

**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TANAMAN
CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) BERPOTENSI
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI
PATOGEN**

SKRIPSI



Disusun oleh :

HENI SETIANAH
1611201011

**PROGRAM STUDI S1-BIOTEKNOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS 'AISYIYAH
YOGYAKARTA
2020**

**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TANAMAN CIPLUKAN
(*Physalis angulata* L.) BERPOTENSI SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN**

SKRIPSI

Diajukan Guna Melengkapi Sebagian Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Bioteknologi
Program Studi S1-Bioteknologi
Fakultas Sains dan Teknologi
di Universitas 'Aisyiyah
Yogyakarta



Disusun oleh :
HENI SETIANAH
1611201011

**PROGRAM STUDI S1-BIOTEKNOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS 'AISYIYAH
YOGYAKARTA
2020**

HALAMAN PERSETUJUAN**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TANAMAN CIPLUKAN
(*Physalis angulata* L.) BERPOTENSI SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN****SKRIPSI****Disusun oleh :**

Heni Setianah

1611201011

Telah Memenuhi Persyaratan dan Disetujui Untuk Mengikuti Ujian Skripsi
Program Studi S1- Bioteknologi
Fakultas Sains dan Teknologi
di Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

Oleh :**Pembimbing 1**

Tanggal

Ika Afifah Nugraheni, S.P., M.Biotech
NIP. 8706241607367

.....

Pembimbing 2

Tanggal

Annisa Khumaira, S.P., M.Biotech
NIP. 8911201903502

.....

HALAMAN PENGESAHAN

ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TANAMAN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) BERPOTENSI SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN

SKRIPSI

Disusun oleh :

Heni Setianah

1611201011

Telah Dipertahankan Di Depan Dewan Penguji dan Diterima Sebagai Syarat Untuk
Mendapatkan Gelar Sarjana Bioteknologi
Program Studi S1- Bioteknologi
Fakultas Sains dan Teknologi
di Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

SUSUNAN DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1 Sebagai Ketua

Tanggal

Ika Afifah Nugraheni, S.P., M.Biotech

NIP. 8706241607367

.....

Pembimbing 2 sebagai Anggota 1

Tanggal

Annisa Khumaira, S.P., M.Biotech

NIP. 8911201903502

.....

Penguji 1 sebagai Anggota 2

Tanggal

Nosa Septiana Anindita, S.Pt., M.Biotech

NIP. 8809221506306

.....

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

Hapsari Wahyuningsih, S.T., M.Sc

NIP. 8309121504281

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini peneliti menyatakan bahwa dalam laporan penelitian ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk penelitian lain atau untuk memperoleh gelar kesarjanaan pada perguruan tinggi lain, dan sepanjang pengetahuan peneliti juga tidak terdapat karya orang lain atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 10 Agustus 2020



Heni Setianah

ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI TANAMAN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) BERPOTENSI SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN¹

Heni Setianah^{2*}, Ika Afifah Nugraheni³ dan Annisa Khumaira³

Program Studi S1- Bioteknologi, Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta

*Email : henisetianah997@gmail.com

ABSTRAK

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang belum banyak diketahui khasiatnya di Indonesia. Ciplukan diketahui memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari tanaman ciplukan yang berpotensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimen. Tahapan penelitian meliputi persiapan alat bahan seperti sterilisasi alat dan bahan serta pembuatan media. Tahap selanjutnya yaitu pengambilan dan persiapan sampel, isolasi bakteri endofit, pemurnian bakteri endofit, karakterisasi morfologi, dan pengujian potensi antibakteri isolat bakteri endofit yang meliputi peremajaan bakteri patogen, pembuatan kertas cakram, pembuatan suspensi bakteri dan uji aktivitas antibakteri. Bakteri patogen yang digunakan meliputi *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer dengan mengukur zona penghambatan terhadap bakteri patogen.

Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 44 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman ciplukan. Sebanyak 6 isolat bakteri endofit diperoleh dari bagian akar, 16 isolat dari bagian batang, 14 isolat dari bagian buah dan 8 isolat dari bagian daun. Masing-masing isolat memiliki morfologi yang bervariasi mulai dari warna koloni, bentuk, tepian dan elevasi koloni. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, keseluruhan bakteri endofit menunjukkan zona hambat yang bervariasi terhadap ketiga macam bakteri patogen. Sebanyak 11 isolat memberikan zona penghambatan terhadap *P.aeruginosa* dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-1 mm. Isolat bakteri endofit yang memberikan zona penghambatan terhadap *E.coli* sebanyak 11 isolat dengan diameter zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 0,5-2 mm. Sedangkan diameter zona hambat yang dihasilkan 32 isolat bakteri endofit berkisar antara 0,5-2 mm terhadap bakteri *S.aureus*. Isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan berhasil diisolasi dan diperoleh 44 isolat dan memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap ketiga bakteri patogen dengan diameter zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 0,5-2 mm.

Kata kunci : Bakteri Endofit, Tanaman Ciplukan (*Physalia angulata* L.), Aktivitas Antibakteri, dan Bakteri Patogen.

¹ Judul Skripsi

² Mahasiswa Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta

³ Dosen Program Studi Bioteknologi, Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta

THE POTENTIAL OF THE ISOLATION OF ENDOPHYTE BACTERIA FROM *CIPLUKAN* PLANTS (*Physalis angulata L.*) AS AN ANTIBACTERIAL TO THE GROWTH OF PATHOGENIC BACTERIA

Heni Setianah*, Ika Afifah Nugraheni dan Annisa Khumaira

S1 Biotechnology Study Program, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

* Email: henisetianah997@gmail.com

ABSTRACT

Ciplukan (*Physalis angulata L.*) is one of the herbal plants whose properties are not yet known in Indonesia. *Ciplukan* is known to have bioactive compounds that have the potential to be antibacterial. This study aims to isolate endophyte bacteria from *ciplukan* plants that have the potential as an antibacterial in inhibiting the growth of pathogenic bacteria.

This study employed an experimental research method. The stages of the research included the preparation of material tools such as sterilization of tools and materials and the manufacture of media. The next steps were taking and preparing samples, isolating endophyte bacteria, purifying endophyte bacteria, characterizing morphology, and testing the antibacterial potential of endophyte bacterial isolates which included rejuvenation of pathogenic bacteria, making paper discs, making bacterial suspensions and testing antibacterial activity. Pathogenic bacteria used were *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Antibacterial activity test was carried out using the Kirby-Bauer method by measuring the zone of inhibition against pathogenic bacteria.

The results showed that as many as 44 endophyte bacterial isolates were successfully isolated from *ciplukan* plants. A total of 6 endophyte bacterial isolates were obtained from the root, 16 isolates from the stem, 14 isolates from the fruit and 8 isolates from the leaf. Each isolate had a morphology that varied from the color of the colony, edge, shape and colony elevation. Based on the results of antibacterial activity tests, overall endophyte bacteria showed a zone of inhibition that varied with all three types of pathogenic bacteria. A total of 11 isolates gave inhibition zones against *P.aeruginosa* with inhibition zone diameters ranging from 0,5-1 mm. Endophyte bacterial isolates that provided inhibition zones against *E.coli* as many as 11 isolates with the diameter of the inhibitory zone produced ranges from 0,5-2 mm. While the diameter of inhibition zone produced 32 isolates of endophyte bacteria ranged from 0,5-2 mm against *S.aureus* bacteria. Endophyte bacterial isolates from *ciplukan* plants were isolated and 44 isolates were obtained and had potential as antibacterial against the three pathogenic bacteria with inhibition zone diameters produced in the range of 0,5-2 mm.

Keywords: Endophyte Bacteria, *Ciplukan* Plants (*Physalia angulata L.*), Antibacterial Activity, and Pathogenic Bacteria.

¹ Title

² Student of Biotechnology Study Program, Faculty of Science and Technology, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

³ Lecturer for Biotechnology Study Program, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya. Laporan Penelitian ini diajukan untuk menyusun Skripsi Program Studi S1-Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta dengan judul "**Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Berpotensi Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen**". Peneliti mengucapkan terima kasih kepada :

1. Hapsari Wahyuningsih, S.T., M.Sc selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah memberikan izin dalam penyusunan skripsi ini.
2. Arif Bimantara, S.Pi., M.Biotech selaku Kepala Program Studi S1-Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah memberikan izin dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ika Afifah Nugraheni, S.P., M.Biotech selaku Dosen Pembimbing I sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Annisa Khumaira, S.P., M.Biotech selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Nosa Septiana Anindita S.Pt., M.Biotech selaku Dosen Penguji I yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Orang tua serta seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan, perhatian, kasih sayang serta Do'a selama penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman Bioteknologi angkatan 2016 yang telah banyak memberikan saran dan dukungan.
8. Semua pihak yang telah membantu dan memberi dukungan dalam penyelesaian skripsi.

Penulis meyakini dalam penyusunan skripsi merupakan murni dari hasil penelitian yang telah dilakukan. Penulis juga menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, berbagai bentuk kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Namun demikian, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Yogyakarta, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Ruang Lingkup Penelitian.....	4
F. Keaslian Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Teoritis	7
1. Tanaman Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	7
2. Kandungan Senyawa Aktif Tanaman Ciplukan	9
3. Bakeri Endofit.....	11
4. Peran Bakeri Endofit.....	13
5. Antibakteri	14
a. Mekanisme Kerja Antibakteri	15
b. Mikroorganisme Penghasil Antibakteri	16
6. Bakteri Patogen.....	17
a. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
b. <i>Escherichia coli</i>	18
b. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
7. Isolasi Bakteri	20
8. Uji Aktivitas Antibakteri.....	20
B. Kerangka Konsep.....	21
C. Hipotesis	22
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian	23
B. Variabel Penelitian.....	23
C. Definisi Operasional	23
D. Populasi dan Sampel.....	24
E. Alat dan Metode Pengumpulan Data	24
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	24
a. Alat Penelitian	24
b. Bahan Penelitian	24
2. Metode Penelitian	24
a. Sterilisasi Alat	24

b. Pembuatan Medium	25
c. Pengambilan dan Persiapan Sampel.....	25
d. Isolasi Bakteri Endofit	26
e. Pemurnian Bakteri Endofit.....	26
f. Karakterisasi Morfologi.....	27
g. Pengujian Potensi Antibakteri dari Isolasi Bakteri Endofit	27
F. Metode Pengolahan dan Analisis Data	28
1. Pengukuran Zona Hambat	28
2. Kategori Diameter Zona Hambat.....	28
3. Pengumpulan Data.....	29
4. Analisis Data	29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Isolasi Bakteri Endofit.....	30
B. Morfologi Bakteri Endofit	35
C. Uji aktivitas Isolat Bakteri Endofit Tanaman Ciplukan Terhadap Bakteri Patogen.....	38
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan.....	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Tanaman Ciplukan.....	8
Gambar 2. Kerangka Konsep	21
Gambar 3. Bagian-Bagain Tanaman Ciplukan	30
Gambar 4. Diameter Zona Hambat Antibiotik Kloramfenikol	46
Gambar 5. Alur Penelitian.....	59
Gambar 6. Visualisasi Tanaman Ciplukan.....	60
Gambar 7. Bagian-Bagian Tanaman Ciplukan	60
Gambar 8. Proses Sterilisasi Permukaan Tanaman Ciplukan	61
Gambar 9. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Ciplukan Setelah Inkubasi 48 Jam.....	63
Gambar 10. Pemurnian Bakteri Endofit Tanaman Ciplukan	64
Gambar 11. Isolat Bakteri Endofit Bagian Buah Ciplukan.....	65
Gambar 12. Isolat Bakteri Endofit Bagian Batang Ciplukan.....	66
Gambar 13. Isolat Bakteri Endofit Bagian Akar dan Daun Ciplukan.....	67
Gambar 14. Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap <i>P. aureginosa</i>	68
Gambar 15. Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap <i>E. coli</i>	69
Gambar 16. Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap <i>S. aureus</i>	71
Gambar 17. Persiapan dan Isolasi Bakteri Endofit	73
Gambar 18. Uji Aktivitas Antibakteri.....	73

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2. Kategori Diameter Zona Hambat.....	29
Tabel 3. Populasi Isolat Bakteri Endofit Pada Tanaman Ciplukan.....	33
Tabel 4. Morfologi Isolat Bakteri Endofit Dari Buah Ciplukan	36
Tabel 5. Morfologi Isolat Bakteri Endofit Dari Batang Ciplukan	37
Tabel 6. Morfologi Isolat Bakteri Endofit Dari Daun dan Akar Ciplukan	37
Tabel 7. Diameter Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap Bakteri <i>P. aureginosa</i>	40
Tabel 8. Diameter Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	41
Tabel 9. Diameter Zona Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian.....	59
Lampiran 2. Tanaman Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	60
Lampiran 3. Proses Sterilisasi Sampel.....	61
Lampiran 4. Pembuatan Media dan Perhitungan.....	62
Lampiran 5. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Ciplukan.....	63
Lampiran 6. Hasil Pemurnian Bakteri Endofit.....	64
Lampiran 7. Morfologi Isolat Bakteri Endofit.....	65
Lampiran 8. Hasil Pengamatan Zona Bening Bakteri Endofit.....	68
Lampiran 9. Foto Kegiatan Penelitian.....	73

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara tropis yang terkenal dengan hasil pertanian dan tanaman herbalnya. Tanaman herbal di Indonesia terdapat 2500 jenis yang banyak digunakan sebagai obat dalam pengobatan tradisional (Kemendag RI, 2014). Salah satu tanaman yang berpotensi digunakan sebagai obat herbal yaitu tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). Potensi yang dimiliki tanaman ciplukan belum banyak diteliti dan dimanfaatkan oleh masyarakat. Tanaman ciplukan masih dianggap sebagai tanaman liar dan hama bagi tanaman budidaya.

Tanaman ciplukan memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Beberapa senyawa yang terdapat dalam tanaman ciplukan yaitu saponin, flavonoid, polifenol, asam klorogenat, alkaloid, tanin, glikosida, steroid, *criptoxantin*, vitamin C, asam stearat, asam sitrat, asam palmitat, asam malat, dan fisalin (Alkautsari *et al.*, 2015). Secara umum, kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman ciplukan dapat digunakan sebagai obat antibakteri, antikanker, antitumor, imunostimulan, antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan dan antidiabetes (Osho *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas yang dimiliki tanaman ciplukan. Isnietty (2010) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dari daun ciplukan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Alkautsari *et al.* (2015) melaporkan bahwa ekstrak daun ciplukan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. Melihat banyaknya manfaat yang terdapat pada tanaman ciplukan, besar kemungkinan bakteri endofit yang terdapat pada tanaman ciplukan memiliki kemampuan mensintesis senyawa yang sama seperti tanaman inangnya. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Desriani *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman binahong memiliki aktivitas antibakteri yang sama dengan tanaman inangnya.

Selain mengkaji sumberdaya tanaman, Islam juga menganjurkan untuk mengkaji sumberdaya makhluk lain seperti bakteri, jamur atau hewan yang memiliki ukuran sangat kecil. Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqoroh ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا.....

Artinya : *Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu....(Q.S. Al-Baqoroh: 26).*

Potongan ayat di atas dengan lafadz “*famaa fauqohaa*” yang artinya “atau yang lebih rendah dari itu” maksudnya adalah makhluk ciptaan Allah yang memiliki ukuran melebihi nyamuk dari segi makna dan fisik. Hal tersebut dikarenakan nyamuk adalah makhluk kecil dan tidak berarti (Hawaa, 2000 dalam Fithriya, 2015). Hewan yang memiliki ukuran lebih kecil dari nyamuk salah satunya adalah mikroba. Beberapa mikroba memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Salah satu mikroba yang memberikan manfaat bagi manusia yaitu bakteri endofit. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman dan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat (Fithriya, 2015).

Bakteri endofit bersimbiosis mutualisme dengan tanaman inang di mana bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman dengan membentuk koloni senyawa metabolit sekunder tanpa membahayakan tanaman inang. Beberapa bakteri endofit terdapat pada tanaman tingkat tinggi dan dapat menghasilkan metabolit sekunder. Beberapa jenis bakteri endofit diketahui dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (Nursanty dan Suhartono, 2012). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antikanker, antifungi, antivirus, dan agen insektisida (Kusumawati *et al.*, 2014).

Senyawa bioaktif yang dihasilkan bakteri endofit mampu menghasilkan berbagai produk potensial, antara lain bakteri *Pseudomonas viridiflava* yang berasal dari rumput hias *Grass* mampu menghasilkan *Ecomycins* B dan C sebagai antibakteri. Selain itu, bakteri *Streptomyces griseus* dari tanaman mangrove *Kandelia candel* mampu menghasilkan asam *p-aminoacetophenonic* sebagai antibakteri. Bakteri *Streptomyces* NRRL 30562 dari bunga *Kennedia nigriscans* menghasilkan munumbisin sebagai antibiotik dan *Streptomyces* NRRL 30566 yang diperoleh dari bunga *Grevilea pteridefolia* mampu menghasilkan kakadumisin sebagai antibiotik (Miller *et al.*, 1998; Guan *et al.*, 2005; castilo *et al.*, 2002 dalam Ryan *et al.*, 2008).

Bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit dapat diaplikasikan sebagai antibiotik (Purwanto *et al.*, 2014). Selain itu, aktivitas antibakteri yang dimiliki bakteri endofit mampu mengendalikan patogen tanaman sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biofertilizer dan biokontrol (Sulistiyani dan Puspita, 2016).

Isolasi senyawa antibakteri dari bakteri maupun mikroba endofit dianggap lebih efisien dibandingkan dengan mengekstrak biomassa tanaman secara langsung (Kusumawati, *et al.*, 2014). Pemanfaatan senyawa antibakteri dari ekstrak tanaman membutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak serta ketersediaan tanaman di lingkungan akan menurun. Senyawa antibakteri dapat diperoleh dari mikroba endofit yang mampu menghasilkan sejumlah senyawa antibakteri yang dibutuhkan, sehingga tidak harus mengekstrak senyawa antibakteri dari tanaman inangnya (Simarmata *et al.*, 2007 dalam Kusumawati *et al.*, 2014).

Penelitian-penelitian sebelumnya telah melakukan eksplorasi bakteri endofit dari tanaman herbal beserta uji aktivitasnya terhadap berbagai bakteri patogen. Berdasarkan penelitian Kusumawati *et al.* (2014), sebanyak tiga isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) dengan diameter zona hambat 1 mm, 2 mm dan 3,3 mm. Lima belas isolat lainnya menunjukkan penghambatan terhadap *S. aureus* dengan diameter berkisar antara 1,5-7 mm (Kusumawati *et al.*, 2014). Purwanto *et al.* (2014) menyatakan bahwa tiga isolat bakteri endofit dihasilkan dari tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 1 mm, 3 mm, dan 5 mm.

Sejauh ini, penelitian mengenai keberadaan bakteri endofit dari tanaman ciplukan beserta potensinya belum dilakukan. Penelitian yang telah dilakukan hanya sebatas pada aktivitas antibakteri dari ekstrak tanaman ciplukan. Eksplorasi bakteri endofit dalam tanaman ciplukan sangat diperlukan untuk mengetahui keberagaman dan potensi plasma nutfah yang dimiliki Indonesia. Pada penelitian ini, bakteri endofit akan diisolasi dari tanaman ciplukan untuk menggali potensinya sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *E. coli* maupun *S. aureus*. Bakteri endofit dari tanaman ciplukan diharapkan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap ketiga bakteri patogen tersebut sehingga dapat dikembangkan sebagai penghasil antibakteri baru.

B. Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah apakah bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri endofit dari tanaman ciplukan yang berpotensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan diharapkan berpotensi sebagai antibakteri. Bakteri endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri dapat dimanfaatkan sebagai sumber antibakteri baru.

E. Ruang Lingkup Penelitian

1. Ruang Lingkup Materi

Ruang lingkup materi pada penelitian ini yaitu tanaman ciplukan diisolasi untuk mendapatkan isolat bakteri endofit murni. Isolat bakteri endofit yang diperoleh kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*.

2. Ruang Lingkup Subyek

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang diperoleh dari lahan pertanian di Jalan Barak Gedhe, Margoluwih, Seyegan, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta.

3. Ruang Lingkup Waktu

Penelitian dilakukan mulai dari penyusunan proposal hingga hasil akhir penelitian yaitu pada bulan September 2019 sampai dengan bulan Juni 2020.

4. Ruang Lingkup Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta dengan fasilitas yang mendukung.

F. Keaslian Penelitian

Penelitian-penelitian terdahulu yang dapat dijadikan sebagai acuan sekaligus pembanding untuk menunjukkan keaslian dari penelitian ini disajikan dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Penelitian-penelitian sebagai acuan dalam penelitian ini.

No.	Peneliti, Tahun, Dan Judul	Lokasi	Tujuan Utama	Metode	Hasil
1.	Luki Alkautsari, Rina W, dan Gustina I. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ciplukan Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella</i> Sp.	Padang, Sumatra Barat.	Mengetahui kemampuan daya hambat antibakteri ekstrak daun ciplukan (<i>Physalis minima</i> L.) terhadap pertumbuhan bakteri <i>Salmonella</i> sp.	<ul style="list-style-type: none"> - Ekstraksi daun ciplukan - Perlakuan konsentrasi menggunakan DMSO - Penentuan daerah bebas kuman dengan metode difusi. 	Ekstrak daun ciplukan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri <i>Salmonella</i> sp., sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti Amoxilin pada konsentrasi 40-50%.
2.	Siti Risma Rahayu dan Maruni Wiwin Diarti. 2018. Uji Daya Hambat Filtrat Daun Ciplukan Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>S. Aureus</i>	Lombok.	Mengetahui pengaruh filtrate daun ciplukan terhadap pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> .	<ul style="list-style-type: none"> - Penelitian <i>true-experimenta</i> - <i>Sampel</i> filtrat daun ciplukan - Uji aktivitas antibakteri (difusi sumuran) 	Pada konsentrasi 100% terbentuk diameter zona hambat dengan rata-rata 20,333 mm, dan pada konsentrasi 75%, 50% dan 25% tidak terbentuk adanya diameter zona hambat.
3.	Osho, A., Adetunji, T., Fayemi S. O. and Moronkola, D.O. 2010. Antimicrobial Activity Of Essential Oils Of <i>Physalis Angulata</i> . L.	Nigeria	Menentukan efektivitas antibakteri dari minyak atsiri <i>Physalis angulata</i> L terhadap spesies <i>Candida</i> (<i>C. stellatoidea</i> , <i>C. albicans</i> dan <i>C. torulopsis</i>) dan beberapa spesies bakteri tertentu (<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> dan <i>S. aureus</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Isolasi minyak atsiri - Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran - Metode konsentrasi penghambatan minimum. 	Minyak atsiri yang berasal dari akar tidak dapat menghambat pertumbuhan <i>C. torulopsis</i> , <i>C. stellatoidea</i> dan <i>C. albicans</i> . Minyak atsiri pada konsentrasi 3,75 mg/ml dan 4,0 mg/ml mampu menghambat bakteri <i>B. subtilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> dan tidak dapat menghambat <i>P. aeruginosa</i> and <i>S. aureus</i> .
4.	Isnietti. 2010. Isolasi dan Uji Antibakteri Flavonoid dari Daun Ciplukan (<i>Physalis minima</i> L.)	Padang, Sumatra Barat.	Isolasi flavonoid dari tumbuhan Ciplukan dan aktifitas antibakterinya terhadap pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Isolasi senyawa flavonoid - Karakteristik Hasil Isolasi - Uji aktifitas antibakteri 	Senyawa flavonoid hasil isolasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> dengan diameter daerah hambatnya 13 mm pada konsentrasi 1%

			dan <i>E. coli</i> .	metode difusi cakram - Pengukuran luas diameter daerah hambatan	dan 2% b/v dan <i>E. coli</i> 5,1 mm pada konsentrasi 1% dan 5,29 mm pada 2%.
5.	Purwanto, Fachriyan Hasmi Pasaribu, Maria Bintang. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri	Bogor, Jawa Barat.	Mengisolasi dan melakukan penapisan bakteri endofit dari sirih hijau melalui uji terhadap empat jenis bakteri patogen (<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> dan <i>S. enteritidis</i>)	- Isolasi bakteri endofit - Uji aktivitas antibakteri dengan metode streak plate.	Diperoleh 14 isolat bakteri endofit murni terdapat 3 isolat AS1, BS1 dan BS2 yang memiliki potensi sebagai sumber antibakteri terhadap <i>S.aureus</i> .

