

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT
DARI TANAMAN MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*)
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBIA**

Skripsi S-1



Diajukan oleh

**Iffa Izza
06640015**

Kepada

PROGRAM STUDI BIOLOGI

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2011**



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-UINSK-BM-05-07/R0

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/1280/2011

Skrripsi/Tugas Akhir dengan judul : Isolasi , Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang Berpotensi sebagai Penghasil Antimikrobia

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Nama : Iffa Izza

NIM : 06640015

Telah dimunaqasyahkan pada : 24 Juni 2011

Nilai Munaqasyah : A

Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Arifah Khushnuryani, M.Si
NIP.19750515 200003 2 001

Penguji I

Esti Wahyu Widowati, M.Si, M.Biotech
NIP.19760830 200312 2 001

Penguji II

Anna Rahmawati, M.Si
NIP. 19770102 200112 2 002

Yogyakarta, 7 Juli 2011

UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan



Prof. Drs. H. Akh. Minhaji, M.A, Ph.D
NIP. 19580919 198603 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Iffa Izza

NIM : 06640015

Prodi : Biologi

Judul Skripsi : Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari
Tanaman mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang Berpotensi
Sebagai Penghasil Antimikrobia

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

Yogyakarta, 2 Juni 2011

METERAI
TEMPEL
Pajak Menanggung Pajak
4165EAAF402058047
ENAM RIBU RUPIAH
6000
DJP Iffa Izza
NIM. 06640015

HALAMAN MOTTO

**Hari ini adalah sebuah kebiasaan,
Jika kau mengalami kesulitan
maka bersabarlah, namun jika kebahagiaan yang kau
alami, maka bersyukurlah kepada Allah Yang Maha
Pengasih
(Dr. Aidh Ibn Abdullah Al-qarni)**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kepada dua orang terpilih
Yang mengajarkan betapa mulianya ilmu padaku
Yang mengajarkan arti iman
dalam sanubariku semenjak kecil,
Dan yang melimpahiku dengan kasih sayang
Kepadamu wahai Ayah (*Alm*) dan Bundaku
Kupersembahkan karya sederhana ini

Kepada Almamaterku
Tempatku mereguk segarnya pengetahuan
Tempatku mencari makna paham
Dan tempatku menyelami arti persahabatan
Padamu jua
Kupersembahkan karya kecil ini

Dan Kepada Jiwa-jiwa yang semakin merasa kerdil
Ketika bercengkrama dengan ilmu,
Pada kalian juga kudedikasikan karyaku

**Karena sebaik-baiknya harta warisan adalah ilmu
(Ali Ibn Abi Thalib RA)**

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim,

Puji syukur kehadiran Ilahi rabbi yang senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah dan inayah-Nya kepada segala makhluk ciptaan-Nya. Shalawat dan salam selalu tercurah kepada junjungan kita Nabi Agung Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat-sahabatnya, yang senantiasa kita nantikan syafa'atnya di *yaumul qiyamah*.

Skripsi berjudul **“Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antimikrobia”** ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan pendidikan sarjana Strata-1 UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Penulis sadar sepenuhnya bahwa skripsi ini tidak mungkin tersusun tanpa bantuan dari banyak pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Ibu Arifah Khusnuryani, M.Si selaku Dosen Pembimbing I dan Ketua Program Studi Biologi, atas bimbingan dan arahan dalam penulisan skripsi ini
2. Ibu Erny Qurotul aini, M.Si selaku Dosen Pembimbing II, atas segala petunjuk dalam penulisan skripsi ini
3. Ibu Esti W. Widowati, M. Si, M. Biotech dan Ibu Anna Rahmawati, M.Si selaku penguji
4. Ibu Lela Susilawati, S.Pd., M.Si, terimakasih telah memberikan bimbingan ekstra dan me-review proposal penulis

5. Ibu Darwani, M.Sc beserta staff Laboratorium Mikrobiologi Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, terimakasih bantuannya
6. Ibu Jumailatus Sholichah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik penulis
7. Mas Dony Eko Saputro, S.Pd.I beserta staff Laboratorium Mikrobiologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta, *sukron katsir*
8. Bapak Ibu Dosen Fakultas Sains dan Teknologi, untuk ilmu yang telah diajarkan kepada penulis, semoga bisa menjadi amal yang tiada putus hingga nanti
9. Ayahanda Abdul Mushowir (*Alm*), sungguh engkau guru terhebat yang pernah penulis temukan, terimakasih yang tiada tara untuk bekal ilmu yang tanpa terasa telah kau ajarkan. *Jeong-mal sa-rang hae*
10. Bunda Umi Shofia dan keluarga, terimakasih selalu memberi penulis yang terbaik dari yang paling baik, hingga mungkin sampai kapanpun takkan sanggup penulis membalasnya. *You are the best i had ever*
11. Romo KH. Drs. Jalal Suyuthi S.H dan Romo KH. Drs. Syaiful Anam selaku pengasuh PP. Wahid Hasyim Yogyakarta dan pengasuh Asrama Alhikmah beserta segenap dewan asatidz, untuk mutiara ilmu yang selama ini penulis terima, terimakasih banyak.
12. *My beloved brothers and sisters*, Ainin Khilya, Diffa A.G, De' Faiz dan Bagus Abdullah, De' El Haq, De' Aghistna Z.K., De' Lum'atul Ulum, *thanks* untuk *live entertainment*-nya hingga penulis ingin cepat menyelesaikan studi

13. Galih Setyo Ardi, untuk diskusi, segala referensi, *clue*, semangat, kelapangan hati dan pulsa-pulsamu yang penulis habiskan selama beberapa bulan terakhir, *thank you very much*
14. Euis Etty Al Hakim *and the three Musketeers*, untuk menjadi sahabat di tengah dinginnya puncak pegunungan dan untuk saling berbagi suka duka selama ini, *Go-ma weo*
15. Nur Khafidah dan Muhammad Agil atas segala bantuannya selama ini, *special thanks for you*
16. Ibu Sumini di Dsn Karangbajang, Tlogodadi, Mlati, atas kebaikan hati telah mengizinkan penulis “bergerilya” di kebun mahkota dewanya, terimakasih
17. Teman-teman Biology 06 dan Al hikmah “Gryffindor” *Community* tanpa terkecuali, untuk menjadi keluarga dan teman dalam kemulyaan *tholabul ilmi*, *sukron katsir*
18. *The last but not least*, semua pihak yang telah membantu baik langsung maupun tidak langsung dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.

Dengan segala keterbatasan, penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan tanggapan dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat hingga menjadi sebuah amal shalih bagi pihak-pihak yang terlibat didalamnya. Amin.

