

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT *Syzygium polyanthum***

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ANTIBACTERIAL
COMPOUND FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATE OF
Syzygium polyanthum

MUH. AZWAR AR



SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2020



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT *Syzygium polyanthum***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

MUH. AZWAR AR

Kepada

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020



TESIS

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI
DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT *Syzygium polyanthum***

Disusun dan diajukan oleh

MUH. AZWAR AR

Nomor Pokok N012181022

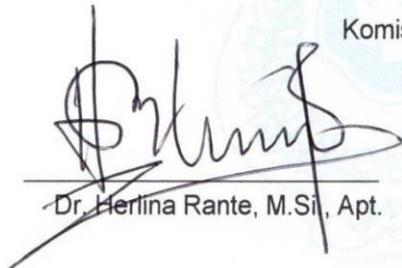
telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 1 Oktober 2020

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Komisi Penasihat,



Dr. Herlina Rante, M.Si., Apt.

Ketua



Prof. Dr. M. Natsir Djide, M.S., Apt.

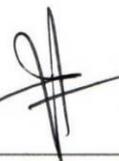
Sekretaris

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi,



Ihammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt.

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin,



Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muh. Azwar AR

Nomor Mahasiswa : N012181022

Program Studi : Farmasi Sains

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Yang menyatakan



Muh. Azwar AR



PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim, alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kepada **Allah SWT** atas segala rahmat, taufik, hidayah, dan kasih sayang hingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Isolat Fungi Endofit *Syzygium polyanthum*” . Tesis ini disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar Magister di Program Studi Farmasi Konsentrasi Farmasi Sains di Universitas Hasanuddin, Makassar.

Shalawat dan taslim juga tidak lupa penulis panjatkan kepada baginda **Rasulullah saw.**, yang membawa risalah serta motivasi untuk terus beribadah dan berikhtiar di jalan yang lurus.

Penulis juga ingin berterima kasih sebesar-besarnya kepada orang tua penulis yaitu ayahanda **Muh. Arief M.** dan ibunda **A. Rostina**, yang telah mendidik dan membesarkan penulis dengan penuh cinta dan kasih sayang dan juga saudara kandung penulis atas doa dan semangatnya, dan juga seluruh keluarga besar penulis yang tercinta.

Dengan tersusunnya tesis ini, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Yth. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. sebagai Ketua Tim Komisi Penasihat Tesis dan Yth. Bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS, Apt., selaku Sekretaris yang telah berkenan memberi bimbingan, arahan, dan masukan bagi tersusunnya tesis yang layak untuk disajikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada: Yth. Bapak Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin sekaligus sebagai komisi penguji dan bapak Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D.. Apt. selaku Ketua Program Studi Magister Fakultas Farmasi yang tulus memberikan nasehat, bimbingan, semangat, serta petunjuk



dalam menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin sampai pada penyusunan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. dan Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt. atas segala masukan dan sarannya selama menjadi anggota dalam Komisi Penguji.

Ucapan terima kasih juga tidak lupa penulis ucapkan kepada:

1. Dinda apt. Karina Nur Rahma Fitria Syahrir, S.Si. yang senantiasa memberi dukungan, doa, dan senantiasa mengingatkan penulis untuk selalu beribadah dikala sibuk menyelesaikan tugas-tugas sejak awal kuliah sampai akhir penyelesaian studi Magister Farmasi di Universitas Hasanuddin bahkan hingga pada penyusunan thesis ini.
2. Rekan-rekan korps. asisten Farmakognosi-Fitokimia, terkhusus kepada kanda Ismail, S.Si., M.Si., Apt., Muh. Raihan S.Si., Apt., Abdillah Mahmud, amd.AK., yang senantiasa memberikan motivasi kepada penulis untuk tetap semangat dalam menjalani proses perkuliahan.
3. Semua pihak yang telah membantu yang tak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini masih terdapat kelemahan yang perlu diperkuat dan kekurangan yang perlu dilengkapi. Oleh karena itu, dengan rendah hati penulis mengharapkan masukan, koreksi, dan saran untuk memperkuat kelemahan dan melengkapi kekurangan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Muh. Azwar AR