Penelitian mengenai potensi tanaman ciplukan sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Akan tetapi, fokus pada penelitian tersebut terbatas pada ekstraksi tanaman ciplukan. Pada penelitian ini, fokus penelitian dititik beratkan pada bakteri endofit yang terdapat pada jaringan tanaman ciplukan meliputi bagian daun, akar, batang dan buah melalui proses isolasi bakteri. Bakteri endofit yang diperoleh akan diuji aktivitas antibakteri untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teoritis

1. Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan salah satu tanaman tahunan yang tumbuh di berbagai daerah tropis maupun subtropis (Kusumaningtyas *et al.*, 2015). Tanaman ciplukan pertama kali ditemukan di kawasan tropis tepatnya di Peru (Amerika Latin). Tanaman ciplukan disebarakan oleh orang-orang Belanda sehingga populasinya menyebar luas di berbagai daerah tropis hingga ke Eropa. Tanaman ciplukan di Inggris dikenal dengan nama *morel berry*. Di Indonesia, tanaman ciplukan pertama kali dikenal di daerah Maluku kemudian tersebar di beberapa daerah seperti di Jawa, Sumatra, Bali, Ambon dan Maluku (Khotib, 2018).

Menurut Tjitrosoepomo (1991 dalam Khotib 2018), tanaman ciplukan diklasifikasikan sebagai berikut :

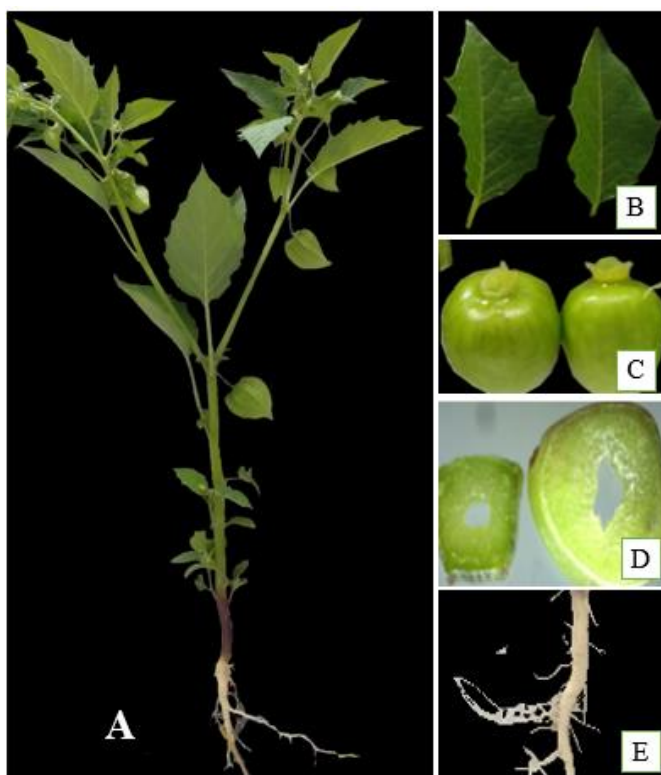
Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Sub Phylum	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Family	: Solanaceae
Genus	: <i>Physalis</i>
Spesies	: <i>Physalis angulata</i> L.

Di Indonesia, tanaman ciplukan memiliki nama yang berbeda sesuai dengan daerah persebarannya. Tanaman ciplukan di masyarakat Sunda disebut cecenet atau cecendet, di wilayah Jawa disebut ceplukan, di wilayah Bali disebut angket, kepok-kepokan atau keceplokan. Masyarakat Madura menyebut tanaman ciplukan dengan istilah yor-yoran, di Seram disebut lapinonat, di Sasak disebut dedes, sedangkan di daerah Minahasa disebut leletokan (Khotib, 2018).

Tanaman ciplukan adalah tanaman herbal tahunan dengan tinggi sekitar 0,1-1m (Gambar 1A). Daun ciplukan berwarna hijau, tulang daun menyirip, permukaan daun berambut, bentuk helaian daun bulat telur dengan ujung runcing, panjang daun 5-12 cm dan lebar 4-7 cm, daun tipis, cepat layu, berbau langu dan bertepi rata atau bergelombang-bergerigi (Gambar 1B). Panjang tangkai daun

berkisar 2-3 cm dan berwarna hijau (Alkautsari *et al.*, 2015). Buah ciplukan merupakan buah semu karena pada saat pembentukan buah, kelopak bunga tumbuh terus dan menyelubungi buah, sehingga buah tidak tampak dari luar (Gambar 1C). Buah dilindungi oleh kelopak berwarna hijau dengan tulang kelopak berwarna ungu. Buah ciplukan berbentuk bulat dan berwarna kuning bila sudah matang (Susilowati, 2017).

Batang ciplukan berwarna ungu dan hijau, bagian batang berusuk bersegi tajam, berongga dan memiliki trikoma (Gambar 1D) (Alkautsari *et al.*, 2015). Tanaman ciplukan memiliki akar tunggang, bercabang dan berserabut (Gambar 1E). Akar ciplukan berwarna putih hingga kecoklatan dan intensif menyebar hanya di permukaan tanah (Susilowati, 2017).



Gambar 1. Penampakan morfologi tanaman ciplukan ; (A) tanaman ciplukan, (B) daun, (C) buah tampak dari dalam, (D) batang dewasa dan batang muda dan (E) Akar ciplukan.

Sumber : Dokumentasi pribadi

Tanaman ciplukan umumnya hidup di daerah dengan ketinggian sekitar 1.550 meter di atas permukaan laut. Meskipun demikian, tanaman ciplukan dapat dijumpai di dataran rendah maupun dataran tinggi, dengan suhu udara berkisar antara 18-35⁰C dan curah hujan yang hampir merata. Tanaman ciplukan mudah

ditemukan karena dapat tumbuh liar di kebun, tegalan, tepi jalan, semak, hutan ringan, dan tepi hutan. Tanaman ciplukan dapat hidup di berbagai struktur tanah, baik di tanah gembur dan subur hingga tanah yang memiliki struktur padat dan kurang terawat. Tanaman ciplukan mudah ditemukan pada musim hujan. Oleh karena itu, tanaman ciplukan dapat dibudidayakan di daerah yang agak basah baik di tempat terbuka maupun ternaung (Taryati, 2010).

Berbagai negara seperti Amerika Latin, Selandia Baru maupun Australia telah memanfaatkan tanaman ciplukan sebagai tanaman obat. Buah ciplukan dapat diolah dan dijadikan sebagai makanan kecil dan di ekspor ke berbagai negara di dunia. Pada umumnya beberapa masyarakat Indonesia sudah mengetahui khasiat yang dimiliki tanaman ciplukan. Masyarakat Indonesia memanfaatkan tanaman ciplukan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti *ascariasis*, demam, detoksikan serta pengaktif fungsi kelenjar-kelenjar tubuh (Alkautsari *et al.*, 2015). Daunnya digunakan untuk penyembuhan patah tulang, busung air, bisul, borok, penguat jantung, keseleo, nyeri perut, dan kencing nanah. Buah ciplukan sendiri sering dimakan untuk mengobati epilepsy, tidak dapat kencing dan penyakit lainnya juga (Rahayu dan Maruni, 2018).

Pemanfaatan ciplukan dimasyarakat biasa digunakan sebagai obat cacing dan demam. Berbagai manfaat tersebut berkorelasi positif dengan kandungan senyawa aktif yang dimiliki tanaman ciplukan (Maya *et al.*, 2015). Tanaman ciplukan dimanfaatkan sebagai obat demam karena adanya kandungan senyawa bioaktif yang dapat menurunkan suhu tubuh. Senyawa alkaloid, saponin dan tanin yang terkandung dalam tanaman ciplukan diketahui mampu menurunkan demam karena memiliki efek antipiretik yang dapat menurunkan suhu tubuh. Mekanisme senyawa tersebut dalam menurunkan demam yaitu dengan menghambat pengikat pirogen dengan reseptor didalam *Nucleus Preoptik Hypothalamus Anterior*, sehingga tidak terjadi peningkatan prostaglandin melalui siklus *enzimsiklooksigenase* yang berakibat pada penghambatan kerja pirogen di hipotalamus (Maya *et al.*, 2015).

2. Kandungan Senyawa Aktif Tanaman Ciplukan

Tanaman ciplukan memiliki berbagai kandungan senyawa aktif, antara lain biji ciplukan mengandung asam palmitat dan asam stearat. Akar ciplukan mengandung senyawa alkaloid dan daun ciplukan mengandung senyawa

glikosida, flavonoid, dan saponin. Selain itu, buah ciplukan juga mengandung senyawa aktif lain seperti polifenol, fisalin, tanin, kriptoxantin, vitamin C, dan *Withangulatin A* (Susanti *et al.*, 2013). Beberapa kandungan senyawa aktif tanaman ciplukan yang berperan sebagai antibakteri, yaitu saponin, flavonoid, tanin, polifenol dan alkaloid.

Saponin sebagai antibakteri memiliki mekanisme menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sel. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan lalu mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel dan menyebabkan kematian sel (Pratiwi, 2019).

Senyawa flavonoid efektif digunakan sebagai antibakteri terhadap beberapa jenis mikroba. Flavonoid sebagai antibakteri memiliki mekanisme membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, sehingga dapat merusak dinding sel bakteri (Ngajow *et al.*, 2013 dalam Pratiwi, 2019). Menurut Isniyetti (2010), senyawa flavonoid dari ekstrak daun ciplukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 13 mm pada konsentrasi 1% dan 2% b/v. Selain itu, senyawa flavonoid juga dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan zona hambat 5,1 mm pada konsentrasi 1% dan 5,29 mm pada 2%.

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesi sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri mengalami kematian (Rachmawati, 2016). Sari *et al.* (2011) telah melakukan uji aktivitas senyawa tanin dari ekstrak daun trembesi terhadap bakteri *E. coli*. Hasilnya menunjukkan bahwa senyawa tanin yang diekstrak dari daun trembesi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 60% (b/v).

Polifenol diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian Alberto (2006 dalam Kholifah, 2014), senyawa polifenol dari kulit apel dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Mekanisme polifenol sebagai antibakteri yaitu mengganggu pembentukan dinding sel dan bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan

lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein serta menghambat pembentukan protein sitoplasma.

Senyawa alkaloid sebagai antibakteri memiliki mekanisme menghambat enzim *topoisomerase* bakteri dan menghambat replikasi DNA. Penghambatan replikasi DNA akan menyebabkan DNA tidak dapat membelah dan menghambat pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2019). Selain itu, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Rachmawati, 2016). Besar kemungkinan berbagai senyawa aktif yang dimiliki oleh tanaman inang juga dapat dimiliki oleh bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman inang (Kusumawati *et al.*, 2014).

3. Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang dapat hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan bahaya dan memiliki senyawa aktif yang sama seperti tanaman inangnya (Pulungan dan Diana, 2018). Desriani *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit. Menurut Widowati *et al.* (2016), bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman dan mampu hidup dengan membentuk koloni tanpa membahayakan tanaman inang.

Suatu mikroorganisme dapat dikatakan sebagai bakteri endofit apabila bakteri tersebut berada di dalam jaringan tanaman inang, setidaknya pada satu fase dari siklus hidup tanaman inang (Hung dan Annapurna, 2004 dalam Fatichah, 2011). Suatu tanaman yang memiliki fisiologi yang sama namun tumbuh pada lingkungan yang berbeda akan memberikan komposisi bakteri endofit yang berbeda pula. Hal tersebut dikarenakan bakteri endofit memiliki sifat yang unik sehingga bakteri endofit yang dihasilkan akan berbeda jenisnya sesuai dengan kondisi lingkungan pada tanaman inang (Fatichah, 2011).

Bakteri endofit terdapat di dalam bagian tanaman seperti bunga, buah, batang, daun, akar dan biji serta sebagai pelindung bagi tanaman inang dari stres lingkungan dan kompetisi mikroba (Widowati *et al.*, 2016). Bakteri endofit dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel, akar, batang, daun dan buah (Desriani *et al.*, 2014). Secara umum, bakteri endofit banyak terdapat di

bagian akar dan semakin menurun jumlahnya pada batang dan daun (Lamb *et al.* 1996 dalam Kusumawati *et al.*, 2014). Namun berdasarkan Koomnok *et al.* (2007 dalam Kusumawati *et al.*, 2014) menyatakan bahwa jumlah bakteri endofit di batang lebih banyak daripada di akar. Hal tersebut disebabkan adanya aliran produk fotosintesis dari daun ke seluruh bagian tanaman melalui floem sehingga dapat dimanfaatkan oleh bakteri endofit sebagai sumber nutrisi (Kusumawati *et al.*, 2014).

Bakteri endofit bersimbiosis mutualisme dengan tanaman inang dan mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman serta memproteksi tanaman dalam melawan patogen. Bakteri endofit akan menghasilkan senyawa aktif berupa metabolit sekunder untuk melindungi tanaman inang dari patogen pada tanaman (Desriani *et al.*, 2014). Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan tanaman memungkinkan bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti yang terkandung dalam tanaman inangnya (Nursanty dan Suhartono, 2012).

Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar. Namun, bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit (Desriani *et al.*, 2014). Akar tanaman inang merupakan salah satu jalan utama bagi bakteri endofit untuk masuk ke dalam jaringan tanaman. Hal tersebut dikarenakan bagian akar terdapat rizosfer yang mendukung pertumbuhan bakteri. Rizosfer adalah bagian tanah dimana lebih banyak terdapat bakteri di sekitar akar tanaman daripada tanah yang jauh dari akar tanaman (Cahyani *et al.*, 2017). Daerah rizosfer relatif kaya akan nutrisi atau unsur hara dimana fotosintat tanaman hilang sebanyak 40% dari akar (Cahyani *et al.*, 2017). Nutrisi dan unsur hara yang terdapat di rizosfer dapat mendukung pertumbuhan bakteri dan melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman.

Kemampuan bakteri endofit dalam melakukan penetrasi ke jaringan internal tanaman disebabkan oleh adanya enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri endofit (Pal *et al.*, 2012). Setelah bakteri endofit melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman, bakteri endofit akan berkolonisasi di dalam jaringan tanaman sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen salah satunya melalui kompetisi ruang dan nutrisi (Pal *et al.*, 2012). Kolonisasi bakteri endofit terjadi pada lapisan luar sel dan

korteks akar secara interseluler dan intraseluler dalam waktu 2-3 minggu (Juwita, 2010). Kolonisasi bakteri endofit terjadi melalui akar karena akar tanaman dapat melepaskan eksudat dan lateral. Eksudat tersebut bersifat sebagai kemoatraktan bagi bakteri yang berada disekitar tanaman tersebut, sehingga bakteri akan berkoloni pada permukaan akar (Compant *et al.*, 2010).

Bakteri yang awalnya menempel pada permukaan akar akan melakukan penetrasi melalui luka di akar. Bakteri endofit berpenetrasi melalui rongga yang terdapat pada pangkal akar lateral atau dengan mendegradasi dinding sel akar menggunakan enzim *endoglukanase* dan *endopoligalakturonase* (Schmidt *et al.*, 2011). Bakteri endofit yang terdapat pada organ lain tumbuhan umumnya berasal dari akar yang menyebar melalui jaringan *xylem*. Selain itu, bakteri endofit dapat berasal dari daerah aerial yang menempel pada permukaan organ dan melakukan penetrasi melalui luka, ruang intraseluler dan mekanisme kerja enzim. Penetrasi pada daun dapat melalui stomata (Compant *et al.*, 2010).

4. Peran Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang diisolasi dari jaringan tanaman inang memiliki peran dalam pertumbuhan tanaman yang bersifat langsung dan tidak langsung. Secara langsung, bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman yang diduga didukung oleh kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon tumbuh seperti *indole-3-acetic acid* (IAA), *abscisic acid* (ABA), *gibberallic acid* (GA) dan *cytokinin* (CTK). Bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui penambatan N₂ (*diazotrophic bacteria*), memobilisasi fosfat dan meningkatkan pertahanan tanaman terhadap hama dan penyakit. Secara tidak langsung, bakteri endofit mendukung pertumbuhan tanaman melalui kemampuan biokontrol yaitu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit pada tanaman (Amir, 2015).

Bakteri endofit dapat menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit karena adanya proses transfer genetik antara bakteri endofit dan tanaman inang. Proses tranfer genetik terjadi selama waktu evolusi tanaman inang sehingga terjadi rekombinasi genetik antara bakteri endofit dengan tanaman inang (Kuncoro dan Noor, 2011). Proses metabolisme pada tanaman inang dapat menyebabkan bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang

sama dengan tanaman inang (Juwita, 2010). Nutrisi dari proses metabolisme tersebut menyebabkan terjadinya pertukaran senyawa metabolit sekunder. Hal tersebut dikarenakan senyawa metabolit sekunder menjadi sumber nutrisi bagi bakteri endofit dan melindungi tanaman dari serangan patogen. Sedangkan tanaman inang akan mendapat derivat nutrisi serta senyawa bioaktif yang dibutuhkan sepanjang hidupnya (Juwita, 2010).

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit dimanfaatkan dapat sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan seperti diare, antifungi terhadap pertumbuhan jamur penyebab infeksi pada kulit dan sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, immunosupresi dan antidiabetes (Deriani *et al.*, 2014). Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan untuk pertahanan diri (Dwi *et al.*, 2017). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Bakteri endofit dapat dimanfaatkan dibidang kesehatan sebagai bahan baku obat seperti antibiotik, antikanker, antioksidan, antiinflamasi, immunosupresi dan antidiabetes (Sulistiyani dan Puspita, 2016).

Pada bidang pertanian, bakteri endofit banyak dimanfaatkan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dengan menghasilkan hormon pertumbuhan dan ketersediaan nutrisi tertentu pada tanaman (Amir, 2015). Bakteri endofit bersifat menguntungkan karena mampu mengendalikan patogen tanaman, menginduksi ketahanan tanaman serta meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit. Dalam bidang pertanian, bakteri endofit dimanfaatkan sebagai penghasil hormon pemacu pertumbuhan tanaman, biofertilizer, biokontrol, pelarut fosfat, dan menambat nitrogen (Sulistiyani dan Puspita, 2016). Bakteri endofit yang mempunyai kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dapat dikembangkan menjadi agen pupuk hayati yang bermutu sehingga dapat meningkatkan hasil produksi tanaman pangan.

5. Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat membasmi bakteri terutama bakteri patogen (Rachmawati, 2016). Menurut Isniyetti (2010), antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Antibakteri merupakan zat yang menghambat

atau membunuh bakteri penyebab infeksi (Pratiwi, 2019). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri memiliki dua sifat yaitu bakteristatik dan bakterisidal. Bakteristatik adalah antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya sehingga dapat menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Bakterisidal adalah antimikroba yang dapat membunuh sel bakteri dan tidak menyebabkan sel lisis atau pecah (Isnietti, 2010).

Ruang lingkup antibakteri yang dapat dipengaruhi oleh senyawa antibakteri disebut spektrum antibakteri. Berdasarkan spektrum aksinya, senyawa antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu spektrum luas, spektrum sempit dan spektrum terbatas. Suatu senyawa antibakteri dapat dikatakan berspektrum luas apabila aktif menghambat bakteri gram negatif dan gram positif. Senyawa antibakteri disebut spektrum sempit apabila senyawa antibakteri tersebut aktif melawan sebagian dari bakteri kelompok gram positif atau gram negatif. Spektrum terbatas merupakan senyawa antibakteri yang efektif melawan suatu spesies bakteri tertentu (Agustrina, 2011).

a. Mekanisme Kerja Antibakteri

Senyawa antibakteri memiliki mekanisme tersendiri untuk menghambat pertumbuhan patogen. Menurut Rachmawati (2016), mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan sel bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

1) Menghambat jalur metabolisme

Senyawa antibakteri yang masuk berupa sulfonamides, trimethoprim dan dapson. Mekanisme antibiotik Trimethoprim dan sulfonamides dalam menghambat jalur metabolisme yaitu dengan mempengaruhi metabolisme folat melalui penghambatan kompetitif biosintesis tetrahidrofolat yang bekerja sebagai pembawa 1 fragmen karbon yang diperlukan untuk sintesis DNA, RNA dan protein dinding sel.

2) Menghambat sintesis dinding sel

Senyawa antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, isoniazid dan ethambutol. Antibiotik penisilin mengikat obat pada reseptor sel bakteri yaitu pada protein pengikat penisilin (PBPs : *Penicillin binding proteins*). Setelah obat melekat pada satu atau lebih reseptor maka reaksi *transpeptidasi* akan

dihambat dan selanjutnya sintesis peptidoglikan akan dihambat. Inaktivasi serta hilangnya inhibitor enzim-enzim autolitik pada dinding sel sehingga mengakibatkan aktivasi enzim-enzim litik yang akan menyebabkan lisis bakteri (Sudigdoadi, 2015).

3) Menghambat sintesis protein

Senyawa antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein yaitu aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolida. Mekanisme kloramfenikol dalam menghambat bakteri dengan bergabung pada subunit-subunit ribosom, sehingga mencegah bergabungnya asam amino menjadi protein sehingga sintesis asam amino terganggu bahkan tidak berlangsung. Hal tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri (Dewi *et al.*, 2014).

4) Penghambatan sintesis asam nukleat

Senyawa antibakteri yang dapat menghambat sintesis asam nukleat yaitu aktinomisin, kuinolon dan rifampin. Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengikatan pada DNA *dependent* RNA *polymerase*. Rantai polipeptida dari enzim polimerase melekat pada faktor yang menunjukkan spesifisitas di dalam pengenalan letak promoter dalam proses transkripsi DNA. Rifampin berikatan secara nonkovalen dan kuat pada subunit RNA *polymerase* dan mempengaruhi proses inisiasi secara spesifik sehingga mengakibatkan hambatan pada sintesis RNA bakteri (Sudigdoadi, 2015).

5) Menghambat fungsi membran sitoplasma

Senyawa antibakteri yang menghambat fungsi membran sitoplasma yaitu polimiksin dan polienes. Polimiksin B yang bekerja pada bakteri gram negatif yang mengandung lipid bermuatan positif pada permukaannya. Polimiksin mempunyai aktivitas antagonis Mg^{2+} dan Ca^{2+} yang secara kompetisi menggantikan Mg^{2+} atau Ca^{2+} dari gugus fosfat yang bermuatan negatif pada lipid membran. Polimiksin menyebabkan disorganisasi permeabilitas membran sehingga asam nukleat dan kation-kation akan pecah sehingga sel akan mengalami kematian (Sudigdoadi, 2015).

b. Mikroorganisme Penghasil Senyawa Antibakteri

Sumber mikroorganisme penghasil antibiotik antara lain berasal dari tanah, air laut, lumpur, kompos, isi rumen, limbah domestik, bahan makanan busuk dan tanaman (Sulistiyani dan Iin, 2015). Mikroorganisme penghasil

antibiotik tersebar dalam berbagai golongan meliputi bakteri, aktinomisetes dan fungi dan beberapa mikrobia lainnya. Antibiotik yang dihasilkan dari golongan bakteri sebanyak 10% (Adriyani dan Yessica, 2013).

