

**ISOLASI FUNGI ENDOFIT PENGHASIL SENYAWA  
ANTIMIKROBA DARI DAUN KETAPANG (*Terminalia  
catappa* L.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
RESISTEN**

**SITTI INAYYAH ARISTA  
N111 09 103**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**ISOLASI FUNGI ENDOFIT PENGHASIL SENYAWA  
ANTIMIKROBA DARI DAUN KETAPANG (*Terminalia  
catappa* L.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
RESISTEN**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



**SITTI INAYYAH ARISTA  
N111 09 103**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PERSETUJUAN**

**ISOLASI FUNGI ENDOFIT PENGHASIL SENYAWA ANTIMIKROBA  
DARI DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP  
BAKTERI PATOGEN RESISTEN**



**Disetujui oleh:**

**Pembimbing Utama**

**Pembimbing Pertama**

Dr. Herlina Rante, M.Si, Apt  
NIP.19771125 200212 2 003

Abd. Rahim, S.Si, M.Si., Apt  
NIP.19771111 200812 1 001

**Pada tanggal, November 2013**

**PENGESAHAN**

**ISOLASI FUNGI ENDOFIT PENGHASIL SENYAWA ANTIMIKROBA  
DARI DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP  
BAKTERI PATOGEN RESISTEN**

Oleh :

**SITTI INAYYAH ARISTA  
N111 09 103**

**Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal : Oktober 2013**

Panitia Penguji Skripsi :

1. Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. (Ketua) : .....
2. Dra. Hj. Nursiah Hasyim, CES., Apt. ( Sekretaris ) : .....
3. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
4. Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
5. Prof.Dr.H.Tadjuddin Naid, M.Sc., Apt. ( Anggota) : .....

Mengetahui :

**Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.  
NIP. 19560114 198601 2 001**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Oktober 2013

Penyusun

Sitti Inayyah Arista

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas nikmat, berkat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak rintangan dan hambatan yang dihadapi, namun dengan doa dan bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada ayahanda Drs. H. Tadjuddin Pata, M.Si dan ibunda tersayang Dra. Hj. Sutrisna Karim yang telah menjadi sumber semangat dan inspirasi dan telah banyak memberikan pengorbanan baik moril maupun materil yang tidak akan mampu penulis balas sampai akhir hayat, serta dukungan doa yang senantiasa dipanjatkan demi kelancaran studi penulis. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada adik tercinta Sitti Syuhada Dwi Arista dan Muhammad Rezki Pata, serta seluruh sanak famili yang selalu memberikan curahan kasih sayang yang sebesar-besarnya dan tak henti-henti memberikan semangat dan dukungan.

Tiada kata yang dapat penulis ucapkan selain terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, dan bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Apt. selaku

pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberi petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan ide-ide dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

Pada kesempatan kali ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt. selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. Rer-nat. Hj. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Wakil Dekan II, dan Drs.Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan III.
3. Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si, Apt. selaku Pembimbing Akademik penulis, yang telah membimbing dan memberikan banyak masukan selama perjalanan studi penulis di Fakultas Farmasi.
4. Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt.; Dra. Hj. Nursiah Hasyim, CES., Apt.; dan Prof.Dr.H.Tadjuddin Naid, M.Sc., Apt. selaku penguji penulis
5. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini
6. Teman-teman Ginkgo 09, khususnya Asmira Azisa Nur, S.Si., Cahyani Purnasari, Haflah, S.Si., Hijrah Al Kautsar, Iin Fitriana Pakata, S.Si., Merliana Mansyur, Oei Sherly Wijoyo, Sallmia, S.Si., Subaedah Bahri dan Suhariani La Suda, S.Si.
7. Teman seperjuangan dalam penelitian fungi endofit, Siti Hira Wahyuti.

8. Kak Haslia S.Si, selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin
9. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya atas bantuan dan kerjasamanya kepada penulis selama penelitian dan menjalani penelitian.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Maka dari itu saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan guna tambahan wawasan agar dalam pelaksanaan penelitian selanjutnya dapat lebih baik.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi, amin.