ABSTRAK

Fungi endofit adalah jenis mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang mampu menghasilkan senyawa dengan aktivitas biologis salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan karakteristik senyawa hasil isolasi dari fungi endofit XP2 pada daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). Penelitian ini dimulai dengan mengisolasi fungi endofit dari daun salam kemudian dilakukan fermentasi fungi endofit selama 18 hari dalam kondisi tershaker dalam medium PDB (*Potato Dextrose Broth*). Hasil fermentasi kemudian diekstraksi dengan menggunakan etil asetat (1:1 v/v). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan metode kromatografi kolom. Hasil fraksinasi selanjutnya di refraksinasi lagi sehingga diperoleh senyawa tunggal yang kemudian diberi kode senyawa subfraksi 4b. Senyawa subfraksi 4b selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode difusi agar dengan konsentrasi 1% b/v; 0,15 mg/disk. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa subfraksi 4b menunjukkan penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (17,88 mm) dan *Salmonella thyposa* (15,56 mm). Senyawa subfraksi 4b diskroning golongan senyawanya dengan pereaksi semprot dragendorf pada plat TLC dengan hasil spot berwarna jingga yang diduga merupakan senyawa golongan alkaloid. Senyawa subfraksi 4b selanjutnya dianalisis karakteristik senyawanya dengan instrumen GC-MS yang hasilnya diperoleh spektrum massa dari puncak pada Rt 38,075 dengan ion molekul pada $m/z=484$. Berdasarkan data dari Library NIST dan Wiley 9, senyawa subfraksi 4b diduga sebagai senyawa betulin dengan indeks similiarity mencapai 92. Selain itu, dilakukan analisis gugus fungsi senyawa subfraksi 4b menggunakan spektroskopi IR sehingga diperoleh gugus fungsi C-H; $C\equiv N$; $O=C$; $-CH_3$; C-N ; dan aromatis yang diduga sebagai komponen penyusun senyawa subfraksi 4b.

Kata Kunci : Fungi Endofit, Tanaman salam, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp., Antibakteri.



ABSTRACT

Endophytic fungi are types of microorganisms which found in plant tissues that capable to producing compounds of biological activity, one of which is antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity and characteristics of compounds isolated from the XP2 endophytic fungi on bay leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). This research was started by isolating the endophytic fungi from bay leaves then fermentation the endophytic fungi for 18 days in the shaking conditions in PDB (Potato Dextrose Broth) medium. The fermentation product was then extracted using ethyl acetate (1: 1 v / v). The extract obtained was then fractionated by column chromatography method. The fractionation refracted again to obtain a single compound which is coded the XP2a compound. The 4b subfraction compound was then tested for its antibacterial activity using the agar diffusion method at a concentration of 1% w/v; 0,15 mg / disk. The results of the antibacterial activity test of 4b subfraction compound showed inhibition of *Staphylococcus aureus* (17.88 mm) and *Salmonella thyposa* (15.56 mm) bacteria. 4b subfraction compound are screened for the compounds by dragendorf reagents on TLC plates with orange spot results which are thought to be alkaloid compounds. Then, The 4b subfraction compound was analyzed for its compound characteristics using the GC-MS instrument, which the results obtained by the mass spectrum of the peak at Rt 38.075 with molecular ions at $m / z = 484$. Based on data from the NIST Library and Wiley 9, the 4b subfraction compound was suspected to be a betulin compound by similiarity index of 92. In addition, the functional group analysis of the 4b subfraction compound was carried out using IR spectroscopy to obtain the C-H; $C\equiv N$; $O=C$; $-CH_3$; C-N ; and aromatics functional group which is suspected as component of the 4b subfraction compound.

Keywords: Endophytic fungi, Bay plants, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp., Antibacterial.



