

**ISOLASI DAN SKRINING MIKROBA ENDOFIT PENGHASIL  
ANTIMIKROBA DARI TANAMAN MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* DAN *Candida albicans***

**OLEH :  
NUR ABU  
H 411 05 007**



SKR-MPTD  
ABU  
i

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2010**

**ISOLASI DAN SKRINING MIKROBA ENDOFIT PENGHASIL  
ANTIMIKROBA DARI TANAMAN MANGGIS  
(*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP *Escherichia coli*, *Bacillus  
subtilis* DAN *Candida albicans***

**NUR ABU  
H 411 05 007**

*Skripsi ini dibuat untuk Melengkapi Tugas Akhir dan memenuhi Syarat untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana Biologi*

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**ISOLASI DAN SKRINING MIKROBA ENDOFIT PENGHASIL  
ANTIMIKROBA DARI TANAMAN MANGGIS  
(*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP *Escherichia coli*, *Bacillus  
subtilis* DAN *Candida albicans***

Disetujui oleh :

**Pembimbing Utama**



**Dra. Zaraswati Dwiyanana M.Si**  
19651209199008 2 001

**Pembimbing Pertama**



**Drs. Asadi Abdullah M.Si**  
19620303198903 1 007

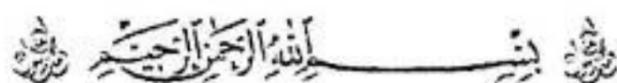
**Pembimbing Kedua**



**Dra. Elis Tambaru M.Si**  
196301021999002 2 001

Makassar, 18 Mei 2010

## PRAKATA



Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Segala puji dan syukur hamba haturkan kepada Rabb Semesta alam sumber segala kebenaran, sumber ilmu pengetahuan, Sang Maha Pencipta dengan segala keteraturan tanpa sesuatupun yang cacat, sang kekasih tercinta yang tak terbatas pencahayaan-Nya bagi makhluk-Nya. Maha suci engkau atas rahmat dan hidayah-Mu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Isolasi Dan Skrining Mikroba Endofit Penghasil Antimikroba Dari Tanaman Manggis *Garsinia mangostana* L., terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans* , sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hassanuddin. Shalawat serta salam kepada nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan orang-orang yang senantiasa istiqamah mengikutinya sampai akhir hayat.**

Terima kasih tak terhingga penulis haturkan untuk kedua orang tua penulis **ayahanda Abu dan Ibunda Hj. Nurhaeda alm** atas segala cinta kasih dukungan moral dan moril, kata terima kasih tidak akan pernah cukup untuk menggambarkan wujud penghargaan pada keduanya kepada saudara-saudaraku **As'ad, Suhaeni, M. Amin, Rahma, Suriyani dan Hamid** atas segala semangat yang diberikan kepada penulis.

Ucapan terima kasih yang tidak terhingga penulis sampaikan kepada **Dra. Zaraswaty Dwiyanu M. Si (selaku pembimbing utama), Drs. Asadi M.Si**

(sebagai pembimbing pertama) dan Dra. Elis Tambaru M.Si (sebagai pembimbing kedua) , atas nasihat, ilmu, waktu, pemikiran, kesabaran serta bimbingan selayaknya orang tua sendiri, permohonan maaf penulis sampaikan atas segala kesalahan yang penulis lakukan dalam penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.

Tak lupa juga penulis ucapan terima kasih kepada:

- Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta para staf.
- Ketua serta sekretaris jurusan Biologi Dr. Edy Soekandarsih M.Sc, dan Dr.Facharuddin M.Si serta seluruh dosen yang telah membagi ilmunya serta staf jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, terima kasih atas bantuan dan kerja samanya.
- Tim penguji Ujian Sarjana Biologi
- Motifator yang sangat bijak Arniati Samaila S.Si, dan Dewi S. Sos terima kasih atas ilmu dan semangat yang diberikan pada penulis selama ini.
- Sahabat-sahabatku (Sukarti, Hadijah , Arni, Rahmi dan Jufriadin), yang selalu setia dalam suka dan duka, mengajarkan penulis tentang arti cinta dan pengorbanan, semoga Allah selalu mempersatukan kita dalam ikatan hati yang tidak pernah putus dijalan-Nya,
- Teman-teman di SC-LOCUS UNHAS. Tetaplah berjuang karena perubahan itu adalah suatu keniscayaan.
- Komunitas tercinta Biologi 2005 (BIOMA) : Fatmanugraha MT, Tenny Intani, Fitriwani Wanty, Hijral Aswad, Riskayati, Hadijah, Nurul Hidayah

SB, Rahmawati, Ita Puspita Bahar, Islamiah Iskandar, Puji Utari Asri, Masira Salahuddin, Sari Sepriani Tangke, Adriani Mutmainnah, Nur Faidah Munir, Isra Mijrayanti, A. Zulkifli, Nur Alam, Fuad Gani, Nur Afiah, Saudi, Sudarmono, Jamil Aqbar, Marjuni, Junarli Sali. Terima kasih atas kebersamaannya.

- Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Makassar, Mei 2010

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai Isolasi dan Skrining Mikroba Endofit Penghasil Antimikroba dari tanaman manggis *Garsinia mangonstana* L., terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans*. Penelitian ini meliputi isolasi mikroba endofit dari kulit batang tanaman manggis kemudian dilakukan kultivasi, purifikasi, pengecatan gram, fermentasi menggunakan *Potato Dextrose Broth* untuk pertumbuhan kapang dan *Nutrien Broth* untuk pertumbuhan bakteri dan skrining mikroba endofit dengan melakukan uji terhadap bakteri patogen. Uji antimikroba dilakukan dengan cara difusi cakram dengan menggunakan *Nutrien Agar* untuk pertumbuhan bakteri dan *Potato Dextrose Agar* untuk pertumbuhan kapang. Hasil penelitian diperoleh 8 isolat bakteri endofit dan 3 isolat kapang. tanaman Manggis *garsinia mangonstana* L., memiliki potensi sebagai penghasil antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans* yang dapat dilihat dari hasil aktivitas uji daya antimikroba. Aktivitas terbesar pada supernatan ekstrak kulit batang terlihat pada isolat B2 terhadap *E.coli* sebesar 13,78 mm, isolat B5 sebesar 15,63 mm terhadap *B.subtilis* dengan lama inkubasi 48 jam. Aktivitas terbesar pada pelet ekstrak kulit batang terlihat pada isolat B5 terhadap *E.coli* dan *B.subtilis* sebesar 9,15 mm dan 14,48 mm dan isolat B8 sebesar 13,78 mm terhadap *C. albicans* dengan lama inkubasi 48 jam. Untuk kapang endofit diperoleh zona hambat terbesar pada isolat F2 terhadap *C. albicans* dengan lama inkubasi 72 jam. Supernatan dari ekstrak kulit batang tanaman Manggis *Garsinia mangonstana* L., bersifat bakterisida untuk beberapa isolat bakteri endofit. Sedangkan pada isolat kapang tidak menunjukkan aktivitas antifungi.

Kata kunci : *Garsinia mangostana* L. *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* *Candida albicans*, mikroba endofit.

## ABSTRAC

Carried out the research about the Endofit microbial isolation and screening as produser the antimicrobia of Manggista plant. *Garsinia mangostana* L. for *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*. This research coverage the endofit microbial isolation of stem epidermis skin in Manggista plant then be done cultivation, paint gram purification, fermentation using *Potato Dextrose Broth* for mold growth and *Nutrien Broth* for bacteria growth and screening of endofit microbial with carried out assay fot the pathogen bacteria. Yield of research was received 8 isolat of endofit bacteria and 3 fungous isolate. Manggista Plant. *Garsinia Mangostana* L., has potency as antimicrobial producer for *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans* that can be observed according of yield the assay activity for antimicrobia capacity. Activity is the largest in extract supernatant of stem epidermis skin has been view in B5 isolat for *E.coli* and *B.subtilis* what their large were 9,15 mm and 15,63 mm for *B.subtilis* with incubation time for 48 hours. The activity is the largest for pellet of extract stem epidermis skin has been view in B5 isolat for *E.coli* and *B.subtilis* in large are 9,15 mm and 14,48 mm and B8 isolat in large is 13,78 mm for *C.albicans* for incubation time is 48 hours. For endofit mold was received the largest block zone in F2 isolat for *C.albicans* with incubation time for 72 hours. Supernatant of epidermis skin for Manggista plant stem. *Garsinia mangostana* L., characteristicly as bacteriocide for some of endofit bacteria. While for the isolate of mold has not showed antifungous activity.

Keywords : *Garcinia mangostana* L., *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, endofit microbia

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
LAMPIRAN.....	xiv
<b>BAB. I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	3
I.3 Manfaat. Penelitian.....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
II.1. Gambaran Umum Manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L.....	4
II.1.1. Asal-Usul .....	4
II.1.2 Sifat Botani.....	5
II.1.3 Kegunaan .....	7
II.1.4 Agroekologi.....	8
II.2 Mikroba Endofit.....	8
II.3 Metabolit sekunder.....	11

II.4 Fase Pertumbuhan Mikroba.....	12
II.5 Antimikroba.....	14
II.6 Uji Aktivitas Antimikroba.....	14
II.6.1 Cara Pengenceran (Teknik Dilusi).....	14
II.6.2 Cara Difusi.....	15
II.6.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Uji Aktivitas Antimikroba.....	17
II.7 <i>Escherichia coli</i> .....	19
II.8 <i>Bacillus subtilis</i> .....	20
II.9 <i>Candida albicans</i> .....	22
II.10 Pengecatan Gram.....	23
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	24
III.1. Alat .....	24
III.2. Bahan .....	24
III.3 Prosedur Kerja.....	24
III.3.1 Pemilihan Tanaman.....	24
III.3.2 Kultivasi Endofit dari tanaman manggis <i>Garsinia</i> <i>mangonstana</i> L.....	25
III.3.3 Isolasi Endofit dari media perbenihan.....	25
III.3.4 Pengecatan Gram Isolat Mikroba Endofit.....	26
III.3.5 Fermentasi isolat kapang endofit tanaman Manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L.....	26

III.3.6	Fermentasi isolat bakteri endofit tanaman Manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L.....	27
III.3.7	Pembuatan suspensi larutan uji.....	27
III.3.8	Skrining mikroba endofit penghasil antimikroba dari tanaman manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L.	28
<b>BAB IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
IV.1.	Hasil dan Pembahasan .....	30
IV.1.1.	Isolasi Mikroba Endofit dari Tanaman Manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L.....	30
IV.1.2.	Purifikasi Mikroba Endofit.....	31
IV.1.3.	Fermentasi Mikroba Endofit.....	34
IV.1.4.	Uji Daya Antimikroba.....	34
<b>BAB V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
V.1	Kesimpulan.....	43
V.2	Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>44</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon Manggis.....	5
2. Buah Manggis .....	7
3. Kurva Pertumbuhan bakteri.....	13
4. Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	20
5. Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	22
6. Bakteri <i>Candida albicans</i> .....	23
7. Hasil isolasi mikroba endofit dari tanaman manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L. Isolat bakteri endofit (A), isolat kapang endofit(B).....	30
8. Isolat bakteri B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8.....	32
9. Pengecatan isolat bakteri endofit.....	33
10. Isolat jamur endofit F1, F2 dan F3.....	33
11. Pengamatan mikroskopis kapang endofit F1, F2, dan F3.....	34
12. Supernatan bakteri endofit dengan lama inkubasi 24 jam (I) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	36
13. Supernatan mikroba endofit dengan lama inkubasi 48 jam (II) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	37
14. Pelet kapang endofit dengan lama inkubasi 72 jam (I), A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	37

15. Pelet bakteri endofit dengan lama inkubasi 48 jam (II) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	38
16. Supernatan kapang endofit dengan lama inkubasi 72 jam (I) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	38
17. Supernatan kapang endofit dengan lama inkubasi 168 jam (II) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> ...	39
18. Pelet kapang endofit dengan lama inkubasi 72 jam (I), pelet dengan lama inkubasi 168 jam (II) A. <i>Bacillus subtilis</i> , B. <i>Escherichia coli</i> dan C. <i>Candida albicans</i> .....	40

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Pengamatan karakter koloni bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L. ....	32
2. Pengamatan karakter koloni kapang endofit yang diisolasi dari tanaman manggis <i>Garsinia mangonstana</i> L. ....	33
3. Supernatan hasil inkubasi bakteri endofit.....	36
4. Pelet hasil inkubasi bakteri endofit .....	37
5. Supernatant hasil inkubasi kapang endofit .....	38
6. Pelet hasil inkubasi kapang endofit.....	40

## LAMPIRAN

	Halaman
1. Skema kerja.....	48

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dahulu. Pada dasawarsa terakhir ini penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah penerimaan masyarakat sendiri terhadap manfaat dan kegunaan tumbuhan obat dalam pemeliharaan kesehatan (Elya, 2003).

Menurut Sidik (2004) dalam penelitiannya menyebutkan, bahwa diperkirakan di seluruh dunia terdapat 250 ribu tumbuhan tingkat tinggi. Sekitar 250.000 jenis tumbuhan tingkat tinggi seperti ditemukan di atas, 54 % diantaranya terdapat di hutan-hutan tropika dan Indonesia dengan hutan tropikanya yang ditumbuhi oleh lebih dari 30.000 jenis tumbuhan tingkat tinggi sangat berpotensi untuk diteliti dan dikembangkan oleh para peneliti Indonesia.