Bakteri yang mampu menghasilkan antibiotik antara lain adalah *Pseudoalteromonas phenolica* yang diisolasi dari air laut mampu menghambat MRSA (*Methicillin-Resistant S.aureus*) (Sunny *et al.*, 2016). Bakteri *Streptomyces griseus* dan *Streptomyces* NRRL 30562 juga dapat menghasilkan antibiotik munumbisin (Desriani *et al.*, 2014). Bakteri *P. viridiflava* menghasilkan ekomisin B dan C sebagai antibakteri, *Streptomyces* NRRL 30566 menghasilkan kakadumisin sebagai antibiotik, *Serratia marcescens* menghasilkan *Oocydin A* sebagai antifungi, *Paenibacillus polymyxa* menghasilkan Fusaridin A-D sebagai antifungi, dan *Streptomyces griseus* menghasilkan *p-Aminoacetophenonic acids* (Ryan *et al.*, 2008).

Kemampuan bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Desriani *et al.* (2014) menyatakan bahwa bakteri endofit dari tanaman binahong dan ketepeng cina memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Purwanto *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa bakteri endofit pada tanaman sirih hijau memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Bakteri endofit yang berasal dari tanaman miana memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Kusumawati *et al.*, 2014).

6. Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah bakteri yang mampu menyebabkan penyakit dan menyebar melalui populasi manusia dalam berbagai cara. Kemampuan bakteri patogen untuk menyebabkan infeksi dipengaruhi oleh komponen inang dalam melawan infeksi. Bakteri patogen juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan menimbulkan perubahan kimiawi di dalamnya sehingga membuat makanan tersebut beracun. Akibatnya, banyak kasus infeksi penyakit yang menyerang manusia (Setyaningrum, 2015).

Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yaitu penyakit *nasocomial* akibat infeksi bakteri oportunistik (*P. aeruginosa*) dan *gastroentritis* akibat infeksi bakteri *E.coli* (Setyaningrum, 2015). Bakteri patogen yang sering ditemukan pada penderita diare, mual dan muntah yaitu *E. coli*, *Shigella* sp,

Salmonella sp, *Vibrio cholerae*, *C. jejuni* (Nadia dan Ilma, 2016). Selain itu, beberapa jenis bakteri juga bersifat patogen pada manusia antara lain, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. aerogenes*, *S. dysenteriae* dan *K. ozaena* (Nadia dan Ilma, 2016).

Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri gram negatif *E. coli*, *P. Aeruginosa* dan gram positif *S. aureus*. Bakteri tersebut sebagai pembanding berdasarkan susunan dinding sel bakteri yaitu gram negatif dan gram positif. Selain itu, pengujian aktivitas antibakteri terhadap sesama bakteri gram negatif juga dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghambat kedua bakteri gram negatif.

a. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel lebih sederhana dari gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal sekitar 15-80 nm dan berlapis tunggal. Kandungan lipid bakteri *S. aureus* yaitu 1-4% (Fithriyah, 2015). Dinding sel pada bakteri gram positif terdiri atas peptidoglikan yang sangat tebal sehingga lebih sulit untuk ditembus senyawa dari luar (Winarti *et al.*, 2009). Bakteri *S. aureus* berbentuk bulat, berdiameter 0,8-1,0 μm , pada umumnya berkelompok seperti anggur (kokus), tidak membentuk spora dan tidak bergerak (Zulfa, 2016).

Bakteri *S. aureus* tumbuh pada suhu optimum 35-37°C, suhu minimum 6,7°C dan suhu maksimum 45,5°C. Bakteri *S. aureus* dapat tumbuh pada pH 4,0-9,8 dengan pH optimum sekitar 7,0-7,5. Bakteri *S. aureus* bersifat anaerob fakultatif yang dapat ditemukan di mulut dan saluran cerna (Zulfa, 2016). Pada manusia bakteri *S. aureus* merupakan salah satu bakteri flora normal. Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan infeksi pada kulit atau luka pada organ tubuh apabila mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Bakteri *S. aureus* akan masuk ke peredaran darah kemudian menyebar ke organ lain dan menyebabkan infeksi (Fithriyah, 2015).

b. *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dengan panjang 2,5 μm , berflagel dan bersifat motil. *E. coli* bersifat anaerob fakultatif dan mampu tumbuh pada media kultur sederhana. Bakteri *E. coli* dapat tumbuh pada suhu 10-40°C dengan suhu optimum 37°C dan pH pertumbuhan seleksi 4,0 sampai 9,0. Koloni bakteri *E. coli* berbentuk sirkuler dan tidak memiliki inti

sel (Zulfa, 2016). Bakteri *E. coli* memiliki struktur dinding sel relatif lebih sederhana karena memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis pada dinding sel, sehingga lebih mudah untuk ditembus senyawa dari luar. Lapisan peptidoglikan pada dinding selnya berlapis tiga (multilayer) yaitu lipoprotein, lipopolisakarida (LPS), fosfolipid dan beberapa protein (Winarti *et al.*, 2009). Hal tersebut menyebabkan dinding sel bakteri Gram negatif seperti *E. coli* sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri (Prihandani *et al.*, 2015).

E. coli tidak membentuk spora, tidak tahan asam dan bersifat patogen sehingga menyebabkan beberapa penyakit pada manusia seperti diare, dan infeksi saluran kemih (Rahmadani, 2015). Bakteri *E. coli* banyak ditemukan dalam saluran pencernaan. Habitat alami bakteri *E. coli* yaitu saluran pencernaan. Bakteri *E. coli* dapat berubah menjadi patogen apabila mencapai jaringan di luar saluran pencernaan seperti saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru, peritoneum, serta menyebabkan peradangan di beberapa tempat (Fithriyah, 2015).

c. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dengan diameter sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$, bergerak dengan flagella, dan bersifat aerob. Bakteri *P. aeruginosa* terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan membentuk rantai pendek, tidak memiliki spora dan selubung. Suhu optimum pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* sekitar 42°C dan mudah tumbuh pada berbagai media karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana (Rahmadani, 2015).

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan patogen utama bagi manusia karena dapat menimbulkan infeksi apabila pertahanan inang abnormal. Bakteri ini menyebabkan infeksi sekunder pada luka, luka bakar, diare pada bayi dan infeksi saluran kemih (Anggita *et al.*, 2018). Selain itu, *P. aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik, sehingga pada pasien dengan daya tahan tubuh rendah dapat menyebabkan infeksi (Prihandani *et al.*, 2015). Bakteri *P. aeruginosa* memiliki struktur dinding sel memiliki dinding sel yang sederhana dan kandungan lipid yang tinggi (11-22%). Struktur dinding selnya bakteri *P. aeruginosa* berlapis tiga (multilayer) yang terdiri atas lipoprotein, membran luar fosfolipid dan lipopolisakarida, sehingga menyebabkan dinding sel bakteri *P. aeruginosa* sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri (Prihandani *et al.*, 2015).

7. Isolasi bakteri

Isolasi adalah metode yang digunakan untuk mengambil bakteri yang terdapat di dalam tanaman dan menumbuhkannya dalam medium selektif, sehingga akan diperoleh biakan atau kultur murni. Media selektif adalah media khusus yang banyak digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu yang mengandung nutrisi untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Tito, 2014). Proses pemisahan dan pemurnian bakteri dilakukan untuk menelaah dan mengidentifikasi bakteri yang terdiri dari satu macam bakteri saja. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkan bakteri di dalam media padat (Rohmah, 2017). Secara umum, terdapat tiga metode yang digunakan untuk mengisolasi bakteri yaitu metode cawan gores (*streak plate*), metode cawan sebar (*spread plate*) dan metode cawan tabur (*pour plate*). Metode yang sering digunakan untuk mengisolasi bakteri yaitu metode *streak Plate*.

Metode *streak plate* adalah metode yang digunakan untuk mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni bakteri yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi. Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan bahan yang mengandung bakteri ke permukaan medium agar yang sesuai dalam petridis. Metode ini banyak digunakan untuk mengisolasi mikroba atau meremajakan kultur ke dalam medium baru (Karimah, 2017).

8. Uji Aktivitas Antibakteri

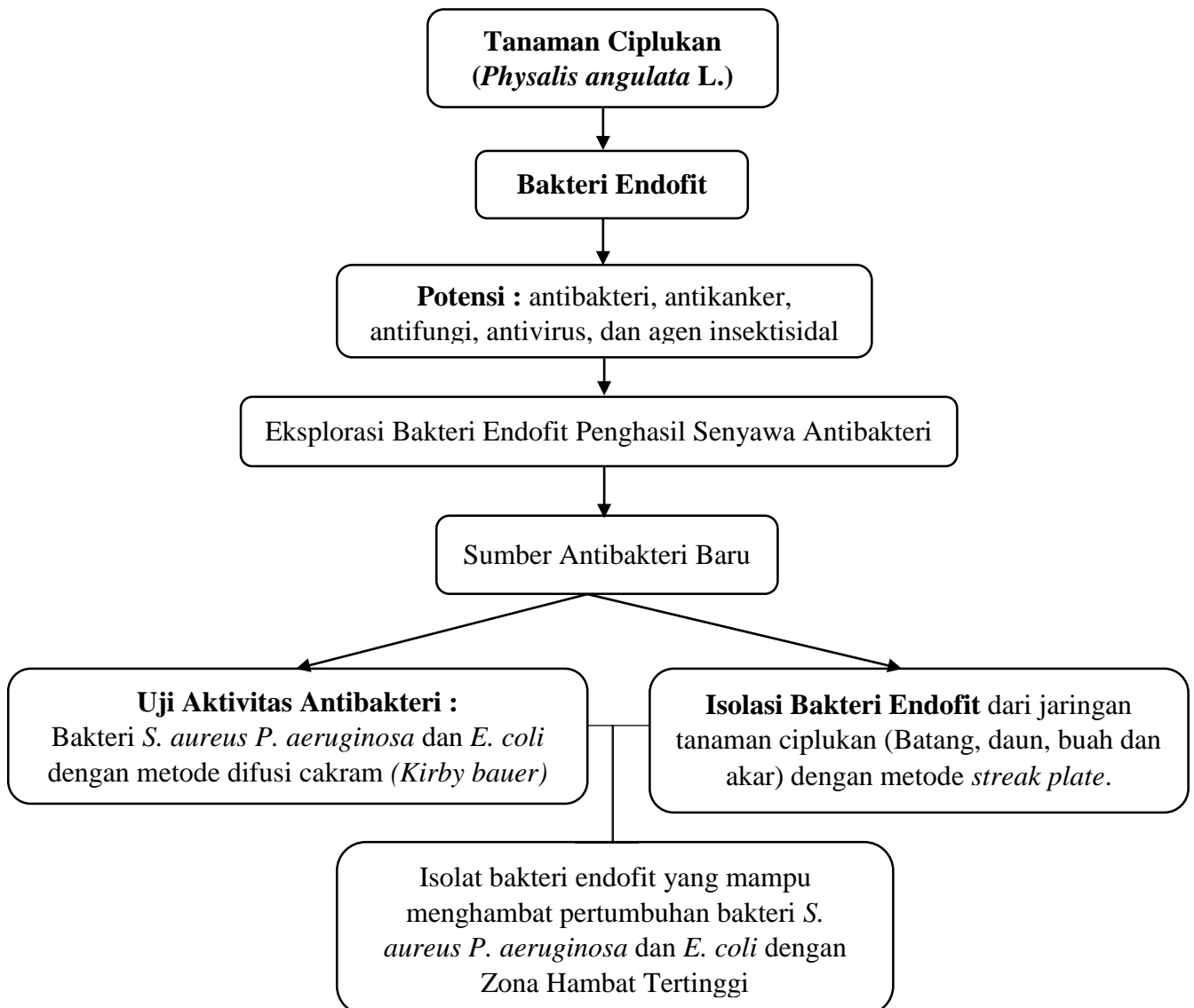
Uji aktivitas antibakteri adalah suatu metode yang bertujuan untuk memperoleh pengobatan yang efektif dan efisien. Proses pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur pertumbuhan bakteri terhadap agen antibakteri. Metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas senyawa antibakteri ini di antaranya adalah metode difusi dan metode dilusi (Katrin *et al.*, 2015). Metode yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode difusi. Metode difusi terbagi menjadi beberapa macam antara lain difusi cakram, *E-test*, difusi parit dan difusi sumuran.

Metode difusi yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode difusi cakram (*kirby bauer*). Metode pengujian *kirby bauer* dilakukan dengan menggunakan cakram atau metode difusi cakram. Metode ini dilakukan menggunakan teknik agar difusi dimana kertas cakram diletakkan di

atas permukaan media yang mengandung bakteri patogen kemudian bakteri uji diletakkan di atas kertas cakram. Bakteri dikatakan memiliki aktivitas antibakteri apabila di sekeliling cakram terdapat daerah bening (zona hambat). Zona hambat yang terlihat menunjukkan adanya penghambatan antibakteri yang diuji terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Metode difusi cakram sangat sederhana sehingga sering digunakan dalam penapisan awal. (Zulfa, 2016).

B. Kerangka Konsep

Kerangka pikir dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kerangka konsep

C. Hipotesis

Kandidat isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimen. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi bakteri endofit pada tanaman ciplukan dan menguji isolat bakteri endofit terhadap bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* untuk mengetahui daya hambat yang dihasilkan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel Bebas pada penelitian ini yaitu bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan.

2. Variabel Terikat

Variabel Terikat pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat pada bakteri patogen (mm).

C. Definisi Operasional Penelitian

1. Bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan adalah bakteri yang membentuk koloni dalam suatu sistem jaringan vaskular dari tanaman ciplukan dan menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.
2. Isolasi bakteri adalah metode yang digunakan untuk mengambil bakteri endofit yang terdapat di dalam tanaman ciplukan dan ditumbuhkan di medium pertumbuhan.
3. Senyawa antibakteri adalah substansi yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit dalam tanaman ciplukan yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*.
4. Potensi antibakteri adalah kemampuan suatu senyawa yang dihasilkan bakteri endofit dari tanaman ciplukan yang mampu menghambat atau membunuh bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*, yang ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram.
5. Zona hambat merupakan daerah yang dihasilkan oleh bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada media agar.

D. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini yaitu semua tanaman ciplukan yang terdapat di lahan pertanian. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu tiga tanaman ciplukan yang tumbuh di lahan yang sama dan diambil pada bagian pinggir dan tengah lahan pertanian kacang-kacangan yang berlokasi di Jalan Barak Gedhe, Dusun Margoluwih, Seyegan, Sleman, DIY.

E. Alat dan Metode Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, oven, petridis, tabung reaksi, gelas ukur, *beker glass*, erlenmeyer, jarum ose, mikropipet, *yellow tip*, *white tip*, plastik wrap, pinset, *drigalskispatel*, tisu, kapas, aluminium foil, kertas saring, pelubang kertas, lampu bunsen, timbangan analitik, hotplate, penggaris, inkubator, dan lemari pendingin.

b. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain, tanaman ciplukan, *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), kandistatin, natrium hipoklorit (bayclin), alkohol 70%, kloramfenikol, aquades steril, bakteri patogen *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*.

2. Metode Penelitian

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dilakukan proses sterilisasi terlebih dahulu untuk menghilangkan adanya kontaminasi. Alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih dan dikering anginkan selama satu hari, setelah itu dibungkus menggunakan kertas. Proses sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan 15 psi selama 20 menit, untuk jarum ose dan pinset disterilkan dengan pemijaran api bunsen. Sedangkan, alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Alkautsari *et al.*, 2015).

b. Pembuatan Medium

1) Medium TSA

Serbuk medium TSA ditimbang sebanyak 8 g lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan dengan aquades sampai 200 mL, lalu di panaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga merata, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit. Suspensi media yang sudah steril lalu ditambahkan larutan kandistatin 0,02% b/v sebanyak 40 µl dalam 200 mL media kemudian dimasukan dalam petridis masing-masing 15 mL, kemudian ditutup dengan kertas dan dibungkus plastik (lampiran 3). Pembuatan media miring dilakukan dengan memasukkan media TSA yang sudah steril ke dalam tabung reaksi masing-masing 8 mL kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus plastik. Proses ini dilakukan secara aseptik dan diletakkan dalam posisi miring (Alkautsari *et al.*, 2015).

2) Medium TSB

Serbuk medium TSB ditimbang sebanyak 1,5 g lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer ukuran 250 mL dan ditambahkan aquades steril sebanyak 50 mL kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Medium dipanaskan sampai mendidih hingga merata lalu disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Suspensi media yang sudah steril digunakan untuk inokulasi bakteri yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

c. Pengambilan dan persiapan sampel

Sampel tanaman ciplukan diambil sebanyak tiga tanaman secara acak di lahan yang sama dan dimasukkan ke dalam plastik. Tanaman ciplukan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta untuk dilakukan pengujian. Pengujian keberadaan bakteri endofit pada tanaman ciplukan dilakukan pada tiga sampel tanaman ciplukan yang dipisahkan menjadi 4 bagian meliputi bagian daun, buah, batang dan akar. Proses pengujian dilakukan pada hari yang sama dengan proses pengambilan sampel. Semua bagian tanaman ciplukan yang akan digunakan dalam pengujian dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan kotoran maupun organisme epifit (organisme yang menempel pada permukaan jaringan).

d. Isolasi bakteri endofit

Bagian tanaman ciplukan yang telah dicuci kemudian diambil masing-masing sebanyak dua sampel dan dilakukan proses sterilisasi permukaan. Proses sterilisasi permukaan sampel dilakukan dengan merendam sampel buah, akar, batang dan daun ke dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit. Setelah itu, cairan perendam dibuang dan diganti dengan larutan natrium hipoklorit 5,25% (bayclin) lalu didiamkan selama 5 menit. Cairan perendam dibuang kembali dan sampel dibilas dengan alkohol 70% selama 1 menit lalu cairan perendam diganti dengan aquades steril selama 30 detik yang dilakukan selama 2 kali (Kumala dan Ainun, 2014).

Tanaman ciplukan yang sudah steril kemudian dipotong menggunakan pisau steril sepanjang 1-2 cm kemudian ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi media TSA menggunakan pinset steril. Media TSA yang digunakan ditambahkan larutan kandistatin (0,02% b/v) 40 µl sebagai antifungi. Proses penumbuhan bagian tanaman ciplukan dilakukan dengan cara menekan bagian tanaman hingga mengeluarkan cairan yang berada di dalam sampel. Sampel tanaman ciplukan yang sudah ditumbuhkan kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24-72 jam dan diamati jika terdapat koloni yang tumbuh (Purwanto *et al.*, 2014).

e. Pemurnian Bakteri Endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian bakteri endofit yaitu medium TSA. Medium TSA yang digunakan untuk pemurnian ditambahkan larutan Kandistatin sebanyak 0,02% b/v (40 µl) dalam 200 mL media TSA untuk menghambat pertumbuhan jamur. Masing-masing bakteri endofit yang tumbuh pada medium TSA dimurnikan pada medium lempeng agar dan media TSA miring. Isolat bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 24-72 jam. Setelah masa inkubasi selesai, koloni yang tampak pada masing-masing cawan petri diamati. Koloni yang memiliki warna, bentuk, tepian dan elevasi yang sama dianggap sebagai isolat yang sama (Wondal *et al.*, 2019)

Setiap koloni bakteri dipindahkan ke medium TSA dengan cara menggosokkan koloni tunggal bakteri dengan metode *streak kuadran* dan diinkubasi selama 24-72 jam. Bakteri endofit yang memiliki bentuk koloni berbeda akan dilakukan pemisahan kembali hingga diperoleh isolat murni.

Isolat bakteri endofit yang diperoleh disimpan pada media miring untuk digunakan sebagai *stock kultur* (kultur stok) (Nursulistyarini *et al.*, 2013).

f. Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi isolat bakteri endofit yang telah diperoleh dapat diketahui berdasarkan beberapa kriteria (Bergey's, 2005) antara lain:

- 1) Bentuk koloni (dilihat dari atas): berupa titik-titik, bulat, tidak beraturan, seperti akar, seperti kumparan dan berbenang.
- 2) Permukaan/elevasi koloni (dilihat dari samping): datar, naik, cembung, dan umbonatus.
- 3) Tepian koloni (dilihat dari atas) : mulus, lobatus, bergelombang, bergerigi, dan filamentus.
- 4) Warna koloni : keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

g. Pengujian Potensi Antibakteri Dari Isolat Bakteri Endofit

- 1) Peremajaan bakteri patogen

Bakteri patogen yang digunakan adalah bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Bakteri patogen yang diperoleh kemudian dilakukan pemurnian ke dalam petridis yang berisi media TSA, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu ruang. Biakan murni yang diperoleh selanjutnya dilakukan peremajaan. Masing-masing biakan bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* yang berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose kemudian diinokulasi dalam tabung reaksi yang diisi medium TSA yang dimiringkan, kemudian inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan disimpan untuk stok kultur (Alkautsari *et al.*, 2015).

- 2) Pembuatan kertas cakram

Kertas cakram dibuat dari kertas saring yang dibentuk menggunakan pelubang kertas dengan diameter 7 mm, lalu disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan 15 psi selama 20 menit (Alkautsari *et al.*, 2015).

- 3) Pembuatan suspensi bakteri endofit dan bakteri patogen

Suspensi bakteri dilakukan dengan menginokulasi bakteri endofit dan bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* hasil

peremajaan bakteri yang usianya 24-48 jam. Sebanyak 1 ose bakteri endofit dan bakteri patogen diinokulasikan ke dalam 50 mL media TSB dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24-48 jam (Listya *et al.*, 2017 dengan modifikasi).

4) Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* sebanyak 100 µl ke dalam cawan petri yang berisi media TSA dan diratakan menggunakan *drigalskispatel*. Petri selanjutnya dibagi menjadi 4 bidang yaitu untuk 4 jenis isolat bakteri endofit. Kertas cakram diletakkan ke dalam media yang berisi patogen dan ditetesi isolat bakteri endofit dengan jenis yang berbeda sebanyak 25 µl. Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol sebanyak 25 µl, dan kontrol negatif yang digunakan yaitu aquades steril sebanyak 25 µl. Petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Zona hambat diamati setelah inkubasi 24 jam (Oktavia dan Sri, 2018 dengan modifikasi).

F. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Metode pengolahan dan analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan mengamati morfologi dari isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan. Selain itu, metode pengolahan data dilakukan dengan mengamati diameter zona hambat yang dihasilkan isolat bakteri endofit terhadap bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Diameter daerah zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan penggaris dalam skala (mm).

1. Pengukuran Zona Hambat

Aktivitas antibakteri dapat dikatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening di sekeliling kertas cakram. Bagian yang dihitung dengan jangka sorong/penggaris adalah diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan rumus Kategori Hambat Minimum (KHM) (Pratiwi, 2019).

$$\text{KHM} = \text{Diameter Zona Bening (mm)} - \text{Diameter Kertas cakram (mm)}$$

2. Kategori Diameter Zona Hambat

Menurut Isniyetti (2010), kriteria kekuatan daya antibakteri antara lain; diameter zona hambat kurang dari 5 mm maka aktivitas penghambatan

dikategorikan lemah, diameter zona hambat sebesar 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan diameter lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat (Tabel 2).

Tabel 2. Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Daya Hambat Pertumbuhan
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 Mm	Kuat
> 20mm	Sangat Kuat

3. Pengumpulan data

Data diperoleh dengan cara mengumpulkan hasil dari semua pengujian yang dimulai dari data hasil isolasi bakteri endofit, pengamatan morfologi hingga data hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Data hasil isolasi bakteri endofit digunakan untuk mengetahui isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan. Data pengamatan morfologi bakteri endofit untuk mengetahui morfologi masing-masing bakteri endofit. Data uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan bakteri endofit terhadap bakteri patogen.

