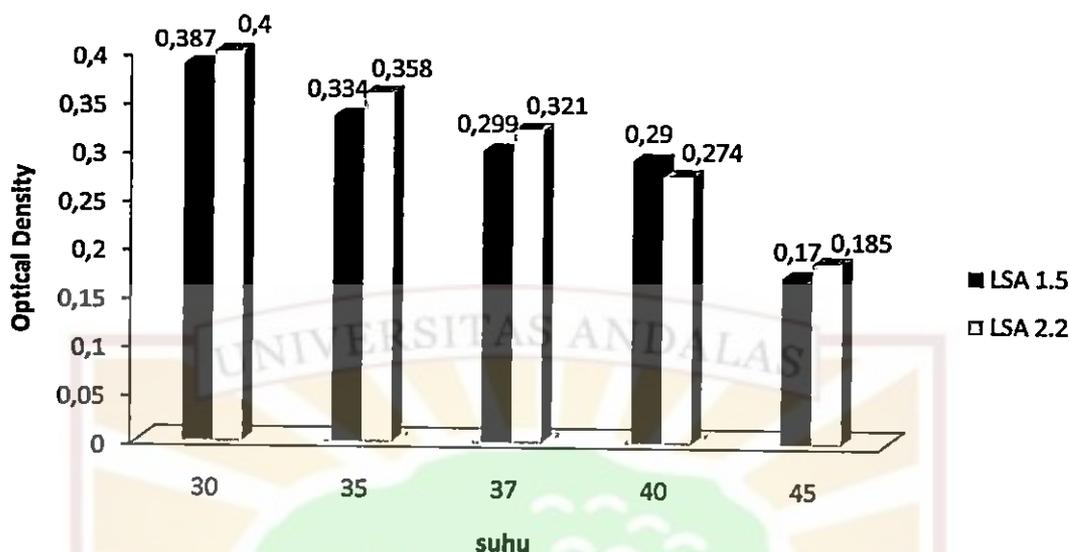


hasil pada Gambar 4.

Bakteri selulosa yang tumbuh dan diam biakan sel bakteri 127 / 12 dan 127 / 12, bakteri karena selulosa merupakan sumber karbon untuk selulosa tersebut. Pada selulosa dan selulosa (1984) selulosa yang terdapat pada selulosa yang

isolasi selulosa 127 / 12 dan 127 / 12 tidak menunjukkan selulosa. Menurut komposisi dan struktur selulosa yang terdapat pada selulosa tersebut.

Reduksi, Reduksi menunjukkan pada bakteri yang biakan dan media, selulosa

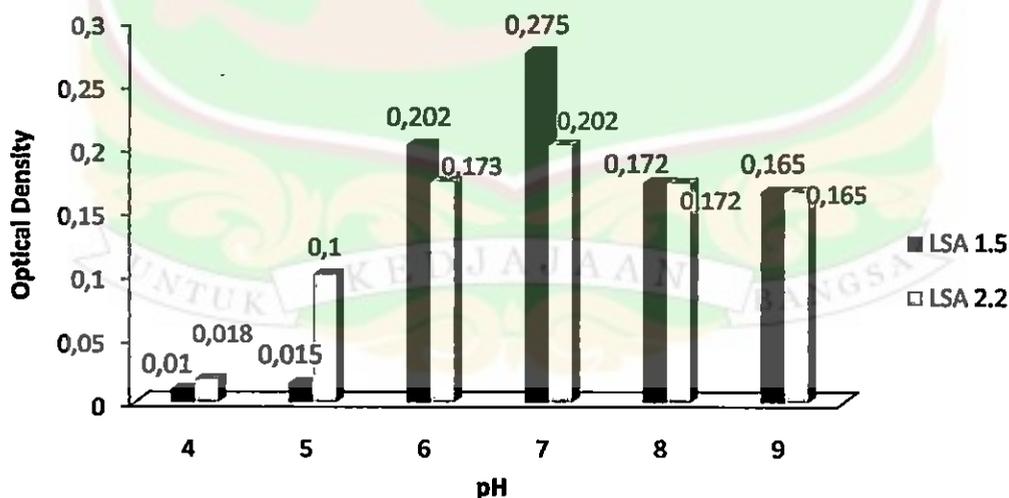


Gambar 7. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada suhu yang berbeda.