Potensi tanaman sebagai bahan baku obat juga sangat berhubungan dengan keberadaan organisme endofit pada jaringan tanaman dan merupakan sumber penemuan bahan baku obat. Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Sejumlah besar tumbuhan di Indonesia dapat ditemukan keanekaragaman endofit yang sangat besar yang berpotensi sebagai bahan baku obat secara alami. Potensi yang sangat besar dari

mikroba endofit ini belum dikembangkan dan dimanfaatkan secara maksimal dalam proses industrialisasi baik di bidang farmasi maupun pertanian (Aisyah, 2004).

Mikroba endofit sangat berpotensi sebagai penghasil senyawa-senyawa baru berkhasiat obat, metabolit sekunder, pengontrol biologi dan berbagai senyawa yang bermanfaat, sehingga diperlukan pengembangan atau penelitian untuk mempelajari hubungan antara tanaman dan mikroba endofit (Winarno,2006).

Menurut Chistine (1985) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa genus *Garcinia* merupakan salah satu tumbuhan tropis yang termasuk dalam familia, *Clusiaceae (Guttiferae)*, mempunyai lebih kurang 180 spesies. Tumbuhan ini banyak tersebar di Indonesia, yang umumnya dikenal sebagai tumbuhan manggis-manggis. Di Asia Tenggara terdapat sekitar 30 spesies yang menghasilkan buah yang dapat dimakan, seperti *Garcinia mangostana* L.,( manggis), *Garcinia parvifolia* (kandis), dan *Garcinia dulcis* (mundu). Beberapa spesies *Garcinia* juga tumbuh di daerah subtropis, seperti di kepulauan Jepang, Korea dan di sebagian wilayah dataran Cina (Anonim, 2003).

Manggis sering digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional di samping karena mudah didapatkan tanaman manggis juga menghasilkan resin berwarna kuning yang digunakan sebagai pernis dan mengobati luka. *Garcinia* jenis ini memiliki aktivitas farmakologi seperti antileukimia, antibakteri, antioksidan, antiradang, antidiare (Wahyuono ,1999).

Menurut Souwalak *et al* (2006) dalam penelitiannya yang mengisolasi mikroba endofit dari daun dan batang beberapa jenis manggis yang ada di Thailand

diantaranya *G. atroviridis*, *G. dulcis*, *G. mangostana*, *G. nigrolineata* dan *G. scortechinii* menemukan adanya aktivitas mikroba endofit terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Cryptococcus neoformans*.

Penelitian yang berhubungan dengan mikroba endofit pada tanaman manggis yang banyak terdapat di Indonesia seperti *Garsinia mangostana* belum banyak diketahui untuk itu akan dilakukan penelitian tentang isolasi dan skrining mikroba endofit penghasil antimikroba dari tanaman manggis terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans*.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi mikroba endofit dari tanaman manggis *Garsinia mangostana* L., sebagai penghasil antimikroba.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui keanekaragaman dan potensi mikroba endofit tanaman manggis *Garsinia mangostana* L.

## **I.5 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2009 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Gambaran Umum Manggis *Garsinia mangostana* L.

##### II.1.1 Asal- Usul

Tanaman manggis berasal dari daerah semenanjung Malaysia. Daerah penyebarannya Myanmar, Kamboja, Thailand dan Filipina. Jenis liar seperti *Garsinia hombroniana* Pierre dan *Garsinia malaccensis* T. Andreson terdapat di Malaysia, Sedangkan *Garsinia celebica* L., dan *Garsinia dioica* BL., terdapat di Kalimantan. Diduga *Garsinia malaccensis* T., sama dengan *Garsinia celebica* L., yang bergetah kuning seperti *Garsinia mangostana* L. (Sunarjono, 2008).

Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti Manggu (Jawa Barat), Manggus (Lampung), Manggusto (Sulawesi Utara) dan Manggista (Sumatra barat) (Anonim, 2009).

Beberapa pustaka menyebutkan bahwa *Garsinia mangostana* L., merupakan alotetraploid dari persilangan antara *Garsinia hombroniana* P., dengan *Garsinia maleccensis* T. Oleh karena itu, persilangan antara manggis dengan manggis liar *Garsinia maleccensis* T., kemungkinan besar akan menghasilkan hybrid manggis yang tidak berbiji (*seedless*). Sementara manggis (komersial) yang ada sekarang apomiksis (buah dan biji berbentuk tanpa melalui perkawinan). Biji apomiksis dipengaruhi oleh hormon endogen. Hal ini dikarenakan tepung sari (kelamin jantan) bunga manggis bersifat rudimeter (tidak berfungsi) (Sunarjono, 2008).

Menurut Tjitrosoepomo (2004), klasifikasi dari manggis *Garsinia mangostana* L., adalah sebagai berikut:

- Regnum : Plantae
- Divisio : Spermatophyta
- Subdivisio : Angiospermae
- Classis : Dicotylodoneae
- Subclassis : Dialypetalae
- Ordo : Clusiales
- Familia : Clusiaceae
- Genus : *Garsinia*
- Spesies : *Garsinia mangostana* L.



Gambar 1. Pohon Manggis (foto pribadi)

### II.1.2 Sifat Botani

Manggis berhabitus pohon, tinggi pohon sekitar 20 m, tanaman daun muda muncul 1-2 kali setahun. Hal ini dikarenakan akar sampingnya hanya sedikit (Sunarjono, 2008).

a. Akar (Radix)

Tanaman manggis mempunyai perakaran tunggang (radix primaria) dan akar samping (radix lateralis) yang jumlahnya sedikit tetapi perakarannya dalam.

b. Batang (Caulis)

Batang bercabang banyak dan tidak rata. Kulit batang berwarna hitam. Batang bagian bawah tanaman manggis (*Garcinia mangonstana* L.) lebih besar dan ke ujung semakin mengecil. Arah tumbuh batang tegak lurus (*erectus*).

c. Daun (Folium)

Tajuk daun (kanopi) tampak indah menyerupai setengah kerucut. Daunnya lebar dan tebal.

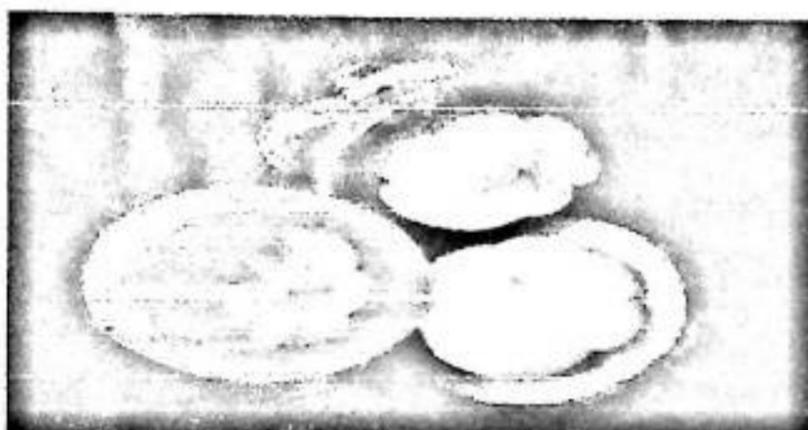
d. Bunga (Flos)

Bunga berukuran besar, Kelopak bunga tebal terdiri dari 4 helai dan berwarna hijau, putik pendek, bakal buah bulat besar berwarna hijau dan kepala putik bercabang 4-8 yang tetap melekat pada ujung buah.

e. Buah (Fructus)

Buah yang telah matang berwarna merah kecoklatan dengan bekas kepala putik berwarna merah kehitaman. Semua bagian tanaman yang masih muda bergetah kekuningan. Buah mempunyai 4-8 segmen sama dengan banyaknya cabang kepala putik, namun yang menjadi biji adalah berukuran besar, umumnya hanya 1-3 buah. Biji terbentuk tanpa melalui penyerbukan atau apomiksis.

Biji dibalut dengan daging buah yang merupakan arellus (jaringan selaput biji) berwarna putih bersih dan rasanya segar. Setiap biji yang besar mempunyai sekat (Sunarjono, 2008).



Gambar 2. Buah Manggis

Sumber: [www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?mmu=2&id=239](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mmu=2&id=239)

### II.1.3 Kegunaan

Kayu dari pohon manggis tidak dapat digunakan sebagai bahan bangunan. Namun, kulit kayunya dapat digunakan untuk ramuan obat tradisional untuk sakit perut. Kulit buah mengandung zat kimia yang bersifat antibiotik (xanthonin) dan dapat pula digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan cat antikarat (cat berwarna hitam yang tahan cuci). Tumbukan kulit buah manggis bila dioleskan pada tangkai manggar (seludang) yang akan disadap dapat memicu keluarnya cairan nira lebih banyak pada penyadapan kelapa. Salut biji (arellus) merupakan buah meja yang lezat dan segar (Sunarjono, 2008).

Telah dilakukan penelitian pada *Garcinia speciosa* dan *Garcinia multiflora* memiliki kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai anti-HIV (Rukachaisiriku, 2003, Adaramoya, dkk 2005). *Garcinia celebica* dan *Garcinia*

*tetandra* memiliki potensi sebagai antibakteri. *Garcinia kola* memiliki potensi sebagai *free radical scavenger* dan sebagai inhibitor pertumbuhan virus ebola . Tumbuhan *Garcinia* ini juga telah digunakan masyarakat sebagai obat untuk menurunkan kadar kolesterol (Verheij, 2003). Kulit buah *Garsinia mangostana* L. ,diketahui dapat menolong penderita diabetes karena mengandung zat xamthoneplu (Anonim, 2008).

#### **II. 1.4 Agroekologi**

Tanaman manggis dapat hidup pada dataran rendah sampai dataran tinggi 600 m dari permukaan laut dengan tipe iklim basah. Curah hujan antara 1.500-3.000 mm/tahun dan merata sepanjang tahun. Suhu udara rata-rata 20-30 °C, pH tanah 5-7, tetapi lebih toleran pada pH rendah (masam) di lahan gambut. Daunnya sangat peka terhadap sinar matahari langsung karena mudah terbakar. Manggis hidup di daerah beriklim agak lembab hingga agak kering, Bibit yang baru dipindah ke kebun harus di beri naungan (Sunarjono, 2008).

#### **II.2 Mikroba Endofit**

Mikroba endofit adalah mikroba yang sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam jaringan hidup tanaman inang tanpa memberikan tanda-tanda adanya gejala yang merugikan (Wahyudi, 2001). Mikroba endofit merupakan kelompok yang menarik perhatian dikarenakan adanya hubungan yang terjadi antara organisme tersebut dengan berbagai jaringan tanaman. Mikroba endofit berasosiasi dengan jaringan hidup pada tanaman, dalam hal ini terjadi interaksi antara mikroba endofit dengan tanaman. Hubungan ini diperkirakan saling menguntungkan (simbiosis

mutualisme) dimana tanaman memberikan nutrisi untuk mikroba lalu mikroba mentransformasikan dan menghasilkan senyawa bioaktif (Stobel *et al*, 1998).

Mikroorganisme endofit mempunyai arti ekonomi yang penting di masa depan. Dari studi yang telah banyak dilakukan terhadap mikroba endofit dari jaringan tanaman yang melakukan interaksi langsung dengan udara (daun, ranting, cabang, dan batang) memberikan indikasi bahwa endofit sangat prospektif sebagai sumber metabolit sekunder baru seperti enzim-enzim perombak, zat pengatur tumbuh tanaman, dan antibiotik yang bermanfaat di bidang bioteknologi dan pertanian, maupun farmasi (Bills dan Polyshook, 1992 dalam Suwahyono, 1999 dalam Purwanto, 2008).

Endofit mampu menghasilkan enzim yang penting untuk kolonisasi dalam jaringan tanaman. Enzim-enzim yang dihasilkan seperti enzim perombak oligosakarida, enzim xylinase, enzim mannanase dan insulin. Selain itu endofit juga dapat menghasilkan pemacu tumbuh, hormon dan zat antibiotik serta metabolit sekunder lain yang bermanfaat dalam bidang pertanian, farmasi dan industri (Stobel *et al*, 1998).

Umumnya jenis mikroba endofit dapat diisolasi dari semua jaringan tanaman, namun memerlukan seleksi dan skrining yang ketat untuk dapat mengetahui potensi endofit. Isolasi mikroba endofit dilakukan dengan metode langsung (*direct seed*) yaitu dengan menempelkan ranting atau cabang tanaman sampel di atas media NA (*Nutrient Agar*). Inkubasi dilakukan pada suhu ruang 5-7 hari (tergantung laju pertumbuhan isolat bakteri atau fungi endofit). Waktu inkubasi yang cukup lama

disebabkan bahwa sebagian mikroba endofit mempunyai sifat sebagai mikroorganisme lambat tumbuh, namun pertumbuhan mikroba endofit tropis yang cukup lama tersebut (5-7 hari) masih lebih cepat dibandingkan dengan mikroba endofit di daerah subtropis dan di daerah dingin yang membutuhkan waktu pertumbuhan antara 1-3 minggu (Wahyudi, 1997 dalam Aisyah, 2004).