4. Analisis Data

Pada penelitian ini menggunakan tiga ulangan pada masing masing isolat bakteri endofit. Data hasil pengujian aktivitas antibakteri yang diperoleh dianalisis dengan mencari rata-rata (*mean*) dari setiap ulangan pada setiap isolat kemudian dilihat nilai standar deviasi (SD) dari rerata masing-masing isolat.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri Endofit

Tanaman ciplukan digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofit karena tanaman ciplukan merupakan tanaman herbal yang memiliki khasiat tinggi sebagai obat. Tanaman ciplukan yang digunakan sebagai sumber bakteri endofit diperoleh dari areal pertanian di Jalan Barak Gedhe, Dusun Margoluwih, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman, DIY (Setianah *et al.*, 2020). Lokasi pengambilan sampel berada di ketinggian ± 165 meter di atas permukaan laut. Suhu di lokasi pengambilan sampel 22°C - 32°C dengan kelembaban udara 80-85%. Tanaman ciplukan yang digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofit sebanyak 3 tanaman (lampiran 1). Hal tersebut bertujuan untuk memperoleh jenis bakteri endofit yang berbeda pada ketiga tanaman ciplukan (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Irdawati *et al.* (2017), tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama. Tanaman ciplukan dipisahkan menjadi 4 bagian antara lain buah, daun, batang dan akar (Gambar 3). Hal tersebut dilakukan berdasarkan sumber keberadaan bakteri endofit serta jenis spesies bakteri endofit yang berasosiasi pada tanaman inang (Setianah *et al.*, 2020).



Gambar 3. Bagian-bagian tanaman ciplukan. A) Akar, B) Batang, C) Daun dan D) Buah.

Keberadaan bakteri endofit pada tanaman inang dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Munif (2012 dalam Amaria *et al.*, 2019) menyatakan bahwa spesies bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman bergantung pada genotipe tanaman, umur dan bagian tanaman yang digunakan sebagai sumber bakteri endofit. Bakteri endofit yang dihasilkan pada bagian tanaman yang berbeda maka akan menghasilkan jumlah bakteri endofit yang berbeda (Amaria *et al.*, 2019). Menurut Purwanto *et al.* (2014), bakteri endofit hidup di dalam pembuluh vaskuler, bagian akar, batang, daun dan buah. Hal tersebut dikarenakan bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman

melalui akar dan bagian yang terpapar udara secara langsung seperti bunga, batang, daun dan kotiledon.

Isolasi bakteri endofit diawali dengan proses sterilisasi permukaan (Setianah *et al.*, 2020). Proses sterilisasi permukaan dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan mikroorganisme dari permukaan tanaman (Hermawati, 2016). Proses sterilisasi permukaan dengan metode perendaman di berbagai larutan merupakan metode yang paling umum digunakan serta berhasil mengisolasi bakteri endofit (Hakim *et al.*, 2014). Bagian akar, batang, daun dan buah tanaman ciplukan dicuci menggunakan air mengalir (Setianah *et al.*, 2020). Pencucian dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan organisme epifit yang menempel pada permukaan tanaman (Hafsari dan Esterina, 2013). Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam bagian tanaman ke dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit, natrium hipoklorit 5,25% selama 5 menit, alkohol 70% selama 30 detik dan terakhir dibilas menggunakan aquades steril selama 30 detik sebanyak 2 kali (lampiran 2) (Kumala dan Ainun, 2014).

Proses sterilisasi permukaan menggunakan alkohol 70% dan larutan NaOCl 5,52% sebagai desinfektan untuk dekontaminasi permukaan tanaman (Setianah *et al.*, 2020). Larutan alkohol dan natrium hipoklorit yang digunakan merupakan kombinasi yang sesuai karena memiliki aktivitas yang berbeda. Alkohol bekerja dengan mendenaturasikan protein dengan cara dehidrasi dan menginaktifkan enzim (Rutala *et al.*, 2008). Efek dari alkohol 70% dapat mendenaturasi protein lebih cepat karena mengandung air (Rutala *et al.*, 2008). Natrium hipoklorit merupakan senyawa yang mengandung klorin yang bekerja dengan mengoksidasi secara *irreversible* gugus sulfihifril pada enzim dan mengganggu fungsi metabolik dari sel bakteri (Rutala *et al.*, 2008). Pembilasan dengan aquades steril dilakukan untuk membersihkan mikroorganisme yang mati oleh desinfektan (Hafsari dan Asterina, 2013) dan untuk menghilangkan sisa alkohol dan NaOCl yang masih menempel di permukaan tanaman yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri endofit (Pratiwi, 2015).

Lama waktu perendaman dalam proses sterilisasi permukaan tanaman dapat mempengaruhi proses isolasi bakteri endofit (Setianah *et al.*, 2020). Pada penelitian ini, lama perendaman pada larutan alkohol 70% selama 1 menit dan dan NaOCl 5,25% selama 5 menit merupakan kombinasi yang sesuai dalam proses sterilisasi permukaan (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Shofiyani dan Neni (2015), sterilisasi permukaan akar kencur (*Kaemferia galangal* L.) dengan perlakuan alkohol 70% (1 menit) dan NaOCl

5,25% (5 menit) menunjukkan tidak terjadinya kontaminasi eksternal dan internal baik disebabkan oleh jamur maupun bakteri. Setiani *et al.* (2018) menyatakan bahwa penggunaan alkohol 70% (5 menit) dan NaOCl 5,25% (5 menit) pada daun sukun (*Artocarpus altilis*) tidak menyebabkan kerusakan jaringan tanaman. Perendaman dengan alkohol dan natrium hipoklorit dalam konsentrasi rendah dan lama perendaman yang singkat tidak terlalu efektif dalam mengendalikan kontaminasi pada tanaman (Setiani *et al.*, 2018). Hal tersebut juga dapat menyebabkan tanaman semakin rentan terhadap patogen. Pemaparan tanaman yang lebih lama akan menyebabkan kerusakan pada tanaman dan menyebabkan perkembangan jaringan menjadi terhambat yang ditandai dengan warna kecoklatan (*browning*) (Setiani *et al.*, 2018).

Tanaman ciplukan yang sudah dipotong ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi media TSA menggunakan pinset steril (Setianah *et al.*, 2020). Media TSA digunakan dalam proses isolasi karena mengandung nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2019). Secara umum kultur media bakteri harus mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, vitamin atau bahan-bahan yang dapat mendorong pertumbuhan bakteri seperti ekstrak daging atau ragi. Ekstrak daging mengandung pepton atau protein terhidrolisi yang banyak mengandung senyawa nitrogen sederhana. Selain pepton, keberadaan elemen mikro seperti Ca, Mn, Na, Mg, Zn, Co, Fe, Cu juga dibutuhkan (Dwinanti dan Tanbiyaskur, 2014). Media TSA berisi pepton yang berasal dari *casein* dan *soy meal*, *sodium chlorid* dan agar. Kandungan *casein* dan *soy meal* dalam media TSA berperan sebagai sumber karbon dan nitrogen seperti karbohidrat, protein dan lemak yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. sedangkan kandungan *sodium chlorid* dalam media TSA merupakan komponen selektif yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme non target (Dwinanti dan Tanbiyaskur, 2014). Tanaman ciplukan ditumbuhkan dalam media dengan cara menekan bagian tanaman hingga mengeluarkan cairan (Setianah *et al.*, 2020). Proses penekanan cairan bagian tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang dihasilkan dalam media pertumbuhan adalah bakteri endofit yang berasal dari dalam jaringan tanaman (Purwanto *et al.*, 2014).

Bakteri endofit dari tanaman ciplukan mulai menunjukkan pertumbuhan setelah bagian tanaman diinokulasi pada media TSA selama 48 jam (lampiran 4). Pernyataan ini didukung oleh Jalgaonwala *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa waktu pemilihan inkubasi minimal 2 hari yang bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan bakteri endofit. Bakteri endofit yang dihasilkan dari tanaman

ciplukan tumbuh di sekitar medium karena adanya penyebaran cairan serta tumbuh di sekitar sampel (Setianah *et al.*, 2020). Hal tersebut disebabkan karena bakteri endofit memperoleh nutrisi dari media pertumbuhan. Selain itu, penambahan kandistatin 0,02% pada media TSA bertujuan untuk mengoptimalkan hasil isolasi bakteri endofit (Kumala dan Siswanto, 2007 dalam Purwanto *et al.*, 2014). Kandistatin merupakan antifungi yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan jamur dalam medium TSA (Djajusman *et al.*, 2014). Hal ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri (Kumala dan Ainun, 2014).

Bakteri endofit yang tumbuh pada media TSA selanjutnya dilakukan pemurnian untuk memisahkan koloni bakteri hingga diperoleh koloni murni (Setianah *et al.*, 2020). Bakteri endofit yang tumbuh disekitar tanaman ciplukan diinokulasikan pada medium TSA secara *streak plate* (Setianah *et al.*, 2020). Metode *streak plate* bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru (Karimah, 2017). Koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan berdasarkan warna, ukuran dan bentuk koloni serta dimurnikan dengan menumbuhkannya pada media yang sama hingga didapatkan koloni murni (Wondal *et al.*, 2019). Koloni bakteri yang terpisah tersebut diinokulasikan ke dalam media TSA miring yang digunakan untuk *stock culture* dan *working culture* (lampiran 5). Dari hasil isolasi, bakteri endofit yang diperoleh diberi kode sesuai dengan bagian tanaman ciplukan yaitu AR (akar), BA (batang), BU (buah) dan DA (daun) (Setianah *et al.*, 2020). Sebaran keberadaan bakteri endofit pada tanaman ciplukan disajikan pada (Tabel 3).

Tabel 3. Populasi isolat bakteri endofit pada tanaman ciplukan.

Tanaman Ciplukan	Bagian Tanaman				Total isolat
	Akar	Batang	Daun	Buah	
Sampel 1	2	2	5	0	9
Sampel 2	1	4	3	3	11
Sampel 3	3	10	0	11	24
Total isolat	6	16	8	14	44

Berdasarkan hasil penelitian, bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman ciplukan sebanyak 44 bakteri endofit. Bakteri endofit yang diperoleh dari bagian batang yaitu sebanyak 16 isolat, bagian buah sebanyak 14 isolat, bagian daun 8 isolat dan bagian akar sebanyak 6 isolat (Tabel 3) (Setianah *et al.*, 2020). Hal ini sesuai dengan pernyataan Tarabily *et al.* (2003 dalam Kusumawati *et al.*, 2014) yaitu bakteri endofit dapat diisolasi dari akar, batang, daun, dan buah yang steril pada

tanaman inang. Purwanto *et al.* (2014), berhasil memperoleh 14 isolat bakteri endofit dari tanaman sirih hijau dengan jumlah isolat bakteri endofit terbanyak pada bagian daun, yaitu sebanyak 7 isolat, kemudian diikuti oleh bagian batang sebanyak 6 isolat dan terakhir adalah bagian akar sebanyak 1 isolat. Bakteri endofit dari tanaman miana berhasil diisolasi sebanyak 22 isolat dengan 6 isolat dari akar, 6 isolat dari daun dan 10 isolat dari batang (Kusumawati *et al.*, 2014).

Menurut Yandila *et al.* (2018), jumlah populasi bakteri endofit pada suatu jaringan tanaman berbeda-beda. Hal tersebut disebabkan karena populasi bakteri endofit dipengaruhi oleh jenis jaringan, waktu pengambilan sampel dan umur tanaman (Yandila *et al.*, 2018). Keberadaan bakteri endofit pada tanaman muda lebih banyak dibagian akar sehingga dapat memacu pertumbuhan dan meningkatkan perkembangan tanaman terutama pada fase vegetatif (Puspita *et al.*, 2018). Hal tersebut disebabkan karena bagian akar merupakan jalan utama bagi bakteri endofit untuk masuk ke dalam jaringan tanaman. Bakteri endofit akan menyebar ke seluruh bagian tanaman pada saat tanaman sudah dewasa yaitu pada fase generatif (Puspita *et al.*, 2018). Hal ini disebabkan oleh adanya aliran produk fotosintesis yang berasal dari daun ke seluruh bagian tanaman melalui floem, sehingga dapat dimanfaatkan oleh bakteri endofit sebagai sumber nutrisi (Lathifah, 2017).

Populasi bakteri endofit yang berbeda-beda pada setiap bagian tanaman juga dipengaruhi oleh proses isolasi dan perbedaan ukuran sampel (Sulistiyani dan Puspita, 2016). Proses isolasi dilakukan dengan metode cawan sebar. Sampel berukuran 2 cm dipencet terlebih dahulu hingga terdapat cairan dan disebar secara merata (Setianah *et al.*, 2020). Hal tersebut akan menyebabkan bakteri endofit terdistribusi secara sempurna pada medium pertumbuhan sehingga peluang bakteri endofit yang diperoleh lebih banyak (Sulistiyani dan Puspita, 2016). Ukuran sampel pada metode potongan tanaman juga lebih besar sehingga peluang bakteri endofit pada media pertumbuhan terbatas (Sulistiyani *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini, jumlah bakteri endofit yang diperoleh pada ketiga tanaman ciplukan berbeda-beda. Tanaman ciplukan yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 3 tanaman dan diambil secara acak pada bagian pojok dan tengah lahan (Setianah *et al.*, 2020). Jumlah populasi bakteri endofit tertinggi pada sampel nomer tiga sebanyak 24 isolat dan populasi bakteri terendah sampel nomer satu sebanyak 9 isolat (Tabel 3) (Setianah *et al.*, 2020). Bhore dan Sathisha (2010) menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan

spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah (Irdawati *et al.*, 2017). Menurut Amaria *et al.* (2019), kelimpahan dan keragaman bakteri endofit dalam tanaman dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Faktor biotik antara lain genotipe, varietas, umur tanaman, dan jenis bakteri, sedangkan faktor abiotik meliputi aplikasi pestisida, jenis tanah, pemupukan, kandungan bahan organik tanah, serta lingkungan fisik (pH, kelembapan) (Amaria *et al.*, 2019).

Perbedaan jumlah isolat bakteri endofit yang diperoleh pada penelitian ini disebabkan oleh 2 faktor yaitu umur tanaman dan jenis bakteri yang menghuni tanaman ciplukan (Setianah *et al.*, 2020). Pada penelitian ini, umur tanaman ciplukan yang digunakan sebagai sumber bakteri endofit berbeda-beda. Pada tanaman ciplukan (1) dan (2) memiliki umur yang lebih muda daripada tanaman ciplukan (3). Hal tersebut menyebabkan populasi bakteri endofit yang diperoleh berbeda-beda pada masing-masing tanaman ciplukan (Setianah *et al.*, 2020). Selain itu, jenis bakteri yang terdapat pada masing-masing tanaman ciplukan juga dapat mempengaruhi populasi bakteri endofit pada masing-masing tanaman ciplukan (Setianah *et al.*, 2020). Pada beberapa kasus, tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama. Pada beberapa tanaman terdapat bakteri endofit yang spesifik dan khas menghuni tanaman tersebut (Irdawati *et al.*, 2017).

B. Morfologi Bakteri Endofit

Koloni bakteri endofit hasil isolasi yang sudah murni kemudian dilakukan karakterisasi morfologi koloni (Setianah *et al.*, 2020). Karakterisasi morfologi koloni yang diamati pada isolat bakteri meliputi warna, bentuk, tepian dan elevasi (Wondal *et al.*, 2019). Koloni bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman ciplukan menunjukkan karakteristik morfologi yang bervariasi baik bentuk koloni, warna, tepian maupun elevasi koloni (lampiran 6) (Setianah *et al.*, 2020).

Pertumbuhan bakteri dalam media pertumbuhan dilakukan dengan metode *streak plate* (goresan). Pertumbuhan bakteri dinyatakan dengan meningkatnya jumlah kuantitas massa sel dengan terbentuknya sel-sel baru (Retnowati *et al.*, 2011). Terjadinya proses pertumbuhan bakteri tergantung pada kemampuan sel dalam membentuk protoplasma baru dari *nutrient* yang tersedia di lingkungan. Pertumbuhan bakteri terjadi secara aseksual (pembelahan biner). Pembelahan biner berlangsung

dengan interval yang teratur dengan penambahan atau kelipatan secara eksponensial (Retnowati *et al.*, 2011).

Bakteri yang mengalami pembelahan sel akan membentuk koloni bakteri. Koloni bakteri terbentuk karena adanya goresan inokulum bakteri di permukaan media agar sehingga goresan-goresan tersebut bakteri akan mengalami pertumbuhan dan pembelahan sel dan membentuk koloni (Huda *et al.*, 2012). Bakteri yang ditumbuhkan pada media dan lingkungan yang sesuai maka kelompok bakteri ini akan menghasilkan satu koloni. Koloni sel bakteri merupakan sekelompok masa sel dan dianggap sama karena berasal dari satu mikroorganisme sehingga mewakili sebagai biakan murni (Huda *et al.*, 2012). Penampakan koloni bakteri dalam media lempeng agar menunjukkan bentuk dan ukuran koloni yang khas. Hal tersebut dapat dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi dan permukaan koloni (Setianah *et al.*, 2020). Koloni bakteri dapat berbentuk bulat, tak beraturan dengan permukaan cembung, cekung atau datar serta tepi koloni rata atau bergelombang (Huda *et al.*, 2012).

Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan diamati secara makroskopik untuk melihat perbedaan dari setiap isolat (Setianah *et al.*, 2020). Pengamatan makroskopik yang dilakukan meliputi warna koloni, bentuk koloni, tepian koloni dan elevasi koloni (Wondal *et al.*, 2019). Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman ciplukan menunjukkan keragaman dari segi morfologi koloni. Isolat bakteri endofit yang berhasil diperoleh dari bagian buah ciplukan sebanyak 14 isolat yang menunjukkan morfologi koloni yang beragam meliputi warna krem, kuning, krem bening, kekuningan dan putih, dengan bentuk bulat dan memiliki elevasi cembung dan datar serta memiliki tepian koloni yang mulus dan bergerigi (Tabel 4) (Setianah *et al.*, 2020).

Tabel 4. Morfologi isolat bakteri endofit dari buah ciplukan

No.	Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk	Elevasi	Tepian
1.	BU2 (1)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
2.	BU2 (4)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
3.	BU2 (5)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
4.	BU3 (1)	Krem Bening	Bulat	Cembung	Mulus
5.	BU3 (2)	Krem Bening	Bulat	Datar	Bergerigi
6.	BU3 (3)	Krem Bening	Bulat	Datar	Bergerigi
7.	BU3 (5)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
8.	BU3 (6)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
9.	BU3 (8)	Putih	Bulat	Cembung	Mulus
10.	BU3 (9)	Kekuningan	Bulat	Cembung	Mulus
11.	BU3 (10)	Kekuningan	Bulat	Cembung	Mulus
12.	BU3 (12)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus

13.	BU3 (15)	Putih	Bulat	Cembung	Mulus
14.	BU3 (16)	Krem Bening	Bulat	Cembung	Bergerigi

Keterangan : BU2 = Buah ciplukan sampel 2, BU3= Buah ciplukan sampel 3.

Variasi koloni 16 Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari bagian batang tanaman ciplukan yaitu memiliki morfologi dengan warna krem, kuning, orange, kekuningan dan putih (Setianah *et al.*, 2020). Semua koloni bakteri endofit memiliki bentuk koloni bulat serta elevasi yang berbentuk cembung dan datar. Masing-masing koloni bakteri endofit memiliki tepian yang berbeda yaitu mulus, gelombang dan bergerigi (Tabel 5).

Tabel 5. Morfologi isolat bakteri endofit dari batang ciplukan

No.	Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk	Elevasi	Tepian
1.	BA1 (2)	Putih	Bulat	Cembung	Gelombang
2.	BA1(4)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
3.	BA2 (1)	Krem	Bulat	Cembung	Bergerigi
4.	BA2 (2)	Kekuningan	Bulat	Cembung	Mulus
5.	BA2 (3)	Orange	Bulat	Cembung	Mulus
6.	BA2 (6)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
7.	BA3 (1)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
8.	BA3 (2)	Putih	Bulat	Cembung	Gelombang
9.	BA3 (4)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
10.	BA3 (5)	Kekuningan	Bulat	Cembung	Mulus
11.	BA3 (6)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
12.	BA3 (7)	Krem bening	Bulat	Cembung	Bergerigi
13.	BA3 (8)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
14.	BA3 (9)	Orange	Bulat	Cembung	Mulus
15.	BA3 (10)	Putih	Bulat	Cembung	Mulus
16.	BA3 (11)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus

Keterangan : BA1=Batang ciplukan sampel 1, BA2= Batang ciplukan sampel 2, dan BA3=Batang ciplukan sampel 3.

Koloni bakteri endofit yang diperoleh dari bagian daun dan akar ciplukan memiliki morfologi koloni yang bervariasi yaitu memiliki morfologi dengan warna krem, orange, orange bening, krem bening, kuning dan putih (Setianah *et al.*, 2020). Sedangkan bentuk koloni bakteri endofit yaitu bulat dengan elevasi cembung dan datar. Tepian koloni bakteri endofit menunjukkan bentuk tepian yang mulus dan bergerigi (Tabel 6).

Tabel 6. Morfologi isolat bakteri endofit dari daun dan akar ciplukan

No.	Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk	Elevasi	Tepian
1.	DA1 (1)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus
2.	DA1 (2)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
3.	DA1 (3)	Orange	Bulat	Cembung	Mulus
4.	DA1 (4)	Putih	Bulat	Cembung	Mulus
5.	DA1 (5)	Orange	Bulat	Cembung	Mulus
6.	DA2 (1)	Orange Bening	Bulat	Datar	Mulus
7.	DA2 (2)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
8.	DA2 (3)	Kuning	Bulat	Cembung	Mulus

9.	AR1 (1)	Krem	Bulat	Datar	Bergerigi
10.	AR1 (2)	Krem	Bulat	Datar	Bergerigi
11.	AR2 (1)	Krem	Bulat	Cembung	Mulus
12.	AR3 (1)	Orange bening	Bulat	Datar	Mulus
13.	AR3 (3)	Krem Bening	Bulat	Cembung	Mulus
14.	AR3 (4)	Orange	Bulat	Cembung	Mulus

Keterangan : DA1= Daun ciplukan sampel 1, DA2= Daun ciplukan sampel 2 AR1= Akar ciplukan sampel 1, AR2= Akar ciplukan sampel 2 dan AR3=Akar ciplukan sampel 3.

Warna koloni bakteri yang bervariasi disebabkan oleh adanya pigmen yang dihasilkan oleh bakteri endofit (Safrida *et al.*, 2012). Pigmen bakteri dapat diklasifikasikan menjadi pigmen karotenoid, antosianin, melanin, triptilmethenes dan fenazin. Pigmen tersebut akan memberikan warna yang berbeda-beda pada masing-masing bakteri. Karotenoid merupakan pigmen yang berwarna merah, jingga dan kuning, sedangkan antosianin berwarna merah dan biru. Melanin merupakan pigmen yang memberikan warna coklat, hitam, jingga dan merah. Pigmen *tripirilmethenes* adalah pigmen yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* sedangkan fenazin merupakan pigmen warna jingga-kuning, jingga tua dan merah jingga. Keberadaan pigmen bakteri tersebut akan dicirikan pada warna koloni yang tumbuh (Savitri, 2006 dalam Safrida *et al.*, 2012).