DAFTAR ISI

	Halaman
Prakata	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Umum Tanaman	6
B. Uji Aktivitas Antimikroba	7
C. Kromatografi Lapis Tipis	9
D. Spektroskopi Infra Red (IR-Spectroscopy)	11
E. Gas Chromatography-Mass Spectrometry	11
F. Kerangka Teori	13
. Kerangka Konsep	14



BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Rancangan dan Lokasi Penelitian	16
B. Alat dan Bahan Tahap Persiapan	16
C. Metode Kerja	17
a. Pengambilan Sampel	17
b. Sterilisasi Alat	17
c. Pembuatan Medium	18
d. Isolasi Fungi Endofit	18
e. Pengujian Mikroskopik	19
f. Penyiapan Bakteri Uji	19
g. Pembuatan Larutan Standar McFarland	20
h. Pengujian Aktivitas Antimikroba Dengan Uji Antagonis	20
i. Fermentasi (Produksi Senyawa Metabolit)	20
j. Ekstraksi Senyawa Metabolit	21
k. Pengujian Aktivitas Antibakteri	21
l. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Skrining Fitokimia	21
m. Isolasi dan Pemurnian Senyawa Aktif	22
n. Identifikasi FTIR	25
o. Identifikasi GC-MS	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
A. Isolasi Fungi Endofit	27
. Uji Mikroskopik Fungi Endofit XP1 dan XP2	29



C. Uji Antagonis Isolat Fungi Endofit	31
D. Fermentasi Fungi Endofit	33
E. Ekstraksi Senyawa Aktif Fungi Endofit	34
F. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat XP2	35
G. Fraksinasi Ekstrak Isolat Etil Asetat Dari Fungi Endofit XP2	
H. Uji Aktivitas Daya Hambat Hasil Fraksinasi Isolat Etil Asetat Terhadap Bakteri Uji	39
I. Refraksinasi Ekstrak Fraksi 4 Dari Senyawa Isolat Fungi Endofit XP2	40
J. Uji Aktivitas Daya Hambat Hasil Refraksinasi dari Fraksi 4 Terhadap Bakteri Uji	41
K. Analisis Skrining Senyawa Subfraksi 4b	44
L. Analisis Gas Chromatografi – Mass Spectoscopy	45
M. Analisis <i>Infra Red Spectroscopy</i>	47
BAB V PENUTUP	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	55



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Uji Antagonis Isolat Fungi Endofit XP1	31
2. Uji Antagonis Isolat Fungi Endofit XP2	32
3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat (10%) dari fermentasi isolat XP2 terhadap beberapa bakteri uji (diameter penghambatan ditunjukkan dalam mm (milimeter))	35
4. Hasil Pengujian daya hambat dari fraksinasi ekstrak etil asetat terhadap bakteri <i>Salmonella thypi</i> (diameter penghambatan ditunjukkan dalam mm (millimeter))	39
5. Hasil Pengujian daya hambat dari subfraksi 4a, 4b, 4c, dan 4d (0,15 mg/disk) terhadap bakteri <i>Salmonella thypi</i> (diameter penghambatan ditunjukkan dalam mm (millimeter))	41
6. Hasil Pengujian daya hambat dari subfraksi 4a, 4b, 4c, dan 4d (0,15 mg/disk) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (diameter penghambatan ditunjukkan dalam mm (millimeter))	42



7. Hasil analisis skrining fitokimia senyawa subfraksi 4b	44
8. Data Spektrum IR senyawa subfraksi 4b	48



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Isolat fungi endofit XP1 dan XP2 dari daun <i>Syzygium polyanthum</i>	29
2. Isolat Fungi endofit XP1 (umur 4 hari) pada media PDA tampak dari atas (a); tampak dari bawah (b); dan bentuk mikroskopik pembesaran 100x	30
3. Isolat Fungi endofit XP2 (umur 4 hari) pada media PDA tampak dari atas (a); tampak dari bawah (b); dan bentuk mikroskopik pembesaran 100x.	31
4. Hasil Fermentasi Fungi Endofit XP2 dengan menggunakan shaker selama 18 hari (a), biomassa setelah penyaringan (b), dan medium yang telah disaring (c).	34
5. Ekstrak Etil asetat isolat Fungi Endofit XP2	35
6. Hasil kromatografi kolom dengan menggunakan eluen heksan:etil asetat (1:5) dengan penampakan setelah penyemprotan H ₂ SO ₄ (A); Penampakan di bawah lampu UV 366 nm (B); dan penampakan di bawah lampu UV 254 nm (C).	37