Indonesia dengan kekayaan jenis-jenis tanaman belum menyadari akan potensi yang sangat besar dari mikroba endofit ini, sehingga perlu upaya untuk memulai mengkaji keanekaragaman mikroba endofit dari tanaman dan potensinya. Studi yang dilakukan terhadap mikroba endofit dari jaringan tanaman memberikan peluang untuk dijadikan modal yang amat berharga yaitu diantaranya mampu menghasilkan metabolit sekunder seperti enzim-enzim perombak, zat pengatur tumbuh dan antibiotik. Metabolit sekunder yang dihasilkan dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, industri maupun pertanian, sedangkan untuk antibiotik para ahli terus melakukan penelitian guna mencari antibiotik baru dari berbagai tempat (tanah dan tanaman), lebih dari 4000 antibiotik telah ditemukan namun diperkirakan hanya 0,3 % dari keseluruhan antibiotik yang disebutkan dalam pustaka ilmiah digunakan dalam pengobatan ataupun pertanian. Resistensi mikroba penyebab infeksi terhadap beberapa antibiotik tertentu melalui berbagai cara menimbulkan permasalahan dalam mengatasi penyakit infeksi. Terjadinya resistensi ini menjadi pendorong untuk mendapatkan antibiotik baru (Aisyah, 2004).

### II.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah hasil metabolisme yang disintesis oleh beberapa mikroba tertentu yang tidak digunakan sebagai kebutuhan pokok mikroba untuk tumbuh dan hidup, melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya. Bila proses interaksi tersebut bersifat tekanan (*stress*) bagi mikroba seringkali kadar metabolit sekunder yang disintesis dapat meningkat dengan pesat (Sumaryono, 2000).

Metabolit sekunder tidak diproduksi pada waktu pertumbuhan sel secara cepat (fase eksponensial), tetapi biasanya dibentuk selama fase stasioner yaitu pada populasi sel tetap, karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase ini sel mikroba lebih tahan terhadap keadaan ekstrim misalnya suhu yang lebih panas atau dingin, radiasi, bahan-bahan kimia dan metabolit sekunder yang dihasilkannya sendiri misalnya antibiotik (Judoamidjojo, *et al*, 1992).

Ciri-ciri metabolit sekunder (Pratiwi, 2008) :

- Dibuat melalui proses metabolit sekunder
- Diproduksi selama fase stasioner
- Umumnya diproduksi oleh fungi filamenteus dan bakteri pembentuk spora
- Merupakan kekhasan bagi organisme tertentu
- Biasanya berhubungan dengan aktivitas antimikroba, enzim spesifik, penghambatan, pendorong pertumbuhan dan sifat-sifat farmakologis.

## II.4 Fase Pertumbuhan Mikroba

Kurva pertumbuhan mempunyai bentuk sigmoid dan dapat dibedakan dalam beberapa tahap pertumbuhan yang muncul secara teratur antara lain (Schlegel, 1994):

- Fase Permulaan (lag phase)

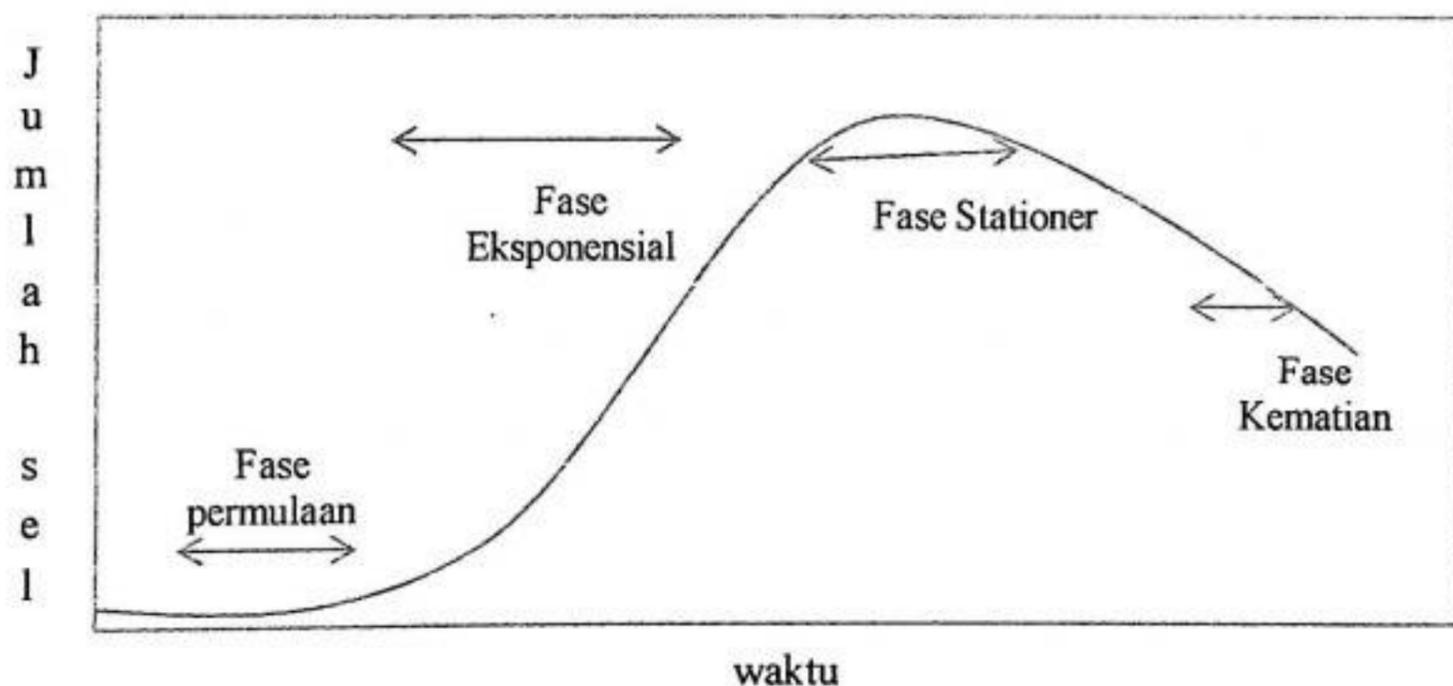
Mencakup interval waktu antara saat penanaman dan saat tercapainya kecepatan pembelahan maksimum. Lamanya fase ini tergantung dari biak awal, umur bahan yang ditanam, juga sifat larutan biak. Dalam fase ini bakteri belum mengadakan perbanyakan sel, ukuran sel membesar, yang disebabkan oleh adanya pemasukan air imbibisi ke dalam sel. Menurut Dwiyana (2008) keadaan laten atau lag dari populasi bakteri ini diakibatkan oleh pasokan metabolit yang tidak mencukupi atau oleh tidak aktifnya suatu enzim, sehingga seluruh metabolismenya terhambat. Ini disebabkan oleh keberadaan sel bakteri dalam lingkungan baru hingga sel harus menyesuaikan diri.

- Fase eksponensial (Eksponensial phase)

Kecepatan pembelahan maksimum yang konstan. Kecepatan pembelahan diri selama fase log bersifat spesifik untuk tiap jenis bakteri dan tergantung lingkungan. Terjadi perubahan-perubahan sel sepanjang pertumbuhan eksponensial, karena lingkungan juga berubah, konsentrasi substrat semakin berkurang, kerapatan sel bertambah, dan produk-produk metabolisme tertimbun.

- Fase stasioner (Stasionary phase)

Selama fase ini kecepatan pertumbuhan adalah nol. Namun masih dapat terjadi pertumbuhan sel. Kecepatan pertumbuhan tergantung pada keterbatasan kadar substrat, juga kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah, dan timbunan produk toksik dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan. Pada fase stasioner, bahan-bahan simpanan masih dapat digunakan, sebagian ribosom dapat diuraikan dan masih ada pembentukan enzim. Selama energi yang dibutuhkan untuk mempertahankan sel-sel masih dapat diperoleh dengan respirasi bahan simpanan dan protein, bakteri masih mampu mempertahankan hidup untuk jangka yang lama.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri

- Fase Kematian (Death declining phase)

Jumlah sel hidup berkurang secara eksponensial. Kemungkinan bahwa sel-sel dihancurkan oleh pengaruh enzim asal sel sendiri (otolisis).

## II.5 Antimikroba

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obatan yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia. Zat antimikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya zat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba tapi relatif tidak toksik untuk hospesnya (Ganiswara, 1995).

Antimikroba dapat bersifat (Zaraswati dan Nurhaedar, 2008) :

- Bakteriostatik , yaitu menghambat dan menghentikan pertumbuhan atau mikroorganisme (bakteri).
- Bakteriosida yaitu bersifat membunuh mikroorganisme atau bakteri. Dalam hal ini jumlah mikroorganisme akan berkurang atau bahkan habis sehingga tidak dapat melakukan multiplikasi atau berkembang biak.

Intensitas kerja suatu antimikroba dinyatakan dengan beberapa kadar yang dibutuhkan untuk tercapainya suatu efek antimikroba. Umumnya intensitas kerja diberikan dalam konsentrasi hambat minimum (*minum inhibition concentration*). Artinya adalah kadar batas suatu antimikroba yang secara *in vitro* bekerja terhadap suatu jenis antimikroba (Mutschler, 1991).

## II.6 Uji Aktivitas Antimikroba

### II.6.1 Cara Pengenceran (Teknik Dilusi)

Metode ini pada prinsipnya mempergunakan zat antibakteri yang diencerkan secara serial lalu dicampur dengan medium dan kemudian di inokulasi dengan kuman, inkubasi dilakukan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya bakteri (Cheppy, 2003).

Cara ini terbagi menjadi 2 metode yaitu (Aisyah, 2004):

- **Cara penipisan lempeng**, cara ini menggunakan medium yang berbentuk agar dan ditempatkan secara serial dengan konsentrasi kelipatan dua, lalu di campur dengan medium agar yang sebelumnya telah dicairkan dan pencampuran dilakukan ketika suhu agar  $50^{\circ}\text{C}$ . Campuran tersebut segera dituang kedalam cawang petri dan dibiarkan membeku. Setelah lempeng agar membeku kemudian diinokulasikan dengan bakteri dan inkubasi. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dimana tidak terdapat koloni kuman yang teramati.
- **Cara pengenceran tabung**, cara ini menggunakan medium yang berbentuk kaldu cair (Broth) dan ditempatkan kedalam tabung. Pengenceran serial kelipatan dua dari suatu zat antibakteri di buat 1-2 ml campuran kaldu, lalu diinokulasikan dengan bakteri uji kemudian diinkubasi. Setelah diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam maka ada tidaknya pertumbuhan bakteri diamati dengan memperlihatkan kekeruhan yang terjadi. Bila keruh berarti ada pertumbuhan mikroba.

## II.6.2 Cara Difusi

Prinsip metode ini dilakukan dengan menginokulasi medium agar dengan kuman atau bakteri kemudian menempatkan zat antibakteri yang akan diperiksa kedalam suatu reservoir yang dilekatkan pada permukaan dasar agar. Setelah diinkubasi maka pengamatan dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya zona hambat

pada permukaan kuman. Besarnya zona hambat dapat diukur dengan menggunakan derajat sensitifitas kuman terhadap bakteri (Aisyah, 2004).

Berdasarkan reservoirnya terbagi atas 3 cara yaitu (Aisyah, 2004):

- **Cara parit (ditch)**, pada medium agar yang ditanami kuman dibuat parit kemudian diisi dengan larutan yang mengandung antibakteri dan inkubasi. Kemudian dilihat ada tidaknya hambatan disekitar parit.
- **Cara lubang atau sumur (hole, well)**, lempeng agar yang ditanami kuman dilubangi dengan menggunakan tabung kosong berdiameter 4-6 mm. Setelah lubang terbentuk lalu diisi dengan larutan uji. Modifikasi cara ini adalah dengan menggunakan suatu silinder yang terbuat dari gelas atau logam tahan karat yang diletakkan diatas permukaan lempeng yang telah ditanami kuman. Larutan uji diisi kedalam silinder dan dibiarkan berdifusi, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Ada tidaknya zona hambatan disekeliling silinder kemudian diamati setelah 18-24 jam inkubasi. Keuntungan cara ini adalah jumlah larutan dalam silinder dapat diperbanyak untuk menjamin tersedianya larutan tersebut dalam silinder selama waktu inkubasi, sesuai dengan daya tampung silinder. Kerugiannya adalah kedalaman silinder sukar diatur secara manual sehingga difusi yang terjadi kemungkinan tidak homogen yang berakibat daerah hambatan tidak berupa lingkaran.
- **Cara cakram (disc)**, kertas saring kualitas tinggi berbentuk cakram dibasahi dengan larutan uji lalu diletakkan di lempeng agar yang telah ditanami dengan kuman dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian diamati

ada atau tidaknya zona hambat disekeliling cakram. Keuntungan cara ini adalah larutan uji yang diserap dapat diatur sesuai dengan kapasitas cakram kertas, tergantung diameter serta ketebalan cakram tadi. Kerugiannya adalah bila komposisi serat kertas heterogen maka dapat menyebabkan variasi difusi larutan uji. Akibatnya diameter zona hambat akan bervariasi. Pemilihan jenis kertas perlu diperhatikan karena mempengaruhi laju dan kualitas difusi.

### **II.6.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Uji Aktivitas Antimikroba**

Faktor-faktor yang mempengaruhi uji cara dilusi dan difusi pada penetapan kadar hambat minimum dan ukuran zona hambat yang terbentuk adalah (Aisyah, 2004):

- **Inokulum**, kerapatan inokulum merupakan variabel terpenting yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat dan kadar minimum. Apabila kerapatan minimum kecil maka obat dapat berdifusi lebih jauh dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan kadar hambat minimum akan lebih kecil. Sebaliknya apabila kerapatan inokulum besar maka zona hambatan lebih kecil dan kadar hambat minimum lebih besar.
- **Ketebalan agar**, pengukuran sensitivitas sering menggunakan cawan petri yang diisi dengan lapisan tipis agar yang ditanami bakteri. Tebal lapisan agar biasanya 2-3 mm dan apabila ada variasi ketebalan akan sangat mempengaruhi ukuran zona hambat yang terbentuk. Keseragaman tebal agar menjadi sangat penting pada analisis yang menggunakan lempeng agar.