Karakteristik morfologi yang beragam dari masing-masing koloni berhubungan dengan genus dan spesies dari masing-masing bakteri (Setianah *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nurzakayah (2016), tiga jenis bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman *Caulerpa racemosa* yaitu *Bacillus kochi*, *Bacillus endophyticus* dan *Staphilococcus saprophyticus* memiliki morfologi koloni berwarna krem dan putih dengan bentuk bulat, memiliki tepian mulus serta elevasi yang datar. Fithriyah (2015) juga berhasil mengisolasi bakteri endofit *Bacillus megaterium* dan *Enterobacter gergoviae* dari rumput kebar yang memiliki morfologi warna putih dan kuning, berbentuk bulat, tepian mulus dan elevasi cembung.

C. Uji aktivitas isolat bakteri endofit tanaman ciplukan terhadap bakteri patogen.

Uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit tanaman ciplukan ini dilakukan dengan metode *kirby baurer* terhadap bakteri uji yaitu *P. aureginosa*, *E. coli* dan *S. aureus*. Metode ini dipilih karena lebih praktis lebih mudah dalam pengukuran zona hambat (Setianah *et al.*, 2020). Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kertas

cakram berukuran 7 mm yang sudah disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi kertas cakram dilakukan untuk menghilangkan mikroorganisme yang menempel sehingga meminimalisir terjadinya kontaminasi. Kertas cakram digunakan agar suspensi bakteri endofit yang diberikan dapat langsung terserap ke dalam kertas cakram (Setianah *et al.*, 2020).

Pemilihan tiga jenis bakteri patogen dalam penelitian ini berdasarkan alasan bahwa bakteri-bakteri tersebut lazim digunakan sebagai model untuk pengujian senyawa aktif baru dan bersifat patogen bagi manusia (Setianah *et al.*, 2020). Ketiga bakteri patogen digunakan untuk membandingkan kemampuan dari dua jenis bakteri yang berbeda yaitu bakteri gram negatif (*P. aureginosa* dan *E. coli*) dan gram positif (*S. aureus*). Selain itu, penggunaan kedua bakteri yang berasal dari gram negatif juga dilakukan untuk membandingkan aktivitas antar sesama bakteri (Setianah *et al.*, 2020).

Suspensi bakteri endofit dan bakteri patogen dihasilkan dari proses pembiakan bakteri. Proses pembiakan bakteri dilakukan dengan mengambil biakan murni bakteri endofit maupun bakteri patogen dengan cara menggoreskan jarum ose steril pada biakan murni bakteri, kemudian di tumbuhkan dalam media cair TSB (Setianah *et al.*, 2020). Media TSB digunakan sebagai media pembiakan bakteri. Media TSB digunakan karena merupakan sumber protein, nutrisi dan vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan (Pelczar dan Chan, 2008 dalam Pratiwi, 2019). Suspensi bakteri dalam media TSB diinkubasi pada suhu 37°C. Inkubasi suspensi bakteri pada suhu 37°C dilakukan karena kebanyakan bakteri tumbuh dengan baik pada suhu tersebut (Khairani, 2009).

Waktu inkubasi untuk pembiakan bakteri endofit yaitu selama 24-48 jam sesuai dengan kecepatan pertumbuhan masing-masing bakteri. Hal tersebut berhubungan dengan kurva pertumbuhan sebagian besar bakteri endofit (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Pratama *et al.* (2015), pemanenan metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit daun mimba (*Azadirachta Indica*) dilakukan pada fase stasioner yaitu pada jam ke-33 hingga jam ke-48. Metabolit sekunder disintesis pada akhir siklus pertumbuhan sel yaitu pada fase stasioner (Pratiwi, 2008). Perbedaan pertumbuhan bakteri yang terjadi pada setiap waktu pembiakan disebabkan oleh kemampuan bakteri yang berbeda-beda dalam berkembang biak. Hal tersebut dipengaruhi oleh media tumbuh serta nutrisi yang tersedia. Laju pertumbuhan spesifik untuk setiap bakteri juga berbeda-beda dikarenakan kandungan enzim pada masing-masing bakteri berbeda. Hal

tersebut akan mempengaruhi proses metabolisme bakteri dalam menghasilkan metabolit sekunder (Imron dan Purwanti, 2016).

Sebelum dilakukan pengujian pada bakteri endofit, dilakukan proses inokulasi bakteri patogen terlebih dahulu. Metode yang digunakan untuk inokulasi adalah metode *spread plate* yang dilakukan dengan menumbuhkan suspensi bakteri patogen sebanyak 100 µl ke dalam media TSA (Setianah *et al.*, 2020). Metode ini digunakan agar suspensi bakteri patogen dapat menyebar rata pada media agar (Pratiwi, 2019). Setelah proses inokulasi, kertas cakram steril diletakkan di atas permukaan media yang berisi bakteri patogen. Suspensi bakteri endofit yang akan diuji diletakkan di atas kertas cakram sebanyak 25 µl. Sampel direplikasi sebanyak 3 kali dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Setianah *et al.*, 2020). Suspensi bakteri endofit yang sudah terserap akan tumbuh terlokalisasi dibagian kertas cakram, sehingga bakteri patogen dalam media akan terbentuk pola zona bening yang dapat diukur dan diketahui besarnya. Besar kecilnya zona hambat terhadap bakteri patogen dapat dilihat dari besar kecilnya nilai kategori hambat minimum (KHM) (Nurzakiyah, 2016).

Hasil penapisan awal aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap bakteri patogen ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah bening di sekitar koloni bakteri endofit (Setianah *et al.*, 2020). Sebanyak 44 isolat bakteri endofit diuji terhadap 3 bakteri patogen, yaitu *S. aureus*, *P.aureginosa* dan *E.coli*.

1. *Pseudomonas aureginosa*

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan (setelah dikurangi dengan diameter kertas cakram) terhadap *P. aureginosa* dapat dilihat pada (Tabel 7).

Tabel 7. Diameter zona hambat isolat bakteri endofit terhadap bakteri *P. aureginosa*

Kode Isolat	<i>Pseudomonas aureginosa</i>					Kode Isolat	<i>Pseudomonas aureginosa</i>						
	Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-rata (mm)		Nilai SD	Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-Rata (mm)	Nilai SD
		1	2	3					1	2	3		
BA1 (2)	-	0	0	0	-	-	BU2 (1)	-	0	0	0	-	-
BA1 (4)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU2 (4)	-	0	0	0	-	-
BA2 (1)	-	0	0	0	-	-	BU2 (5)	-	0	0	0	-	-
BA2 (2)	-	0	0	0	-	-	BU3 (1)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA2 (3)	+	0,5	0,5	1	0,7	0,2	BU3 (2)	+	1	1	1	1	0
BA2 (6)	+	0,5	0,5	0	0,3	0,2	BU3 (3)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (1)	+	0,5	1	0,5	0,7	0,2	BU3 (5)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (2)	-	0	0	0	-	-	BU3 (6)	-	0	0	0	-	-
BA3 (4)	-	0	0	0	-	-	BU3 (8)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (5)	-	0	0	0	-	-	BU3 (9)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (6)	-	0	0	0	-	-	BU3 (10)	-	0	0	0	-	-
BA3 (7)	-	0	0	0	-	-	BU3 (12)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (8)	-	0	0	0	-	-	BU3 (15)	-	0	0	0	-	-

BA3 (9)	-	0	0	0	-	-	BU3 (16)	-	0	0	0	-	-
BA3 (10)	-	0	0	0	-	-	DA1 (1)	-	0	0	0	-	-
BA3 (11)	-	0	0	0	-	-	DA1 (2)	-	0	0	0	-	-
AR1 (1)	-	0	0	0	-	-	DA1 (3)	-	0	0	0	-	-
AR1 (2)	-	0	0	0	-	-	DA1 (4)	-	0	0	0	-	-
AR2 (1)	-	0	0	0	-	-	DA1 (5)	-	0	0	0	-	-
AR3 (1)	-	0	0	0	-	-	DA2 (1)	-	0	0	0	-	-
AR3 (3)	-	0	0	0	-	-	DA2 (2)	-	0	0	0	-	-
AR3 (4)	-	0	0	0	-	-	DA2 (3)	-	0	0	0	-	-
Kontrol Positif	+				14 mm	-	Kontrol negatif	-				0 mm	-

Keterangan : (-) =Tidak terbentuk zona hambat, (+)=Terbentuk zona hambat

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan, sebanyak 11 isolat bakteri endofit tanaman ciplukan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aureginosa* (Tabel 7). Empat isolat bakteri endofit bagian batang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aureginosa* dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-1 mm dan nilai standar deviasi (SD) sebesar 0,2 mm. Sebanyak 6 isolat bakteri endofit dari bagian buah dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-1 mm dan nilai SD sebesar 0 mm. Isolat bakteri endofit yang menghasilkan zona hambat tertinggi terhadap *P. aureginosa* yaitu isolat BU3 (2) dengan rerata diameter zona hambat sebesar 1 mm dan nilai SD sebesar 0 mm. Isolat BU3 (2) diisolasi dari bagian buah yang memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, warna krem bening, elevasi datar dan tepian bergerigi. Nilai SD yang dihasilkan dari masing-masing isolat bakteri endofit digunakan untuk mengetahui rata-rata penyimpangan data dari mean dan menggambarkan seberapa jauh variasi data (Setianah *et al.*, 2020). Nilai SD yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antibakteri lebih rendah dari rata-rata hasil pengujian yaitu sebesar 0,2 mm dengan rata-rata zona hambat sebesar 0,3 dan 0,7 mm (Setianah *et al.*, 2020). Nilai SD yang lebih rendah dari mean dapat digunakan sebagai representasi keseluruhan data (Pratiwi, 2019).

2. *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap *E.coli* dapat dilihat pada (Tabel 8).

Tabel 8. Diameter zona hambat isolat bakteri endofit terhadap bakteri *E. coli*

Kode Isolat	<i>Escherichia coli</i>						Kode Isolat	<i>Escherichia coli</i>					
	Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-rata (mm)	Nilai SD		Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-Rata (mm)	Nilai SD
		1	2	3					1	2	3		
BA1 (2)	-	0	0	0	-	-	BU2 (1)	-	0	0	0	-	-
BA1 (4)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU2 (4)	-	0	0	0	-	-
BA2 (1)	-	0	0	0	-	-	BU2 (5)	-	0	0	0	-	-
BA2 (2)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU3 (1)	+	1	1	0	0,6	0,5
BA2 (3)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU3 (2)	-	0	0	0	-	-
BA2 (6)	+	0	1	1	0,7	0,5	BU3 (3)	-	0	0	0	-	-

BA3 (1)	-	0	0	0	-	-	BU3 (5)	-	0	0	0	-	-
BA3 (2)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU3 (6)	-	0	0	0	-	-
BA3 (4)	-	0	0	0	-	-	BU3 (8)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (5)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU3 (9)	-	0	0	0	-	-
BA3 (6)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0	BU3 (10)	-	0	0	0	-	-
BA3 (7)	-	0	0	0	-	-	BU3 (12)	-	0	0	0	-	-
BA3 (8)	-	0	0	0	-	-	BU3 (15)	-	0	0	0	-	-
BA3 (9)	-	0	0	0	-	-	BU3 (16)	-	0	0	0	-	-
BA3 (10)	-	0	0	0	-	-	DA1 (1)	+	2	2	2	2	0
BA3 (11)	-	0	0	0	-	-	DA1 (2)	-	0	0	0	-	-
AR1 (1)	-	0	0	0	-	-	DA1 (3)	-	0	0	0	-	-
AR1 (2)	-	0	0	0	-	-	DA1 (4)	+	2	2	2	2	0
AR2 (1)	-	0	0	0	-	-	DA1 (5)	-	0	0	0	-	-
AR3 (1)	-	0	0	0	-	-	DA2 (1)	-	0	0	0	-	-
AR3 (3)	-	0	0	0	-	-	DA2 (2)	-	0	0	0	-	-
AR3 (4)	-	0	0	0	-	-	DA2 (3)	-	0	0	0	-	-
Kontrol Positif	+				20 mm		Kontrol negatif	-				0 mm	

Keterangan : (-) =Tidak terbentuk zona hambat, (+)=Terbentuk zona hambat

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, sebanyak 44 isolat bakteri endofit diuji terhadap bakteri *E. coli* (Tabel 8). Sebanyak 11 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu 7 isolat dari bagian batang, 2 isolat dari bagian buah dan 2 isolat dari bagian daun. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh 11 isolat bakteri endofit memiliki diameter zona hambat berkisar antara 0,5-2 mm dengan nilai SD yang dihasilkan sebesar 0,5 mm. Isolat DA1 (1) dan DA1 (4) menghasilkan zona hambat tertinggi terhadap bakteri *E.coli*. Isolat DA1 (1) dan DA1 (4) diperoleh dari hasil isolasi bagian daun tanaman ciplukan. Kedua isolat tersebut memiliki morfologi koloni dengan bentuk bulat, berwarna kuning pada isolat DA1 (1) dan warna putih pada isolat DA1 (4). Kedua isolat tersebut memiliki elevasi koloni cembung dengan tepian koloni mulus. Nilai zona hambat yang dihasilkan kedua isolat tersebut sebesar 2 mm dengan nilai SD sebesar 0 mm. Nilai SD yang dihasilkan bakteri endofit sebesar 0,5 mm lebih rendah dari rata-rata zona hambat yang dihasilkan yaitu sebesar 0,7 mm pada isolat BA2 (6) dan BU3 (1). Nilai SD yang lebih rendah dari rata-rata zona hambat yang dihasilkan mencerminkan bahwa penyimpangan dan variasi data pada masing-masing isolat tidak berbeda jauh antar ulangan (Setianah *et al.*, 2020).

3. *Staphylococcus aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada (Tabel 9).

Tabel 9. Diameter zona hambat isolat bakteri endofit terhadap bakteri *S. aureus*

Kode Isolat	<i>Staphylococcus aureus</i>					Kode Isolat	<i>Staphylococcus aureus</i>						
	Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-rata (mm)		Nilai SD	Uji Anti Bakteri	Diameter Zona Hambat (Ulangan)			Rata-Rata (mm)	Nilai SD
		1	2	3					1	2	3		
BA1 (2)	-	0	0	0	-	-	BU2 (1)	+	0	0,5	0,5	0,3	0,2
BA1 (4)	-	0	0	0	-	-	BU2 (4)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0

BA2 (1)	+	0,5	0,5	0	0,3	0,2	BU2 (5)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA2 (2)	+	1	1	1	1	0	BU3 (1)	+	0	1	0,5	0,5	0,4
BA2 (3)	+	0	1	1	0,7	0,5	BU3 (2)	+	0,5	1	0	0,5	0,4
BA2 (6)	+	0	1	1	0,7	0,5	BU3 (3)	+	0,5	1	0	0,5	0,4
BA3 (1)	+	0,5	0,5	1	0,6	0,2	BU3 (5)	+	1	0,5	0	0,5	0,4
BA3 (2)	+	1	1	1	1	0	BU3 (6)	-	0	0	0	-	-
BA3 (4)	-	0	0	0	-	-	BU3 (8)	+	1	1	1	1	0
BA3 (5)	-	0	0	0	-	-	BU3 (9)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (6)	-	0	0	0	-	-	BU3 (10)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (7)	-	0	0	0	-	-	BU3 (12)	+	1	1	1	1	0
BA3 (8)	-	0	0	0	-	-	BU3 (15)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (9)	+	0,5	0	1	0,5	0,4	BU3 (16)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
BA3 (10)	-	0	0	0	-	-	DA1 (1)	+	1	1	1	1	0
BA3 (11)	-	0	0	0	-	-	DA1 (2)	+	1	1	1	1	0
AR1 (1)	-	0	0	0	-	-	DA1 (3)	+	2	2	2	2	0
AR1 (2)	+	1	1	0	0,7	0,5	DA1 (4)	+	2	2	1	1,6	0,5
AR2 (1)	+	2	2	1	1,6	0,5	DA1 (5)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
AR3 (1)	+	1	1	0,5	0,8	0,2	DA2 (1)	+	1	1	1	1	0
AR3 (3)	+	1	1	0,5	0,8	0,2	DA2 (2)	+	2	2	2	2	0
AR3 (4)	-	0	0	0	-	-	DA2 (3)	+	0,5	0,5	0,5	0,5	0
Kontrol Positif	+				30 mm	-	Kontrol negatif	-				0 mm	-

Keterangan : (-) =Tidak terbentuk zona hambat, (+)=Terbentuk zona hambat

Sebanyak 32 isolat bakteri endofit tanaman ciplukan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Tabel 9). Tujuh isolat bakteri endofit bagian batang dan 4 isolat bagian akar mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-2 mm dan nilai SD sebesar 0,2-0,5 mm. Sebanyak 8 isolat dari daun mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter hambat yang dihasilkan sebesar 0,5-2 mm dengan nilai SD sebesar 0,5 pada isolat DA1 (4). Selain itu, 14 isolat bakteri endofit dari buah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-1 mm dan nilai standar deviasi sebesar 0,4 mm dan 0,5 mm (Setianah *et al.*, 2020).

Isolat bakteri endofit yang memiliki nilai hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu isolat DA1 (3) dan DA2 (2). Isolat DA1 (3) dan DA2 (2) diperoleh dari tanaman ciplukan pada bagian daun. Kedua isolat tersebut memiliki morfologi koloni berbentuk bulat dengan warna orange pada isolate DA1 (3) dan warna krem pada isolate DA2 (2) serta memiliki bentuk elevasi cembung dengan tepian mulus. Kedua isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 2 mm. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menghasilkan nilai SD berkisar antara 0,2-0,5 mm. Nilai SD yang dihasilkan lebih rendah dari rata-rata zona hambat yang dihasilkan bakteri endofit sebesar 0,3-2 mm. Data tersebut membuktikan bahwa penyimpangan atau variasi data pada masing-masing ulangan tidak berbeda jauh yang dibuktikan dengan rendahnya nilai SD yang dihasilkan (Setianah *et al.*, 2020).

Tingginya zona hambat yang dihasilkan bakteri endofit kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor. Menurut Cappuccino dan Sherman, (1999 dalam Setyati *et al.*, 2016), beberapa faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona hambat yaitu kecepatan difusi senyawa antibakteri ke dalam media serta interaksinya dengan bakteri patogen. Selain itu, kecepatan pertumbuhan bakteri endofit dan sensitifitas bakteri patogen terhadap senyawa antibakteri pada bakteri endofit juga dapat mempengaruhi zona hambat yang dihasilkan (Setyati *et al.*, 2016). Menurut Schulz *et al.* (2006 dalam Fithriyah, 2015), kompetisi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona hambat. Kompetisi zona hambat terjadi ketika kedua organisme berada pada tempat yang sama dan menggunakan nutrisi yang sama. Perbedaan struktur sel bakteri patogen, perbedaan jenis dan jumlah senyawa antibakteri menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit (Kusumawati *et al.*, 2014).

Bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen sebanyak 3 isolat yaitu BA2 (3), BA2 (6) dan BU3 (1). Isolat BA2 (3) diisolasi dari bagian batang tanaman ciplukan (Setianah *et al.*, 2020). Isolat BA2 (3) memiliki morfologi koloni dengan bentuk bulat, warna orange, tepian mulus dan elevasi cembung serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dengan diameter zona hambat sebesar 0,5 mm. Sedangkan diameter zona hambat yang dihasilkan isolat BA2 (3) terhadap bakteri gram positif sebesar 1 mm. Isolat BA2 (6) diisolasi dari bagian batang ciplukan dan memiliki morfologi koloni bulat dengan warna kuning, elevasi cembung dan tepian mulus. Sedangkan isolat BU3 (1) diisolasi dari bagian buah ciplukan dengan morfologi koloni berbentuk bulat, warna krem bening, dengan tepian mulus dan elevasi cembung. Diameter zona hambat yang dihasilkan isolat BA2 (6) dan BU3 (1) terhadap bakteri *P.aureginosa* sebesar 0,5 mm. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* sebesar 1 mm. Nilai SD pada ketiga isolat tersebut berkisar antara 0,2-0,5 mm (Setianah *et al.*, 2020).

Diameter zona hambat yang dihasilkan ketiga isolat tersebut termasuk dalam kategori lemah yaitu berkisar antara 0,5 mm hingga 1 mm (Setianah *et al.*, 2020). Aktivitas penghambatan ketiga isolat bakteri endofit terhadap ketiga bakteri patogen menandakan bahwa senyawa antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit memiliki spektrum yang luas. Hal tersebut dikarenakan bakteri endofit dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif (Pratiwi, 2015).

Isolat bakteri endofit yang memiliki populasi tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu sebanyak 32 isolat bakteri endofit terhadap bakteri *S. aureus* (Tabel 10). Sedangkan pada bakteri *P.aureginosa* dan *E.coli* masing-masing hanya 11 isolat bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut (Tabel 8 dan 9). Hal tersebut menunjukkan adanya perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada bakteri gram positif dan gram negatif (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Strobel (2002 dalam Fithriyah, 2015), terbentuknya zona hambat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan bakteri patogen yang berlebihan. Hal tersebut menyebabkan pengaruh metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit tidak signifikan terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Perbedaan sensitivitas bakteri patogen terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri gram positif maupun negatif (Sari, 2018). Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif. Perbedaan tersebut memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif (Fithriyah, 2015).

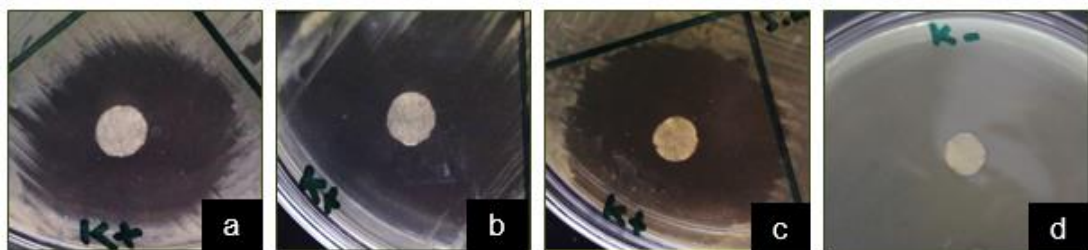
Pada bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana. Lapisan dinding sel bakteri gram positif terdiri dari 2-3 lapis membran sitoplasma yang terusun dari asam teikoat dan asam teikourenik berupa polimer yang larut dalam air sehingga lebih mudah untuk ditembus senyawa antibakteri dari luar (Vitasari, 2012). Sedangkan dinding sel gram negatif memiliki susunan dinding sel yang lebih kompleks. Menurut Jawetz *et al.* (2005 dalam Sari, 2018), dinding sel bakteri gram negatif walaupun mengandung lebih sedikit peptidoglikan, tetapi di luar lapisan tersebut masih ada tiga polimer yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida. Aktivitas antimikroba pada sintesis dinding sel bakteri bekerja pada penghambatan sintesis peptidoglikan yang mengaktifasi enzim lisis dan menghasilkan lisis pada lingkungan yang isotonik (Sari, 2018).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri, sebanyak 9 isolat bakteri endofit tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap ketiga bakteri patogen (Setianah *et al.*, 2020). Ada tidaknya aktivitas antibakteri yang dimiliki isolat bakteri endofit dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain ketebalan medium, PH medium, komposisi media, suhu dan waktu inkubasi (Alviana, 2016). Selain itu, bakteri endofit yang diuji kemungkinan mampu menghasilkan senyawa antibakteri namun dalam

jumlah yang sangat sedikit atau menghasilkan senyawa lain yang belum diketahui (Kusumawati *et al.*, 2014).

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit dilakukan oleh Kusumawati *et al.* (2014). Sebanyak 13 bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman miana mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan diameter zona hambat berkisar antara 1-3 mm (Kusumawati *et al.*, 2014). Selain itu, sebanyak 15 isolat bakteri endofit dari tanaman miana juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat berkisar antara 1.5-7 mm (Kusumawati *et al.*, 2014). Desriani *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa isolat bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman binahong dan ketepeng cina memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* dengan diameter sebesar 2 mm. Lemahnya aktivitas antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit kemungkinan karena bakteri endofit hanya mampu menghasilkan senyawa antibakteri jika berinteraksi secara langsung dengan tanaman inang. Hal tersebut menyebabkan kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa antibakteri menurun (Desriani *et al.*, 2014).