Yogyakarta, 8 Mei 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRACT	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
E. Definisi Operasional	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tinjauan Pustaka	8
B. Landasan Teori.....	10
1. Tanaman Mahkota Dewa	10
2. Bakteri Endofit	13
a. Pengertian Bakteri Endofit.....	13
b. Manfaat Bakteri Endofit.....	14
3. Antimikrobia	15
4. Uji Aktivitas Antimikrobia	17
a. Metode Difusi	17
b. Metode Dilusi.....	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Waktu dan Tempat.....	19
B. Alat dan Bahan.....	19
C. Sampel.....	20
D. Isolasi Bakteri Endofit	20
1. Isolasi Bakteri Endofit dari Ranting dan Akar.....	20
2. Isolasi Bakteri Endofit dari Daun.....	20
E. Purifikasi Isolat Bakteri Endofit	21
F. Uji produksi Antimikrobia	21

G. Seleksi Bakteri Endofit Penghasil Antimikrobia	22
H. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Terpilih	23
1. Pengamatan Morfologi Koloni.....	23
2. Pengamatan Morfologi Sel.....	23
a. Pengecatan Gram	23
b. Uji Motilitas	24
c. Pengecatan Endospora	24
3. Pengujian Sifat Biokimiawi dan Fisiologis.....	25
a. Uji Katalase.....	25
b. Uji Pembentukan H ₂ S	25
c. Uji Hidrolisis Pati.....	27
d. Uji Hidrolisis Sitrat	27
e. Uji Fermentasi Karbohidrat	27
f. Uji Pengaruh Suhu	28
g. Uji Pengaruh pH.....	28
h. Uji Pertumbuhan pada Kadar NaCl Berbeda	29
I. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Terpilih Tingkat Genus (<i>Generic Assignment</i>) dengan Metode <i>Profile Matching</i>	29
J. Klasifikasi Fenetik dengan Metode Numerical Taxonomy	29
1. Koleksi Data.....	29
2. Perhitungan Nilai Similaritas	30
3. Konstruksi Dendogram	30
BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN.....	31
A. Isolasi Bakteri Endofit	31
B. Seleksi Bakteri Endofit Penghasil Antimikrobia	32
C. Karakterisasi Fenotipik Bakteri Endofit Penghasil Antimikrobia ...	35
1. Morfologi Koloni	35
2. Morfologi Sel	35
3. Sifat Biokimiawi	36
4. Sifat Fisiologis	36
D. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Tingkat genus (<i>Generic Assignment</i>) dengan Metode <i>Profile Matching</i>	38
E. Klasifikasi Fenetik dengan Metode Numerik	40
F. Pembahasan.....	43
BAB V PENUTUP.....	48
A. Kesimpulan	48
B. Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Unit Karakter Fenotipik yang Diujikan	26
Tabel 2. Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)	31
Tabel 3. Diameter Zona Hambat (mm) Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Terhadap Mikroba Patogen	33
Tabel 4. Karakter Fenotipik Isolat Bakteri Endofit Hasil Seleksi.....	37
Tabel 5. <i>Profile Matching</i> isolat Bakteri Endofit dengan Beberapa Genus yang Telah Diketahui.....	39
Tabel 6. Uji Fenotipik Isolat Bakteri Endofit Hasil Seleksi.....	40
Tabel 7. Matriks Similaritas (Ssm) Antar Isolat Bakteri Endofit Berdasarkan Uji Fenotipiknya Terhadap 36 Karakter (%)	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>)	11
Gambar 2. Isolat Bakteri Endofit yang Aktif Terhadap <i>S. aureus</i> ATCC 2592	34
Gambar 3. Isolat Bakteri Endofit yang Aktif Terhadap <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	34
Gambar 4. Isolat Bakteri Endofit yang Aktif Terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231	34
Gambar 5. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif	45
Gambar 6. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif.....	45
Gambar 7. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Batang ...	57
Gambar 8. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Akar.....	57
Gambar 9. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Daun	58
Gambar 10. Tahap Purifikasi Isolat Bakteri Endofit.....	58
Gambar 11. Kultur Stok Bakteri Endofit Hasil Purifikasi	59
Gambar 12. Tahap Seleksi Bakteri Endofit penghasil Antimikrobia.....	59
Gambar 13. Tahap Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Antimikrobia.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar penelitian.....	57
Lampiran 2. <i>Microbiological Media</i>	61
Lampiran 3. Penentuan Indeks Similaritas Ssm dengan Program MVSP, Version 2.0	63
Lampiran 4. Cluster Analisis dengan Menggunakan Alogaritma Pengklasteran Average Linkage (UPGMA).....	65

**ISOLATION, CHARACTERIZATION AND IDENTIFICATION OF
ENDOPHYTIC BACTERIA FROM MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa*) THAT POTENTIAL TO PRODUCE
ANTIMICROBES**

**Iffa Izza
NIM. 06640015**

ABSTRACT

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) which is known as medicinal plant has many beneficial effect to human health such as medicine for diabetes mellitus, uric acid, acnes, exceem, insect bite and decreasing blood pressure. The purpose of this research was to isolate, characterize and identify endophytic bacteria that potential to produce an antimicrobial compound which were isolated from stems, leaves and roots of mahkota dewa plant. The antimicrobial activity was determined by measuring the inhibition zone with paper disc assay method using pathogenic microbes i.e. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231 as indicator. A total of 28 isolates of endophytic bacteria were obtained from mahkota dewa plant, 7 isolates of them were known as the most potential ones that produce antimicrobes showing the most significant inhibition zone. By using profile matching and numerical taxonomy method, they were identified as the member of genus *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Bacillus* and *Enterobacter*.

Keywords : isolation, characterization, identification, endophytic bacteria, mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), antimicrobes

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT
DARI TANAMAN MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) YANG
BERPOTENSI SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBIA**

Iffa Izza
NIM. 06640015

ABSTRAK

Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang dikenal sebagai tanaman obat mempunyai beberapa manfaat untuk kesehatan diantaranya sebagai obat untuk penyakit diabetes militus, asam urat, jerawat, eksim, gigitan serangga dan menurunkan tekanan darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikrobia yang diisolasi dari batang, daun dan akar tanaman mahkota dewa. Aktifitas antimikrobia ditentukan dengan mengukur zona hambat menggunakan metode *paper disc assay* dengan mikrobia patogen yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Candida albicans* ATCC 10231 sebagai indikator. Total 28 isolat bakteri endofit diperoleh dari tanaman Mahkota Dewa, 7 isolat diantaranya diketahui sebagai isolat yang paling berpotensi menghasilkan antimikrobia dengan menunjukkan zona hambat yang signifikan. Dengan menggunakan metode *profile matching* dan taksonomi numerik, 7 isolat tersebut diidentifikasi sebagai anggota genus *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Bacillus* dan *Enterobacter*.