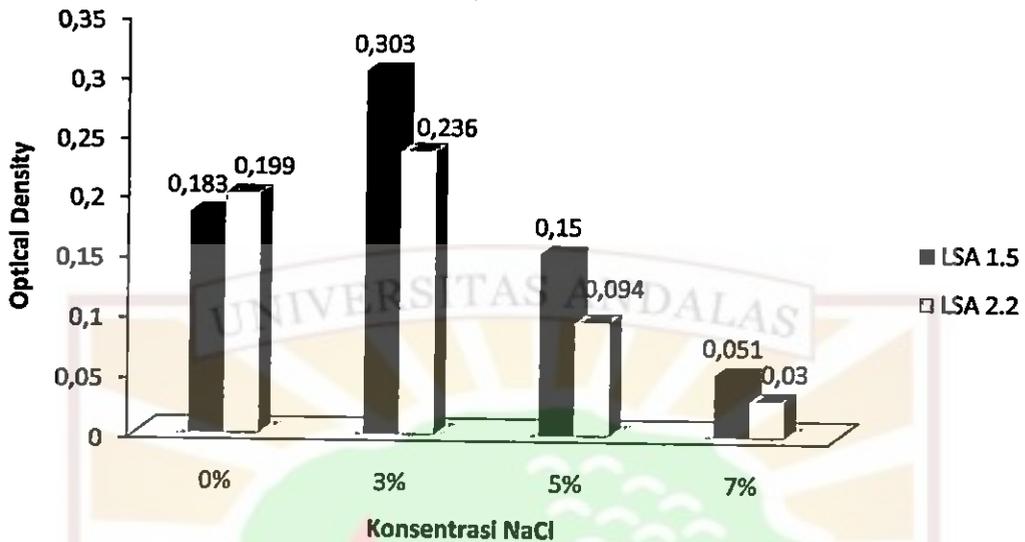
Pada Gambar 7 terlihat kedua isolat bakteri endofitik dengan nilai adsorban tertinggi dihasilkan oleh bakteri pada saat ditumbuhkan pada suhu 30°C dan ini merupakan suhu optimal pertumbuhan bakteri dan peningkatan jumlah sel didalam media dan bakteri optimal dalam menghasilkan antibiotika serta menghasilkan senyawa metabolit sekunder lainnya. Pada suhu 35°C - 45°C bakteri mengalami penurunan hal ini dikarenakan ketidakmampuan sel bakteri bertahan hidup pada kisaran suhu tersebut, hal ini terlihat pada suhu 40°C dan 45°C pertumbuhan sel bakteri turun menjadi yang mengalami penurunan jumlah sel bakteri hingga 30% - 40% dari jumlah sel pada suhu sebelumnya meskipun perlakuan suhu hanya berbeda 5°C setiap suhunya hal ini tetap mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri dalam media. Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Schlegel dan Schmidt (1994) menyatakan bahwa jika bakteri ditumbuhkan pada suatu media dengan nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang cocok, maka bakteri akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas.

Dari data yang didapat kedua isolat bakteri endofitik ini tergolong kelompok mikroorganisme atau bakteri mesofilik. Black (2005) menyatakan bahwa mikroorganisme mesofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang hidup pada kisaran suhu 25° C sampai 40° C dengan kisaran suhu optimum 25 °C sampai 37° C. Suhu optimum merupakan suhu dimana sel tumbuh dengan baik dengan waktu generasi lebih pendek. Kisaran suhu minimum sampai maksimum digunakan untuk mengendalikan mikroorganisme sesuai dengan kepentingannya dan kematian bakteri karena suhu tinggi di atas suhu maksimum ini kita sebut kematian termal dan waktu yang dibutuhkan untuk mematikan mikroorganisme dalam suhu tinggi disebut waktu kematian termal (Purnomo, 2004).

Keasaman media atau substrat juga mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri dimana pada penelitian ini kedua isolat sama – sama ditumbuhkan pada media yang mengandung tingkat keasaman yang berbeda yakni media dengan pH 4,5,6,7,8,dan 9. Nilai adsorbansi sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 8 dibawah ini :



Gambar 8. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada pH berbeda.



Gambar 9. Pertumbuhan isolat bakteri endofitik pada variasi kadar NaCl

Pada Gambar 9 terlihat bahwa nilai adsorbansi bakteri ketika ditumbuhkan pada media dengan kandungan NaCl 0% lebih rendah dari nilai OD di kandungan NaCl 3% dan lebih tinggi dari kandungan NaCl 5% dan 7%, dalam artian kedua isolat bakteri endofitik jumlah sel optimal tumbuh dan berkembang pada kadar NaCl 3% ditandai dengan lebih keruhnya media pada saat pengamatan. Nilai adsorbansi menunjukkan bahwa tingginya pertumbuhan bakteri atau populasi bakteri yang meningkat ketika ditumbuhkan pada kadar NaCl 3% dan bakteri yang toleran pada keadaan tersebut tergolong dalam kelompok bakteri halofil toleran. Optimum atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada kadar garam tertentu disebabkan oleh plasmolisis sel karena perbedaan tekanan osmotik hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa tekanan osmotik mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan dikenal dengan istilah plasmolisis atau penyusutan sel hal ini terjadi ketika adanya perbedaan konsentrasi solut antara dua sisi membran dimana air dengan konsentrasi rendah didalam sel akan keluar melintasi membran masuk kedalam

larutan sekelilingnya dan dapat menyebabkan kematian pada sel. Black (2005) menyatakan bahwa bakteri halofil adalah bakteri yang tumbuh optimum pada kadar sodium klorida 3%-5% pada media pertumbuhan ataupun substratnya.

4.2.3 Uji Biokimia dan Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Pada uji biokimia yang dilakukan terhadap kedua isolat ini didapatkan hasil atau data yang tercantum pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Endofitik Penghasil Antibiotika.

Karakter	Isolat	
	LSA 1.5	LSA 2.2
Katalase	+	+
Amilolitik	+	+
Proteolitik	+	+
Lipolitik	-	-
Selulolitik	+	+
Uji TSIA:		
Glukosa	+	+
Sukrosa	+	+
Laktosa	+	+

Pada uji biokimia enzimatik dan uji katalase yang dilakukan pada kedua isolat bakteri penghasil antibiotika ternyata kedua isolat ini juga mampu menghasilkan beberapa enzim dan bernilai positif. Isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 bersifat amilolitik, proteolitik, selulolitik karena mampu menghasilkan enzim amilase, protease dan selulase pada media uji yang digunakan. Mikroorganisme mampu mendegradasi senyawa organik yang kompleks menjadi senyawa yang sederhana seperti pemecahan pati menjadi glukosa dan gula sederhana lainnya, isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 menunjukkan hasil positif dan bersifat amilolitik ketika ditumbuhkan pada

media pati agar, dimana isolat membentuk zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh dan dapat dilihat pada Gambar 9.