- **Komposisi agar**, media agar sangat mempengaruhi besarnya zona hambatan dalam tiga hal, yaitu mempengaruhi aktivitas antimikroba yang berbeda, mempengaruhi kecepatan difusi dari zat antimikroba dan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan organisme uji. Aktivitas antimikroba tertentu dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti kation-kation dalam media, pH media dan adanya berbagai macam bahan antagonis. Kecepatan difusi dari obat yang dipengaruhi oleh konsentrasi agar, konsentrasi berbagai ion dalam media, adanya ikatan elektronik antara obat dan gugus terionisasi dalam media agar. Ketebalan media juga mempengaruhi kecepatan difusi dan sebaliknya bergantung pada suhu inkubasi. Kandungan gizi media sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme uji .
- **Suhu inkubasi**, inkubasi biasanya dilakukan pada suhu 37 °C untuk pertumbuhan optimal mikroba patogen. Kecepatan pertumbuhan optimal mikroba non patogen terjadi pada temperatur yang lebih rendah, sehingga kecepatan pertumbuhan mikroba lebih lama dan larutan uji dapat berdifusi, menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan kadar hambat minimum yang lebih kecil.
- **Waktu inkubasi**, posisi zona hambat ditentukan dalam beberapa jam pertama inkubasi sehingga pengukuran dapat dilakukan segera, setelah pertumbuhan mikroba terlihat. Pengamatan zona hambat dapat dilakukan 5-6 jam setelah inkubasi selanjutnya zona hambatan dapat bertambah kecil karena perubahan

sifat pertumbuhan mikroba pada tepi zona hambat. Uji *in vitro* dengan suatu antimikroba memerlukan waktu inkubasi sekitar 18-24 jam.

## II.7 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, **Theodor Escherich** dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. Pada 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri **coli** (Escherich 1885) dengan membangun segala perlengkapan patogenitasnya di infeksi saluran pencernaan. Nama "*Bacterium Coli*" sering digunakan sampai pada tahun 1991. Ketika **Castellani** dan **Chalames** menemukan genus *Escherichia* dan menyusun tipe spesies *Escherichia coli* (Anonim, 2007).

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Garrity (2000) adalah sebagai berikut :

Superkingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli*

Sumber : [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)

*Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif, tidak berkapsul dan umumnya mempunyai fibrin dan bersifat motil. Bakteri ini mampu meragi laktosa dengan cepat sehingga pada agar **McConeey** dan agar **EMB** membentuk koloni dengan kilat logam yang spesifik dan permukaan halus. (Anonim, 2007).

### **Morfologi**

*Escherichia coli* dari anggota familia Enterobacteriaceae. Ukuran sel dengan panjang 2,0 – 6,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,1 – 1,5  $\mu\text{m}$ . Bentuk sel dari bentuk seperti coccal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora. *Escherichia coli* batang gram negatif. Bentuk sel tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* merupakan bakteri aerobik dan dapat juga aerobik fakultatif. *E. coli* merupakan penghuni normal usus, seringkali menyebabkan infeksi (Anonim, 2007).

### **II.8 *Bacillus subtilis***

Morfologi *Bacillus subtilis* adalah sel berbentuk batang pendek (rods), jarang membentuk rantai, motil dengan flagella peritrich, membentuk endospora berukuran 0,8 x 1,5-1,8  $\mu\text{m}$ ; permukaan spora berwarna pucat. Koloni bakteri pada medium agar berbentuk bundar, tepi tidak teratur, permukaan tidak mengkilap, tebal dan keruh (opaque), kadang-kadang mengkerut dan berwarna krem atau kecoklatan. Bentuk

koloni agak bervariasi pada media yang berbeda. Koloni meluas pada medium yang berpermukaan lembab. Biakan bakteri dari medium padat tidak mudah larut dalam air. Pertumbuhan pada medium cair (broth) keruh, berkerut, dengan polikel yang koheren, tidak keruh atau hanya agak keruh. Secara anaerob, dalam medium kompleks yang mengandung glukosa, pertumbuhan dan fermentasi berlangsung lambat atau lemah; tetapi dengan menambahkan O<sub>2</sub> tumbuh cepat serta menghasilkan 2,3- butanediol, aseton, dan CO<sub>2</sub>. Bakteri ini mendekomposisi pektin dan polisakarida dari jaringan tanaman, dan beberapa strain membusukkan umbi kentang. Bakteri ini memproduksi senyawa levan dari sukrose dan rafinose secara ekstraseluler yang bervariasi, tergantung pada strain isolatnya. Pada medium agar, bakteri membentuk pigmen pulcherimin atau melanin di dalam atau di tepi koloni (Machmud *et al*, 2003).

Klasifikasi *Bacillus subtilis* menurut Garrity (2000) adalah :

Superkingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Classis	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famila	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i>



Gambar 5. Bakteri *Bacillus subtilis*

Sumber: [www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/cclimages/Articleima](http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/cclimages/Articleima)

## II.9 *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat, lonjong dengan ukuran  $2-5 \mu \times 3-6 \mu$  hingga  $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$  (Anonim,2007).

Klasifikasi dari *Candida albicans* menurut Kill (1995) dalam Fitrawan (2009) adalah :

Phylum	: Thallophyta
Sub divisio	: Deuteromycota
Classis	: Deuteromycetes
Familia	: Cryptococaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>



Gambar 6. Bakteri *Candida albicans*

Sumber: <http://overcomingcandida.com/mycology/candida-alb-dk3.jpg>

## II.10 Pengecatan Gram

Pewarnaan Gram di ciptakan oleh **Hans Cristian Gram** pada tahun 1884. Pewarnaan ini mampu membedakan 2 kelompok besar bakteri, yaitu Gram positif dan Negatif. Pada pewarnaan Gram ini, bakteri yang telah difiksasi dengan panas sehingga membentuk noda pada kaca yang diwarnai dengan pewarna basa *crystal violet*. Karena warna ungu mewarnai seluruh sel maka pewarna tersebut dinamakan **pewarna primer** (*Primary stain*). Selanjutnya pewarna dicuci dan pada noda spesimen ditetesi iodine yang merupakan *mordant* (penajam). Setelah iodine dicuci, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif tampak berwarna ungu. Selanjutnya noda spesimen dicuci dengan alkohol yang merupakan *decolorizing agent* (Senyawa peluntur warna) yang ada pada spesies bakteri tertentu dapat menghilangkan warna ungu dari sel. Setelah alkohol dicuci, noda spesimen diwarnai kembali dengan safranin yang merupakan pewarna basa berwarna merah. Bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan bakteri **Gram Positif** sedangkan bakteri yang tetap berwarna merah digolongkan bakteri **Gram Negatif** (Pratiwi, 2008).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### III.1 Alat

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, cawan petri, gelas piala, labu erlenmeyer (Iwaki pyrex), pipet tetes, gelas ukur (Iwaki pyrex), corong, botol semprot, skalpel, pinset, keras saring, jarum ose, cuvet, shaker, pembakar bunsen, mikropipet, corong, neraca (O'hauss), inkubator (Memmert), kertas cakram diameter 6 mm, jangka sorong, mikroskop, spektrofotometer, sonikator (Branson), botol vial, oven dan centrifugator.

#### III.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tanaman manggis *Garcinia mangostana* L., Nutrien Agar (Difco), Potato Dextrose Agar (Difco), Potato Dextrose Broth (Difco), NA (Nutrient Broth), alkohol 70%, aquades dan NaCl fisiologis 0,1%.

#### III.3 Prosedur Kerja

##### III.3.1 Pemilihan Tanaman

Jenis tanaman yang akan digunakan adalah tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) diperoleh dari Kota Sinjai. Bagian tanaman yang diambil adalah batang, kemudian dilakukan sterilisasi pada permukaan batang. Permukaan batang dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, kemudian dipotong melintang selebar 2 cm. Potongan batang kemudian direndam didalam alkohol 70% selama 3 menit. Potongan kemudian diletakkan di atas tisu steril, kemudian dibagi lagi sehingga

didapatkan potongan sepanjang 1 cm. Selanjutnya tiap potongan dibelah menjadi 2 bagian yang sama secara longitudinal.

### **III.3.2 Kultivasi Endofit dari tanaman manggis *Garcinia mangostana* L. (Aisyah, 2004)**

Potongan batang tanaman manggis yang mengandung kapang dan bakteri endofit diletakkan diatas medium perbenihan mikroba ( Untuk kapang menggunakan PDA (Potato Dxtrosa Agar) dan untuk bakteri menggunakan medium NA (Nutrien Agar). Bagian dalam tanaman harus menempel pada media . Tiap cawan petri berisi 4 potongan. Selanjutnya media yang telah diinokulasi dengan potongan tanaman manggis diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (untuk bakteri) dan suhu kamar (untuk kapang) selama 3 sampai 7 hari.

### **III.3.3 Isolasi Endofit dari media perbenihan (Aisyah,2004)**

Kapang dan bakteri endofit yang menunjukkan ciri dan karakteristik yang berbeda selanjutnya diisolasi kedalam medium isolasi yang sama dengan media perbenihan. Kemudian diinkubasi kembali seperti pada kultivasi awal. Setelah itu masing-masing isolat dimumikan pada cawan petri yang telah berisi media perbenihan PDA ( untuk kapang ) atau Nutrien Agar (untuk bakteri).

Kapang dan bakteri yang telah tumbuh pada medium isolasi diambil dengan ose bulat steril dan pindahkan ke cawan yang telah berisi media PDA atau NA. Kemudian diinkubasi kembali dengan cara yang sama. Tiap koloni kapang dan bakteri diinokulasi kedalam masing-masing satu cawan ini, dikerjakan duplo, satu untuk *working culture* dan satu lagi ke agar miring untuk *stok culture*.

### **III.3.4 Pengecatan Gram Isolat Mikroba Endofit (Sylvia, 2008)**

Gelas objek dan gelas penutup disiapkan yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%, dengan ose bulat dibuat film yang tipis pada permukaan objek gelas. Film dikeringkan di udara, kemudian difiksasi dengan cara menyentuhkan permukaan kaca objek gelas pada ujung api bunsen. Setelah didinginkan, preparat lalu ditambahkan dengan cat A sebanyak 1-2 tetes, didiamkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan.

Setelah kering dilakukan perlakuan yang sama seperti pada penambahan cat A (kristal violet) secara bergantian mulai dari penambahan cat B (iodin), cat C (alkohol aseton) dan cat D (safranin). Setelah itu, preparat siap untuk diamati di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk morfologi dan warna isolat mikroba endofit. Warna ungu menunjukkan Gram positif, sedangkan warna merah menunjukkan Gram negatif

### **III.3.5 Fermentasi isolat kapang endofit tanaman Manggis *Garsinia mangostana*L. (Aisyah, 2004)**

Untuk menghasilkan suspensi koloni kapang endofit dilakukan fermentasi kapang endofit. Fermentasi ini dilakukan untuk semua isolat kapang yang berhasil diisolasi. Koloni murni kapang endofit pada media agar miring PDA diambil kira-kira 1 x 1 cm dan diinokulasi ke dalam medium PDB dan diinkubasi pada suhu kamar dengan shaker inkubator 150 rpm selama 72 jam sampai 168 jam.

Setelah dikultivasi, masing-masing kultur disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit. Larutan akan terpisah menjadi dua yaitu supernatan dan pelet. Supernatan ini kemudian akan digunakan untuk bioassay sebagai larutan uji I. Biomassa yang tersisa (pelet) di sonikasi dengan cara menambahkan aquades sebanyak 10 ml kedalam botol vial yang berisi pelet kemudian dimasukkan kedalam sonikator. Larutan ini dijadikan sebagai larutan uji II.

### **III.3.6 Fermentasi isolat bakteri endofit tanaman Manggis *Garcinia mangostana* L.(Aisyah, 2004)**

Untuk menghasilkan suspensi bakteri endofit dilakukan fermentasi bakteri endofit. Fermentasi ini dilakukan untuk semua isolat bakteri yang berhasil diisolasi. Koloni murni bakteri endofit pada media agar miring PDB diambil kira-kira 1 x 1 cm dan diinkubasi pada suhu kamar dengan shaker inkubator 150 rpm selama 24 sampai 48 jam.

Setelah didapatkan suspensi bakteri endofit, masing-masing kultur disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan kemudian digunakan untuk bioassay sebagai larutan uji I. Biomassa yang tersisa (Pelet) di sonikasi dengan cara menambahkan aquades sebanyak 10 ml kedalam botol vial yang berisi pelet kemudian dimasukkan kedalam sonikator. Larutan ini dijadikan sebagai larutan uji II.

### **III.3.7 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji (Pabenteng, 2003)**

Mikroba uji hasil peremajaan, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,1% dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur transmittannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada tranmitan

25% untuk bakteri dan transmittan 75% untuk jamur sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,1%.

### **III.3.8 Skrining mikroba endofit penghasil antimikroba dari tanaman manggis *Garcinia mangostana* L. (Asiyah, 2004).**

#### **a. Aktivitas antimikroba dari isolat kapang dan bakteri terhadap *Candida albicans***

Mensterilkan media PDA sebanyak 100 ml menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian media diletakkan di atas penangas air dengan suhu 48,5 °C untuk menjaga agar media tidak memadat. Selanjutnya, menambahkan kultur *Candida albicans* kedalam media PDA tersebut kemudian dituang kedalam cawan petri dan dibiarkan memadat.

Aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar cara cakram. Larutan uji I (supernatan suspensi koloni endofit) dan larutan uji II (pelet) dipakai untuk menguji adanya aktivitas antimikroba dengan cara mencelupkan dua paper disk dengan diameter 6 mm masing-masing kedalam larutan uji I dan II, lalu dikeringanginkan. Kemudian diletakkan secara aseptik masing-masing pada permukaan medium yang telah berisi *Candida albicans*. Selanjutnya diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu 27 °C. Selanjutnya mengamati zona hambatan yang terbentuk pada cawan petri dan mengukur diameternya dengan jangka sorong.

Semua isolat kapang dan bakteri endofit dilakukan cara yang sama diatas untuk mengetahui kemampuan menghasilkan antimikroba yang paling efektif.

**b. Aktivitas antimikroba dari isolat kapang terhadap bakteri uji *B. subtilis* dan *E. Coli***

Mensterilkan media NA sebanyak 100 ml menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian media diletakkan di atas penangas air dengan suhu 48,5 °C untuk menjaga agar media tidak memadat. Selanjutnya , memasukan kultur bakteri uji ke dalam media NA lalu kultur dituang kedalam cawan petri dan biarkan sampai memadat. Kultur bakteri uji yang digunakan antara lain *Escherichia coli* dan , *Bacillus subtilis*)

Aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar cara cakram. Larutan uji I (supernatant suspensi koloni endofit) dan larutan uji II (pelet koloni endofit) dipakai untuk menguji adanya aktivitas antimikroba dengan cara mencelupkan dua paper disk dengan diameter 6 mm masing-masing kedalam larutan uji I dan II, lalu keringanginkan . Kemudian meletakkan secara aseptik masing-masing pada permukaan medium yang telah berisi bakteri uji . Selanjutnya di inkubasi selama 2-5 hari pada suhu 27 °C. Setelah diinkubasi , mengamati zona hambatan yang terbentuk pada cawan petri persegi dan mengukur diameternya dengan jangka sorong.

Semua isolat kapang dan bakteri endofit dilakukan cara yang sama diatas untuk mengetahui kemampuan menghasilkan antimikroba yang paling efektif.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

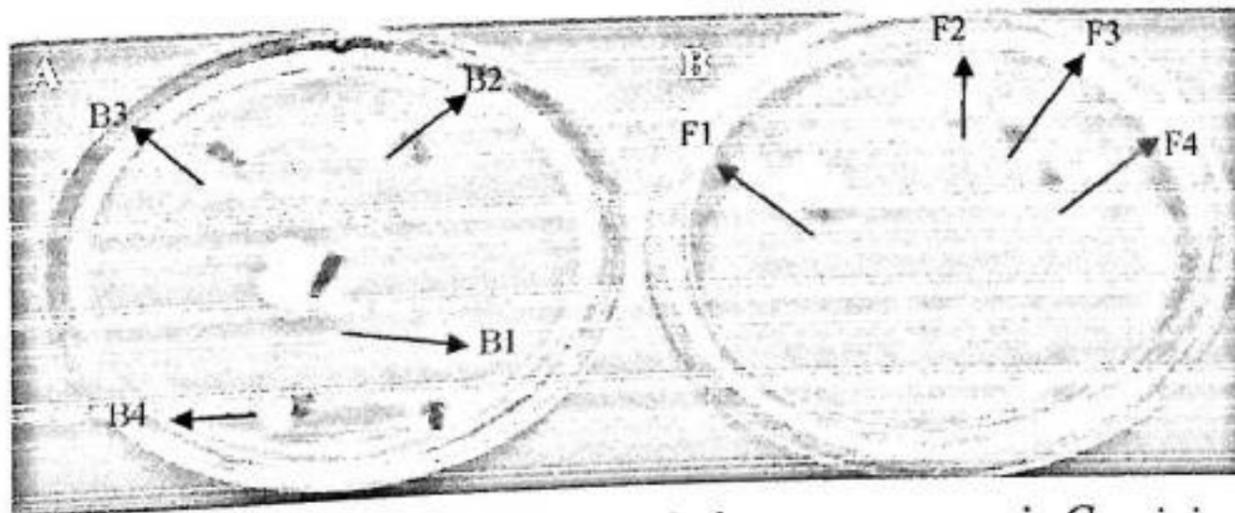
#### IV.1 Hasil dan Pembahasan

##### IV.1.1 Isolasi Mikroba Endofit dari Tanaman Manggis *Garsinia mangonstana* L.

Tanaman manggis *Garsinia mangonstana* L., merupakan salah satu tumbuhan tropis yang termasuk dalam familia, *Chusiaceae (Guttiferae)*, mempunyai lebih kurang 180 spesies. Tumbuhan ini banyak tersebar di Indonesia, yang umumnya dikenal sebagai tumbuhan manggis-manggisan (Chistine, 1985).

Umumnya jenis mikroba endofit dapat diisolasi dari jaringan hidup tanaman, namun memerlukan seleksi dan skrining yang ketat untuk dapat mengetahui potensi endofit (Aisyah, 2004).

Isolasi mikroba endofit dari tanaman manggis diperoleh dari bagian kulit batang. Hasil isolasi mikroba endofit dari kulit batang tanaman manggis setelah dinkubasi selama 24 sampai 48 jam untuk bakteri dan 72 sampai 168 jam untuk kapang. Isolasi bakteri endofit yang diperoleh sebanyak 8 isolat dan kapang sebanyak 3 isolat. Secara visual dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7 : Hasil isolasi mikroba endofit dari tanaman manggis *Garsinia mangonstana* L. Isolat bakteri endofit (A), isolat kapang endofit (B)

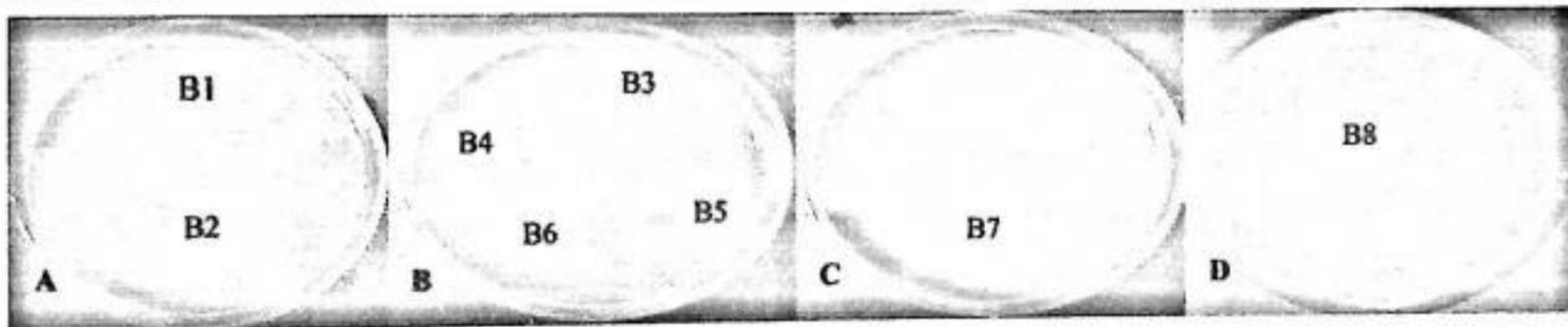
Muharni, *et al.*, (2009) dalam penelitian yang mengisolasi senyawa antibakteri penyebab diare dari ekstrak kulit tanaman batang *G. bancana* Miq., pengujian dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan dua jenis bakteri yaitu *E.coli* dan *S. disenteriae* dengan variasi konsentrasi 1, 0,75, 0,50 dan 0,25%. Pada penelitian ini berhasil diisolasi satu senyawa antibakteri berupa kristal kuning yang merupakan kelompok senyawa piranosanton.

#### **IV.1.2 Purifikasi Mikroba Endofit**

Setelah masa inkubasi selesai, koloni yang tampak pada masing-masing media diamati dengan menggunakan beberapa kriteria (dapat dilihat pada tabel. 1). Bentuk koloni yang sama dianggap sama sebaliknya bentuk koloni yang berbeda dianggap sebagai isolat yang berbeda. Setiap koloni yang berbeda dipindahkan ke media yang baru, setelah itu diinkubasi selama 24 sampai 48 jam untuk bakteri. Sedangkan untuk jamur 72 sampai 168 jam. Bila masih ditemukan koloni yang berbeda maka dipisahkan kembali sampai di dapatkan isolat murni yaitu isolat yang hanya mempunyai satu morfologi yang sama. Isolat murni ditanam di media miring sebagai stok. Dari hasil purifikasi mikroba endofit didapatkan 8 isolat untuk bakteri (dapat dilihat pada tabel 1 dan secara visual dapat dilihat pada gambar 8, hasil dari pegecatan gram dapat dilihat pada gambar 9) dan 3 isolat untuk kapang (dapat dilihat pada tabel 2, secara visual karakter koloni dapat dilihat pada gambar 10, pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 11).

Tabel 1. Pengamatan karakter koloni bakteri endofit yang disolasi dari batang tanaman manggis *Garsinia mangonstana* L.

No	Isolat bakteri endofit	Ciri-ciri isolat bakteri			
		Warna koloni	Permukaan koloni	Pengecatan	Bentuk sel
1	B1	Kuning	Undulate	-	Bulat
2	B2	Kuning	Sirkular	+	Basil
3	B3	Putih	Irreguler	-	Basil
4	B4	Putih	Lobate	-	Bulat
5	B5	Putih	Irreguler	+	Basil
6	B6	Putih	Irreguler	+	Bulat
7	B7	Putih keruh	Irreguler	+	Basil
8	B8	Putih	Sirkular	+	Basil



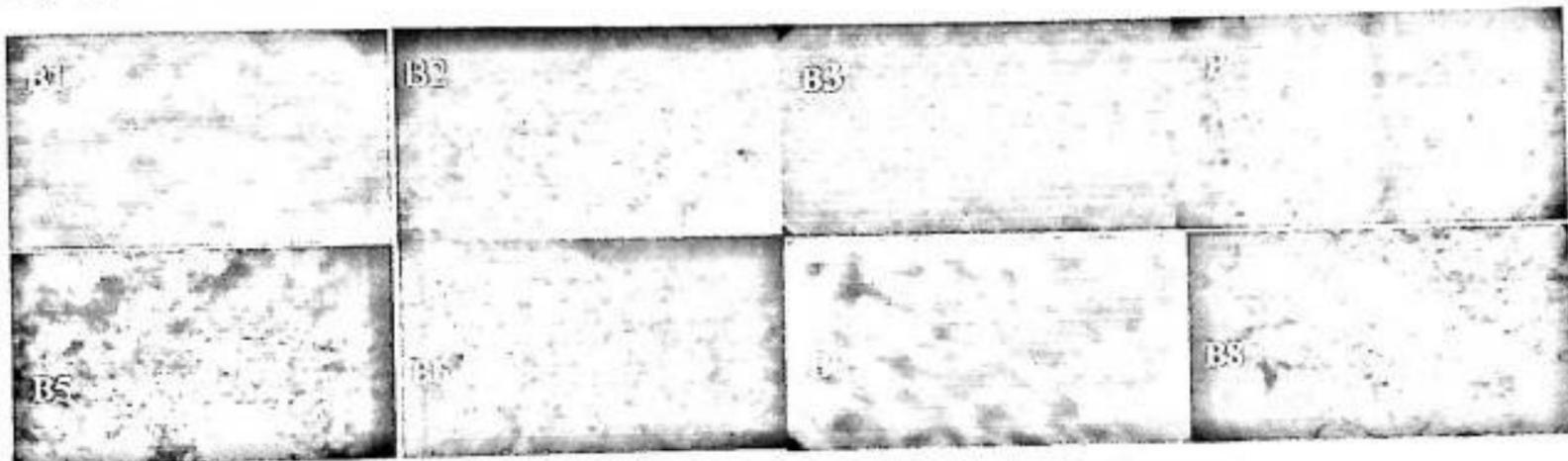
Gambar 8 : A. Isolat bakteri B1 dan B2,  
B. Isolat B3, B4, B5, B6,

C. Isolat B7  
D. Isolat B8

Kemampuan biologis setiap bakteri berbeda-beda dalam merespon bahan antibakteri. Salah satu faktor yang paling berpengaruh adalah adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Komponen khusus yang dimiliki oleh bakteri gram positif adalah terdiri atas komponen asam teikhioat, asam teikhuronat, dan polisakarida, sedangkan komponen khusus bakteri gram negatif terdiri atas lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida. Selaput luar dinding sel bakteri gram negatif merupakan selaput ganda fosfolipid yang sebagian besar diganti dengan molekul lipopolisakarida. Selaput luar mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri,

akibatnya bakteri lebih sukar dirusak atau dihambat pertumbuhannya (Masduki, 1996).