Makassar, Oktober 2013

Sitti Inayyah Arista

## ABSTRAK

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat fungi endofit dari daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan mengetahui aktivitas antimikroba fungi endofit tersebut terhadap bakteri patogen resisten. Diperoleh 2 isolat fungi endofit yang menunjukkan aktivitas antimikroba yang diberi kode TC1 dan TC2. Isolat murni selanjutnya difermentasi kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Hasil pengujian dengan metode difusi agar menunjukkan ekstrak dari fungi endofit TC1 masih dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten antibiotik hingga konsentrasi 0,625% sebesar 7,81 mm dan *Escherichia coli* yang telah resisten antibiotik hingga konsentrasi 1,25% sebesar 6,73 mm. Sementara ekstrak dari fungi endofit TC2 masih dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten antibiotik hingga konsentrasi 1,25% sebesar 10,35 mm dan *Escherichia coli* yang telah resisten antibiotik hingga konsentrasi 0,625% sebesar 7,63 mm. Ekstrak etil asetat isolat fungi endofit daun ketapang diduga mengandung senyawa golongan terpenoid, dan tannin. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fungi endofit dari daun ketapang memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan menjadi sumber baru bahan baku obat.

## ABSTRACT

The ability of endophytic microbes to produce secondary metabolites according to the host plant is a huge opportunity and reliable to produce secondary metabolites from endophytic microbes isolated from the host plant. The purpose of this study was to obtain endophytic fungi isolated from leaf Ketapang (*Terminalia catappa* L.) and determine the antimicrobial activity of endophytic fungi against pathogenic resistant bacterial. Two isolates of endophytic fungi obtained which showed antimicrobial activity were coded TC1 and TC2. Pure isolates were fermented and extracted with ethyl acetate. The results of the antimicrobial test with the agar diffusion method showed extracts from endophytic fungi TC1 can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* that was resistant to the antibiotic from concentration 0.625% with diameter of inhibition zone 7.81 mm and *Escherichia coli* that were resistant to the antibiotic from concentration 1.25% with diameter of inhibition zone 6.73 mm. While extracts of endophytic fungi TC2 can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* that was resistant to the antibiotic from concentration 1.25% with diameter of inhibition zone 10.35 mm and *Escherichia coli* that were resistant to the antibiotic from concentration 0.625% with diameter of inhibition zone 7.63 mm. Ethyl acetate extract of endophytic fungi isolated from leaf Ketapang suspected contains class of terpenoids, and tannins compound. These results indicate that endophytic fungi from leaves ketapang has good potential to be developed into a new source of pharmaceutical raw materials.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENUNJUK .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Uraian Tanaman .....	4
II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan .....	4
II.1.2 Morfologi Tumbuhan.....	4
II.2 Tumbuhan sebagai penghasil metabolit sekunder .....	6
II.3 Mikroba endofit .....	7
II.4 Patogenitas, virulensi dan infeksi .....	8
II.5 Antimikroba .....	9
II.6 Mekanisme kerja antimikroba .....	10
II.7 Resistensi antimikroba .....	12
II.8 Uraian umum uji mikrobiologi .....	14
II.9 Kromatografi lapis tipis .....	15
II.10 Mikroba Uji .....	16
BAB III METODE PENELITIAN .....	18