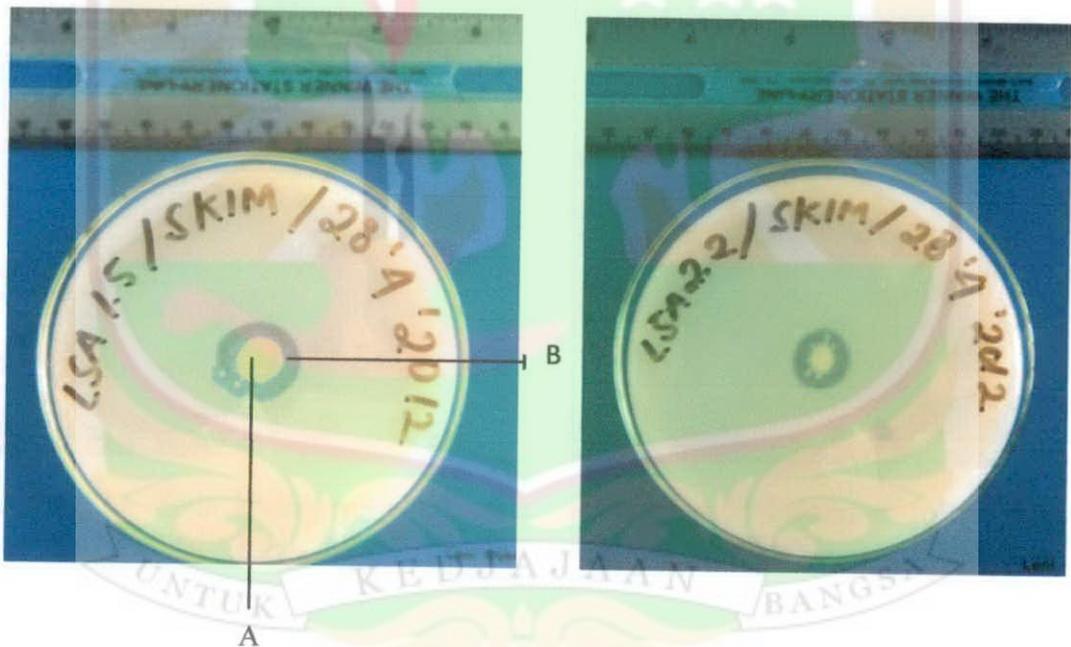


Gambar 10. Zona bening yang dibentuk oleh bakteri endofitik LSA 1.5 dan LSA 2.2 pada Pati Agar
 A. Koloni bakteri endofitik
 B. Zona bening

Pada Gambar 10 yakni isolat dengan kode LSA 1.5 membentuk zona bening disekitar koloni ketika ditumbuhkan pada media pati agar selama 48 jam. Sel bakteri memiliki gen penydani untuk menghasilkan enzim amilase dalam merombak pati menjadi gula sederhana. Daerah halo yang terbentuk disekitar koloni bakteri setelah ditetesi lugol pada medium pati agar mendanakan adanya kemampuan bakteri menghasilkan enzim amilase dimana pati diurai menjadi gula sederhana. Retraningrum dan Nafisah (2011) menyatakan bahwa kemampuan pemecahan amilum berkaitan dengan sekresi enzim amilase oleh isolat bakteri tersebut, pengeluaran enzim amilase oleh mikroba akan memecah amilum didalam media pati agar menjadi produk berupa molekul gula reduksi yang dapat digunakan oleh

mikroba tersebut untuk pertumbuhannya, pengujian dengan menggunakan reagen iod disekitar koloni bakteri penghasil amilase akan menunjukkan terbentuknya zona jernih disekitar koloni.

Enzim amilase banyak dimanfaatkan dalam dunia industri terutama industri makanan seperti pembuatan sirup fruktosa yang mempunyai tingkat kemanisan yang tinggi, pembuatan roti dan makanan bayi (Setiasih *et al.*, 2006). Selain amilase, enzim protease dihasilkan oleh bakteri yang bersifat proteolitik dimana zona bening terbentuk disekitar koloni yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung protein yang kemudian diubah menjadi asam-asam amino oleh bakteri tersebut seperti yang terlihat pada Gambar 11 dibawah ini:

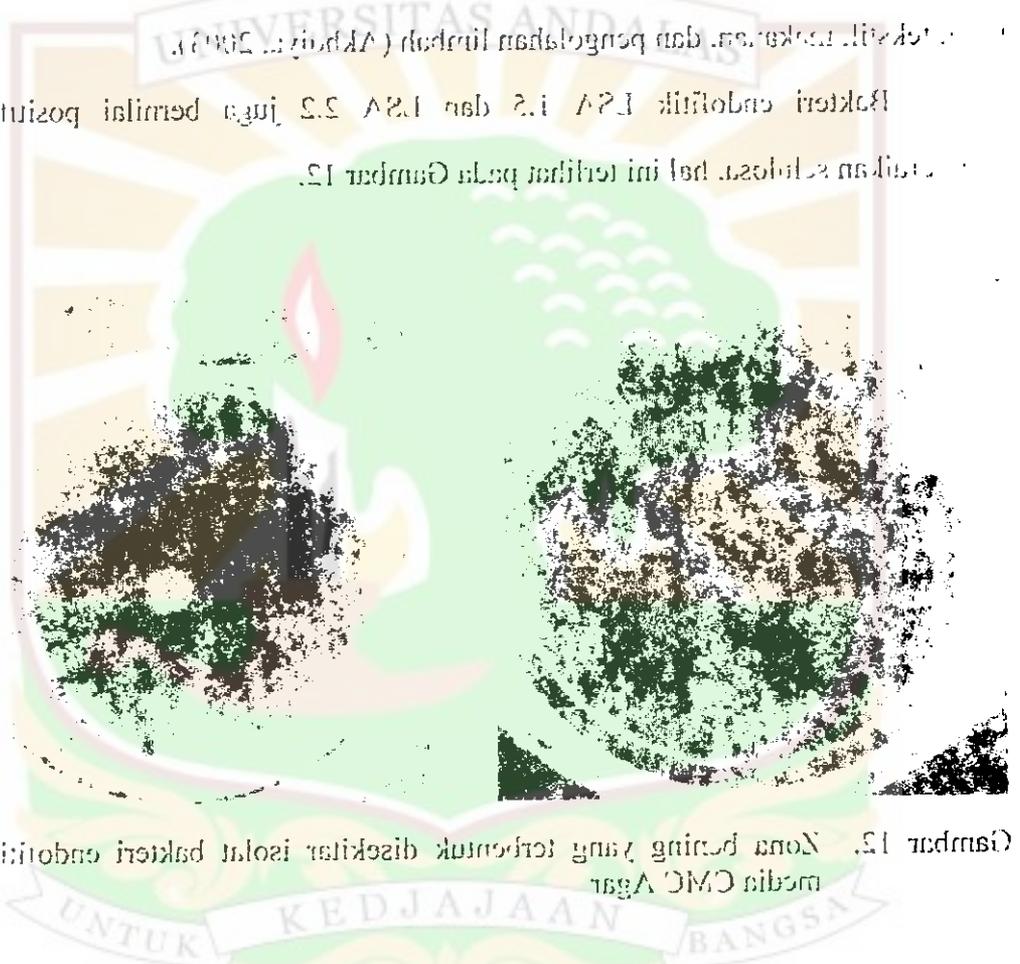


Gambar 11. Zona bening pada isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 pada media skim Agar
A. Koloni bakteri endofitik
B. Zona bening

Pada Gambar 11 terlihat bahwa adanya zona bening yang terbentuk mengelilingi koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media skim agar. Besarnya aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan semakin lebarnya zona bening. Hasil

promotkan polimer protein hanya ditunjukkan dengan adanya zona bening yang menunjukkan protein telah dirombak menjadi senyawa peptida dan asam amino yang tertanam dalam medium (Pakparhan, 2009). Enzim protease merupakan enzim yang dibenarkan mencapai 60% dari total enzim yang dipertajal belikan di dalam dunia. Di banyak industri yang memerlukan enzim ini contohnya industri deterjen.

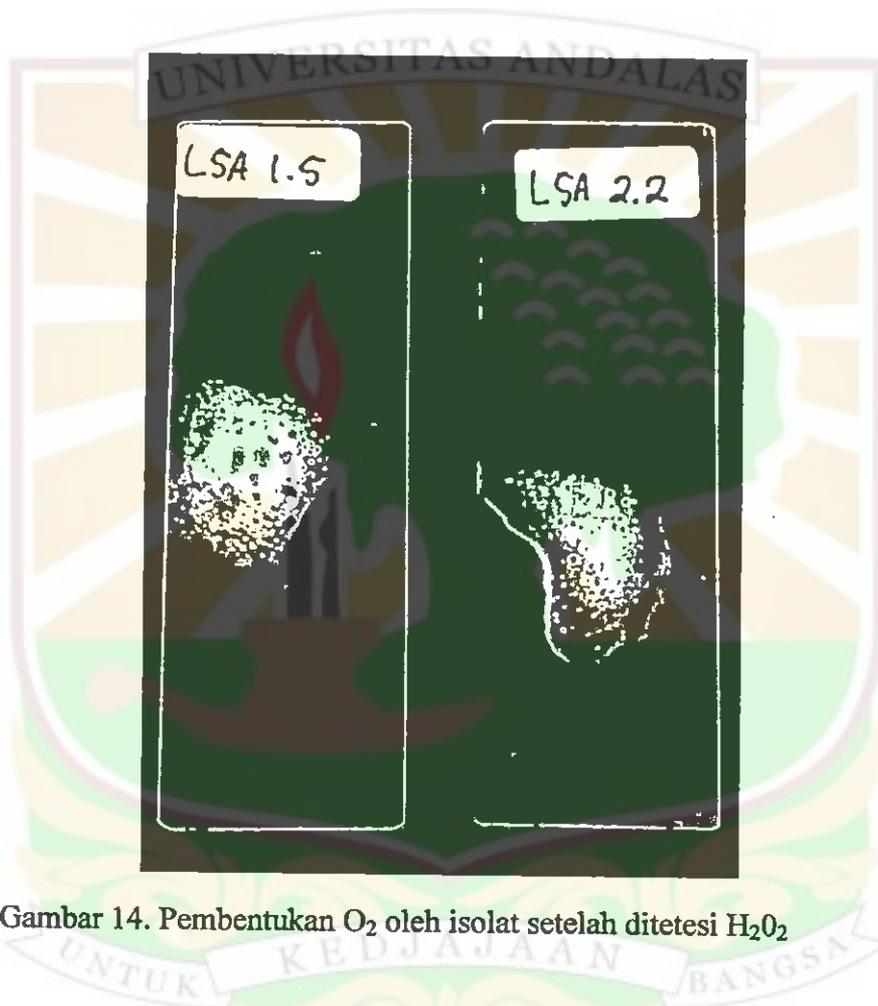
Enzim protease dan pengalihan lipas (Akhmad, 2007). Bakteri endolitik L24 i.2 dan L24 i.3 juga memiliki positif dalam hal ini terlihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Zona bening yang terbentuk disekitar isolat bakteri endolitik pada media CMC agar