Hasil dari pengecatan bakteri dapat dilihat pada gambar 9. Isolat B1, B3, B4 merupakan gram negatif ditandai dengan warna merah pada bakteri sedangkan untuk isolat B2, B5, B6 dan B7 merupakan gram positif ditandai dengan warna ungu pada bakteri

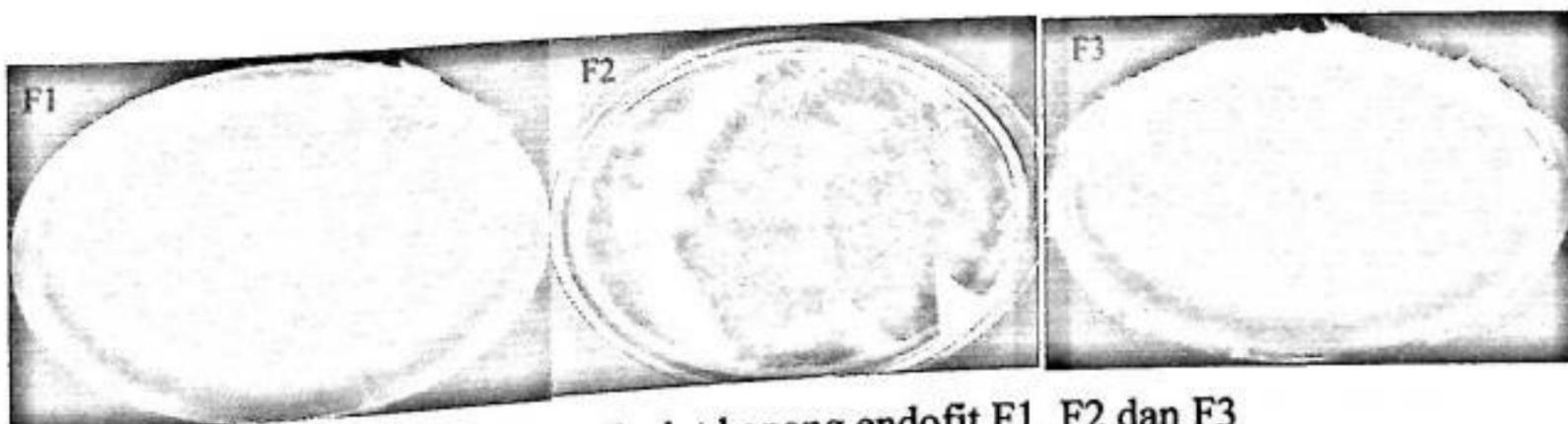


Gambar 9. Pengecatan isolat bakteri endofit

Tabel 2. Pengamatan karakter koloni kapang yang diisolasi dari batang tanaman manggis *Garcinia mangonstana* L.

Isolat kapang endofit	Makroskopis				Mikroskopis	
	Warna	Radial furrow*	Growing zone**	Reverse of koloni***	Hifa	Spora
F1	Kuning	Bulat	Tidak ada	Satu lapis	Tidak bersepta	Bulat
F2	Hijau	Tidak ada	Tidak ada	Berlapis-lapis	Tidak bersepta	Bulat
F3	Kuning	Bulat	Tidak ada	Satu lapis	Tidak bersepta	Bulat

Catatan : \* Titik pusat  
 \*\* Lapisan bening pada bagian terluar  
 \*\*\* Latar belakang koloni (berlapis-lapis atau hanya satu lapis)



Gambar 10 . Isolat kapang endofit F1, F2 dan F3



Gambar 11. Pengamatan mikroskopis kapang endofit F1, F2 dan F3

#### **IV.1.3 Fermentasi Mikroba Endofit**

Isolat-isolat murni yang didapat, dikultivasi pada medium cair dengan menggunakan media PDB untuk isolat kapang endofit dan NB (Nutrien Broth) untuk media pertumbuhan bakteri. Untuk kultur bakteri ditumbuhkan selama 24 jam sampai 48 jam sedangkan untuk kapang ditumbuhkan selama 72 jam sampai 168 jam. Hasil inkubasi bakteri di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, sehingga terpisah menjadi 2 bagian yaitu supernatan dan pelet. Untuk supernatan dilakukan uji secara langsung tanpa dilakukan ekstraksi dengan senyawa kimia organik seperti metanol. Sedangkan untuk pelet dilakukan perlakuan dengan menggunakan sonikator (alat untuk memecah sel).

#### **IV.1.4 Uji Daya Antimikroba dari Mikroba Endofit**

Uji daya antimikroba dilakukan dengan teknik difusi cara cakram. Media NA (Nutrien Agar) disiapkan untuk pengujian antibakteri dan media PDA (Potato Dextrose Agar) untuk pengujian antifungi. Untuk satu koloni bakteri uji diinkubasi selama satu hari sebelum pengujian, setelah itu dilakukan pengukuran kekeruhan mikroba uji dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada tranmitan 25% untuk bakteri dan transmitan 75% untuk kapang, sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,1 %, kemudian kultur dari

mikroba uji dituang kedalam cawan petri sebanyak 200  $\mu$ m dengan menggunakan mikropipet setelah itu sebanyak 20 ml NA dan PDA dituang pada cawan petri kemudian dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan membentuk angka delapan. Setelah agar mengeras diberi tanda dan label untuk menaruh kertas disk. Supernatan dan pelet dari mikroba endofit disiapkan. Dengan menggunakan pinset kertas disk dijepit dan disk kemudian di celup kedalam sampel mikroba endofit kemudian ditanam di cawan petri yang telah berisi agar dan mikroba uji. Untuk bakteri diinkubasi pada suhu 24-48 jam dengan suhu 37 °C, sedangkan untuk kapang diinkubasi pada suhu kamar 25-27 °C selama 3-7 hari. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya zona bening (zona hambat) disekitar kertas disk.

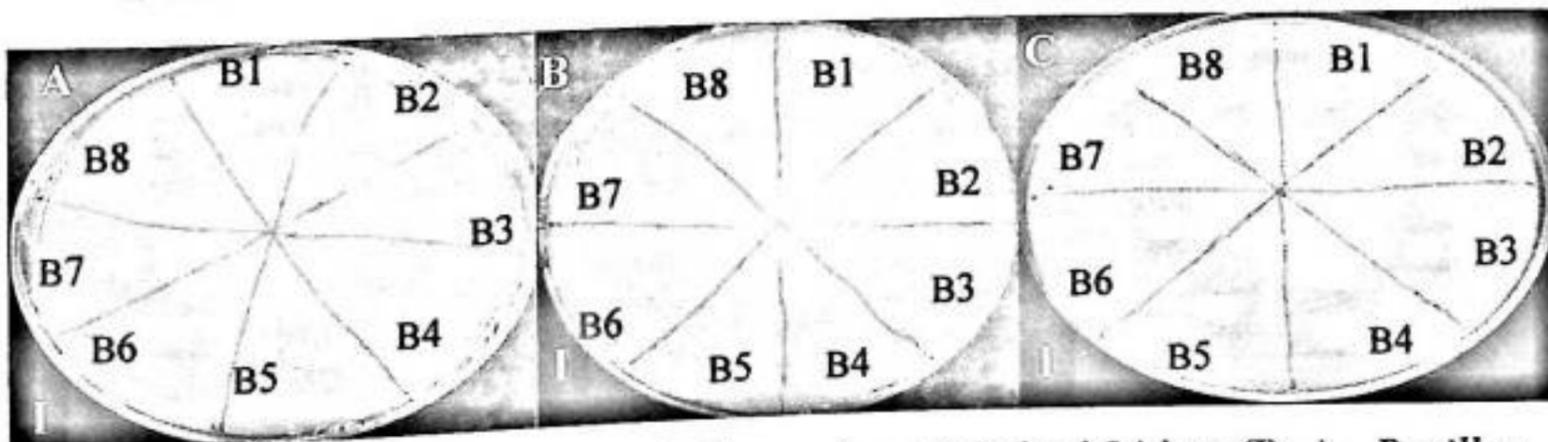
Uji daya antimikroba dilakukan dengan menggunakan mikroba uji *Escherichia coli* (mewakili gram negatif), *Bacillus subtilis* (mewakili gram positif) dan *Candida albicans* (mewakili jamur) dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Alasan lain digunakannya mikroba uji *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* karena bakteri tersebut merupakan bakteri Enterobacteriaceae yang hidup dalam saluran pencernaan manusia sebagai penghuni usus (enteron) dan bersifat patogen. Bakteri *E.coli* dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia sedangkan *B. subtilis* dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng yang juga dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia yang mengkomsumsinya (Nursal *et al*, 2006). Sedangkan *Candida albicans* merupakan jamur dimorfik penyebab penyakit lesi pada kulit dan vulvaginatis.

Hasil uji daya antimikroba menunjukkan aktivitas antimikroba yang berbeda-beda dari tiap isolat, begitupun diameter zona hambat yang dihasilkan. Pengukuran zona hambat dilakukan pada masa inkubasi 24 jam dan dilanjutkan hingga 48 jam untuk bakteri endofit sedangkan untuk jamur endofit pengukuran dilakukan pada masa inkubasi 72 jam dilanjutkan hingga 168 jam.

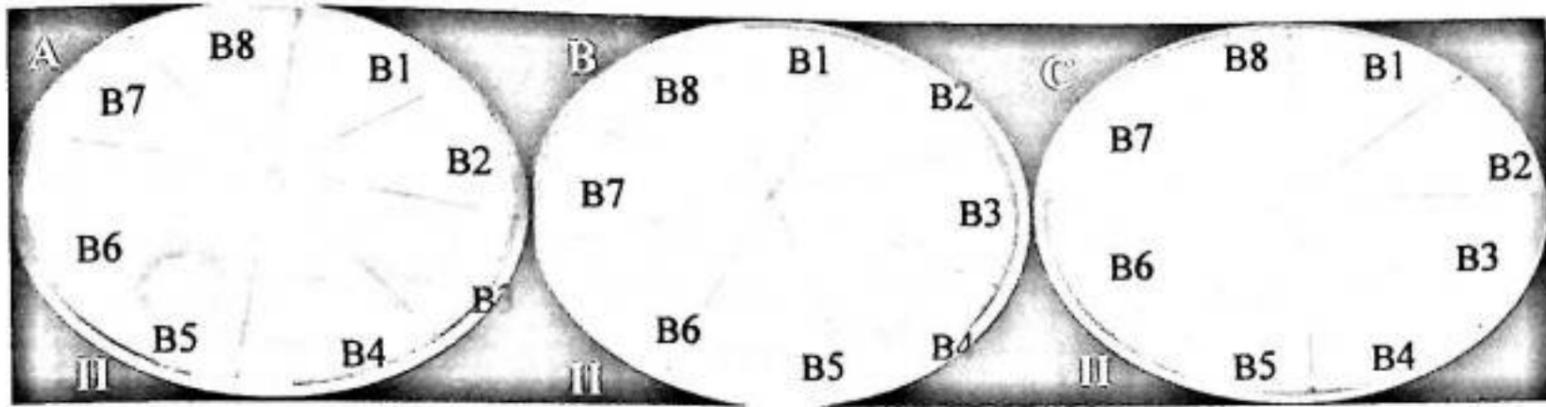
Berdasarkan hasil yang diperoleh, terdapat perbedaan diameter zona hambatan pada tiap-tiap jenis mikroba uji. Beberapa faktor yang mempengaruhi hal ini antara lain adalah pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganismenya (Brooks, 2005). Hasil uji mikrobiologi dari masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel 3 dan secara visual dapat dilihat pada gambar 12).

Tabel 3. Supernatan hasil inkubasi bakteri endofit

Isolat bakteri endofit	Diameter zona bening (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Candida albicans</i>	
	24	48	24	48	24	48
B1	0	9,26	0	9,00	0	8,19
B2	0	13,78	0	9,52	0	8,74
B3	6,45	11,63	7,26	11,41	0	8,08
B4	6,89	10,71	7,07	10,86	0	8,74
B5	6,45	12,23	0	15,63	0	8,56
B6	9,31	13,34	0	8,41	0	8,82
B7	7,12	12,08	6,78	14,15	0	8,34
B8	7,08	11,71	8,11	9,82	0	8,78



Gambar 12. Supernatan bakteri endofit dengan lama inkubasi 24 jam (I),.A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*.

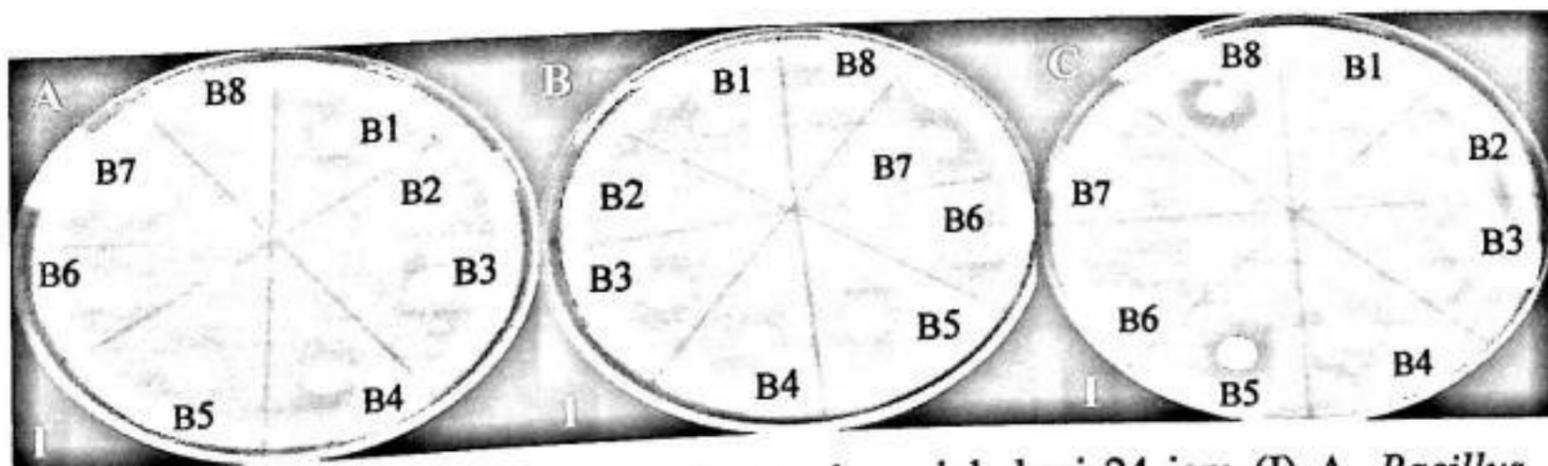


Gambar 13. Supernatan bakteri endofit dengan lama inkubasi 48 jam (II). A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*.