III.1 Alat dan bahan yang digunakan .....	18
III.1.1 Alat .....	18
III.1.2 Bahan .....	18
III.2. Prosedur penelitian .....	18
III.2.1 Sterilisasi Alat .....	18
III.2.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel .....	19
III.2.3 Pembuatan Medium .....	19
III.2.3.1 Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA) .....	19
III.2.3.2 Pembuatan Medium Potato Dextrosa Agar (PDA) .....	19
III.2.3.3 Pembuatan Medium Potato Dextrosa Yeast (PDY) .....	20
III.2.4 Isolasi dan pemurnian fungi endofit .....	20
III.2.5 Penyiapan mikroba uji .....	21
III.2.6 Uji aktivitas fungi endofit .....	21
III.2.7 Fermentasi isolat .....	21
III.2.8 Ekstraksi isolat .....	22
III.2.9 Uji aktivitas terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
III.2.10 Identifikasi komponen kimia.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	24
IV.1 Hasil isolasi fungi endofit .....	24
IV.2 Hasil uji antagonis fungi endofit .....	25
IV.3 Fermentasi dan ekstraksi metabolit sekunder fungi endofit .....	26
IV.4 Karakterisasi senyawa .....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	31
V.1 Kesimpulan .....	31
V.2 Saran .....	31
DAFTAR PUSTAKA .....	32
LAMPIRAN .....	35

## DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Karakterisasi makroskopik isolat fungi endofit daun ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.).....	25
2. Hasil pengujian aktivitas antimikroba ekstrak isolat fungi endofit dari daun ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	28
3. Hasil karakterisasi senyawa ekstrak etil asetat dari fungi endofit daun ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	30

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Pertumbuhan fungi endofit pada sampel daun ketapang setelah hari ke-3 dan air bilasan sebagai kontrol .....	24
2. Uji antagonis isolat TC1 dan TC2 dari daun ketapang .....	25
3. Uji aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat isolat TC1 daun ketapang .....	28
4. Uji aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat isolat TC2 daun ketapang.....	29
5. Foto tanaman Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	36
6. Fermentasi isolat fungi endofit dari daun Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.).....	36
7. Kromatogram lapis tipis ekstrak etil asetat isolat TC1 daun Ketapang.....	37
8. Kromatogram lapis tipis ekstrak etil asetat isolat TC2 daun Ketapang.....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Skema isolasi fungi endofit.....	35
2. Gambar hasil penelitian .....	36
3. Komposisi reagen .....	39
4. Bukti Hasil Pemeriksaan Bakteriologi.....	40

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Istilah antibiotik untuk pertama kali digunakan digunakan oleh Waksman (1945) sebagai nama dari suatu golongan substansi yang berasal dari bahan biologis yang kerjanya antagonistik terhadap mikroorganisme. Istilah itu berarti “melawan hidup”. Dengan kata lain maksud dari antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh organisme (mikroorganisme) hidup, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, bahkan dapat memusnahkannya (1).

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. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (genetic recombination) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (2).

Di asia tenggara, daun dan kulit pohon Ketapang atau biasa dikenal sebagai almond India secara luas digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk mengobati dermatosis, hepatitis, sariawan dan infeksi mulut lainnya, dan penyakit pencernaan pada anak-anak. Rebusan daun Ketapang digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, bronchitis dan tuberkolosis (3).

Di sisi lain, dalam kedokteran modern, banyak studi farmakologi pada berbagai ekstrak daun dan kulit batang Ketapang telah dilaporkan memiliki aktivitas anti kanker (4), antioksidan (5), anti HIV reverse transcriptase (6), hepatoprotektor (7), antiinflamasi (8), afrodisiaka (9), anti fungi terhadap *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, dan *Aspergillus fumigates* (10), dan antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (11).

Komposisi kimia dari tanaman Ketapang terdiri dari tanin (punicalagin, punicalin, terflavin A dan B, tergalagin, tercatin, chebulagic acid, geranin, granatin B, corilagin), flavonoid, isovitexin, vitexin, isoorientin, rutin dan triterpenoid (asam ursolat, 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23-trihydroxyurs-12-en-28 oic acid) (12). Tannin, senyawa polifenol yang umum ditemukan di sebagian besar herbal, memiliki komponen antibakteri (13).

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut (2). Dengan kata lain apabila endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka tidak perlu mengambil tanaman secara keseluruhan (14).