Aquades steril digunakan sebagai kontrol negatif sebagai parameter untuk mengecek bakteri patogen resisten atau tidak terhadap bakteri endofit (Setianah *et al.*, 2020). Antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif sebagai pembanding untuk melihat potensi bakteri endofit dengan antibiotik yang memiliki potensi sebagai antibakteri (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Wibowo dan Yuliani (2015), kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang memiliki tingkat sensitivitas tinggi terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif.



Gambar 4. Diameter zona hambat antibiotik kloramfenikol, (a) K+ *P. aeruginosa*, (b) K+ *E. coli*, (c) K+ *S. aureus* dan (d) K- aquades steril terhadap ketiga bakteri patogen.

Zona hambat yang dihasilkan antibiotik kloramfenikol termasuk dalam kategori sangat kuat terhadap bakteri *S. aureus* dengan diameter 30 mm dan kategori penghambatan kuat dengan diameter 10-20 mm terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* (Gambar 4). Hal itu berarti bahwa kloramfenikol memiliki aktivitas

antibakteri spektrum luas dengan kekuatan daya hambat yang tinggi dalam menghambat dan membunuh bakteri, baik kelompok gram positif maupun gram negatif (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Levinson (2004 dalam Alviana, 2016), kloramfenikol mampu mengikat subunit ribosom 50S sel mikroba target dan menghalangi aktivitas enzim *peptidyltransferase* sehingga terjadi hambatan pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein. Antibiotik kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif secara maksimal karena memiliki struktur dinding sel yang sederhana dibandingkan dengan bakteri gram negatif (Vitasari, 2012). Antibiotik kloramfenikol memiliki aktivitas yang berbeda terhadap sesama bakteri gram negatif. Pada penelitian ini, aktivitas kloramfenikol lebih besar terhadap *E. coli* dengan zona hambat 20 mm sedangkan zona hambat koramfenikol terhadap *P.aeruginosa* hanya sebesar 14 mm (Setianah *et al.*, 2020). Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan struktur sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri patogen (Nursanty dan Suhartono, 2012).

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Setianah *et al.*, 2020). Menurut Masfufah (2019), bakteri endofit B.E2 daun tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid dan saponin. Ketiga senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun positif (Masfufah, 2019). Hal tersebut dikarenakan senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Lisisnya membran sel dapat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Masfufah, 2019).

Mekanisme senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri (Rijayanti, 2014). Bakteri patogen akan membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa antibakteri. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma karena tersusun dari protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan

ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel (Rijayanti, 2014). Hal tersebut menyebabkan struktur lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga sel tidak dapat menahan tekanan osmotik yang tinggi dan akan mengalami lisis bahkan kematian pada bakteri (Isnietti, 2010).

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

Bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman ciplukan dan diperoleh sebanyak 44 isolat bakteri endofit (16 isolat bagian batang, 14 isolat bagian buah, 8 isolat bagian daun dan 6 isolat bagian akar). Berdasarkan uji aktivitas antibakteri terhadap ketiga bakteri patogen, diperoleh 32 isolat isolat bakteri endofit memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*, 11 isolat terhadap *P. aeruginosa* dan 11 isolat terhadap *E.coli*. Isolat bakteri endofit BA2 (3), BA2 (6) dan BU3 (1) mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen dengan diameter zona hambat berkisar antara 0,5-1 mm dan nilai SD berkisar antara 0-0,5 mm.

B. Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi spesies isolat bakteri endofit yang potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Selain itu, diperlukan pengujian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit. Selain itu, sampel yang tidak tumbuh selama 72 jam saat proses isolasi ditunggu hingga 7 hari untuk menyesuaikan pertumbuhan bakteri yang terdapat pada sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriyani dan Yessica, F. T. (2013). Isolasi dan karakterisasi *actinomycetes* sebagai penghasil antibiotik dari sampel tanah pada peternakan sapi di kecamatan Galesong kabupaten Takalar. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 1 (2), 97-100.
- Agustrina, G. (2011). Potensi propolis lebah madu *Apis malifera* spp sebagai bahan antibakteri. *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Alkautsari, L. Rina, W., dan Gustina, I. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ciplukan (*Physalis Minima* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* Sp. *E-Jurnal*. Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Sumatera Barat. Padang.
- Alviana, N. (2016). Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta.
- Amaria, W., Niken, N. K dan Abdul, M. (2019). Kelimpahan populasi bakteri filofser, rizofser, dan endofit tanaman kemiri sunan (*Reutealis Trisperma* (Blanco) Airy Shaw), serta potensinya sebagai agens biokontrol. *Journal TABARO*, 3 (1), 305-317.
- Amir, L. (2015). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada tanaman *Acacia decurrens* (J.C.Wendl.) Willd. *Skripsi*. Sekolah Pascasarjana. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Anggita, A., Fakhurrazi, dan Abdul, H. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun putri malu (*Mimosa Pudica*) terhadap bakteri *P. aeruginosa*. *JIMVET*, 2 (3), 411-418.
- Bergey's. (2005). Manual of systematic bacteriology. *Department of Microbiology and Molecular Genetics*: Michigan State University.
- Bhore, S. J and Sathisha, G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World J. Agric. Sci*, 6 (4), 345-352.
- Cahyani, A. T., Ichsan, M. P., Hasrullah., Ersyan, M., Tita, A. S., dan Abdul, M. J. (2017). Teknologi formulasi rhizobakteria berbasis bahan lokal dalam menunjang bioindustri pertanian berkelanjutan. *Hasanuddin Student Journal*, 1 (1), 16-21.
- Compant, S., Christophe, C., and Angela, S. (2010). Plant Growth Promoting Bacteria In The Rhizo and Endosphere of Plant: Their Role, Colonization, Mechanisms Involved and Prospect for Utilization. *Soil Biologi and Biochemistry: Elsvier*, 4 (2), 669-678.

- Desriani, Ukhradia, M. S. P., Maria, B., Akhmad, R., dan Puspita, L. (2014). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman binahong dan katepeng china. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3 (2), 89-93.
- Dewi, M. K., Evie, R., dan Guntur, T. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Lentera Bio*, 3 (1), 51-57.
- Djajusman, S. k., Udijanto, T dan Irmawati. (2014). Daya hambat xylitol dan nistation terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (in vitro). *Dental Journal Makalah Kedokteran Gigi*, 47 (3), 164-167.
- Dwi, M., Eti, M. B., dan Jismi, M. (2017). Uji kandungan metabolit sekunder tumbuhan obat yang terdapat di kecamatan rambah samo kabupaten rokan hulu. *Jurnal Medicinal Plants*, 1 (2), 1-5.
- Dwinanti, S. H., dan Tanbiyaskur. (2014). Rekayasa media padat nonselektif untuk bakteri akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 13 (2), 163–166.
- Fatichah, N. F. Y. (2011). Potensi bakteri endofit sebagai penghasil enzim kitinase, protease dan selulase secara in vitro. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Fithriyah, N. L. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari rumput kebar (*Biophytum* sp.) sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Hafsari, A. R dan Asterina, I. (2013). Isolasi dan identifikasi kapang endofit dari tanaman obat surian (*Toona sinensis*). *Artikel edisi agustus*, 7 (2), 175-191.
- Hakim, S. S., Sri, W. B dan Maman, T. (2014). Sterilisasi Permukaan untuk Mengisolasi Fungi Endofit Akar pada Meranti Tembaga (*Shorea leprosula* Miq.) di Hutan Penelitian Dramaga. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 5 (1), 49-53.
- Hermawati, L. (2016). Uji aktivitas antibakteri isolat kapang endofit dari daun tanaman paku daun kepala tupai (*Drynaria quercifolia* (L.) J. Smith) terhadap *E.a coli*, *Salmonella typhi*, *S. aures* dan *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Huda, C., Salni dan Melki. (2012). Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sarcophyton* sp. *Maspari Journal*, 4 (1), 69-76.
- Imron, M. F., dan Purwati, I. F. (2016). Uji kemampuan bakteri azotobacter S8 dan *Bacillus Subtilis* untuk menyisihkan *Trivalent Chorium* (Cr3+) pada limbah cair. *J. Teknik ITS*, 5 (1), 4-10.

- Irdawati., Linda, A., dan Fitri, A. (2017). Isolation and Activity Test of Antimicrobial Endophytic Bacteria from Leaf Salam (*Syzygium polyanthum* Wight). *Bio Science*, 1(2), 62-69.
- Isnietty. (2010). Isolasi dan uji antibakteri flavonoid dari daun ciplukan (*Physalis Minima Linn*). *EKSAKTA*, 2 (1), 95-102.
- Jalgaonwala, R. E, Mohite, B. V, and Mahajan, R. T. (2010). Evaluation of endophytes for their antimicrobial activity from indigenous medicinal plants belonging to north maharashtra region india . *Int. J. on Pharm and Biomed Res*, 1 (5), 136-141.
- Juwita. (2010). Potensi bakteri endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) terhadap serangan nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Katrin, D., Nora, I., dan Berlian, S. (2015). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek (*Litsea Graciae Vidal*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *JKK*, 4 (1), 7-12.
- Karimah, T. I. (2017). Analisis asam lemak dalam pertumbuhan bakteri Salmonella typhi ATCC 13311 dengan menggunakan metode kromatografi gas. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Kementerian Perdagangan (Kemendag) RI. (2014). Warta ekspor obat herbal tradisional. *Kementerian Perdagangan Republik Indonesia*. Jakarta.
- Khairani, G. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Akar Tanaman Jagung (*Zea mays L.*). *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Kholifah. (2014). Uji aktivitas ekstrak etanol dan ekstrak air buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Edwardsiella tarda* penyebab penyakit *Edwardsiellosis* pada ikan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Khotib, I. M. (2018). Pengaruh lama fermentasi dan varian konsentrasi dari buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat dan mutu kimia kefir air sari buah ciplukan. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Kumala, S dan Ainun, A. P. (2014). Efek Antimikroba dari Kapang Endofit Ranting Tanaman Biduri. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7 (2), 111-120.
- Kuncoro, H dan Noor, E. S. (2011). Jamur endofit, biodiversitas, potensi dan prospek penggunaannya sebagai sumber bahan obat baru. *J. Trop. Pharm. Chem*, 1 (3), 250-265.

- Kusumaningtyas, R.W., Noer, L., dan Putri, L. (2015). Potential of ciplukan (*Physalis angulata* L.) as source of functional ingredient. *Procedia Chemistry*, 1 (4), 367-372.
- Kusumawati, D. E., Fachriyan, H. Pasaribu., dan Maria, B. (2014). aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus Scutellariodes [L.]* Benth.) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Current Biochemistry*, 1 (1), 45-50.
- Lathifah, A. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit Lokio (*Allium chinense* G. Don). *Tesis*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Listya, M., Desi, S., dan Nur, A. (2017). Isolasi dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari daun cendana (*Santalum Album Linn.*). *Riset Informasi Kesehatan*, 6 (1), 58-63.
- Masfufah., Puji, A., dan Afghani, J. (2019). Aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit B.E2 daun tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap *S. typhimurium* dan *S. aureus*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(1), 79-85.
- Maya, S. W., Gayatri, C., dan Widya, A. L. (2015). Phytochemical screening and antipyretic effect of stem juice from kepok banana (*Musa paradisiaca* L) on white male rats stain wistar (*Rattus norvegicus*) induced with DTP-Hb. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4 (1), 1-11.
- Nadia, A. N dan Ilma, A. (2016). Beberapa mikroba patogenik penyebab *foodborne disease* dan upaya untuk menurunkan prevalensi *foodborne disease* di Indonesia (Mikroba dalam *Foodborne Disease* dan Pencegahannya). *Artikel Penelitian*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Nursanty, R dan Suhartono. (2012). Isolasi karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit asal tumbuhan johar (*Cassia Siamea* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi.*, 4 (1), 7-10.
- Nursulistyarini., Fenni dan Ainy, E. Q. (2013). Isolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil antibakteri dari daun tanaman binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis). *Seminar Nasional Xi Pendidikan Biologi*. Fakultas Kedokteran Ilmu Pendidikan. Universitas Negeri Surakarta. Surakarta.
- Nurzakiyah. (2016). Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri endofit *Caulerpa racemosa* serta aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dan Methicillin Resistand *S.aureus* (MRSA). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makasar.
- Oktavia, N., dan Sri, P. (2018). Isolasi dan uji antagonisme bakteri endofit tapak dara (*Catharanthus Roseus*, L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. *Berkala Bioteknologi*, 1 (1), 6-12.

- Osho, A., Adetunji, T., Fayemi S. O. dan Moronkola, D. O. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *Physalis angulata*. L. *J Tradit Complement Altern Med*, 7 (4), 303-306.
- Pal, A., Chattopadhyay, A., dan Paul, A. K. (2012). Diversity and antimicrobial spectrum of endophytic bacteria isolated from *Peaderi foetida* L. *Int J Curr Pharm Res*, 4 (1), 123-127.
- Pratama, Y., Purbowatiningrum, R. S dan Nies, S. M. (2015). Skrining metabolit sekunder bakteri endofit yang berfungsi sebagai antidiabetes dari daun mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18 (2), 73-78.
- Pratiwi, B. E. (2015). Isolasi dan skrining fitokimia bakteri endofit dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang berpotensi sebagai antibakteri. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Pratiwi, M. N. (2019). Aktivita antibakteri fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi farmasi. *Erlangga Medical series*, Jakarta, 119-192.
- Prihandani, S. S., Masniari, P., Susan, M. N., dan Andriani. (2015). Uji daya antibakteri bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium* dan *P. aeruginosa* dalam meningkatkan keamanan pangan. *Informatika Pertanian*, 24 (1), 53 – 58.
- Pulungan, A. S., dan Diana, E. T. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 5 (1), 72-80.
- Purwanto, U. M. S., Fachriyan, H. P., dan Maria, B. (2014). Isolasi bakteri endofit dari tanaman sirih hijau (*Piper Betle* L.) dan potensinya sebagai penghasil senyawa antibakteri. *Current Biochemistry*, 1 (1), 51 – 57.
- Puspita, F., Sukemi, I. S., dan Jenny, M. (2018). Uji Beberapa Konsentrasi Bakteri *Bacillus* sp. Endofit untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.). *J. Agronomi Indonesia*, 46 (3), 322-327.
- Rachmawati, D. U. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, etil asetat dan *Petroleum Eter* rambut jagung manis (*Zea Mays Saccharata Sturt*) terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rahayu, S. R dan Maruni, W. D. (2018). Uji daya hambat filtrat daun ciplukan (*Physalis Angulata* Linn) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 5 (2), 101-106.

- Rahmadani, F. (2015). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Helicobacter pylori* dan *P. aeruginosa*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Retnowati, Y., Nurhayati, B. , dan Nona, W. P. (2011). Pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 6 (2), 1-9.
- Rijayanti, R. P. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*mangifera foetida l.*) terhadap *S. aureus* secara *in vitro*. *Naskah Publikasi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura. Tanjungpura.
- Rohmah, N. S. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal (pb) dari lumpur lapindo. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rutala, W. A., David, J. W., and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. (2008). Guideline for disinfection and sterilization in helatcare facilities. *Department of Health and Human Services, USA*.
- Ryan, R. P., Kieran, G., Ashley, F., David, J. R dan David, N. D. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett* 27 (8), 1-9.
- Safrida, Y. D., Cut, Y dan Cut, N. D. (2012). Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger sp.*). *Depik*, 1 (3), 200-203.
- Sari, N. I. P. (2018). Isolasi, karakterisasi dan aktivitas antimikroba bakteri endofit pada lamun *Thalassia hemprichii* terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa* dan jamur *Candida albicans*. *Artikel Penelitian*. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Mataram.
- Sari, P. P., Rita, W. S., dan Puspawati, N. M. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Schmidt, M. A., Souza, E. M. V., Baura, R., Wassem, M. G., Yates, F. O., Pedrosa, and Monteiro, R. A. (2011). Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean root) by the diazotrophic *Herbaspirillum seropedicae*. *Braz. J. Med. Biological Res*, 44 (3), 182-183.
- Setiani, N. A., Fitri, N, dan Dewi, A. (2018). Pengaruh desinfektan dan lama perendaman pada sterilisasi eksplan daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. F.A Zorn) Fosberg). *Journal of Tropical Biology*, 6 (3), 78-82.

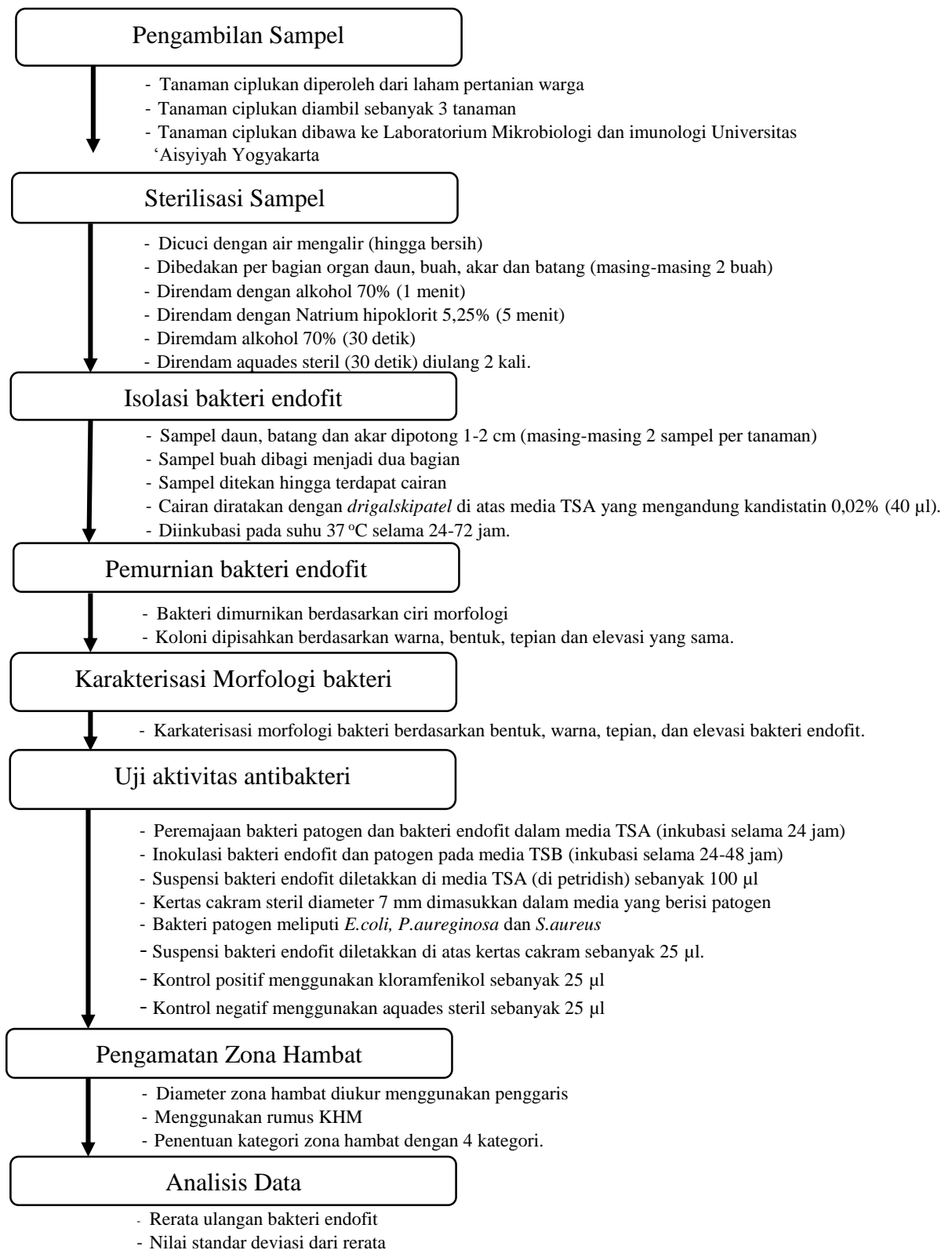
- Setyaningrum, S. (2015). Kontaminasi patogen pada sumber air dan upaya penyisihan patogen dalam proses produksi air bersih. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Setyati, W. A., Ahmad, S. H., Subagyo., Ali, R., Nirwani, S., dan Rini, P. (2016). Skrining dan seleksi bakteri spongs penghasil enzim ekstraseluler sebagai agen bioremediasi bahan organik dan biokontrol vibriosis pada budidaya udang. *Jurnal Kelautan Tropis*, 19 (1), 11-20.
- Shofiyani, A dan Neni, D. (2015). Pengembangan metode sterilisasi pada berbagai eksplan guna meningkatkan keberhasilan kultur kalus kencur (*Kaemferia galangal* L). *Jurnal AGRITECH*, 17 (1), 55-64.
- Sudigdoadi, S. (2015). Mekanisme timbulnya resistensi antibiotik pada infeksi bakteri. *Artikel Penelitian*. Fakultas Kedokteran. Universitas Padjadjaran.
- Sulistiyani, N dan Iin, N. (2015). Aktivitas Cairan Kultur Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P301) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13 (2), 181-186.
- Sulistiyani, T. R., dan Puspita, L. (2016). Keragaman bakteri endofit pada tanaman *Curcuma heyneana* dan potensinya dalam menambat nitrogen. *Widyariset*, 2 (2), 106 – 117.
- Sulistiyani, T. R., Puspita, L., and Yulin, L. (2014). Population and Diversity of Endophytic Bacteria Associated with Medicinal Plant *Curcuma zedoaria*. *Microbiology Indonesia* 8 (2): 65–72.
- Sunny, F., Tri, H. K., dan Ariani, H. (2016). Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil senyawa antibakteri yang berasosiasi dengan karang batu dari perairan bitung dan spons dari selat makassar. *Bioma*, 12 (1), 42-49.
- Susanti, R. F., Sartika, G., Ignatius, J. R., Rachel, A., dan Ashanty, S. (2013). Ekstraksi batang *physalis angulata* dengan air subkritik. *Laporan Penelitian*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Katolik Parahyangan.
- Susilowati, R. (2017). Analisis karakter morfologi, anatomi, dan struktur sekretori tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Taryati. (2010). Evaluasi penambahan ekstrak ciplukan (*Physalis angulata*) dalam air minum terhadap daya hambat bakteri *Salmonella typhimurium* dan performa puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) 0-4 minggu. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tito, I. M. (2014). Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Vitasari, O. N. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ciplukan terhadap *S. aureus* dan *P. aereginosa*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surabaya.
- Wibowo, T. C dan Yuliani, R. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Multiresisten antibiotik beserta uji bioautografinya. *Naskah Publikasi*. Fakultas Farmasi. Uniiiversitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Widowati, T., Bustanussalam., Harmastini, S., dan Partomuan, S. (2016). Isolasi dan identifikasi kapang endofit dari tanaman kunyit (*Curcuma Longa* L.) Sebagai penghasil antioksidan. *Biopropal Industri*, 7 (1), 9-16.
- Winarti., Dewi, K., dan Enny, F. (2009). Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri akar sidaguri (*Sida rhombifolia* Linn). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12 (2), 52-56.
- Wondal, B., Elvy, L. G., Veibe, W., Stenly, W., Sandra, O. T dan Ferdinand, F. T. (2019). Isolasi bakteri laut dari Perairan Malalayang Sulawesi Utara. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropi*, 7 (3), 183-189.
- Wulandari, S. A. R. (2017). Formulasi dan uji aktivitas antibakteri *S. epidermidis* sediaan mikroemulsi ekstrak daun kersen (*Muntingis calabura* Linn.) dengan fase minyak isopropil mirystate. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Yandila, S., Dwi, H. P., dan Mades, F. (2018). Kolonisasi bakteri endofit pada akar tumbuhan andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Bio-site*, 04 (2), November, 61-67.
- Zulfa, I. (2016). Isolasi dan uji aktivitas antibakteri kapang endofit akar tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur penelitian

Alur penelitian disajikan pada Gambar 5.