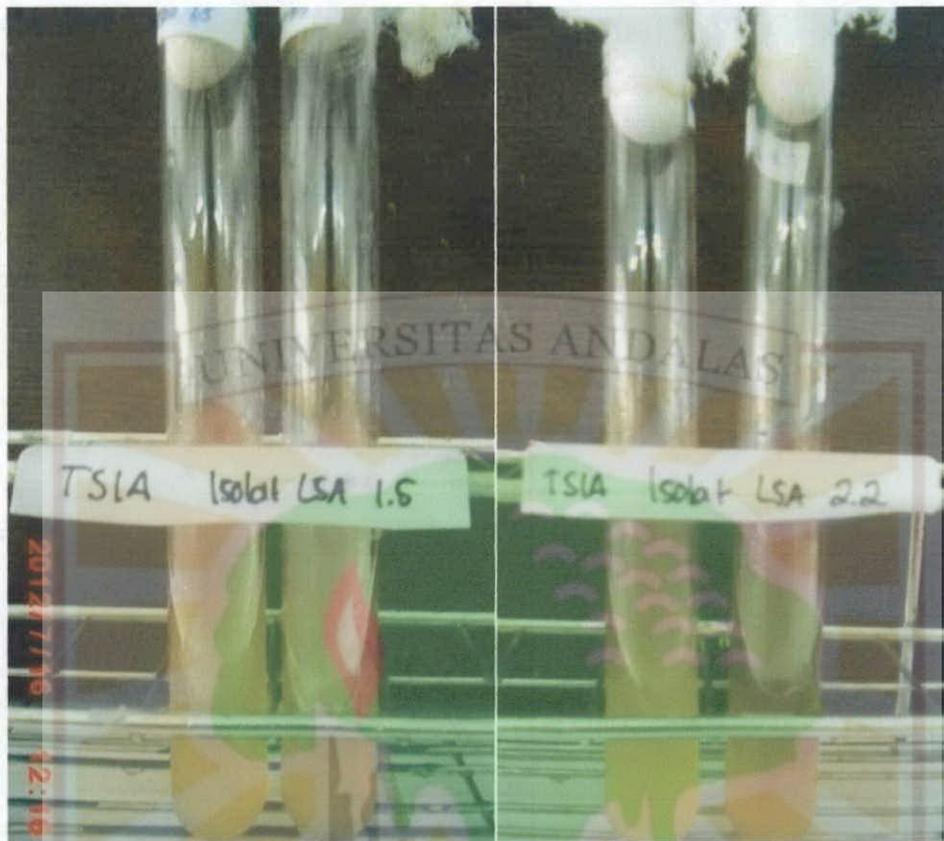
CMC (Carboxymethyl Cellulose) merupakan medium sintetik yang menyediakan selulosa dan CMC yang digunakan untuk berbagai percobaan pada penelitian ini isolat penghasil antibiotika ditumbuhkan pada medium CMC agar dimana isolat dapat membentuk daerah halo disekitar koloni yang tumbuh setelah diwarnai dengan Congo red karena pewarna tidak bisa mewarnai gula sederhana yang telah dipecah oleh enzim dan hanya akan mewarnai selulosa yang terkandung didalam medium. Pada Gambar zona bening yang terbentuk tidak begitu besar tetapi isolat ini

menghasilkan enzim katalase. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena H_2O_2 yang dibentuk dengan bantuan berbagai enzim pernafasan bersifat racun terhadap sel mikroba (Pelczar, Chan, dan Krieg, 1988).



Gambar 14. Pembentukan O_2 oleh isolat setelah ditetesi H_2O_2

Dari uji TSIA yang dilakukan pada isolat bakteri endofitik LSA 1.5 dan LSA 2.2 mampu memfermentasi karbohidrat yakni glukosa, sukrosa dan laktosa yang terkandung didalam media TSIA ketika ditumbuhkan pada medium TSIA isolat memperlihatkan perubahan pada medium menjadi kuning, isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 tidak membentuk gas H_2S pada media dan dapat dilihat pada Gambar 15.



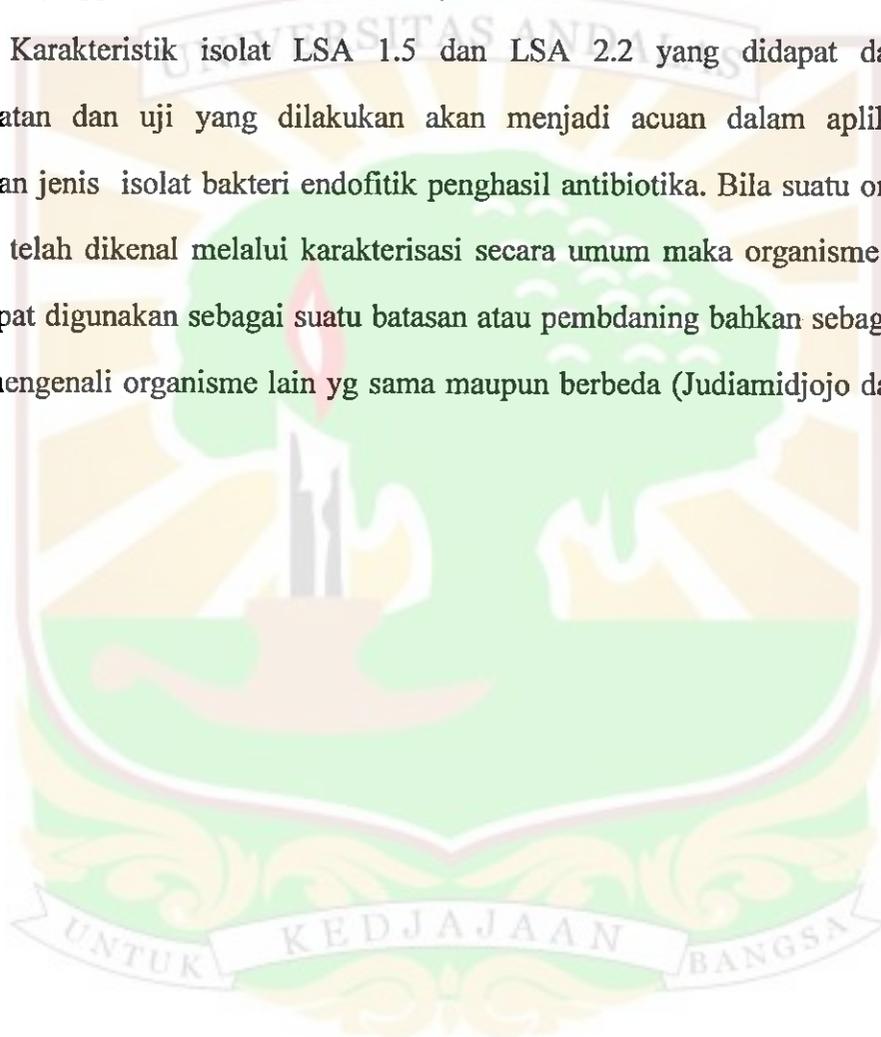
Gambar 15. Isolat bakteri endofitik LSA 1.5 dan LSA 2.2 pada media TSIA