Berdasarkan uraian di atas, timbul permasalahan apakah dapat dilakukan isolasi fungi endofit dari daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan apakah fungi endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen resisten. Sehubungan dengan itu maka akan dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antimikroba dari isolat fungi endofit yang diisolasi dari daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap mikroba uji *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten antibiotik.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat fungi endofit dari daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan mengetahui aktivitas antimikroba fungi endofit tersebut terhadap bakteri patogen resisten.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi tumbuhan (15)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Combretaceae
Marga	: Terminalia
Jenis	: <i>Terminalia catappa</i> L.

##### II.1.2 Morfologi tumbuhan

Tropical almond (*Terminalia catappa* L.) adalah pohon besar, tersebar di seluruh daerah tropis di lingkungan pesisir. Pohon ini toleran terhadap angin kencang, terpaan garam, dan kadar garam cukup tinggi di zona akar. Tanaman ini tumbuh terutama di tanah kering, tanah teraerasi, maupun tanah berpasir. Terdistribusi secara alami pada daerah subtropis dan tropis di samudera Hindia dan Pasifik dan secara luas tumbuh di daerah tropis (16).

Tinggi pohon 25-40 m, habitat di iklim maritim subtropis dan tropis dengan curah hujan tahunan umumnya 1000-3500 mm, ketinggian di bawah 300-400 m (16).

a. Daun

Memiliki bentuk daun obovate, dengan tulang daun menyirip, panjang daun 8-12 inci, warna daun hijau (17). Ujung daun bulat dan tumpul, dan meruncing ke arah pangkal. Daun baru tertutupi oleh rambut-rambut halus berwarna coklat. Daun dewasa kebanyakan licin (mengkilap), kasar, dan berwarna hijau gelap, berubah menjadi kuning cerah kemudian menjadi merah gelap sebelum gugur. Tanaman ini menggugurkan daunnya selama musim kemarau, atau dalam lingkungan tertentu 2 kali dalam setahun (16).

b. Bunga

Bunga kecil (4-6 mm), berwarna putih atau krem, berbau khas agak tidak menyenangkan. Tanaman biasanya mulai berbunga dan berbuah dari usia muda, dalam waktu 2-3 tahun dari penanaman, namun hal ini tergantung pada lokasi tumbuh dan genotipnya (16).

c. Buah

Biasanya satu sampai lima buah berkembang pada bagian basal dari spike bunga. Buah sesil, berbentuk pipih di bagian tepinya, berbentuk ovoid atau ovate, kulit buah halus. Selama pematangan, buah berubah warna dari hijau menjadi kuning hingga merah terang atau ungu gelap kemerahan pada saat masak. Ukuran buah bervariasi, misalnya 3,5-7 x 2-5,5 cm (16).

## **II.2 Tumbuhan sebagai penghasil metabolit sekunder**

Proses metabolisme pada tumbuhan akan menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang berupa senyawa organik. Senyawa metabolik pada umumnya dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu, metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa-senyawa utama penyusun tumbuhan (makhluk hidup), senyawa yang tergolong dalam metabolit primer mencakup polisakarida, protein, lemak dan asam nukleat. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang mempunyai kemampuan bioaktivitas yang berfungsi sebagai mekanisme adaptasi kimia terhadap cekaman lingkungan, pertahanan diri bagi tanaman dan dapat membunuh insekta, herbivora, dan mikroorganisme. Senyawa metabolit sekunder meliputi terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid (18).

Senyawa metabolit pada tumbuhan dapat disimpan pada berbagai organ tanaman seperti akar, batang, daun, bunga, dan biji. Senyawa tersebut dapat dilepaskan ke lingkungan dengan cara penguapan eksudat akar, pencucian, dan hasil dekomposisi organ tumbuhan yang telah mati. Senyawa metabolit sekunder dapat berpengaruh menghambat pertumbuhan melalui beberapa mekanisme, misalnya senyawa terpenoid dapat berikatan dengan molekul protein dan lipid sehingga dapat mempengaruhi fisiologis protein membran sel dan protein enzim (18).