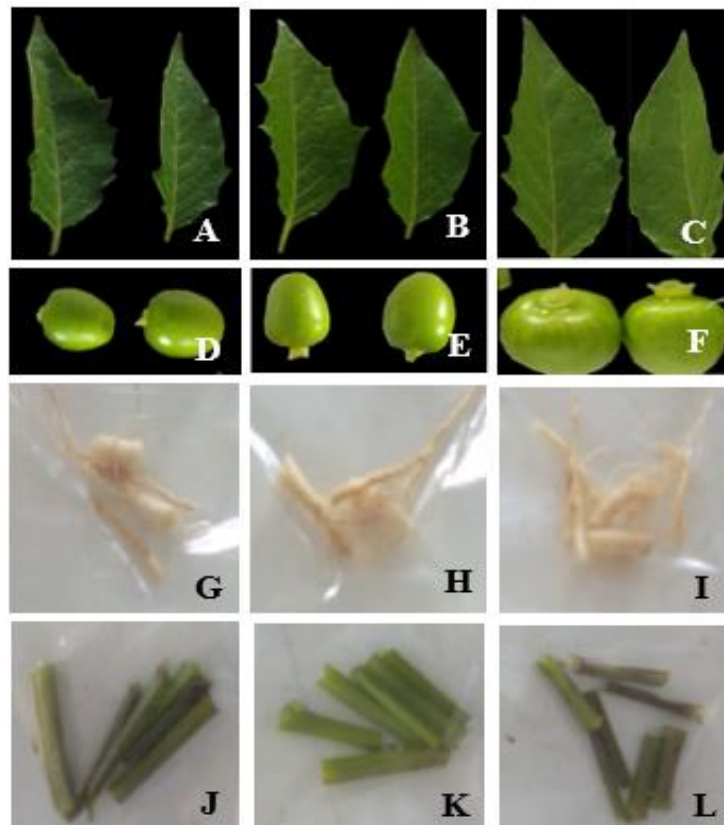


Gambar 5. Alur penelitian

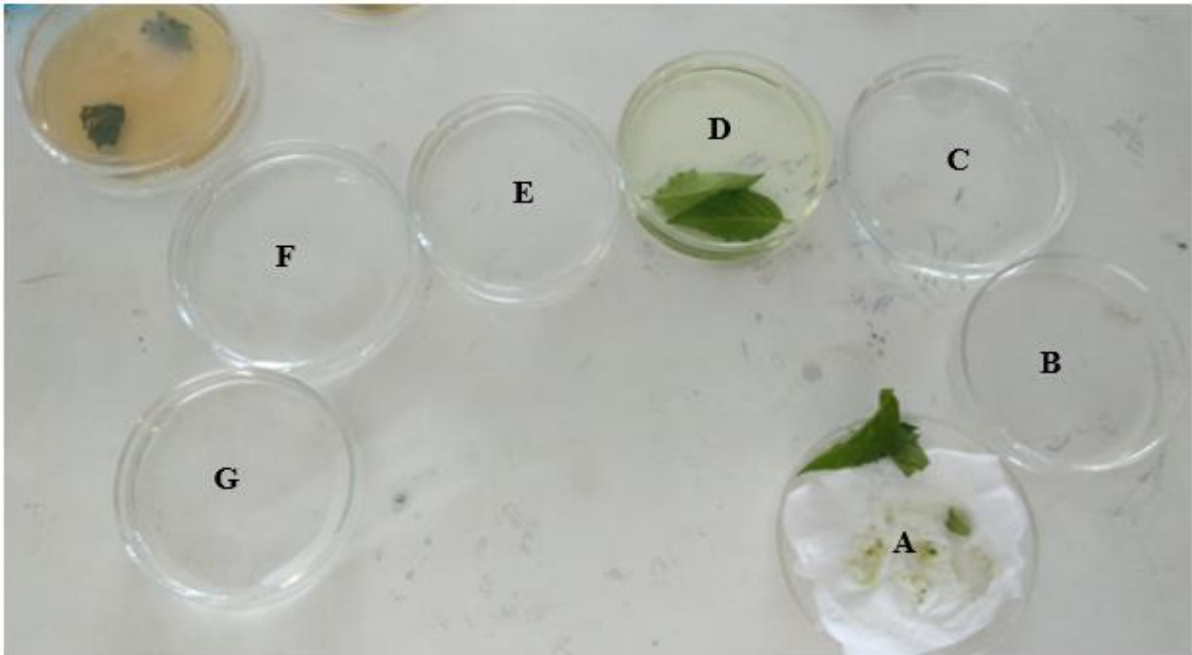
Lampiran 2. Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.)



Gambar 6. Visualisasi tanaman ciplukan (A) Sampel 1, (B) sampel 2 dan (C) sampel 3.



Gambar 7. Bagian-bagian tanaman ciplukan, (A) Daun 1, (B) Daun 2, (C) Daun 3, (D) Buah 1, (E) Buah 2, (F) Buah 3, (G) Akar 1, (H) Akar 2, (I) Akar 3, (J) Batang 1, (K) Batang 2, dan (L) Batang 3.

Lampiran 3. Bagan sterilisasi permukaan

Gambar 8. Proses sterilisasi permukaan tanaman ciplukan, (A) Wadah Memotong Sampel, (B) Wadah sampel awal, (C) Alkohol 70%, (D) Natrium hipoklorit 5,25%, (E) Alkohol 70%, (F) Aquades steril dan (G) Aquades steril.

Lampiran 4. Pembuatan media dan perhitungan

1.1 Pembuatan media TSA 200 ml

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$1000.V1 = 40.200 \text{ ml}$$

$$V1 = 8000/1000$$

$$V1 = 8 \text{ gr}$$

Jadi, untuk membuat media TSA 200 ml diambil sebanyak 8 gr media TSA lalu dilarutkan dengan aquades steril 200 ml.

1.2 Pembuatan media TSB 50 ml

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$1000.V1 = 30.50 \text{ ml}$$

$$V1 = 1.500/1000$$

$$V1 = 1,5 \text{ gr}$$

Jadi, untuk membuat media TSB 50 ml diambil sebanyak 1,5 gr media TSB dan dilarutkan dengan aquades steril 50 ml.

1.3 Konsentrasi larutan kandistatin 0,01%

$$\text{Dik : } 1 \text{ ml} = 100.000 \text{ unit b/v nistatin}$$

$$= 0,01\% \text{ dalam media TSA } 200 \text{ ml}$$

$$= 0,01\% \times 200 \text{ ml media TSA}$$

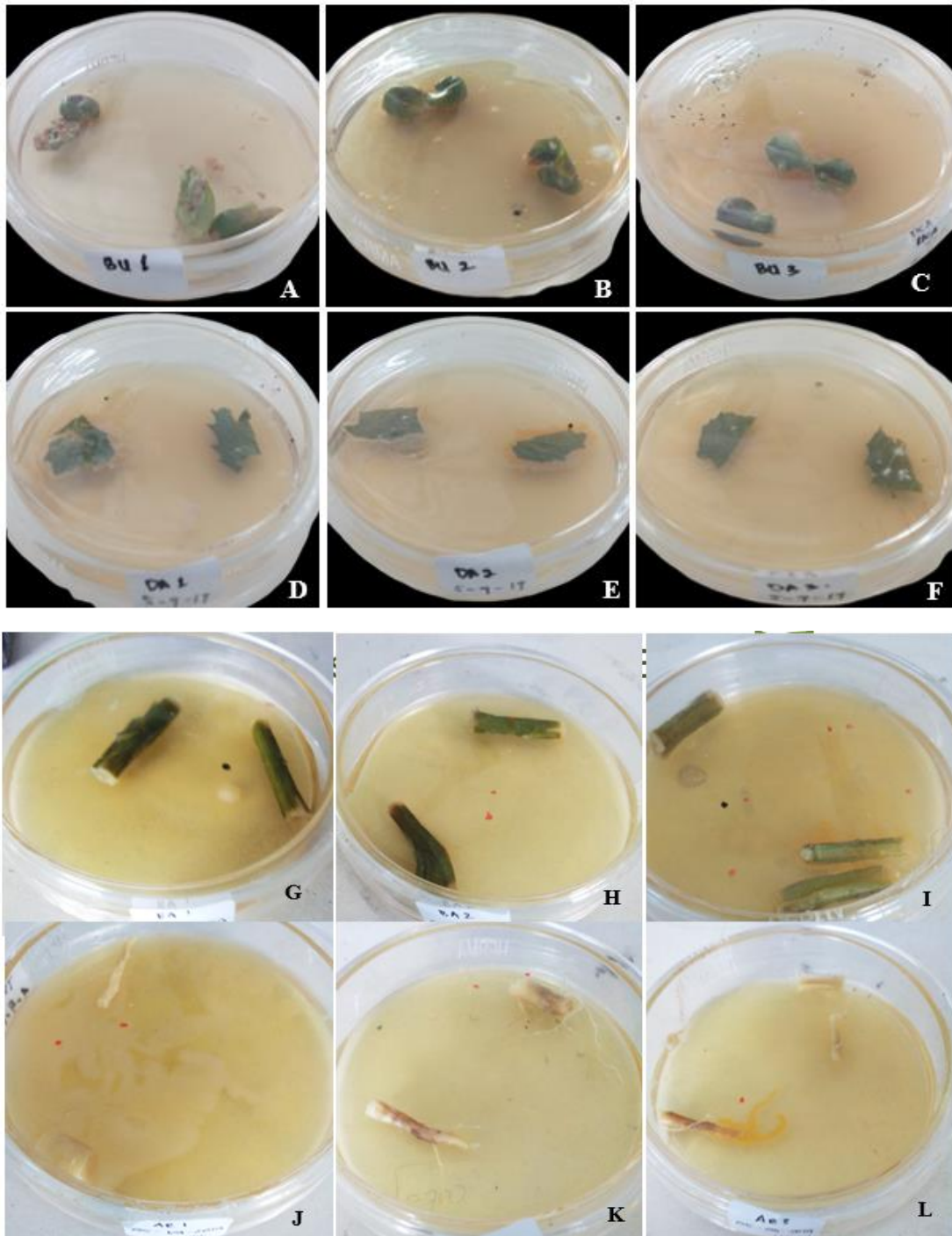
$$= 0,01 \times 10 = 0,1$$

$$= 0,1 \times 200 \text{ ml}$$

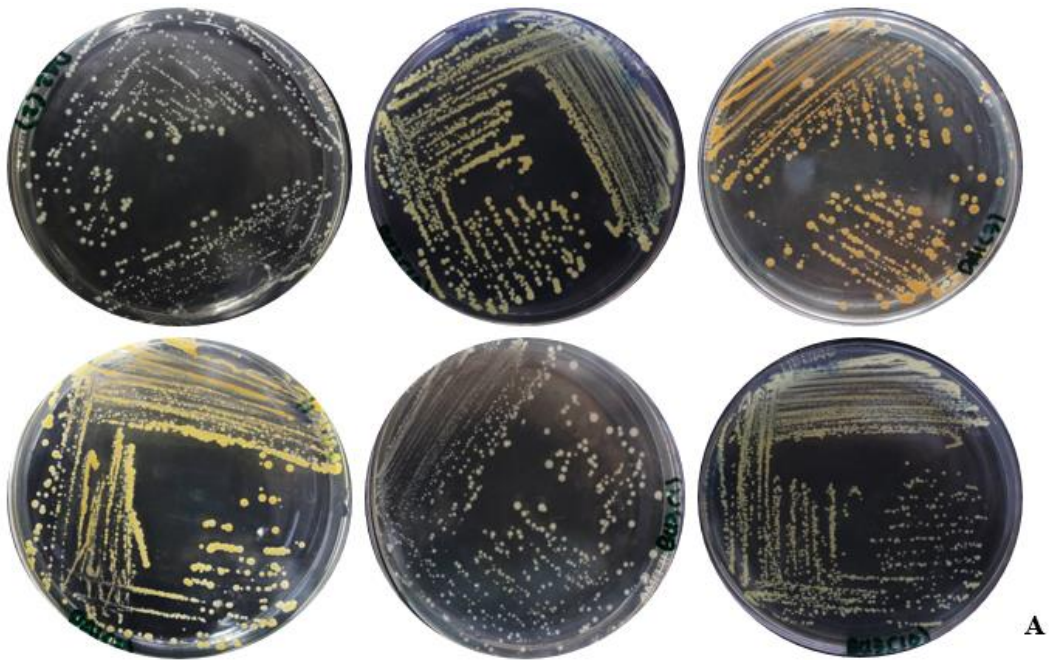
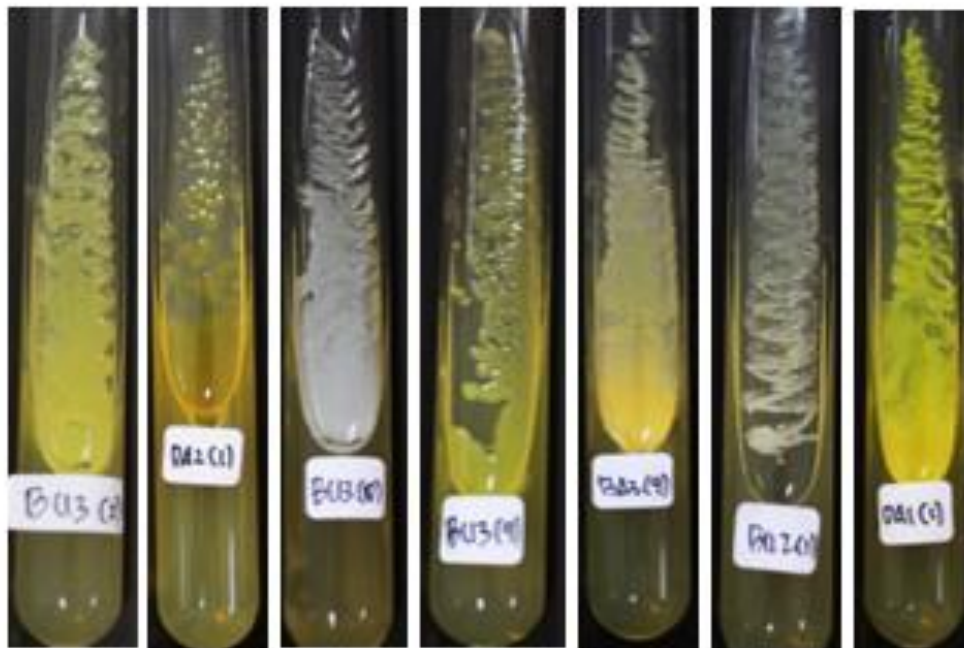
$$= 20 \mu\text{l}$$

Jadi, konsentrasi kandistatin dalam mediaa TSA 200 ml yaitu sebanyak 20 μl

Lampiran 5. Hasil isolasi bakteri endofit tanaman ciplukan



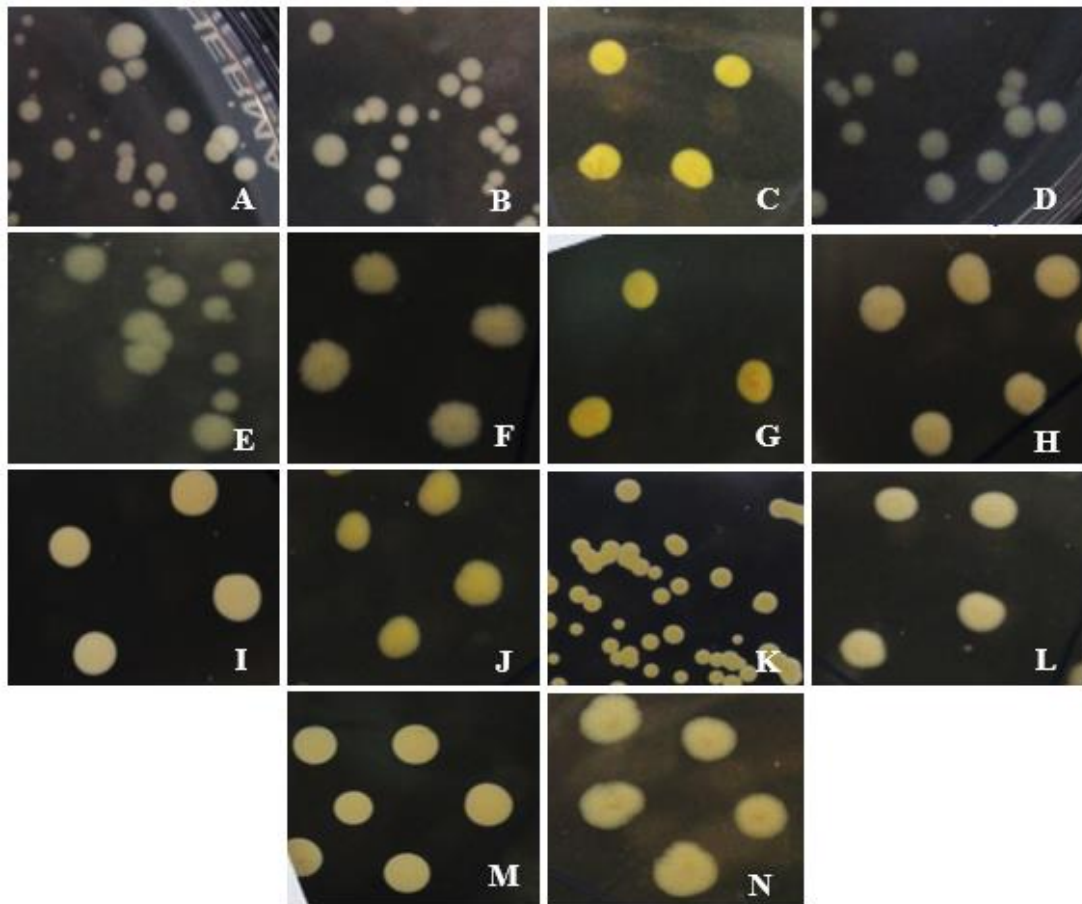
Gambar 9. Hasil isolasi bakteri endofit tanaman ciplukan setelah inkubasi 48 jam, (A) buah 1, (B) buah 2, (C) buah 3, (D) daun 1, (E) daun 2, (F) daun 3, (G) batang 1, (H) batang 2, (I) batang 3, (J) akar 1, (K) akar 2 dan (L) akar 3.

Lampiran 6. Pemurnian bakteri endofit tanaman ciplukan**A****B**

Gambar 10. Pemurnian bakteri endofit tanaman ciplukan, (A) isolat bakteri endofit dalam cawan petri dengan metode streak plate dan (B) Bakteri endofit dalam tabung reaksi sebagai *stock kultur*.

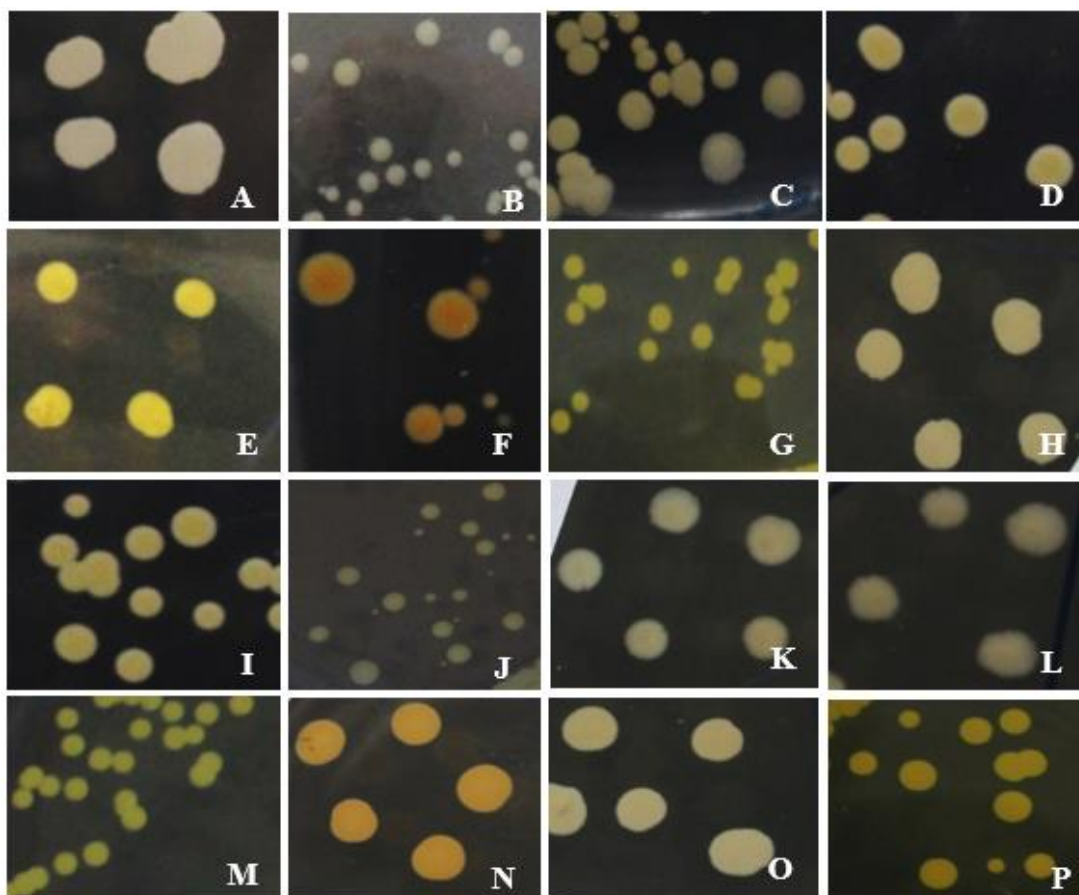
Lampiran 7. Morfologi isolat bakteri endofit

a. Bakteri endofit buah ciplukan



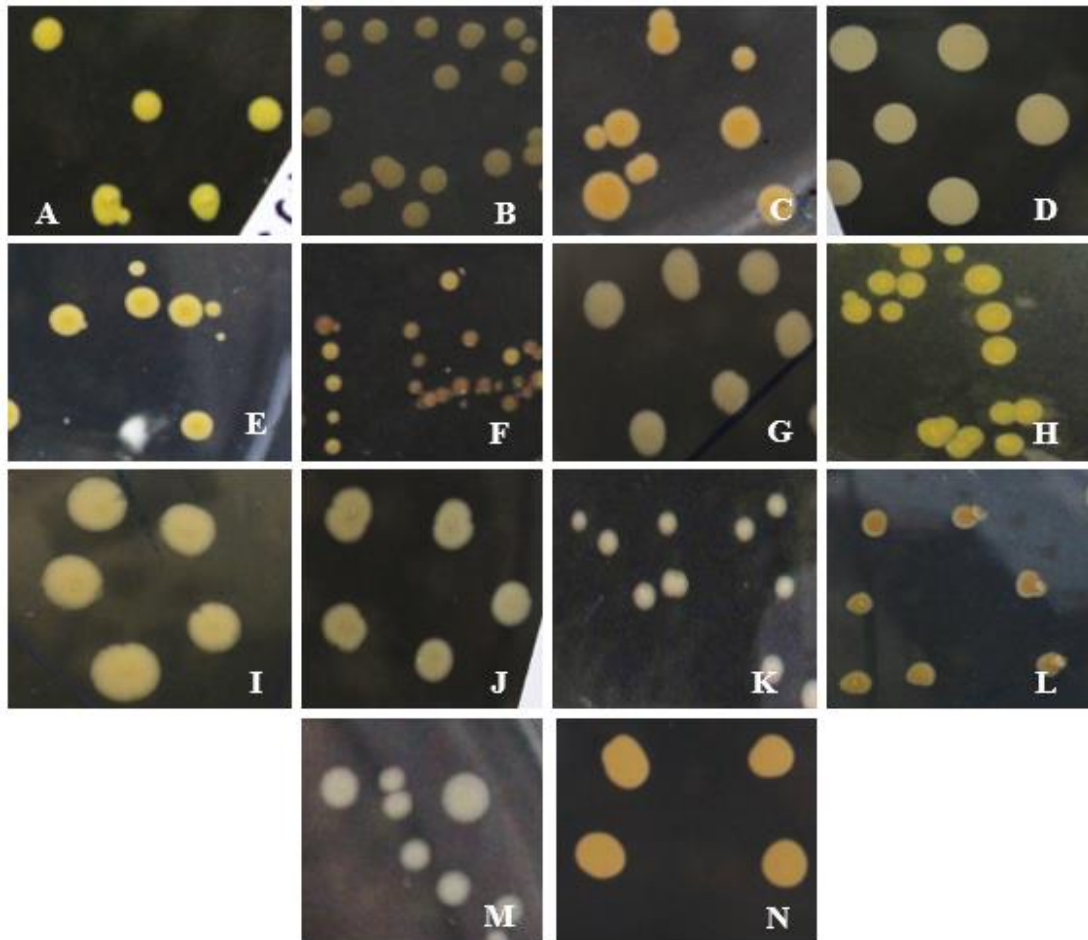
Gambar 11. Isolat bakteri endofit bagian buah ciplukan, (A) isolat BU2 (1) warna krem, (B) BU2 (4) warna krem, (C) BU2 (5) warna kuning, (D) BU3 (1) warna krem bening, (E) BU3 (2) warna krem bening, (F) BU3 (3) warna krem bening, (G) BU3 (5) warna kuning, (H) BU3 (6) warna krem, (I) BU3 (8) warna putih, (J) BU3 (9) warna kekuningan, (K) BU3 (10) warna kekuningan, (L) BU3 (12) warna krem, (M) BU3 (15) warna putih, dan (N) BU3 (16) warna krem bening.