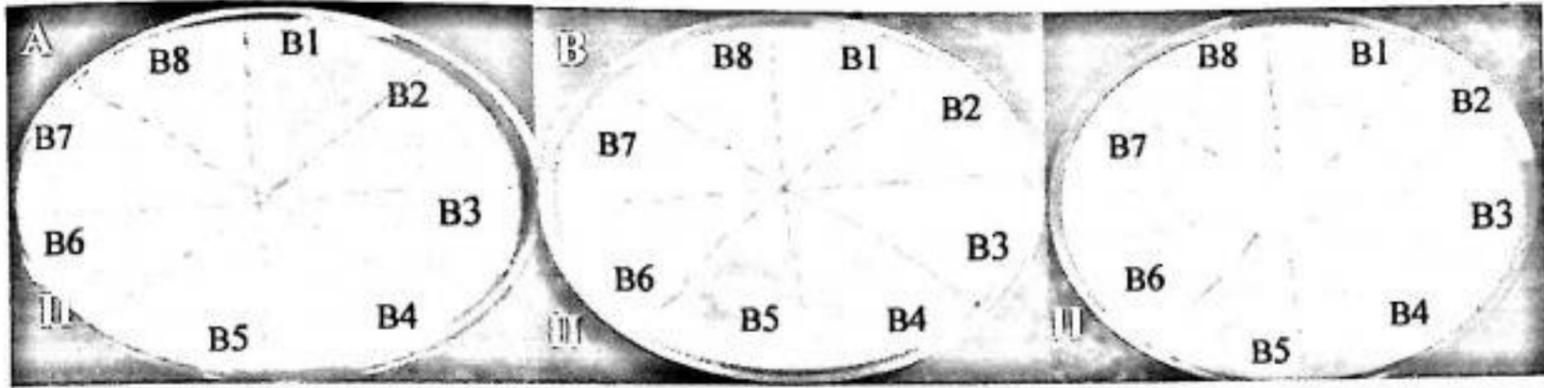
Berdasarkan data pada tabel 3 diatas diameter zona hambat untuk supernatan bakteri endofit terhadap *E.coli* isolat B6 dan B2 memperlihatkan zona hambat sebesar 9,31 mm dan 13,78 dengan lama inkubasi 24 jam sampai 48 jam. Untuk *B. subtilis* isolat B8 dan B5 memperlihatkan zona hambat sebesar 8,11 mm dan 15,63 mm dengan lama inkubasi 24 jam sampai 48 jam. Sedangkan untuk *C.albicans* isolat B6 memperlihatkan zona hambat sebesar 8,82 mm dengan masa inkubasi 48 jam, untuk masa inkubasi 24 jam tidak diperoleh daerah hambat.

Tabel 4. Pelet hasil inkubasi bakteri endofit

Isolat bakteri endofit	Diameter zona bening (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Candida albicans</i>	
	24	48	24	48	24	48
B1	0	6,97	8,19	7,38	0	0
B2	0	6,78	0	8,38	0	0
B3	0	7,41	7,96	7,38	0	0
B4	0	7,15	8,45	7,26	0	0
B5	0	9,15	8,97	14,48	0	0
B6	7,78	7,8	8,15	0	0	0
B7	7,97	8,52	8,26	8,15	0	0
B8	7,56	0	9,78	8,3	0	13,78



Gambar 14 : Pelet bakteri endofit dengan lama inkubasi 24 jam (I) A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*



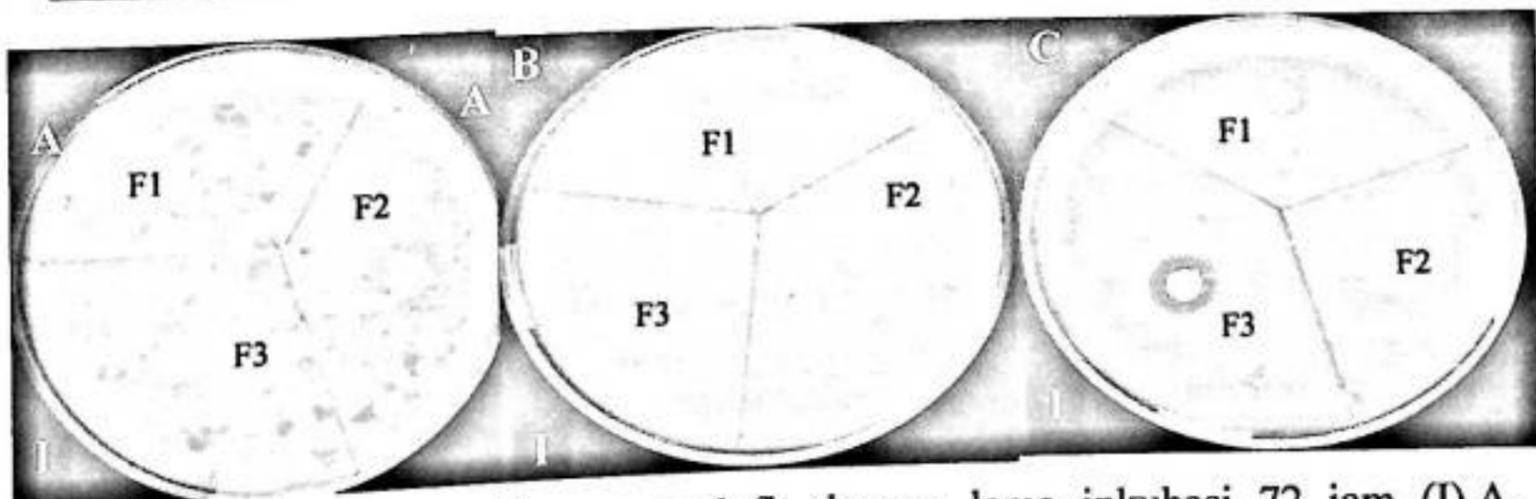
Gambar 15: Pelet bakteri endofit dengan lama inkubasi 48 jam (II). A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*

Berdasarkan data pada tabel 4 diatas diameter zona hambat untuk pelet bakteri endofit terhadap *E.coli* isolat B7 dan B5 memperlihatkan zona hambat sebesar 7,97 mm dan 9,15 mm dengan lama inkubasi 24 jam sampai 48 jam. Untuk *B. subtilis* isolat B8 dan B5 memperlihatkan zona hambat sebesar 9,78 mm dan 14,48 mm dengan lama inkubasi 24 jam sampai 48 jam. Sedangkan untuk *C.albicans* isolat B8 memperlihatkan zona hambat sebesar 13,78 mm dengan masa inkubasi 48 jam, untuk masa inkubasi 24 jam tidak diperoleh daerah hambat.

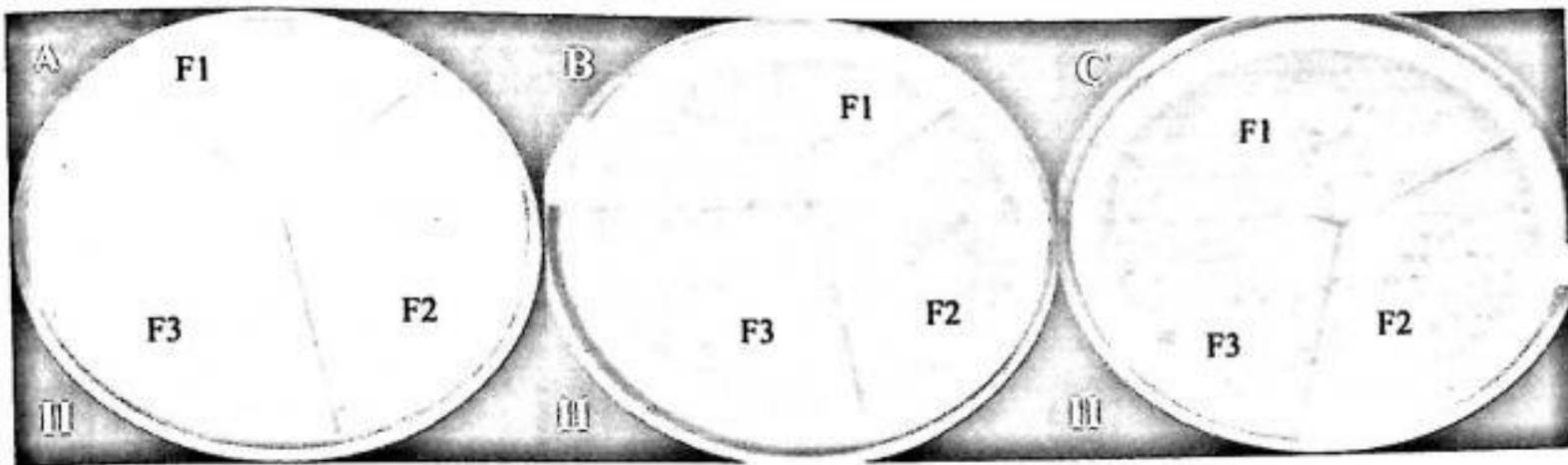
Hasil uji daya antimikroba pada kapang endofit dapat dilihat pada tabel 5 dan secara visual dapat dilihat gambar 14.

Tabel 5. Supernatan hasil inkubasi kapang endofit

Jenis kapang endofit	Diameter zona bening (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Candida albicans</i>	
	72 jam	168 jam	72 jam	168 jam	72 jam	168 jam
F1	13,49	7,01	14,19	0	11,82	0
F2	8,49	0	7,93	0	17,48	0
F3	9,08	10,3	14,45	6,65	12,19	0



Gambar 16: Supernatan kapang endofit dengan lama inkubasi 72 jam (I).A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*



Gambar 17: Supernatan dengan lama inkubasi 168 jam (II) .A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*

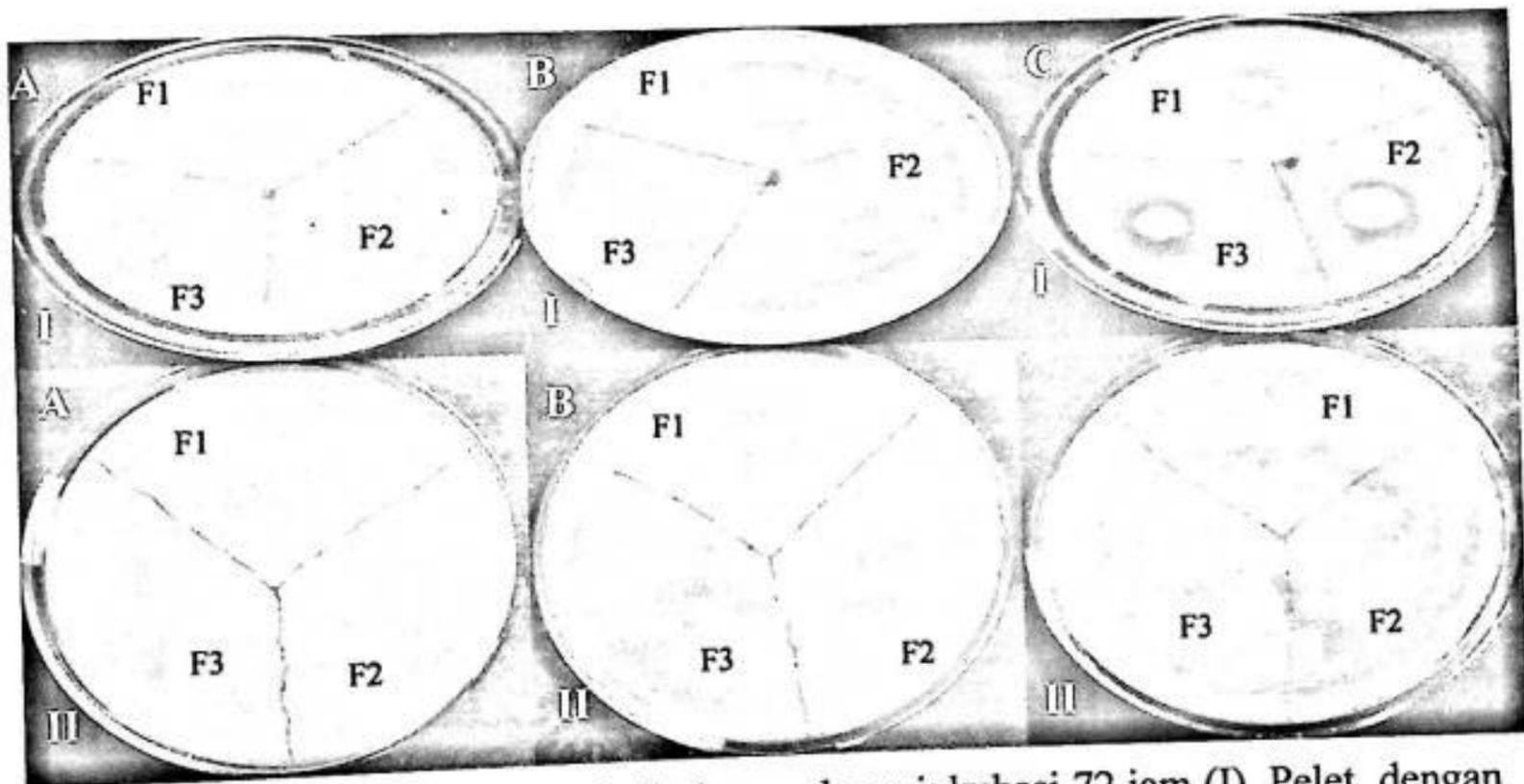
Berdasarkan data pada tabel 5 diatas diameter zona hambat untuk supernatan kapang endofit terhadap *E.coli* isolat F1 dan F3 memperlihatkan zona hambat sebesar 13,49 mm dan 10,3 mm dengan lama inkubasi 72 jam sampai 168 jam. Untuk *B. subtilis* isolat F3 memperlihatkan zona hambat sebesar 14,45 mm dengan lama inkubasi 72 jam. Sedangkan untuk *C.albicans* isolat F2 memperlihatkan zona hambat sebesar 17,48 mm dengan masa inkubasi 72 jam, untuk masa inkubasi 168 jam tidak diperoleh daerah hambat. Kemampuan isolat kapang endofit terhadap *Candida albicans* memperlihatkan zona hambat yang tinggi. Secara visual dapat dilihat pada gambar 16 dan 17.