### **II.3 Mikroba endofit**

Mikroba endofit merupakan istilah untuk organisme-organisme baik jamur maupun bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman dan tidak bersifat patogenik. Endofit merupakan organisme yang hidup selama satu periode siklus hidup dalam jaringan tanaman, tidak termasuk mikroorganisme yang hidup di permukaan tanaman, organisme yang menyebabkan penyakit pada tanaman, mikrozoa maupun rhizobium (18).

Bakteri endofit telah diketahui mampu memacu pertumbuhan tanaman, sebagai pengendali biologi yang bersifat antagonis langsung atau dengan cara menambah ketahanan sistematis tanaman terhadap serangan patogen. Pada umumnya bakteri endofit mengendalikan patogen dengan cara kolonisasi; bersifat antagonis secara langsung melalui senyawa-senyawa metabolit; dan dengan cara memacu atau meningkatkan ketahanan sistematis tanaman inangnya. Cara pertama biasanya dilakukan oleh bakteri endofit yang berada dalam jaringan pembuluh. Bakteri tersebut bersifat antagonis terhadap patogen pembuluh seperti *Verticillium*, *Fusarium*, atau *Ralstonia*. Sedangkan cara kedua dan ketiga biasanya dilakukan oleh bakteri endofit untuk mengendalikan patogen yang menyerang melalui jaringan korteks pada akar (18).

Model interaksi mikroba endofit dengan tanaman inangnya antara lain:

- a. Tanaman inang menyediakan nutrisi bagi mikroba endofit yang hidup di dalamnya.

- b. Tanaman inang menyediakan substrat dan zat yang penting bagi mikroba endofit untuk menyelesaikan siklus hidupnya, untuk tumbuh, serta untuk pertahanan diri.
- c. Mikroba endofit khususnya jamur berperan melalui proses biodegradasi tanaman inangnya setelah tanaman inang mati. Proses biodegenerasi ini memiliki peran sentral di dalam siklus nutrisi.
- d. Ditinjau dari kajian biologi molekuler, interaksi antara mikroba dengan tanaman inangnya melibatkan transfer materi genetik. Hal tersebut berdasarkan fakta bahwa zat-zat bioaktif langka yang dihasilkan oleh tanaman tertentu, dihasilkan pula oleh mikroba-mikroba endofit yang hidup di dalamnya (18).

#### **II. 4 Patogenitas, Virulensi dan Infeksi**

Kemampuan suatu mikroorganisme untuk menimbulkan penyakit disebut daya patogen, apabila mikroorganisme menyerang inang yaitu apabila mikroorganisme memasuki jaringan tubuh dan berkembang biak dan melakukan kolonisasi, maka terjadilah infeksi.

Respon inang terhadap infeksi adalah terganggunya fungsi tubuh dan inilah yang disebut penyakit. Jadi patogen adalah mikroorganisme atau makroorganisme mana saja yang mampu menyebabkan penyakit. Kemampuan suatu mikroorganisme patogenik untuk menyebabkan infeksi (patogenitasnya) dipengaruhi tidak hanya oleh sifat-sifat mikroorganisme

itu sendiri, tetapi juga oleh kemampuan inang untuk menahan infeksi. Namun derajat kemampuan suatu mikroorganisme infeksi inilah yang disebut virulensi, jadi pengertian virulensi mengacu pada jangkauan daya patogen tersebut. Jadi dalam arti yang terbatas, virulensi merupakan ukuran daya pathogen suatu mikroorganisme, namun banyak orang sering menggunakan arti keduanya bergantian (19).

## **II. 5 Antimikroba**

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia (19). Istilah antibiotik untuk pertama kali digunakan digunakan oleh Waksman (1945) sebagai nama dari suatu golongan substansi yang berasal dari bahan biologis yang kerjanya antagonistik terhadap mikroorganisme. Istilah itu berarti “melawan hidup”. Dengan kata lain maksud dari antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh organisme (mikroorganisme) hidup, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, bahkan dapat memusnahkannya (1).