7. Ekstrak hasil kromatografi kolom ekstrak isolat etil asetat	38
8. Hasil fraksinasi ekstrak isolat etil asetat	38
9. Pengujian fraksi terhadap bakteri <i>Salmonella thypi</i>	40
10. Hasil refraksinasi kromatografi kolom dengan menggunakan eluen heksan:etil asetat (1:5) dengan penampakan di bawah lampu UV 254 nm(A); penampakan setelah penyemprotan H ₂ SO ₄ (B); dan penampakan di bawah lampu UV 366 nm (C).	41
11. Pengujian daya hambat subfraksi 4a, 4b, 4c, dan 4d terhadap bakteri <i>Salmonella thypi</i> (Kanan) dan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (kiri).	42
12. Hasil analisis skrining fitokimia menggunakan pereaksi Dragendorf dengan penampakan di bawah sinar tampak (A); di bawah lampu UV 254 nm (B) dan lampu UV 366 nm (C)	45
13. Hasil kromatogram analisis GC-MS dengan spesifikasi kolom yang digunakan adalah kolom SH-Rxi-5Sil MS, panjang kolom 30 m dengan diameter dalam 0,25 mm	45



14. Kromatogram hasil analisis dari senyawa subfraksi 4 (atas) dan pembanding senyawa Betulin (Bawah) berdasarkan pada library NIST dan Wiley 9	46
15. Data Spectrum kromatogram senyawa senyawa subfraksi 4b	47



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Hasil Pengukuran GC-MS	55
2. Hasil Pengukuran IR Spektroskopi	58
3. Komposisi Medium	57
4. Skema Kerja	58



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Indonesia yang merupakan negara yang memiliki hutan hujan tropis terbesar di dunia memiliki potensi sebagai penghasil tanaman obat yang sangat besar. Hanya sekitar 7.500 jenis tanaman yang telah diketahui memiliki manfaat sebagai tanaman obat dari sejumlah 30.000 jenis yang telah diidentifikasi. Dari 7.500 spesies ini, baru sekitar 1200 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan herbal atau jamu. Hasil riset Kesehatan Dasar (Risesdas) yang dilaksanakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan pada tahun 2013 menunjukkan sebesar 30,4% rumah tangga di Indonesia memanfaatkan pelayanan kesehatan tradisional. (sidomuncul, 2015).

Salah satu penyakit yang menjadi masalah penting dalam dunia kesehatan adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi banyak ditemukan di Negara yang beriklim tropis, seperti Indonesia. Suhu yang hangat dan kelembaban tinggi membuat bakteri dan jamur mudah untuk berkembang dan kemudian menyebabkan berbagai penyakit infeksi (Darmadi, 2008).

Bentuk pengobatan yang dilakukan untuk melawan infeksi adalah penggunaan antibiotika. Namun, dari solusi ini ternyata juga menambah kekeruhan keadaan dengan semakin meningkatnya resistensi antibiotika yang juga seiring dengan munculnya



mikroorganisme patogen yang berpotensi pada tingkat penyebaran secara global dengan cepat. Sehingga penemuan dan pengembangan sumber antibiotika yang baru merupakan usaha dalam mengatasi penyakit infeksi. (Menpara et al., 2013).

Resistensi antibiotika telah menjadi masalah kesehatan utama dan merupakan ancaman bagi kesehatan di dunia. Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotika memiliki berbagai mekanisme misalnya mencegah akses ke target obat dan memodifikasi antibiotika (Blair et al., 2015). Langkah penemuan dan pengembangan sumber antibiotika baru adalah dengan mengeksplorasi potensi metabolit sekunder dari bahan alam tanaman. Namun, untuk menemukan senyawa bioaktif diperlukan banyak tanaman atau bagian tanaman yang diekstraksi sehingga perlu usaha untuk menjaga kelestarian tanaman. Selain sintesis senyawa, cara untuk mencegah pengeksploitasian tanaman adalah dengan memanfaatkan mikroba endofit yang terdapat dalam jaringan tanaman (Strobel dan Daisy, 2013).