Pada gambar 15 terlihat bahwa adanya perubahan pada media TSIA yang merupakan media untuk uji fermentasi karbohidrat dan pembentukan gas H_2S . Pada gambar dapat dilihat telah terjadi fermentasi glukosa yang digunakan didalam proses glikolisis pada respirasi sel, laktosa atau sukrosa kemudian digunakan setelah glukosa yang terkandung didalam medium habis karena laktosa dan sukrosa memiliki konsentrasi yang lebih tinggi sehingga dapat dimanfaatkan untuk substrat fermentasi lanjutan menghasilkan asam yang ditandai warna kuning setelah 24 - 48 jam.

Uji TSIA digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa serta menghasilkan H_2S . Media uji TSIA mengandung laktosa, sukrosa, glukosa, natrium tiosulfat, fero sulfat dan

indikator fenol merah, jika bakteri uji dapat memfermentasi gula tertentu menjadi asam, maka media uji akan berubah warna menjadi kuning tua. Jika bakteri tersebut menghasilkan H_2S , maka akan terdapat endapan berwarna hitam pada bagian bawah media uji. Endapan tersebut adalah fero sulfida yang berasal dari reaksi H S dengan fero sulfat (Cappucino dan Sherman, 2005).

Karakteristik isolat LSA 1.5 dan LSA 2.2 yang didapat dari hasil pengamatan dan uji yang dilakukan akan menjadi acuan dalam aplikasi dan penentuan jenis isolat bakteri endofitik penghasil antibiotika. Bila suatu organisme tersebut telah dikenal melalui karakterisasi secara umum maka organisme tersebut akan dapat digunakan sebagai suatu batasan atau pembandingan bahkan sebagai acuan untuk mengenali organisme lain yg sama maupun berbeda (Judiamidjojo dan Sa'id, 1992)



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang karakterisasi bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika pada daun surian, maka dapat disimpulkan bahwa diperoleh 10 isolat bakteri endofitik penghasil senyawa antibiotika pada daun surian dengan dua isolat yang memiliki diameter daerah halo tertinggi dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yakni LSA 1.5 (11,94 mm) dan LSA 2.2 (10,53 mm) yang memiliki karakter morfologi koloni bulat, elevasi datar, sel berbentuk basil, non motil, optimum pada suhu 30°C, pH 7, kadar NaCl pada media 3%, bersifat proteolitik, amilolitik, selulolitik, katalase positif dan Uji TSIA positif serta adanya perbedaan morfologi yakni margin LSA 1.5 bermargin entire dan permukaan koloni kasar sedangkan LSA 2.2 bermargin lobate dengan permukaan koloni halus mengkilat.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah dilakukannya penelitian lebih lanjut tentang aktivasi dan optimasi penghasilan antibiotika, penentuan jenis bakteri penghasil antibiotika secara molekular dan aplikasi karakter isolat sebagai penghasil enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo.I.E.1983. *Laboratory Fundamentals of Mikrobiology*. Addison Wesley Publishing Company, Inc.Canada.
- Alkdano, A.A dan H. M. Ibrahim. 2011. A potential new isolate for the production of a thermostable extracellular α - amylase. *Jurnal of Bacteriology Research* 3 (8): 129-137.
- Akhdiya, A. 2003. Isolasi bakteri penghasil enzim protease alkalin termostabil. *Buletin Plasma Nutfah* 9 (2): 38-44.
- Ambarwati. 2007. Studi actinomycetes yang berpotensi menghasilkan antibiotik dari rhizosfer tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* L.) dan kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 8 (1): 1 – 14.
- Ardiyansah. 2009. *Daun Beluntas Sebagai Antibakteri dan Antioksidan*. Artikel IPTEK. Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan.
- Black, J.G. 2005. *Microbiology: Principles and Eksplorasi* 6th ed. John Wiley & Sons, Inc. United States of America.
- Brock, T.D, dan K.M.Brock. 1978. *Basic Mikrobiologi with Applications*. Second edition. Prentice-hall., Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Cappuccino, J.G dan N. Sherman. 2005. *Microbiolgy a Laboratory Manual*. 7th Ed. Pearson Education, Inc., Publishing as Benjamin Cummings, San Fransisco, CA.
- Clay, K. 1988. Fungal endophytes of grassesa and a defensive mutualism between plants dan fungi. *Ecology* 69: 10-16.
- Crueger.W dan A. Crueger. 1994. *Biotechnology: A Tex Book of Industrial Microbiology*. Translate by C Haesslyang T.D Brock, Science tech, Inc, Medison. New York.
- Djam'an, D. F. 2006. *Kayu Andalan Jawa Barat*. Balai Litbang teknologi Perbenihan.<http://www.dephut.go.id/INFORMASI/MKI/06II/06IIkayu%20danalan.htm>. Diakses 10 september 2011.
- Departemen Perbenihan Tanaman Hutan .2002. *Toona sureni* (Blume) Merr. INFORMASI SINGKAT BENIH No. 24, November 2002.