Antimikroba dapat bersifat:

1. Bakteriostatika, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi multiplikasi dan berkembang biak.

2. Bakteriosida, zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembang biak (19).

## **II.6 Mekanisme Kerja Antimikroba**

Antimikroba mempunyai mekanisme kerja sebagai berikut:

1. Penginaktifan enzim tertentu

Penginaktifan enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptika dan desinfektansia, seperti turunan aldehida, amida, karbanilida, etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuarternar.

2. Denaturasi Protein

Turunan alkohol, halogen, dan halogenator, senyawa merkuri, per-oksida, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarternar bekerja sebagai antiseptika dan desinfektan dengan cara denaturasi dan konyugasi protein sel bakteri.

3. Mengubah permeabilitas membrane sitoplasma bakteri

Cara ini adalah model kerja dari turunan amin dan guanidine, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarternar. Dengan mengubah permeabilitas membrane sitoplasma bakteri, senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang essensial, sehingga bakteri mengalami kematian.

#### 4. Intekalasi ke dalam DNA

Beberapa zat warna seperti turunan trifenilmetan dan turunan akridin, bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

#### 5. Pembentukan khelat

Beberapa turunan fenol, seperti heksaklorofen dan oksikuinolin dapat membentuk khelat dengan Fe dan Cu, kemudian bentuk khelat tersebut masuk ke dalam sel bakteri. Kadar yang tinggi dari ion-ion logam dalam sel menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim, sehingga mikroorganisme mengalami kematian.

#### 6. Bersifat sebagai antimetabolit

Antimikroba bekerja memblokir tahap metabolik spesifik mikroba, seperti trimetoprim dan sulfonamid, yang memblokir enzim penting dari metabolisme folat.

#### 7. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel

Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme. Yang termasuk kelompok ini antara lain: penisilin, sefalosporin, vankomisin, sikloserin, basitrasin.

#### 8. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme.

#### 9. Penghambatan sintesis protein

Antimikroba mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat.

#### 10. Penghambatan asam nukleat

Agen yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri, seperti para rifamycins ( misalnya , rifampisin dan rifabutin ) , yang menghambat polimerase RNA , dan kuinolon , yang menghambat topoisomerase (19, 20).

### **II.7 Resistensi Antimikroba**

Resisten adalah ketahanan suatu mikroorganisme terhadap suatu antimikroba tertentu. Penyebab terjadinya resistensi mikroorganisme adalah penggunaan antimikroba yang tidak tepat, misalnya penggunaan dengan dosis yang tidak memadai, pemakaian yang tidak teratur atau tidak kontinyu, demikian juga waktu pengobatan yang tidak cukup lama, sehingga untuk mencegah atau memperlambat terjadinya resisten tersebut, maka cara pemakaian antibiotika perlu diperhatikan (19).

Suatu mikroorganisme dapat resisten terhadap suatu obat dengan salah satu atau lebih mekanisme dibawah ini:

1. Memproduksi enzim yang melumpuhkan

Diantara enzim ini termasuk beta-laktamase (penisilase) yang menghidrolisa penisilin dan enzim transferase yang melumpuhkan aminoglikosida.

2. Perubahan struktur reseptor atau molekul target

Dalam hal ini termasuk perubahan komponen ribosom yang diperlukan dalam infeksi seperti eritromisin dan aminoglikosida

3. Perubahan permeabilitas obat

Tetrasiklin mampu mengakumulasi mikroorganisme yang dapat dipengaruhi, tetapi tidak dapat untuk mikroorganisme yang resisten.

4. Mengubah jalur metabolik membentuk jalan pintas metabolik alternatif

Hal ini dapat timbul pada bakteri yang resisten terhadap sulfonamide, dan fungi yang resisten terhadap flusitosin.