Mikroba endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang mirip dengan tanaman inangnya (Radji, 2005). Mikroba endofit dapat berupa bakteri ataupun fungi. Diantara keduanya, fungi endofit lebih banyak dilakukan penelitian karena lebih berpotensi silkan metabolit dan pertumbuhannya yang lebih mudah untuk ikan dibandingkan bakteri (Tan dan Zou, 2011). Hal ini dapat ia bahwa fungi endofit dapat dengan mudah diisolasi dari jaringan



tanaman yang permukaannya telah disterilkan dan dibudidayakan pada *dextrose agar*. Hubungan antara endofit dan tanaman inang adalah *latent phyto genesis* sampai simbiosis mutualisme (Aly et al. 2010). Endofit yang bersifat latent phyto genesis ini berkaitan dengan reaksi enzimatik dan terjadi di dalam jaringan tanaman. Hubungan tanaman inang dengan endofit ini memungkinkan terjadi rekombinasi genetik sehingga endofit dapat memproduksi beberapa phytochemical (alkaloid, terpenoid, derivat isokumarin, quinon, flavonoid, fenol, dan lain-lain) yang awalnya merupakan karakteristik dari tanaman inangnya (Huang et al. 2008).

Fungi endofit adalah jenis mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tumbuhan misalnya pada daun, batang, akar, bunga, buah, dan biji. Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas biologis dapat dihasilkan oleh fungi endofit. Senyawa-senyawa yang dihasilkan dapat memiliki aktivitas seperti anti kanker, antivirus, antibakteri, anti jamur, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida, dan lain-lain.

Berbagai jenis tanaman terutama tanaman obat, dapat dimanfaatkan sebagai sumber isolat fungi endofit. Jenis tumbuhan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat, terkhusus masyarakat etnis di Sulawesi Selatan sebagai bahan baku obat-obat tradisional oleh pengobat tradisional (Batra) antara lain dari suku Myrtaceae. Salah satu jenis yang



digunakan adalah salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). Salam merupakan pohon yang menghasilkan rempah dengan rasanya paling banyak pada bagian daunnya. Daun salam

mengandung banyak minyak atsiri dan beberapa senyawa yang memiliki aktivitas sebagai anti infeksi seperti quersetin, asam galat, alkaloid, saponin, asam fenol, steroid, flavonoid, dan terpenoid, hidrokvikol, dan derivate floroglusinol seperti anthuminoat dan anthuminon yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun salam.

Penelitian yang dilakukan oleh Lau *et al*, 2004, membuktikan ekstrak dalam daun salam memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *B. cereus* (MIC 0.31 mg/mL) dan *B. subtilis* (MIC 0,63 mg/mL). Penelitian yang dilakukan oleh Burhamzah dan Rante, 2017, menunjukkan bahwa isolat fungi endofit yang telah diisolasi dari daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Dari uraian di atas, penelitian tentang fungi endofit dari daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.) masih sedikit. Selain itu, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit tanaman *S. polyanthum* (Wight) Walp. juga masih belum diketahui karakteristik dari senyawa bioaktifnya sehingga perlu penelitian lebih lanjut dalam karakterisasi senyawa yang diproduksi dan kemudian diharapkan dapat menjadi kandidat senyawa antibakteri yang berpotensi dan bermanfaat dalam dunia kesehatan.

B. Rumusan Masalah



Berdasarkan pada latar belakang yang telah diuraikan di atas, dapat dirumuskan masalah adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit dalam daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.)?
2. Bagaimana karakteristik senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit dalam daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.) berdasar pada data spektroskopi?

C. Tujuan Penulisan

1. Mengetahui aktivitas antibakteri metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit dalam daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.)
2. Mengetahui karakteristik senyawa yang dihasilkan oleh isolat fungi endofit dalam daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.) berdasarkan data spektroskopi.