Kata kunci: isolasi, karakterisasi, identifikasi, bakteri endofit, mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), antimikrobia

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penggunaan antibiotik di dunia menunjukkan kecenderungan meningkat dari tahun ke tahun. Tidak kurang dari 3000 ton antibiotika digunakan dalam bidang kesehatan per tahunnya¹ sedangkan dalam bidang industri pangan, pertanian, pakan, biokimia, genetika dan biologi molekuler per tahunnya melebihi 40.000 ton².

Resistensi antibiotik banyak terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak teratur³. Menurut Republika (2009) *cit* Sari *et al.* (2009)⁴, angka kematian pasien di Indonesia akibat infeksi bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik telah mencapai lebih dari 50%. Diantara bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kedua bakteri ini diketahui termasuk bakteri yang paling sering menyebabkan diare di Indonesia⁵. Bakteri *E. coli* juga diketahui sebagai bakteri yang menyebabkan penyakit gagal ginjal akut/HUS (*Hemolytic Uremic Syndrome*) yang menginfeksi ribuan orang di Eropa dan

¹Sardjoko, *Kimia dan Biologi Antibiotik. Buku Monograf PAU Bioteknologi* (Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1991).

²Neu, C.H., The Crisis in Antibiotic Resistance, *Science*, 257 (1992), p.1064-1073.

³Sandjaja, *Isolasi dan Identifikasi Mikobakteria* (Jakarta: Penerbit Widya Medika, 1995).

⁴Sari, W.E. *et al.*, *Antibiotik dari Mikroba Endofit Tanaman JawerKotok: Alternatif Solusi Permasalahan Resistensi Bakteri Di Indonesia*, Karya Ilmiah Institut Pertanian Bogor, 2009.

⁵Dzulkarnain (1996) *cit* Ajizah., *Sensitivitas Salmonella thypimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L, Biocentiae*, 1 (2004), p. 31-38.

Amerika pada awal tahun 2011⁶. *S. aureus* bahkan dapat menyebabkan infeksi saluran pernapasan dan enterokolitis akut dimana strain resisten antibiotik dari bakteri ini diperkirakan menjadi penyebab kematian ribuan orang setiap tahun⁷.

Masalah di dunia kedokteran bertambah dengan meningkatnya berbagai penyakit yang disebabkan oleh jamur, terutama jamur *Candida albicans* yang menyebabkan penyakit kandidiasis atau kandidosis. Penyakit ini merupakan infeksi jamur yang bersifat akut dan subakut yang dapat mengenai mulut, vagina, kulit, kuku, paru-paru dan saluran pencernaan. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang laki-laki maupun perempuan⁸. Hal ini menunjukkan semakin pentingnya penelitian untuk menemukan sumber antibiotik baru yang mampu mengatasi infeksi bakteri maupun jamur dimana sumber antibiotik tersebut dapat berasal dari beraneka ragam sumber daya alam di dunia.

Tanaman telah diketahui merupakan salah satu sumber daya yang sangat penting dalam pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan masyarakat. Menurut WHO (*World Health Organization*), 80% penduduk dunia masih bergantung pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan

⁶Juanita, Weni., *Balita Tewas Akibat E. coli*, Artikel (2011), <http://www.seputar-indonesia.com/>, Diakses 25 Juni 2011, pukul 08.00

⁷Candra, Asep., *Strain Baru Bakteri Super Ditemukan Pada Susu*, Artikel (2011), <http://health.kompas.com/newsfeatures/hottopics>, Diakses 25 Juni 2010, pukul 08.00

⁸Budimulya *et al.* (1983) cit N. Rochani., *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia) Terhadap Candida albicans serta Skrining Fitokimianya*, Skripsi, UMS, 2010. p. 1

obat dari tanaman⁹. Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi dan kawasan hutan hujan tropis yang luas sehingga merupakan satu kelebihan dalam pencarian sumber-sumber senyawa bioaktif. Deus *et al.* (1982) dan Stanford (1986) *cit* Radji (2005)¹⁰ menyatakan bahwa sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau bahan obat adalah merupakan metabolit sekunder. Menurut Strobel & Daisy (2003)¹¹, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jaringan tumbuhan yang tumbuh di hutan tropis memiliki aktivitas biologi yang tinggi.

Metabolit sekunder termasuk antibiotik/antimikrobia dapat diproduksi oleh mikroorganisme endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman¹². Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi¹³. Mikroorganisme endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman diantaranya biji,

⁹Pezzuto, J., Taxol Production in Plant Cell Culture Comes of Age, *Nature Biotechnol*, 14 (1996), p.1083

¹⁰Radji, Maksum., Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 11 (2005), p. 113-126.

¹¹Strobel, Gary & Bryn Daisy., Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product, *Microbiology and Molecular Biology Review*, 67(2003), p.491-502

¹²Bills, G.F. & J.D. Polyshook., Recovery of Endophytic Fungi from *Chamaechyparis tyoides*, *Sydowia*, 44 (1992), p.1-12.

¹³Strobel, Gary & Bryn Daisy., Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product, *Microbiology and Molecular Biology Review*, 67(2003), p.491-502.

ovula, buah, batang, akar, umbi akar¹⁴ dan daun¹⁵ tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut¹⁶.

Mikroorganisme endofit telah berhasil diisolasi dari berbagai tanaman diantaranya tanaman tebu^{17,18}, kedelai¹⁹, anggur²⁰, kentang²¹, kopi^{22,23}, tanaman jawer kotok²⁴, andaliman²⁵, tanaman sambung nyawa²⁶, mangrove²⁷, wortel²⁸ dan beberapa tanaman pertanian²⁹. Mikroorganisme endofit

¹⁴Altahi, Abdulla D., Plasmid Profiles, Antibiotic and Heavy metal Resistance Incidence of Endophytic Bacteria isplaterd from Grapevine (*Vitis vinivera L.*), *African Journal of Biotechnology*, 8 (2009), p. 5873-5882.

¹⁵Vega *et al.*, Endophytic Bacteria in *Coffea Arabica L.* *J. Basic. Microbiol*, 45 (2005). p 371-380.

¹⁶Zinniel *et al.*, Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants, *Applied and Enviromental Microbiology*, 68 (2002), p. 2198-2208.