5. Mengubah jumlah respon obat

Beberapa mikroorganisme menjadi resisten terhadap trimetoprim dengan mensintesis sejumlah besar enzim dehidrofolat reduktase yang merupakan tujuan dari kerja obat.

## 6. Menurunkan afinitas reseptor terhadap obat

Resistensi terhadap aminoglikosida mungkin berhubungan dengan hilangnya atau adanya perubahan protein spesifik pada ribosom 30S bakteri (19).

## II.8 Uraian Umum Uji Mikrobiologi

### 1. Metode Difusi

Metode difusi termasuk teknik agar-*overlay* seperti disk, strip, sumur (lubang) dan silinder. Uji difusi disk adalah salah satu metode yang paling umum digunakan uji kerentanan antimikroba. Di Amerika Serikat ini adalah metode resmi untuk deteksi kualitatif penghambatan zat kimia dalam susu. Filter kecil kertas disk (sekitar 1 cm diameter) dresapi dengan sejumlah zat standar antibakteri ditempatkan ke plate agar yang telah diinokulasi sebelumnya untuk metode ini. Piring dibalik dan diinkubasi. Kadang-kadang, sebelum inkubasi, piring dengan disk yang tersisa pada suhu mendekati 0°C selama beberapa jam untuk memungkinkan difusi. Waktu inkubasi bervariasi dari sekitar 48 jam. Diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri adalah ukuran kerentanan. Metode Difusi biasanya digunakan untuk zat murni (21).

### 2. Metode Dilusi

Metode dilusi terutama digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari zat murni dan ekstrak. Sampel harus homogen terdispersi dalam air. Hal ini biasanya dicampur dalam berbagai

pengenceran dengan media diinokulasi. Setelah inkubasi, sifat penghambatan sampel dapat diperkirakan dengan perbandingan turbidimetri atau visual dengan biakan kontrol. Dalam uji tabung berbagai konsentrasi analit dicampur dalam serangkaian tabung dengan suspensi bakteri. Jumlah terkecil menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, media tetap jernih, memberikan nilai MIC. Dalam pengenceran agar dengan berbagai konsentrasi zat antibakteri yang dicampur dengan nien agar. plat agar diinokulasi dan diinkubasi. Konsentrasi terendah dari antibiotik menunjukkan tidak ada pertumbuhan dibaca sebagai nilai MIC. Uji microdilution kaldu dilakukan dalam piring microtitre. Setelah inkubasi pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya putih "pellet" di bagian dasar sumur (21).

## **II.9 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi adalah suatu metode analisis yang terdiri dari fase gerak dan fase diam. Fase gerak akan melewati fase diam sehingga campuran zat dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya. Meskipun dasar kromatografi adalah suatu proses pemisahan namun juga digunakan untuk analisis kuantitatif. Jenis-jenis kromatografi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif dan analisis kuantitatif adalah kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, kromatografi gas, dan kromatografi cair kinerja tinggi (22, 23).

Prinsip KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi. Pada pemisahannya fase gerak akan membawa komponen campuran sepanjang fase diam pada pelat sehingga terbentuk kromatogram (22).

## **II.10 Mikroba Uji**

### **II.10.1 *Escherichia coli***

#### **a. Klasifikasi**

- Divisi : Procaryota
- Kelas : Gammaproteobacteria
- Bangsa : Enterobacteriaes
- Suku : Enterobacteriaceae
- Marga : Escherichia
- Jenis : *Escherichia coli*

#### **b. Sifat dan Morfologi**

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus, 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0-6,0  $\mu\text{m}$ , motil dengan flagelum peritrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrien sederhana. Laktose difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (24, 25).

## II.10.2 *Staphylococcus aureus*

### a. Klasifikasi

Kerajaan : Protophyta

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Staphylococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus aureus*

### b. Sifat dan Morfologi

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif, sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ , terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama; peptidoglikan dan asam teikoat. Metabolisme secara respiratif dan fermentatif. Tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerob. Suhu optimum 35-40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Kisaran inangnya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial (24, 25).