D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan, terkhusus dalam bidang mikrobiologi dan infeksi tentang pemanfaatan fungi endofit terkhusus lagi dari daun salam (*S. polyanthum* (Wight) Walp.) sebagai penghasil senyawa bioaktif antibakteri.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tanaman

1. Deskripsi Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.)

Salam tumbuh liar baik di daerah pegunungan maupun di daerah dataran rendah sampai 1400 m dpl. Salam merupakan pohon dengan tinggi mencapai 25 m, batang bulat, permukaan batang licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Helaian daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika diremas berbau harum. Bunga majemuk yang tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, baunya harum. Buahnya buah buni, bulat, diameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasanya agak sepat. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, berwarna coklat.

Adapun klasifikasi dari tanaman daun Salam adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
rdo	: Myrtales
amilia	: Myrtaceae



Genus : Syzygium

Spesies : *Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.)

Tanaman salam khususnya pada daunnya diketahui memiliki kandungan flavonoid, minyak atsiri (asam sitrat, eugenol, methyl chavicol, cis-4-decenal (27,12%), octanal (11,98%), α -pinene (9,09%), Farnesol (8,84%), β -ocimene (7,92%), dan nonanal (7,60%)), seskuiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, karbohidrat, selenium, tannin, dan niasin (Silalahi, 2017).

B. Uji Aktivitas Antimikroba

Metode yang paling umum digunakan untuk menganalisis aktivitas antimikroba dibedakan menjadi tiga metode yaitu metode difusi, metode dilusi dan metode bioautografi. Metode dilusi digunakan untuk analisis secara kuantitatif dengan menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Sedangkan metode difusi dan bioautografi merupakan teknik untuk analisis secara kualitatif karena metode ini hanya menunjukkan ada tidaknya senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba (Pratiwi, 2008).

1. Metode Difusi

Senyawa antimikroba yang hendak dianalisis aktivitas antimikrobanya akan berdifusi pada medium agar yang telah disiapkan mikroba uji. Dasar pengamatannya adalah dengan analisis ada atau tidaknya zona hambat pertumbuhan mikroba (1980). Metode difusi ini dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu :



a. Metode disc diffusion (tes Kirby & Bauer) / Metode cakram

Pada metode ini, kertas filter cakram (diameter \pm 6 mm), berisi senyawa uji yang ditempatkan pada permukaan yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroba uji. Kemudian, diinkubasi pada suhu kamar (27-29°C) selama 1 sampai 2 minggu untuk fungi dan pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk bakteri. Agen antimikroba akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroba uji. Kemudian ada atau tidaknya zona hambat dapat diamati di sekeliling cakram (Lorian, 1980). Pembacaan hasil percobaan didasarkan atas besarnya zona hambat yang terbentuk dan dinyatakan dalam tiga kategori (Lorian, 1980):

1. Zona hambat total : bila zona hambat yang terbentuk disekitar cakram terlihat jernih.
2. Zona hambat parsial : bila di dalam zona hambat yang terbentuk masih terlihat adanya pertumbuhan beberapa koloni baru.
3. Zona hambat nol : bila tidak ada zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram.

b. Ditch-plate technique/Metode parit

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen

uji (Pratiwi, 2008). Lalu, diinkubasi pada suhu kamar (27-29°C) 1 sampai 2 minggu untuk fungi dan pada suhu 37°C selama 18-24



jam untuk bakteri. Kemudian, diamati ada atau tidaknya zona hambat terhadap pertumbuhan mikroba uji disekeliling parit (Lorian, 1980).

c. Cup-plate technique/Metode lubang atau cawan

Metode ini serupa dengan metode disc diffusion, di mana dibuat lubang pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme. Pada lubang tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008). Lalu, diinkubasi pada suhu kamar (27-29°C) selama 1 sampai 2 minggu untuk fungi dan pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk bakteri. Kemudian, diamati ada atau tidaknya zona hambat terhadap pertumbuhan mikroba uji disekeliling lubang (Lorian, 1980).

C. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan suatu tehnik pemisahan yang menggunakan fase diam (stationary) dan fase gerak (mobile phase). Menurut Gandjar dan Rohman (2007), kromatografi dapat dibedakan atas berbagai macam tergantung pada pengelompokannya. Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi, kromatografi adsorpsi, kromatografi partisi, kromatografi pasangan ion, kromatografi eksklusi ukuran dan kromatografi afinitas. Sedangkan berdasarkan pada alat yang digunakan, kromatografi dapat dibagi atas, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), kromatografi gas, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, yang keduanya sering disebut dengan kromatografi planar.



Kromatografi lapis tipis umumnya banyak digunakan karena operasinya lebih mudah dan murah dibandingkan dengan

kromatografi kolom. Beberapa keuntungan lainnya yaitu kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk tujuan analisis, identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet, dapat dilakukan elusi secara mekanik (ascending), menurun (descending), atau dengan cara elusi 2 dimensi, dan ketepatan dalam penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Gandjar dan Rohaman, 2007).

Pemisahan kromatografi lapis tipis pada umumnya dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut pada kedua kromatografi ini dikarakterisasi dengan jarak migrasi solute terhadap jarak ujung fase geraknya. Faktor retardasi solut (R_f) dihitung dengan menggunakan perbandingan berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai maksimum R_f adalah 1 dan ini dicapai ketika solut mempunyai perbandingan distribusi (D) dan faktor retensi (k') sama dengan 0 yang berarti solut bermigrasi dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Nilai minimum R_f adalah 0 jika solut bertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam (Gandjar dan Rohman, 2007).

Retention factor (R_f) merupakan faktor dari sebuah nilai atau ukuran dapat berdasarkan posisi noda setiap zat terlarut pada plat grafi lapis tipis. Nilai R_f didapatkan dengan cara membagi nilai



antara jarak dari awal penotolan suatu senyawa hingga noda senyawa tersebut berhenti ketika proses eluasi selesai (a) dibagi dengan jarak eluasi (b). Nilai Rf memiliki rentang nilai dari 0.0 hingga 1.0, nilai ini dapat bervariasi karena disebabkan oleh berbagai faktor, seperti kualitas kelembaban, ketebalan plat, sorben, jarak eluasi, dan suhu lingkungan (Hosstetmann *et al.*,1995).

D. Spektroskopi Infra-Red (IR-Spectroscopy)

Spektroskopi infra merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0.75 – 1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000 – 10 cm^{-1} (Giwangkara, 2006).

*Dari pembagian daerah spektrum elektromagnetik tersebut di atas, daerah panjang gelombang yang digunakan pada alat spektroskopi inframerah adalah pada daerah inframerah pertengahan, yaitu pada panjang gelombang 2,5 – 50 μm atau pada bilangan gelombang 4.000 – 200 cm^{-1} . Daerah tersebut adalah cocok untuk perubahan energi vibrasi dalam molekul. Daerah inframerah yang jauh (400-10 cm^{-1} , berguna untuk molekul yang mengandung atom berat, seperti senyawa anorganik tetapi lebih memerlukan teknik khusus percobaan (Silverstein *et al.*, 2005).*

E. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

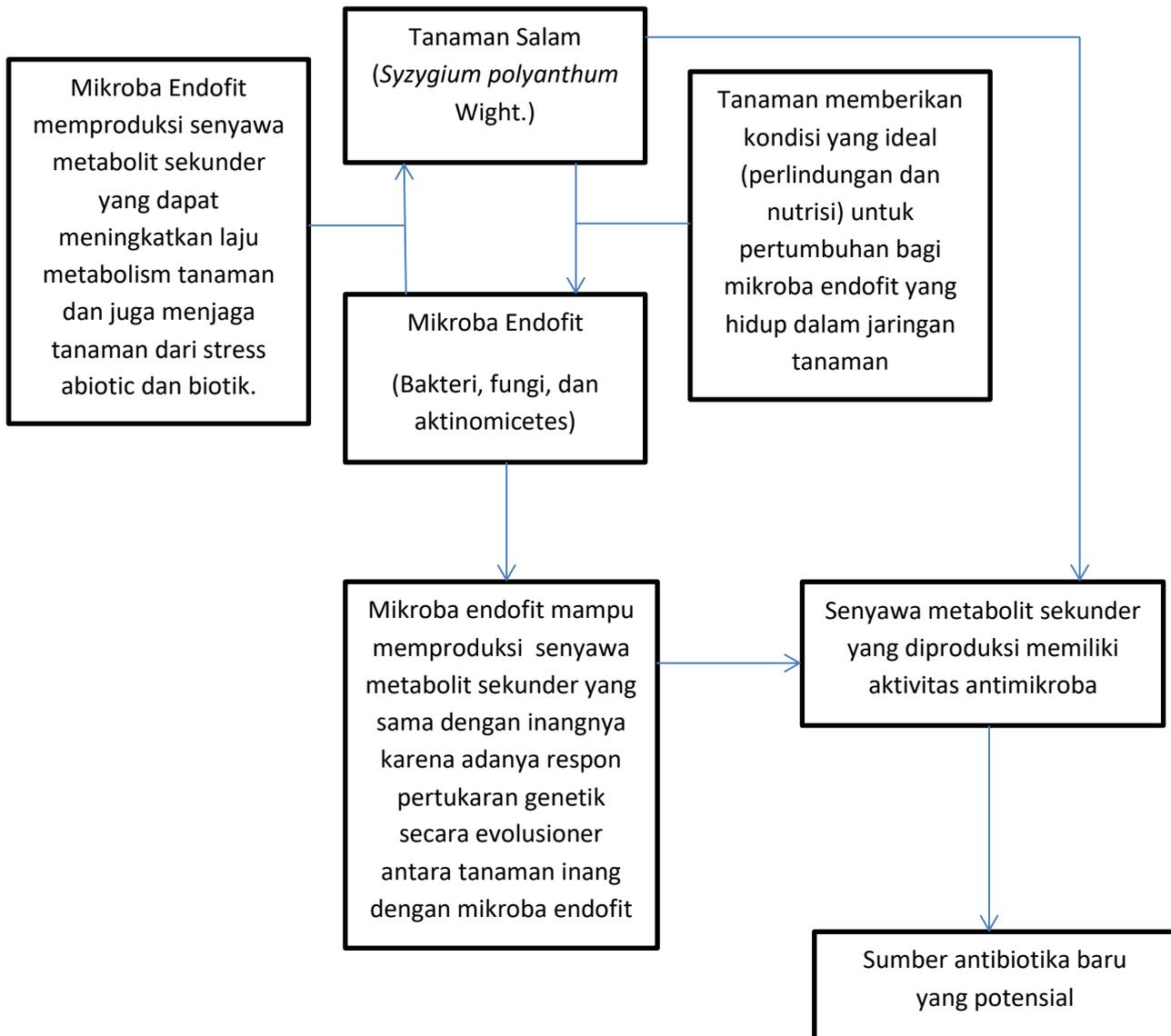


omponen utama GC-MS terdiri dari kromatografi gas dan grafi massa. Kromatografi gas memiliki kolom kapiler yang

bergantung pada dimensi kolom yakni panjang, diameter, ketebalan film, serta sifat fase (sebagai contoh: 5% fenil polisiloksan). Perbedaan sifat kimia antara molekul-molekul yang berbeda dalam campuran dipartisi antar molekulnya dengan mengalirkan sampel disepanjang kolom. Molekul-molekul senyawa ini membutuhkan waktu yang berbeda-beda (yang disebut waktu retensi) untuk keluar dari kromatografi gas, dan ini yang memungkinkan spektrometri massa untuk menangkap, mengionisasi, mempercepat, membelokkan dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah. Spektroskopi massa mendeteksi fragmen masing-masing molekul dalam model ion (Hanny setyowati, 2013).



F. KERANGKA TEORI



G. Kerangka Konsep