b. Bakteri endofit batang ciplukan

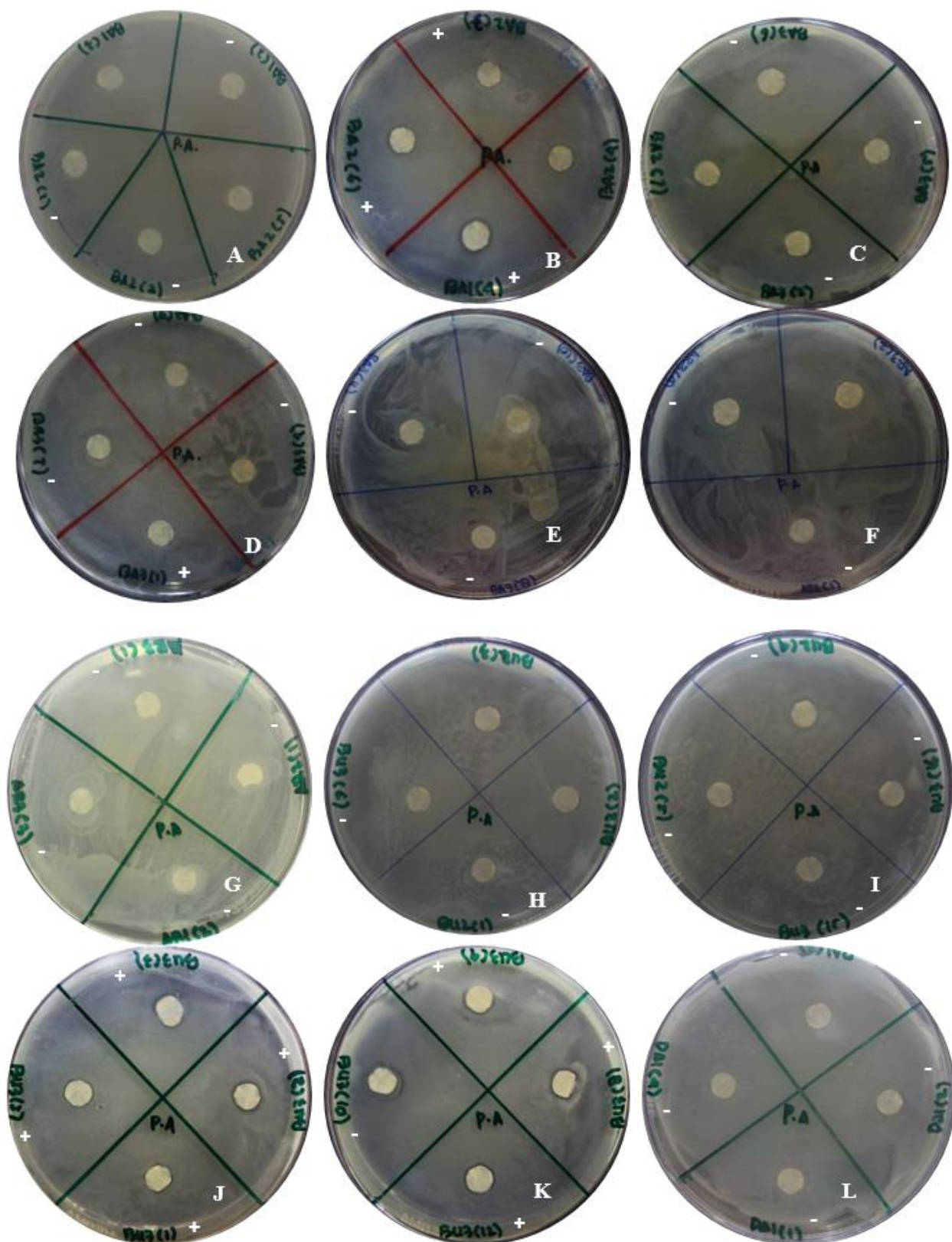


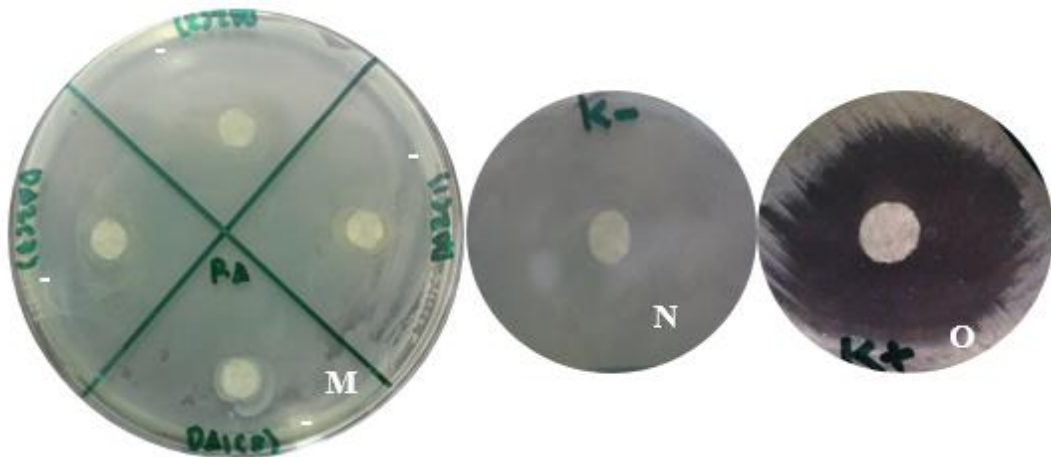
Gambar 12. Isolat bakteri endofit bagian Batang ciplukan, (A) isolat BA1 (2) warna putih, (B) BA1 (4) warna krem, (C) BA2 (1) warna krem, (D) BA2 (2) warna kekuningan, (E) BA2 (6) warna kuning, (F) BA2 (3) warna orange, (G) BA3 (1) warna kuning, (H) BA3 (2) warna putih, (I) BA3 (5) warna kekuningan, (J) BA3 (4) warna krem, (K) BA3 (6) warna krem, (L) BA3 (7) warna krem bening, (M) BA3 (8) warna kuning, (N) BA3 (9) warna orange, (O) BA3 (10) warna putih, dan (P) BA3 (11) warna kuning.

c. Bakteri endofit daun dan akar ciplukan

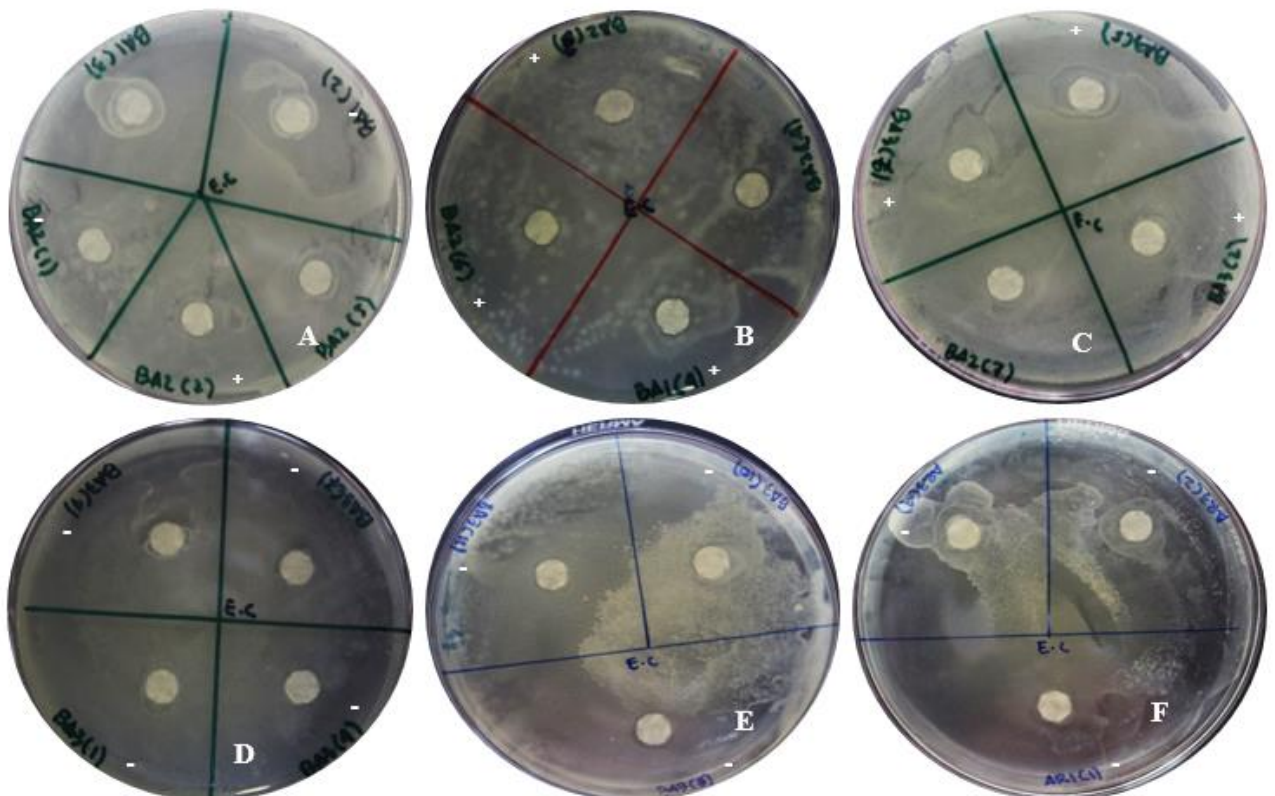


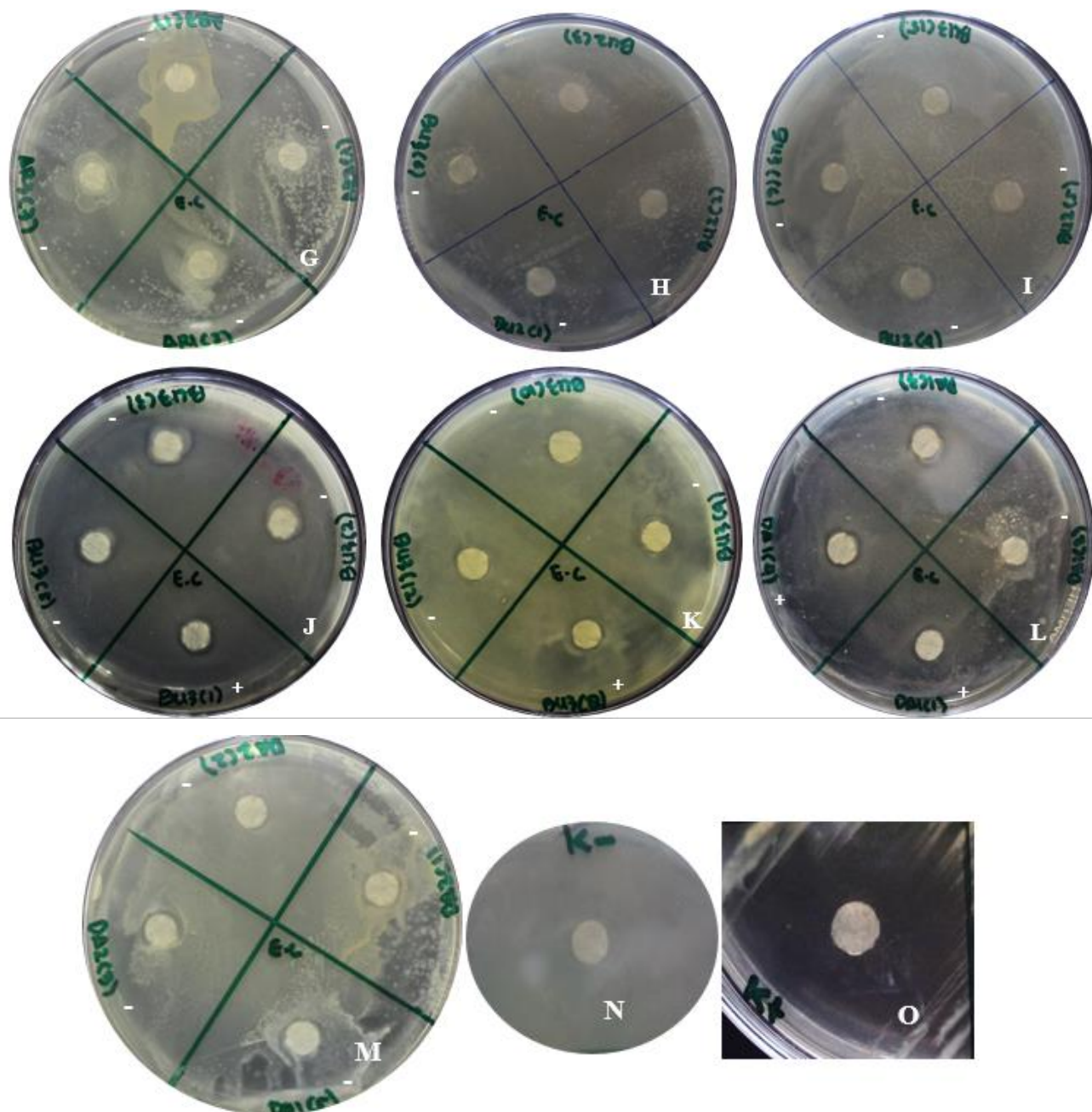
Gambar 13. Isolat bakteri endofit bagian akar dan daun ciplukan, (A) DA1 (1) warna kuning, (B) DA1 (2) warna krem, (C) DA1 (3) warna orange, (D) DA1 (4) warna putih, (E) DA1 (5) warna orange, (F) DA2 (1) warna orange bening, (G) DA2 (2) warna krem, (H) DA2 (3) warna kuning, (I) AR1 (1) warna krem, (J) AR1 (2) warna krem, (K) AR2 (1) warna krem, (L) AR3 (1) warna orange bening, (M) AR3 (3) warna krem bening, dan (N) AR3 (4) warna orange.

Lampiran 8. Hasil pengamatan zona bening bakteri endofit

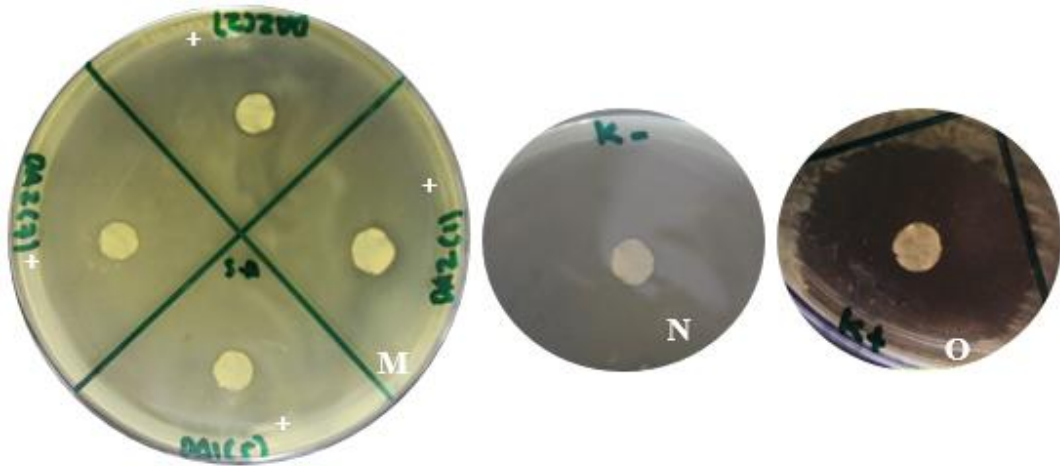


Gambar 14. Zona hambat isolat bakteri endofit terhadap *P. aureginosa*. A) ISOLAT BA1(2,3) dan BA2 (1,2,5), (B) isolat BA1 (4) dan BA2 (3,4,6), (C) isolat BA2 (7) dan BA3 (2,5,6), (D) isolat BA3 (1,4,7,9), (E) isolat BA3 (8,10,11), (F) isolat AR1 (1) dan AR3 (2,4), (G) isolat AR2 (1) dan AR3 (1,2,3), (H) isolat BU2 (1,2,3) dan BU3 (6), (I) isolat BU2 (4,5) dan BU3 (15,16), (J) isolat BU3 (1,2,3,5), (K) isolat BU3 (1,2,3,5), (L) isolat DA1 (1,2,3,4), (M) isolat DA1 (5) dan DA2 (1,2,3), (N) Kontrol negatif aquades steril dan (O) Kontrol positif. Keterangan : (+) isolat positif menghambat bakteri patogen dan (-) isolat negatif menghambat bakteri patogen.





Gambar 15. Zona hambat isolat bakteri endofit terhadap *E. coli*. A) ISOLAT BA1(2,3) dan BA2 (1,2,5), (B) isolat BA1 (4) dan BA2 (3,4,6), (C) isolat BA2 (7) dan BA3 (2,5,6), (D) isolat BA3 (1,4,7,9), (E) isolat BA3 (8,10,11), (F) isolat AR1 (1) dan AR3 (2,4), (G) isolat AR2 (1) dan AR3 (1,2,3), (H) isolat BU2 (1,2,3) dan BU3 (6), (I) isolat BU2 (4,5) dan BU3 (15,16), (J) isolat BU3 (1,2,3,5), (K) isolat BU3 (1,2,3,5), (L) isolat DA1 (1,2,3,4), (M) isolat DA1 (5) dan DA2 (1,2,3), (N) Kontrol negatif aquades steril dan (O) Kontrol positif. Keterangan : (+) isolat positif menghambat bakteri patogen dan (-) isolat negatif menghambat bakteri patogen.

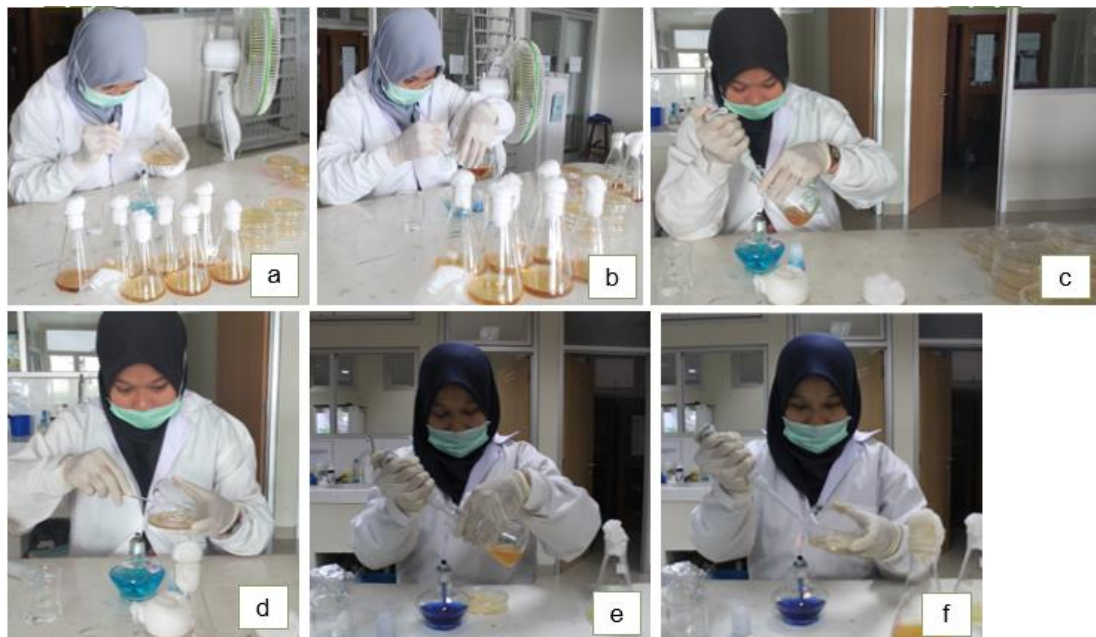


Gambar 16. Zona hambat isolat bakteri endofit terhadap *S.aureus*. A) ISOLAT BA1(2,3) dan BA2 (1,2,5), (B) isolat BA1 (4) dan BA2 (3,4,6), (C) isolat BA2 (7) dan BA3 (2,5,6), (D) isolat BA3 (1,4,7,9), (E) isolat BA3 (8,10,11), (F) isolat AR1 (1) dan AR3 (2,4), (G) isolat AR2 (1) dan AR3 (1,2,3), (H) isolat BU2 (1,2,3) dan BU3 (6), (I) isolat BU2 (4,5) dan BU3 (15,16), (J) isolat BU3 (1,2,3,5), (K) isolat BU3 (1,2,3,5), (L) isolat DA1 (1,2,3,4), (M) isolat DA1 (5) dan DA2 (1,2,3), (N) Kontrol negatif aquades steril dan (O) Kontrol positif. Keterangan : (+) isolat positif menghambat bakteri patogen dan (-) isolat negatif menghambat bakteri patogen.

Lampiran 9. Foto kegiatan penelitian



Gambar 17. Persiapan dan isolasi bakteri endofit, (a) persiapan sterilisasi alat, (b) sterilisasi alat menggunakan autoklav, (c) pengambilan sampel, (d) pembuatan media TSA dan (e) pemurnian isolat bakteri endofit.



Gambar 18. Uji aktivitas antibakteri; (a) pengambilan isolat bakteri dalam media TSA, (b) isolat bakteri ditumbuhkan dalam media TSB, (c) pengambilan suspensi bakteri patogen, (d) suspensi bakteri diratakan dengan *drygalskypatel*, (e) pengambilan suspensi bakteri endofit dan (f) suspensi bakteri endofit diletakkan di atas kertas cakram.