¹⁷Antwerpen *et al.*, Assesment of Sugarcane Endophytic Bacteria and Rhizospheric Burkholderia Spesies as Antifungal Agents, *Proc S Afr Sug Technol Ass*, 76 (2002), p.301-304.

¹⁸Widayati *et al.*, Deteksi Milekular Bakteri Endofit pada Jaringan Plantlet Tebu, *HAYATI Journal of Bioscience*, 14 (2007), p.145-149.

¹⁹Hung *et al.*, Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Wild and Cultivated Soybean Varieties, *Biol fertile Soils*, 44 (2007), p.155-162.

²⁰Altahi, Abdulla D., Plasmid Profiles, Antibiotic and Heavy metal Resistance Incidence of Endophytic Bacteria Isolated from Grapevine (*Vitis vinivera L.*), *African Journal of Biotechnology*, 8 (2009), p. 5873-5882

²¹Khan, Z. & L. Doty, *Characterization of Bacterial Endopytes of Sweet Potato Plant*, Article ,Springer Science, 2009.

²²Vega *et al.*, Endophytic Bacteria in *Coffea Arabica L.* *J. Basic. Microbiol*, 45 (2005). p 371-380.

²³Shiomi *et al.*, Bioprospecting Endophytic Bacteria for Biological Control of Coffee Leaf Rust, *Sci. Agric.* , 63 (2006), p.32-39.

²⁴Sari, W.E. *et al.*, *Antibiotik dari Mikroba Endofit Tanaman JawerKotok: Alternatif Solusi Permasalahan Resistensi Bakteri Di Indonesia*, Karya Ilmiah, Institut Pertanian Bogor , 2009.

²⁵Sinaga, Elfrida., *Isolasi dan Uji Kemampuan Antifungal Bakteri Endofit dari Andaliman (Zanthozylum acanthopodium DC) Terhadap Funfi Perusak Makanan*, Skripsi, Universitas Sumatra Utara, 2009.

²⁶Simarmata *et al.*, Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba, *Berk. Penel. Hayati*, 13 (2007), p.85-90.

²⁷Maria *et al.*, Antimicrobial and Enzyme Activity of Mangrove Endophytic Fungi of South Coast of India. *Journal of Agricultural Technology*, 1 (2005), p.67-80.

²⁸Surette *et al.*, Bacterial Endophytes in Processing Carrots (*Daucus carota, L. Var. Sativus*): Their Localization, Population Density, Biodiversity and Their Effects on Plant Growth, *Plant and Soil*, 253 (2003), p.381-390

mempunyai arti ekonomis karena mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Hal ini karena mikroorganisme merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi³⁰. Oleh karena itu, isolasi mikroorganisme endofit yang dapat memproduksi metabolit sekunder dari tanaman inangnya merupakan sebuah peluang besar dimasa mendatang³¹ sehingga Indonesia dapat meminimalisir impor antibiotik yang mencapai Rp. 81,6 sampai Rp. 122,4 miliar per tahun³².

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan salah satu tanaman tropis asli Indonesia yang telah dikenal luas sebagai tanaman obat. Margino (2008)³³ berhasil mengisolasi 4 jenis fungi endofit dari tanaman mahkota dewa yang menghasilkan senyawa antimikroba berspektrum luas dalam menghambat *Bacillus subtilis*, *fusarium oxyporum* dan *C. Albicans*. Isolasi bakteri endofit yang memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa antimikroba dari tanaman tersebut belum dilakukan sehingga penelitian ini

²⁹Zinniel *et al.*, Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants, *Applied and Enviromental Microbiology*, 68 (2002), p. 2198-2208

³⁰Prihatiningtiyas, W. & M.S.H. Wahyuningsih., *Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif*, Artikel (2011), <http://mot.farmasi.ugm.ac.id/artikel-55-prospek-mikroba-endofit-sebagai-sumber-senyawa-bioaktif.html>, diakses 19 Juni 2011, pukul 17.00.

³¹Radji, Maksum., Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 11 (2005), p. 113-126.

³²Dhanutirto (1987) *cit* Rudi Purwanto., *Peranan Mikroorganisme Endofit Sebagai penghasil Antibiotik*, Artikel (2008), <http://www.kabarindonesia.com/>, Diakses 13 Agustus 2010, pukul 13.10 WIB.

³³Margino, Sebastian., Produksi Metabolit Sekunder (Antibiotik) oleh Isolat Jamur Endofit Indonesia, *Majalah Farmasi Indonesia*, 19 (2008), p.86-94.

diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai jenis-jenis bakteri endofit pada tanaman mahkota dewa yang berpotensi sebagai penghasil antimikrobia.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman mahkota dewa (*P. macrocarpa*) berpotensi sebagai penghasil antimikrobia?
2. Bagaimanakah identifikasi isolat bakteri endofit penghasil antimikrobia berdasarkan uji fenotipiknya menggunakan metode *profile matching*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan isolat bakteri endofit unggul yang berpotensi sebagai penghasil antimikrobia.
2. Mengetahui identifikasi bakteri endofit unggul yang berpotensi sebagai penghasil antimikrobia menggunakan metode *profile matching*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang diharapkan adalah:

1. Mendapatkan bakteri endofit dari tanaman mahkota dewa (*P. macrocarpa*) yang potensial sebagai penghasil antimikrobia.
2. Mengetahui karakter bakteri endofit yang berpotensi sebagai penghasil antimikrobia pada tanaman mahkota dewa (*P. macrocarpa*).

3. Mengetahui genus bakteri endofit yang berpotensi sebagai penghasil antimikrobia pada tanaman mahkota dewa (*P. macrocarpa*).
4. Genus bakteri endofit yang telah diketahui dapat dipakai sebagai dasar pengembangan antibiotika.

E. Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah:

1. Batang dan akar mahkota dewa yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dan Akar yang telah berkayu dengan diameter 1- 2 cm.
2. Daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang berwarna hijau tua yang terletak dekat dengan pangkal ranting.
3. Mikrobia indikator yang digunakan adalah *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 dan *C. albicans* ATCC 10231 yang berumur $\pm$ 24-48 jam.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Diperoleh 28 isolat bakteri endofit dari tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yaitu terdiri dari 14 isolat diisolasi dari daun, 8 isolat dari batang dan 6 isolat dari akar.
2. Isolat yang paling berpotensi menghasilkan antimikrobia dengan diameter zona hambat > 20 mm adalah isolat IAc, IAd, IAe, IAf, IBc, IBe dan IBh.
3. Isolat IAc dan IAe berhasil diidentifikasi sebagai anggota genus *Pseudomonas*; Isolat IAd diidentifikasi sebagai anggota genus *Klebsiella*; isolat IAf, IBc dan IBe diidentifikasi sebagai anggota genus *Bacillus* serta isolat IBh diidentifikasi sebagai anggota genus *Enterobacter*.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian dan identifikasi lebih lanjut guna mengetahui klasifikasi bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan antimikrobia sampai tingkat spesies.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui jenis senyawa aktif yang dihasilkan bakteri endofit yang menghasilkan antimikrobia.

3. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui patogenitas bakteri endofit yang telah berhasil diidentifikasi.
4. Diperlukan adanya penelitian lebih lanjut guna mengetahui potensi bakteri endofit yang telah diisolasi dalam memproduksi antimikrobia intraselular.
5. Diperlukan adanya penelitian lebih lanjut guna mengetahui waktu optimal bagi isolat bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa antimikrobia dengan menggambar kurva pertumbuhan masing-masing isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, Aulia. 2004. Sensitivitas *Salmonella thypimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Biocentiae*, 1 : p. 31-38.
- Altahi, Abdulla D. 2009. Plasmid Profiles, Antibiotic and Heavy Metal Resistance Incidence of Endophytic Bacteria Isolated from Grapevine (*Vitis vinivera* L.). *African Journal of Biotechnology*, 8 : p. 5873-5882.
- Antwerpen, T.V., R.S. Rutherford & J.L. Vogel. 2002. Assesment of Sugarcane Endophytic Bacteria and Rhizospheric Burkholderia Spesies as Antifungal Agents. *Proc S Afr Sug Technol Ass*, 76 ; p.301-304.
- Arunachalam C. & P. Gayathri. 2010. Studies On Bioprospecting of Endophytic Bacteria From The Medicinal Plant of *Andrographis paniculata* for Their Antimicrobial Activity and Antibiotik Susceptibility Pattern. *International Journal of Current Pharmacheutical Research*, 2 : p. 63-68.
- Backer, C. A. & R.A. Backuizen Van Den Brink. 1965. *Flora of Java*. Groningen : N.V.P. Nordhoff.
- Bandara, W.M.M.S., G. Seneviratne & S.A. Kulasooriya. 2006. Interactions among Endophytic Bacteria and Fungi : Effect and Potentials. *J. Biosci*, 31 : p. 645-650
- Berde, C.V., P.P. Bosale & S.R. Chaphalkar. 2010. Plasmid of Endophytic Bacteria as Vectors for Transformations in Plant. *International Journal Of Integrative Biology*, 3 : p. 113-118.
- Bills, G.F. & J.D. Polyshook. 1992. Recovery of Endophytic Fungi from *Chamaechyparis tyoides*. *Sydowia*, 44 : p.1-12.
- Budiyanto, Muhammad. 2004. *Mikrobiologi Terapan*.Malang : UMM press.
- Candra, Asep. 2011. *Strain Baru Bakteri Super Ditemukan Pada Susu*. Artikel. <http://health.kompas.com/newsfeatures/hottopics>, Diakses 25 Juni 2011, pukul 08.00.
- Cappuccino, J.G. & N. Sherman. 1996. *Microbiology : A Laboratory Manual*, 4th edition. California : The Benjamin/Cumming Publishing Company.

- Chandrashekhara, S. Niranjana, S.A Deepak, K.N. Amruthes, N.P. Shetty & H.S. Shetty. 2007. Bacteria from Different Plant Origin Enhance Growth and Induce Downy Mildew Resistance in Pearl Millet. *Asian Journal of plant pathology*, 1 : p.1-11.
- Damayanti, Ika. 2010. *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Untuk Menekan Kejadian Penyakit Layu Bakteri (Ralstonia solanacearum) Pada Tanaman Tomat*. Skripsi. IPB.
- Fegueiredo, Jose E.F., E. A. Gomes, C. T. Guimaraes, Ubiraci G.D., U.G. de Paula Lana, M. A. Teixeira, G. V.C. Lima & W. Bressan. 2009. Molecular Analysis Of Endophytic Bacteria From The Genus *Bacillus* Isolated From Tropical Maize (*Zea Mays* L.). *Brazilian Journal of Microbiology*, 40: p.522-534.
- Fitriyani, Ida. 2010. *Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Matang Yang Berpotensi Menghasilkan Antimikrobia*. Skripsi. UIN SUKA.
- Gupte, Satish. 1997. *Mikrobiologi dasar*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Harni, Rita., Supramana., A. Munif & I. Mustika. 2006. Pengaruh Metode Aplikasi Bakteri Endofit Terhadap Perkembangan Nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada Tanaman Nilam. *Jurnal Litri*, 12 : p. 161-165.
- Harrison, L., C. Teplow, M. Rinaldi & G.A. Strobel. 1991. Pseudomycins, a Family of Novel Peptides from *Pseudomonas sp.*, Processing Broad Spectrum Antifungal Activity. *J. Gen. Microbiol*, 137 : p. 2857-2856.
- He, R.L., G.P. Wang, X.H. Liu, C.L. Zhang & F.C. Lin. 2009. Antagonistic Bioactivity of an Endophytic Bacterium Isolated from *Epimedium brevicornu* Maxim. *African Journal of Biotechnology*. 8 : p. 191-195
- Holt, C.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley & S.T. Williams. 1994. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, 9th Edition. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Hung, P.Q., S.M. Kumar, V. Govindsamy & K. Annapurna. 2007. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Wild and Cultivated Soybean Varieties. *Biol fertile Soils*, 44 ; p.155-162.
- Hussey, Marise A. & Anne Zayaitz. 2007. *Endospore Stain Protocol*. Artikel. <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3112-endospore-stain-protocol>, diakses 1 April 2011, pukul 14.00 WIB

- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi : Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung : Yrama Widya.
- Jimenez, M.B., S. Aguilar-Flores, M.V. del Valle, A. Perez, A. Zepeda & E. Zenteno. 2001. Endophytic Bacteria in Rice Seed Inhibit Early Colonization of Roots by *Azospirillum brasilense*. *Soil biology & Biochemistry*, 33 : p. 167-172.
- Juanita, Weni. 2011. *Balita Tewas Akibat E. Coli*. Artikel. <http://www.seputar-indonesia.com/>, Diakses 25 Juni 2011, pukul 08.00
- Jutono., J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi & Soesanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi)*. Yogyakarta: UGM press.
- Khan, Z. & L. Doty. 2009. *Characterization of Bacterial Endopytes of Sweet Potato Plant*. Article. Springer Science.
- Kumala, S. & E.B. Siswanto. 2007. Isolation and Sreening of Endophytic Microbes from *Morinda citrifolia* and Their Ability to Produce Anti-Microbial Substances. *Microbiology Indonesia*. 1 : p. 145-248.
- Listari, Yuli. 2009. *Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat Streptpmyses dari Rhizosfer Poaceae terhadap escherichia coli*. Skripsi. UMS.
- Long, H.H., N. Furuya, D. Kurose, M. Takeshita & Y. Takanami. 2003. Isolation of Endophytic Bacteria From *Solanum sp* and Their Antibacterial Activity Againts Plants Pathogenic Bacteria. *J. Fac. Agr*, 48 : p.21-28.
- Margino, Sebastian. 2008. Produksi Metabolit Sekunder (Antibiotik) oleh Isolat Jamur Endofit Indonesia. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19 : p.86-94.
- Maria, G.I., K.R. Sridhar & N.S. Raviraja. 2005. Antimicrobial and Enzyme Activity of Mangrove Endophytic Fungi of South Coast of India. *Journal of Agricultural Technology*, 1 : p.67-80.
- Miller, R.V., C.M. Miller, D. Garton-kinney, B. Redgrave, J. Sears, M. Codron,D. Teplow & G.A. Strobel. 1998. Ecomycins, Unique Antimycotics from *Pseudomonas viridiflava*. *J. Appl. Microbiol*, 84 : p. 937-944.
- Neu, C.H. 1992. The Crisis in Antibiotic Resistance. *Science*, 257 : p.1064-1073.
- Pandiangan, Maruba. 2009. Stabilitas Antimikrobia Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthoriza* Roxb) Terhadap Mikroba Patogen. *Medika Unika*, 4 : p. 365-373

- Pantowati, P.S. 2010. *solasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri yang Mempunyai Potensi Mendegradasi Fenol dari Limbah Cair Rumah sakit*. Skripsi. UIN SUKA.
- Pezzuto, J. 1996. Taxol Production in Plant Cell Culture Comes of Age. *Nature Biotechnol*, 14 : p.1083.
- Puente, M.E., C. Y. li & Y. bashan. 2009. Endophytic Bacteria in Cacti Seed can Improve the Development of Cactus Seedling. *Environmental and Experimental Botany*, 66 : p. 402-408.
- Priest, F. & B. Austin. 1993. *Modern Bacterial Taxonomy*. 2nd Edition. London : Chapman & Hall.
- Prihatiningtiyas, W. & M.S.H. Wahyuningsih. 2011. *Prospek Mikroba Endofit Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif*. Artikel. <http://mot.farmasi.ugm.ac.id/artikel-55-prospek-mikroba-endofit-sebagai-sumber-senyawa-bioaktif.html>. Diakses 19 Juni 2011, pukul 17.00.
- Purwanto, Rudi. 2008. *Peranan Mikroorganisme Endofit Sebagai penghasil Antibiotik*. Artikel. <http://www.kabarindonesia.com/>, Diakses 13 Agustus 2010, pukul 13.10 WIB.
- Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3: p. 113-126.
- Restuati, Martina. 2008. *Perbandingan Chitosan Kulit Udang dan Kulit Kepiting dalam Menghambat Kapang Aspergillus flavus*. Seminar Sains dan Teknologi. UNILA.
- Rini, Eka Prasetya. 2009. *Pengaruh infusa Daging Buah Mahkota Dewa Phaleria macrocarpa Terhadap Penurunan Glukosa Dara Kelinci Jantan New Zealand yang dibebani Glukosa Oral*. Skripsi. UMS.
- Rochani, Nita. 2010. *Uji Aktifitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (Anredera cardifolia) Terhadap Candida albicans serta Skrining Fitokimianya*. Skripsi. UMS
- Rostinawati, Tina. 2007. *Uji Aktifitas Penyarian Biji Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Infeksi Kulit*. Skripsi. UNPAD.
- Roy, S. & D. Banerjee. 2010. Isolation of Antimicrobial Compound by Endophytic Bacteria from Vinca Rosea. *International Journal of Current Research*, 5 : p. 47-51.

- Ryan, R.P., K. Germaine, A. Franks, D.J. Ryan & D.N. Dowling. 2008. Bacterial Endophytes : recent development and applications. *FEMS Microbiol*, 278 : p. 1-9.
- Sandjaja. 1995. *Isolasi dan Identifikasi Mikobakteria*. Jakarta : Penerbit Widya Medika.
- Saputro, R.R. 2008. *Petunjuk Praktikum Sistematika Mikrobial*. Yogyakarta: Laboratorium Mikrobiologi UIN SUKA.
- Sardjoko. 1991. *Kimia dan Biologi Antibiotik. Buku Monograf PAU Bioteknologi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sari, W.E., R., Masrina & V.P., Budiman. 2009. *Antibiotik dari Mikroba Endofit Tanaman JawerKotok: Alternatif Solusi Permasalahan Resistensi Bakteri Di Indonesia*. Karya Ilmiah. IPB.
- Shiomi, H.F., H.S.A. Silva, I.S. de Mello, F.V. Nunes & W. Bettiol. 2006. Bioprospecting Endophytic Bacteria for Biological Control of Coffee Leaf Rust. *Sci. Agric.*, 63 : p.32-39.
- Sholihin, Burhan. 2004. *Dewi Demeter Pemburu Antibiotik*, <http://majalah.tempointeraktif.com/>, Diakses 13 Agustus 2010, pukul 13.05 WIB.
- Simarmata, R., S. Lekatompessy & H. Sukiman. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba. *Berk. Penel. Hayati*, 13 : p.85-90.
- Sinaga, Elfrida. 2009. *Isolasi dan Uji Kemampuan Antifungal Bakteri Endofit dari Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC) Terhadap Fungi Perusak Makanan*. Skripsi. Universitas Sumatra Utara.
- Soeksmanto, A., H. Yatri & P. Simanjuntak. 2007. Kandungan Antioksidan pada Beberapa bagian Tanaman mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Sceff) Boerl (Thymelaceae). *Biodiversitas*, 8 : p. 92-95.
- Strobel, G. & B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 67: p.491-502.
- Surette, M.A., A.V. Struz, R.R. Lada & J. Nowak. 2003. Bacterial Endophytes in Processing Carrots (*Daucus carota*, L. Var. *Sativus*): Their Localization, Population Density. Biodiversity and Their Effects on Plant Growth. *Plant and Soil*, 253 : p.381-390.