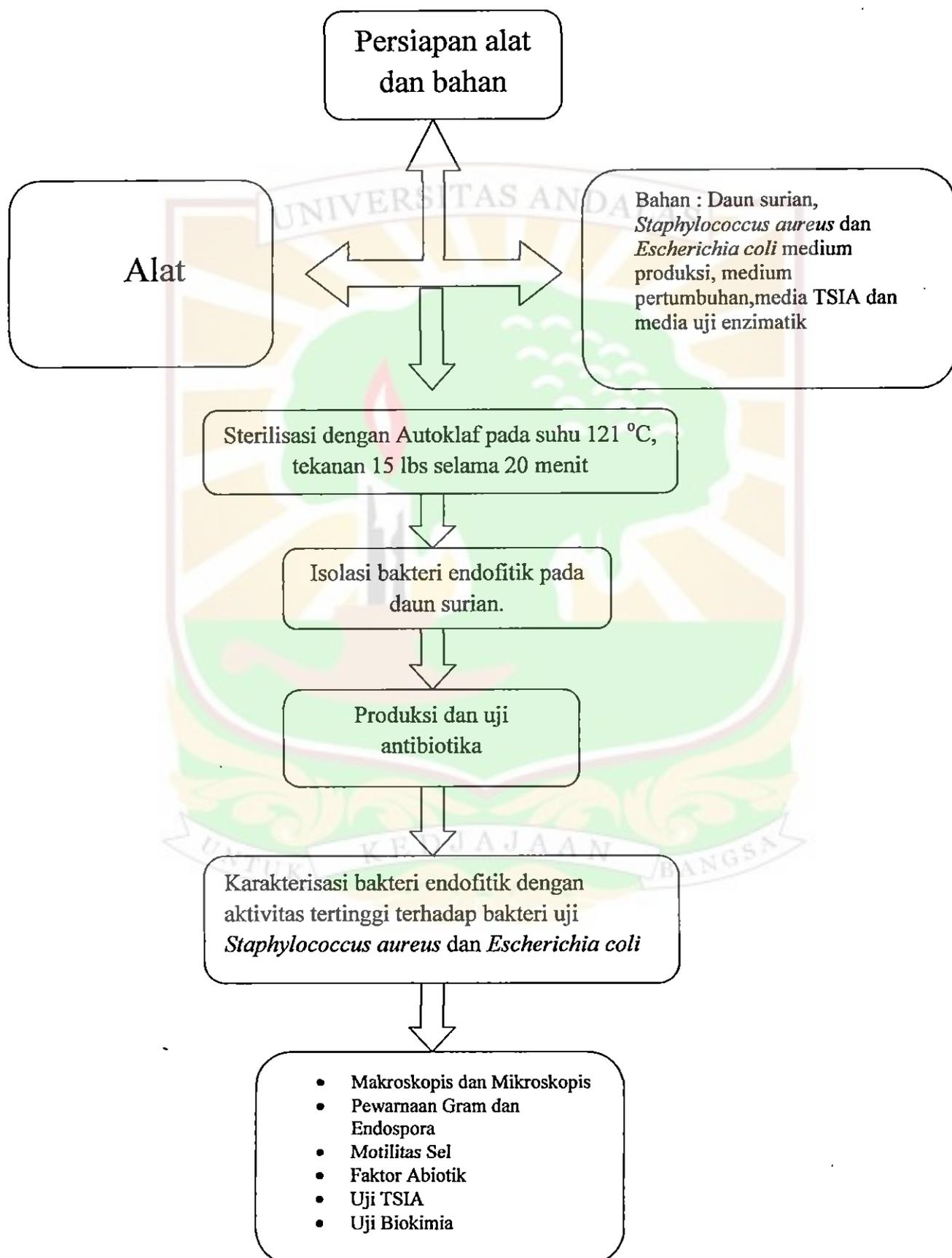
- Enggel, J., A. Merydanini dan L. Natalia. 2004. Karakterisasi protease ekstraseluler *clostridium bifermentans* r14-1-b. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 9 (1): 9-12.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. PT RajaGrafindo Persada. Jakarta
- Garrity, G.M dan J.G. Holt. 2001. *The Road map of the Manual in Bergey's manual of Systematic Bacteriology* second edition. Edited by Boone D.R dan R.W Castenholz. Springer – veilag. New York. Berlin. Heidelberg.
- Goveas, S.W., R. Madtha, S.K, Nivas dan L. D'souza. 2011. Isolation of endophytic Fungi from *Coscinium fenestratum*-a red listed endangered medical plant. *EurAsian Journal of BioSciences* 5: 48- 53.
- Hariyanto, I.F. 2009. *Bibit Suren*. [http: // www.bukit-hijau.comyr.com](http://www.bukit-hijau.comyr.com). Diakses 16 september 2011
- Haryanto, M. Singgih dan D. Kustaryono. 1999. Pengaruh monosakarida dan penggunaan sumber karbon lokal pada pembentukan eritromisin pada fermentasi *Streptomyces erythreus*. *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (3): 149-155.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II*. Terjemahan badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wana. Jakarta.
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. John Wiley dan Son, Cichestes.
- Judiamidjojo, M., A.A Darwis dan E.G.Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. CV Rajawali Jakarta.
- Juniarti, Yuhernita dan S. Endrini. 2011. Destilasi minyak atsiri daun surian sebagai krim pencegah gigitan nyamuk *Aedes aegypty* L. *Makara Sains* 15 (1): 38-42.
- Katno, dan S.Pramono. 2010. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi, UGM. iaijogja.com/files/keamanan-dan-resiko-obat-tradisional.pdf. Diakses 16 september 2011.
- Kouker, G dan K. E. Jaeger. 1987. Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. *Applied and Enviromental Microbiology* 53: 211-213.
- Kusumaningtyas, E., M. Natasia dan Darmono. 2010. *Potensi metabolit kapang endofit rimpang lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan eschericia coli dan staphylococcus aureus dengan media fermentasi potato*

dextrose broth (pdb) dan potato dextrose yeast (pdy). Disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.