Petrini *at al*, 1992 dalam penelitiannya menyatakan bahwa fungi endofit mampu memproduksi senyawa antibiotika yang aktif melawan bakteri maupun fungi patogenik terhadap manusia, hewan dan tumbuhan, terutama dari genus *Coniothirum* dan *Microsphaeropsis*. Penelitian (Dreyfuss *et al* 1986), menunjukkan aktivitas yang tinggi dari penisilin N, sporiofungin A, B, serta C yang dihasilkan oleh isolat-isolat endofit *Pleurophomopsis* sp. dan *Cryptosporiopsis* sp. yang diisolasi dari tumbuhan *Cardamin heptaphylla* Schulz.. Isolat fungi endofit *Xylaria* spp. juga memiliki potensi besar dalam penelitian-penelitian industri farmasi maupun pertanian. Suatu strain *Xylaria* yang diisolasi dari tumbuhan epifit di Amerika Selatan dan Meksiko dilaporkan dapat

menghasilkan suatu senyawa antibiotika baru dari kelompok sitokalasin (Dreyfuss, et al., 1986).

Tabel 6. Pelet hasil inkubasi kapang endofit

Jenis kapang endofit	Diameter zona bening (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Candida albicans</i>	
	72 jam	168 jam	72 jam	168 jam	72 jam	168 jam
F1	7,26	7,08	9,30	0	0	0
F2	7,03	6,93	0	0	0	0
F3	7,67	7,74	8,03	0	0	0



Gambar 18 : Pelet kapang endofit dengan lama inkubasi 72 jam (I), Pelet dengan lama inkubasi 168 jam (II). A. *Bacillus subtilis*, B. *Escherichia coli* dan C. *Candida albicans*

Berdasarkan data pada tabel 6 diatas diameter zona hambat untuk pelet kapang endofit terhadap *E.coli* isolat F3 memperlihatkan zona hambat sebesar 7,67 mm dan 7,74 mm dengan lama inkubasi 72 jam sampai 168 jam. Untuk *B. subtilis* isolat F1 memperlihatkan zona hambat sebesar 9,30 mm dengan lama inkubasi 72 jam, untuk masa inkubasi 168 jam tidak diperoleh zona hambat. Untuk *C.albicans* tidak diperoleh daerah hambat baik untuk masa inkubasi 72 jam dan 168 jam. Pengamatan visual dapat dilihat pada gambar 18.

Menurut Wattimena (1991), suatu antibiotik dikatakan bersifat bakteriostatik jika antimikroba tersebut berkhasiat untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji dan tidak mematikan kuman sehingga dalam waktu 48 jam daerah hambatan kembali ditumbuhi bakteri. Dengan demikian terjadi penurunan diameter hambatan terhadap bakteri tersebut. Pada pengamatan 48 jam (tabel 3) sebagian besar mikroba uji terjadi peningkatan daerah hambat, hal ini disebabkan karena tidak lagi ditumbuhi mikroba sehingga dapat dikatakan bahwa isolat bakteri endofit mengandung senyawa yang bersifat bakterisida yaitu dapat mematikan kuman (Tan dan Kirana, 2002), hal ini ditandai dengan bertambahnya diameter hambatan setelah masa inkubasi 48 jam. Sedangkan pada *Candida albicans* tidak diperoleh pertambahan diameter zona hambatan pada pengamatan 168 jam isolat jamur endofit tidak bersifat fungisida.

Menurut Melliawati *et al* (2004) dalam penelitiannya yang mengisolasi 126 sampel tanaman hutan diperoleh 283 isolat bakteri endofit. Hasil seleksi bakteri endofit terhadap mikrobia patogen (*X. campestris*, *P. solanacearum*, *Colletotricum gloeosporoides*, dan *Fusarium oxysporum*) diperoleh 100 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen. Dari bakteri yang terseleksi, 44 isolat mampu menghambat pertumbuhan *X. campestris*, 49 isolat menghambat *P. solanacearum*, 28 isolat menghambat *C. gloeosporoides*, dan 18 isolat menghambat *F. oxysporum* bakteri endofit dari Taman Nasional Gunung Halimun mengenai Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk proteksi tanaman.

Simarmata *et al* (2007) dalam penelitiannya yang mengisolasi mikroba endofit dari tanaman sambung nyawa memperoleh isolat 38 bakteri dan 15 isolat kapang. Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba, 45% isolat bakteri endofit dan 20% isolat kapang endofit menunjukkan potensi aktivitas antimikrobanya. Dua puluh satu persen isolat menghasilkan potensi aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen *E. coli*, *Pseudomonas* sp. dan *B. subtilis*, serta cendawan patogen *C. albicans* sedangkan 24% isolat hanya menunjukkan aktivitas anti *B. subtilis*.

Pada penelitian ini aktivitas antimikroba dari tiap-tiap isolat berbeda baik pada supernatan maupun pelet. Aktivitas antimikroba lebih banyak ditemukan pada supernatan baik untuk bakteri maupun kapang endofit. Hal ini disebabkan karena zat aktif dari mikroba endofit disekresikan pada media fermentasi.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil purifikasi dari kulit batang tanaman manggis (*Garcinia mangonstana* L) diperoleh 8 isolat bakteri dan 3 isolat jamur.
2. Kulit batang manggis (*Garcinia mangonstana* L.), memiliki potensi sebagai penghasil antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Candida albicans* yang dapat dilihat dari hasil aktivitas uji daya antimikroba.
3. Aktivitas terbesar pada supernatan ekstrak kulit batang terlihat pada isolat B2 terhadap *E.coli* sebesar 13,78 mm, isolat B5 sebesar 15,63 mm terhadap *B.subtilis* dengan lama inkubasi 48 jam. Aktivitas terbesar pada pelet ekstrak kulit batang terlihat pada isolat B5 terhadap *E.coli* dan *B.subtilis* sebesar 9,15 mm dan 14,48 mm dan isolat B8 sebesar 13,78 mm terhadap *C. albicans* dengan lama inkubasi 48 jam. Untuk kapang endofit diperoleh zona hambat terbesar pada isolat F2 terhadap *C. albicans* dengan lama inkubasi 72 jam.
4. Supernatan dari ekstrak kulit batang tanaman Manggis *Garcinia mangonstana* L., bersifat bakterisida untuk beberapa isolat bakteri endofit.

## V.2 SARAN

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui golongan senyawa yang bersifat fungisida dari isolat mikroba endofit dari kulit batang tanaman manggis *Garcinia mangonstana* L.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri uji yang lain untuk mendapatkan data yang lengkap

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2007, *Ecsherichia coli*, <http://www.wikipedia.com>, diakses 27 Juli 2009, 2:40 AM
- Anonim, 2008, Karakteristik *Candida albicans*. [www.smallcrab.com/kesehatan /25-healthy/415-karakteristik-candid](http://www.smallcrab.com/kesehatan/25-healthy/415-karakteristik-candid) 7/25/2009 2:30 AM
- Anonim, 2009, Kromatografi Lapis Tipis Chem-Is-Try.Org Situs Kimia Indonesia [http://www.Chem.-istry.org/materi\\_kimia/instrument\\_analisis/kromatograf](http://www.Chem.-istry.org/materi_kimia/instrument_analisis/kromatograf). Diakses 7/ 17/2009 11:00 PM
- Aisyah, I., 2004, **Skrining Mikroba Endofit Penghasil Antimikroba dari Tanaman Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) terhadap *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Canida albicans* dan *A.niger***, Skripsi Sarjana Farmasi ISTN, Jakarta.
- Brooks, G.F., S. B. Janet, dan A. M. Stephen, 2005. **Mikrobiologi Kedokteran**. Salemba medika, Jakarta.
- Elya, B., 2003, **Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Kimia Dari Ekstrak N-Heksan Kulit Batang *Garcinia rigida***, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Fitrawan M. L., 2009, **Isolasi Mikroba EndofitbPenghasil Antibiotika Dari Akar Rumput Belulang ( *Eleusine indica* L.)**, Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar.
- Chistine, 1985 , **Penggunaan Tanaman Obat**, Penerbit Buletin Farmakon, Jakarta,
- Cheppy, S., 2003. **Temu Putih Tanaman Obat Antikanker**, Swadaya, Jakarta.
- Garrity G., 2000, **Bergey's Manual Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> Edition** ,<http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx>
- Gobel, R. B., Z.D. Zainuddin dan A. Abdullah , 2008 **Mikrobiologi Umum dalam Praktek**, Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA, Makassar.

- Kill, M A., 1995, **Candida a Practical Hand Book for Sufferes**, Bloomsburry, Bandung.
- Masduki, I., 1997. **Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro**. Jurnal Hasil Penelitian UGM, Yogyakarta.
- Melliawati, R., D.N. Widyaningrum, A. C. Djohan dan H.Sukiman, 2006, **Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman**, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor.
- Muharni dan Elfita. 2009. **Piranosanton Dari Kulit Batang Manggis Hutan *Garsinia bancana* Miq dan Aktivitas antibakterinya**, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya. Palembang Indonesia.
- Mutschler, E., 1995, **Farmakologi dan Terapi Edisi 4**, Fakultas Kedokteran Bagian Farmakologi Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pabenteng, A. R, 2003, **Potensi Antimikroba Ekstrak Metanol Semut Rangrang (*oecophylla smaragdina* fab.) terhadap *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, dan *candida albicans***, Jurusan Biologi FMIPA UNHAS, Makassar.
- Petrini, O. 1992. **Fungal Endophytes of Tree Leaves**. In: Microbial Ecology of Leaves (Eds. Andrews, J. H. and S. S. Hirano). Springer-Verlag, Berlin.
- Phongpaichit S, N. Rungjindamai, V. Rukachaisirikul dan J. Sakayaroj. 2006, **Antimicrobial activity in cultures of endophytic fungi isolated from *Garcinia* species**, Natural Products Research Unit and Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, Thailand.
- Purwanto, R., 2008, **Peranan Mikroorganisme Endofit sebagai Penghasil Antibiotik**, [www.kabarindonesia.com](http://www.kabarindonesia.com), diakses tanggal 7/24/2009 11:27 PM.
- Simarmata, R., L. Sylvia, dan H. Sukiman, 2007, **Isolasi Mikroba Endofitik Dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens*) Dan Analisis**

**Potensinyasebagai Antimikroba**, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan, LIPI,Cibinong-Bogor

Sunarjono, H., 2008, **Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah**, Penebar Swadaya, Jakarta

Stobel, G., dan D.Long , 1998, **Endophytic Microbes Mbody Pharmaceutical Potential**, ASM News.

Sidik, R., 2004, **Tanaman Obat Kekayaan Hayati Terabaikan**, Majalah-farmasi.com, Vol. IV, No. 4, November , Jakarta.

*Sentra Informasi Iptek*, 2005, **Tanaman Obat Indonesia**, [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?mnu=2&id=239](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=239) diakses 6/26/2009 3:02 AM

Schlegel, H. dan S. Karin, 1994, **Mikrobiologi Umum Edisi Keenam**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Tjitrosoepomo, G., 2004, **Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Utami, S. T. P., 2008, **Mikrobiologi Farmasi**, Erlangga, Jakarta.

Verheij, E., W., M., dan R. E. Coronel, 1997, **Prosea Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2, Buah-buahan yang Dapat Dimakan**, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta .

Wahyudi, P., 2001, **Mikroba Endofit: Symbion dalam Jaringan Tanaman**, NEED: Lingkungan Manajemen, Ilmiah, Jakarta.

Wahyuono, S., , 1999, **Characterization of Bioactive Substance  $\alpha$ -Mangostin Isolated from The Hull of *Garcinia mangostana* L.**, Indonesia 10 (3), 127-134.

Wattimena., J.R, 1991, **Farmakodinami dan Terapi antibiotik**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Zainuddin, Z.D., dan N. Nawir, 2008, **Mikrobiologi Pangan**, Jurusan Biologi FMIPA UNHAS, Makassar.

Lampiran 1. Skema penelitian (Aisyah, 2004)