- Tanaka, M., Sukiman. H., Takebayashi M., Saito, K., Prana M.S. & Tomita F. 1999. Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment*, 4: p. 237-241.
- Tomita, F. 2003. Endophytes in Southeast Asia and Japan : their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity*, 14 : 187-204.
- Vega, F.E., M.P. Ripoll, F. Posada, & J.S. Buyer. 2005. Endophytic Bacteria in *Coffea Arabica* L. *J. Basic. Microbiol*, 45 : p 371-380.
- Waluyo, Lud. 2008. *Dasar Teknik Metode Mikrobiologi*. Malang: UMM press.
- , 2007. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM press
- Widayati, W.E., J. Widada & J. Soedarsono. 2007. Deteksi Molekular Bakteri Endofit pada Jaringan Plantlet Tebu. *HAYATI Journal of Bioscience*. 14 : p.145-149.
- Winarto, W.P. 2003. *Mahkota Dewa : Budidaya dan Pemanfaatan*, Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wirawan, Budi. 2009. *Potensi Bakteri Endofit Tanaman Obat Sebagai Penghasil Senyawa Antihiperlimida Melalui Aktivitas Lipase*. Skripsi. IPB.
- Zinniel, D.K., P. Lambrech, N.B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmarski, P. Higley, C.A. Ishimaru, A. Arunakumari, R.G. Barletta & A.K. Vidaver. 2002. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 ; p. 2198-2208.

LAMPIRAN

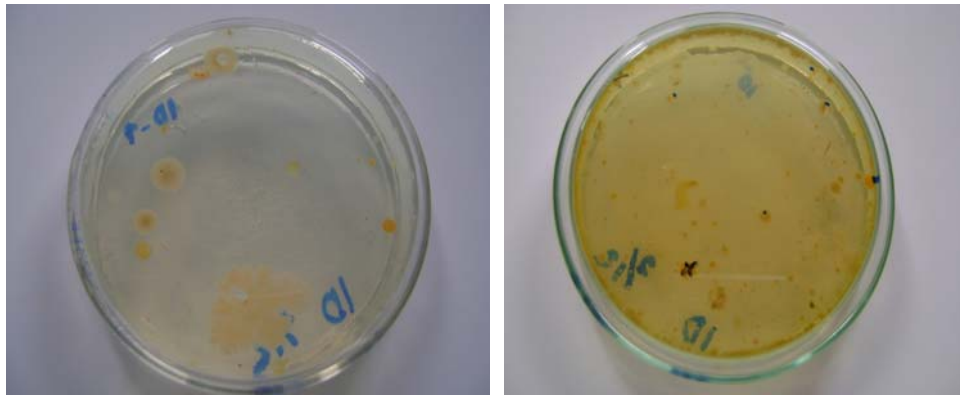
Lampiran 1. Gambar penelitian



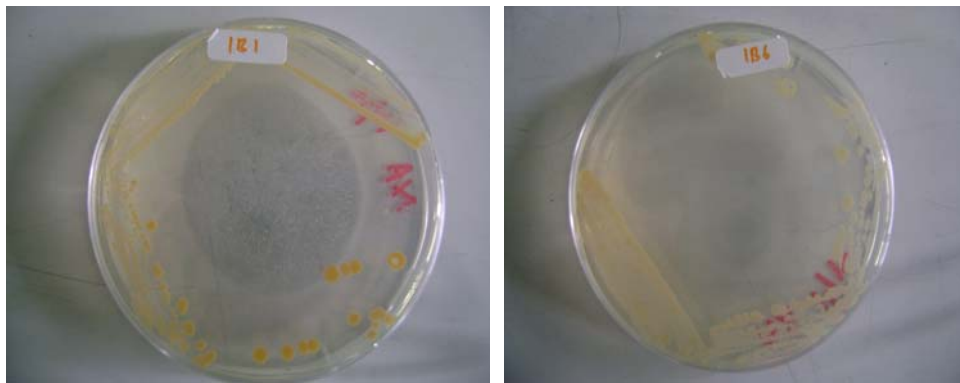
Gambar 7. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Batang



Gambar 8. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Akar



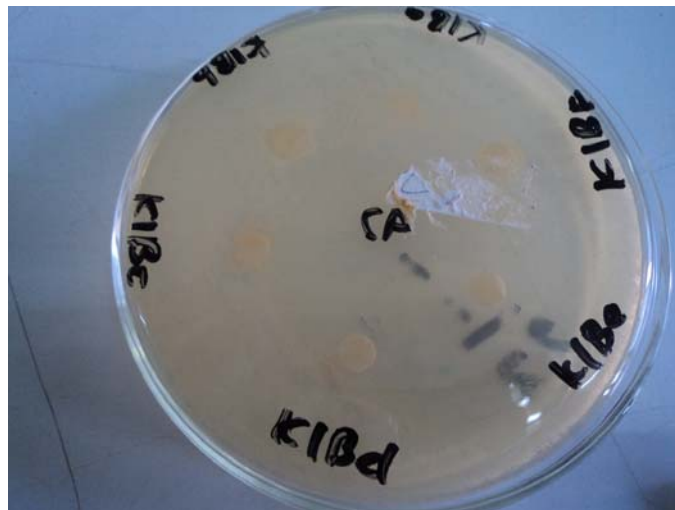
Gambar 9. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mahkota Dewa dari Daun



Gambar 10. Tahap Purifikasi Isolat Bakteri Endofit



Gambar 11. Kultur Stok Bakteri Endofit Hasil Purifikasi



Gambar 12. Tahap Seleksi Bakteri Endofit penghasil Antimikrobia



Gambar 13. Tahap Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Antimikrobia

Lampiran 2. *Microbiological Media*

A. Media *Nutrient Agar*

Komposisi perliter:

1. Lab lemco powder	1 g
2. Yeast extract	2 g
3. Peptone	5 g
4. Sodium chloride	5 g
5. Agar	15 g

pH 7,4 $\pm$ 0,2

28 g Medium NA dilarutkan dalam 1 L aquadet kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

B. Media *Nutrient Broth*

Komposisi perliter:

1. Lab lemco powder	1 g
2. Yeast extract	2 g
3. Peptone	5 g
4. Sodium chloride	5 g

pH 7,4 $\pm$ 0,2

13 g Medium NB dilarutkan dalam 1 L aquades kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

C. Media *Pati Agar*

Komposisi perliter:

1. Beef extract	3 g
2. Peptone	5 g
3. Agar	15 g
4. Pati (soluble)	2 g

Seluruh komponen dicampur merata, pH diatur 7.0 kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

D. Media *Simone Citrate*

Komposisi perliter:

1. Magnesium sulphate	0,2 g
2. Ammonium dyhydrogen phosphate	0,2 g
3. Sodium ammonium phosphate	0,8 g
4. Sodium citrate	2 g
5. Sodium chloride	5 g
6. Bromothymol blue	0,08 g

7. Agar 15 g

pH 7,4 $\pm$ 0,2

23 g Medium *simone citrate* dilarutkan dalam 1 L aquades kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

E. Media Fermentasi Karbohidrat (Glukosa cair, laktosa cair, sukrosa cair, maltosa cair, mannitol cair)

Komposisi perliter (sukrosa cair):

- | | |
|-----------------|-----|
| 1. Beef extract | 3 g |
| 2. Peptone | 5 g |
| 3. Sukrosa | 5 g |

Seluruh komponen dicampur merata, pH diatur 7.0 kemudian ditambahkan indikator phenol red 1,6 % sebanyak 1 cc dan masukkan tabung durham. Sterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit. Untuk membuat laktosa cair, glukosa cair, maltosa cair dan mannitol cair maka ditambahkan laktosa, glukosa, maltosa atau mannitol sesuai kebutuhan.

F. Media SIM

Komposisi perliter:

- | | |
|------------------------------|-------|
| 1. tryptone | 2 g |
| 2. peptone | 6,1 g |
| 3. ferrous ammonium sulphate | 0,2 g |
| 4. Sodium tiosulphate | 0,2 g |
| 5. Agar | 3,5 g |

pH 7,3 $\pm$ 0,2

30 g Medium SIM dilarutkan dalam 1 L aquades kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

G. Media Sabouroud Dextrose Agar

Komposisi perliter:

- | | |
|------------------------|------|
| 1. Mycological peptone | 10 g |
| 2. Glucose | 40 g |
| 3. Agar | 15 g |

pH 5,6 $\pm$ 0,2

65 g Medium SDA dilarutkan dalam 1 L aquades kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121 °C selama 15 menit

Lampiran 3. Penentuan Indeks Similaritas Ssm dengan Program MVSP, Version 2.0

 ***** M V S P *****

Ver. 2.0a

Date of analysis - April 19, 2011
 Time of analysis - 2:13:19pm

Input file name - C:\MVSP\ELHAQ.MVS
 Output file name - C:\MVSP\ELHAQ.OUT
 SIMILARITY AND DISTANCE COEFFICIENTS
 =====

elhaq
 File of 36 rows x 7 columns

RAW DATA

	IAC	IAD	IAE	IAF	IBC	IBE	IBH
a	0	0	1	1	0	1	1
b	1	1	1	0	1	1	1
c	0	1	0	0	1	1	1
d	1	1	0	0	1	0	0
e	1	1	1	1	1	1	1
f	0	1	1	1	1	1	1
g	1	1	1	1	1	1	1
h	1	1	1	1	1	1	1
i	0	0	0	1	1	1	0
j	1	0	1	1	1	1	1
k	0	0	0	1	1	1	0
l	1	1	1	1	1	1	1
m	1	1	1	1	1	1	1
n	0	1	0	1	1	1	1
o	1	1	1	0	1	1	1
p	0	1	0	1	1	1	1
q	0	1	0	0	0	0	1
r	0	1	1	0	0	0	1
s	0	1	1	0	0	0	1
t	0	1	1	0	0	0	0
u	0	1	0	0	0	0	1
v	0	1	0	0	0	0	1
w	0	1	0	0	0	0	1
x	0	1	0	0	0	0	1
y	0	1	1	0	0	0	1
z	0	0	0	0	0	0	0
aa	1	1	1	1	1	1	1
ab	0	0	0	0	0	0	0
ac	0	0	0	0	0	0	0
ad	1	1	1	1	1	1	1
ae	0	0	0	0	0	0	0
af	1	0	1	1	1	0	0
ag	1	1	1	1	1	1	1
ah	1	1	1	1	0	0	1
ai	1	0	0	0	0	0	0
aj	1	0	0	0	0	0	0

***** M V S P *****

Ver. 2.0a

Date of analysis - April 19, 2011

Time of analysis - 2:13:19pm

Input file name - C:\MVSP\ELHAQ.MVS

Output file name - C:\MVSP\ELHAQ.OUT

SIMILARITY AND DISTANCE COEFFICIENTS

=====

elhaq

SIMPLE MATCHING COEFFICIENT

	IAC	IAD	IAE	IAF	IBC	IBE	IBH
IAC	1	0.500	0.750	0.694	0.750	0.667	0.500
IAD	0.500	1	0.639	0.472	0.583	0.556	0.889
IAE	0.750	0.639	1	0.722	0.667	0.694	0.694
IAF	0.694	0.472	0.722	1	0.833	0.861	0.583
IBC	0.750	0.583	0.667	0.833	1	0.917	0.583
IBE	0.667	0.556	0.694	0.861	0.917	1	0.667
IBH	0.500	0.889	0.694	0.583	0.583	0.667	1

Analysis finished at - 2:13:20pm

Lampiran 5. Cluster Analysis dengan Menggunakan Alogaritma Pengklasteran Average Linkage (UPGMA)

 ***** M V S P *****

Ver. 2.0a

Date of analysis - April 19, 2011

Time of analysis - 2:13:43pm

Input file name - C:\MVSP\ELHAQ.MVD

Output file name - C:\MVSP\ELHAQ.OT2

CLUSTER ANALYSIS

=====

elhaq - MATCH

File of 7 rows x 7 columns

INPUT MATRIX

	IAC	IAD	IAE	IAF	IBC	IBE	IBH
IAC	1	0.500	0.750	0.694	0.750	0.667	0.500
IAD	0.500	1	0.639	0.472	0.583	0.556	0.889
IAE	0.750	0.639	1	0.722	0.667	0.694	0.694
IAF	0.694	0.472	0.722	1	0.833	0.861	0.583
IBC	0.750	0.583	0.667	0.833	1	0.917	0.583
IBE	0.667	0.556	0.694	0.861	0.917	1	0.667
IBH	0.500	0.889	0.694	0.583	0.583	0.667	1

UNWEIGHTED PAIR GROUP AVERAGE METHOD

NUMBER OF OBJECTS				
NODE	GROUP 1	GROUP 2	SIMILARITY	IN FUSED GROUP
1	IBC	IBE	0.917	2
2	IAD	IBH	0.889	2
3	IAF	NODE 1	0.847	3
4	IAC	IAE	0.750	2
5	NODE 4	NODE 3	0.699	5
6	NODE 5	NODE 2	0.578	7

Analysis finished at - 2:13:45pm