- Madigan, M.T., J.M Martinko dan J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms*. 9th Ed. Prentice Hall International, Inc., New Jersey.
- Mano, H dan H. Morisaki. 2008. Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes and Environment* 23(2), 109-117.
- Merydanini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 13 (1): 33-38.
- Pakpahan, R. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik Dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara. Tesis Pascasarjana Universitas Sumatera Utara
- Pelczar, M. J, E.C. S. Chan dan N.R. Krieg. 1988. *Microbiology Fifth Edit* 49236-0.
- Pelczar, M. J dan E.C. S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. New York. McGraw – Hill Book Company, Inc Diterjemahkan oleh R. S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka.. UI-Press.
- Purnomo, B. 2004. *Bahan Kuliah Dasar-dasar Mikrobiologi*.
http://www.geocities.ws/bpurnomo51/mik_files/mik4.pdf. Diakses 12 September 2011.
- Purwakusumah, E.D. 2010. *Perbandingan Fermentasi Antibiotik oleh Streptomyces sp. s-34 dan Dua Rekombinasinya pada Beberapa Medium*. IPB Press.
- Radji, M. 2005. *Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal*. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 113 – 126.
- Retraningrum, E dan Z. Nafisah. 2011. Aktivasi Immobilized α – Amylase dan Free α - Amylase dari *Zooglea ramigera* ABL1 dalam Medium Pati Cair dengan Perlakuan Faktor Lingkungan. *Jurnal Biota* 16 (1): 95-106.
- Safitri, R. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Lactobacillus dan Bifidobacterium*. Dalam Probiotik: Basis ilmiah, aplikasi, dan aspek praktis oleh Soeharsono. Widya Padjajaran. Bdanung.
- Schlegel, H. G. Dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi Ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

- Seeley, H. W dan P. J Vandemark. 1972. *Microbes in Action a Laboratory Manual of Microbiology*. W.h. freeman and company. Cornell university. San Francisco.
- Setiasih, S., B. Wahyuntari., Trismilah dan D. Apriliani. Karakterisasi enzim α -amilase ekstrasel dari isolat bakteri termofil sw 2. *Jurnal Kimia Indonesia* (1): 22-27.
- Suharni, T.T, S.J.Nastiti dan A.E.S.Soetarto.2008. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Suhono, B dan Tim LIPI. 2010. *Ensiklopedia Flora jilid 6*. PT. Kharisma Ilmu. LIPI.
- Tika, I.N., I.W. Rhedana dan N.P. Ristiati. 2007. Isolasi enzim termostabil dari bakteri termofilik isolat air panas Banyuwedang Kecamatan Geregak, Buleleng Bali. *Akta Kimindo 2* (2): 109-112.
- Tomita, F.2003. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity* 14: 187-204.
- Utami, U., Soemarno, Sumarno dan Y. Risjani. 2008. Aktivitas anti bakteri endofit tanaman mangrove terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Perikanan 2* (1): 42-48.
- Volk, W. A dan M .F .Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar* . Jilid I. Edisi 5. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Wasitaningrum, I. D.A. 2009. *Uji Resistensi Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Dari Isolat Susu Sapi Segar Terhadap Beberapa Antibiotik*. Skripsi Sarjana Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Yuari, A. 2009. *Isolasi Dan Penentuan Aktivitas Antimikroba Isolat Streptomyces Terhadap Staphylococcus aureus Serta Uji Bioautografi*. Skripsi Sarjana Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Yuhernita dan Juniarti. 2009. Skrining awal bioaktifitas daun surian (*Toona sureni* (Blume) Merr.) dengan metoda brine shrimp lethality test (BSLT) dan perendaman 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman 6* (2).
- Yuni, D. 2011. *Penapisan Potensi Bakteri Endofitik Pada Tumbuhan Surian (Toona sureni (Blume.) Merr.) Sebagai penghasil Antibiotika*. Skripsi Sarjana Biologi. FMIPA. Universitas Andaalas. Padang.

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Data Pengukuran Nilai *Optical density* Pertumbuhan Isolat.Tabel 5. Nilai *Optical density* Pada Suhu yang berbeda

Perlakuan Suhu	LSA 1.5	LSA 2.2
30°C	0,387	0,4
35°C	0,334	0,358
37°C	0,299	0,321
40°C	0,29	0,274
45°C	0,17	0,185

Tabel 6. Nilai *Optical density* Isolat Pada pH medium berbeda

Perlakuan pH	LSA 1.5	LSA 2.2
4	0,015	0,018
5	0,01	0,01
6	0,202	0,173
7	0,275	0,202
8	0,181	0,172
9	0,17	0,165

Tabel 7. Nilai *Optical density* Isolat pada Variasi kadar NaCl

Perlakuan Salinitas	LSA 1.5	LSA 2.2
0%	0,183	0,198
3%	0,303	0,236
5%	0,150	0,094
7%	0,051	0,030