

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT PADA
AKAR TANAMAN BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* L.)**

SKRIPSI

OLEH

**AGUSTINA
14.870.0010**



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2018**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, dan Penulisan Karya Ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UMA

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI
AKAR TANAMAN BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* L.)**

HASIL PENELITIAN

Oleh :

**AGUSTINA
14.870.0010**

Skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan
gelar sarjana di Fakultas Biologi
Universitas Medan Area

**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2018**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

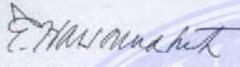
© Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, dan Penulisan Karya Ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UMA

9/9/19

Judul Skripsi : Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Pada Akar Tanaman
Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)
Nama : Agustina
NPM : 14.870.0010
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh
Ketua Pembimbing


Dr. Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc
Pembimbing I


Abdul Karim S.Si, M.Si
Pembimbing II


Dr. Mufti Sudibyo, M.Si
Dekan


Dra. Sartini M.Sc
Ka. Prodi/WD I

Tanggal lulus : 01 Oktober 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam tulisan skripsi ini saya kutip dari hasil karya orang lain telah ditulis sumbernya secara jelas sesuai norma, kaidah dan etika penulis ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku apabila kemudian hari ditemukan plagiat dalam skripsi ini.



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Agustina
NPM : 14.870.0010
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Exklusif Royalti-Free Right*) atas karya ilmiah yang berjudul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Akar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan , mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

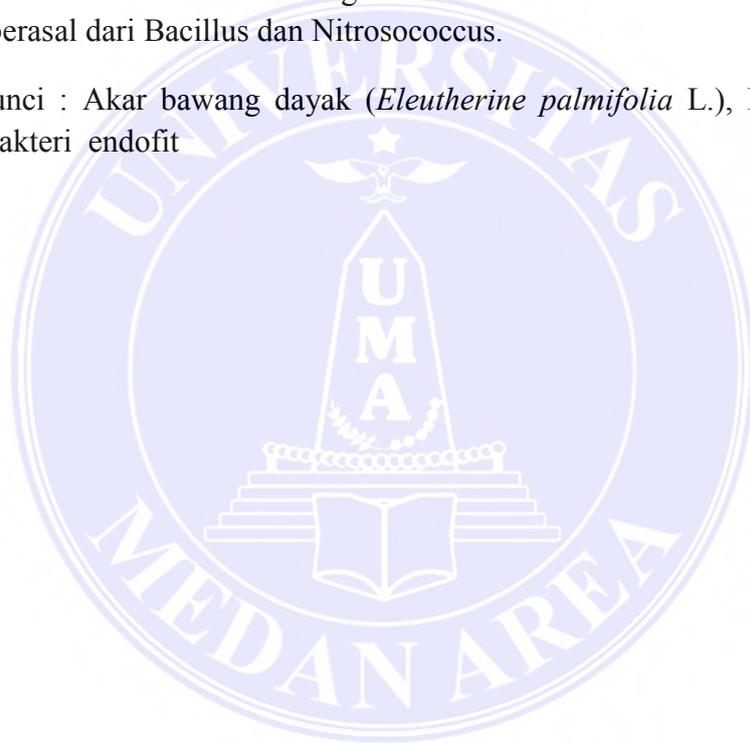
Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 1 Oktober 2018
Yang menyatakan

(Agustina)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit pada akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) secara visual dan mikroskopis. Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahapan yaitu preparasi sampel dan media, isolasi dan karakterisasi. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari jenis-jenis bakteri endofit yang terdapat pada akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.). Sebanyak 3 isolat bakteri endofit diperoleh dari akar tanaman bawang dayak yaitu AB₁, AB₂, dan AB₃. Hasil pewarnaan menunjukkan AB₁ dan AB₂ berbentuk basil dan gram positif sedangkan AB₃ berbentuk bulat gram negatif. Variasi sifat biokimiawi diperlihatkan oleh AB₁, AB₂ dan AB₃. Berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia isolat bakteri endofit tersebut diduga berasal dari Bacillus dan Nitrosococcus.

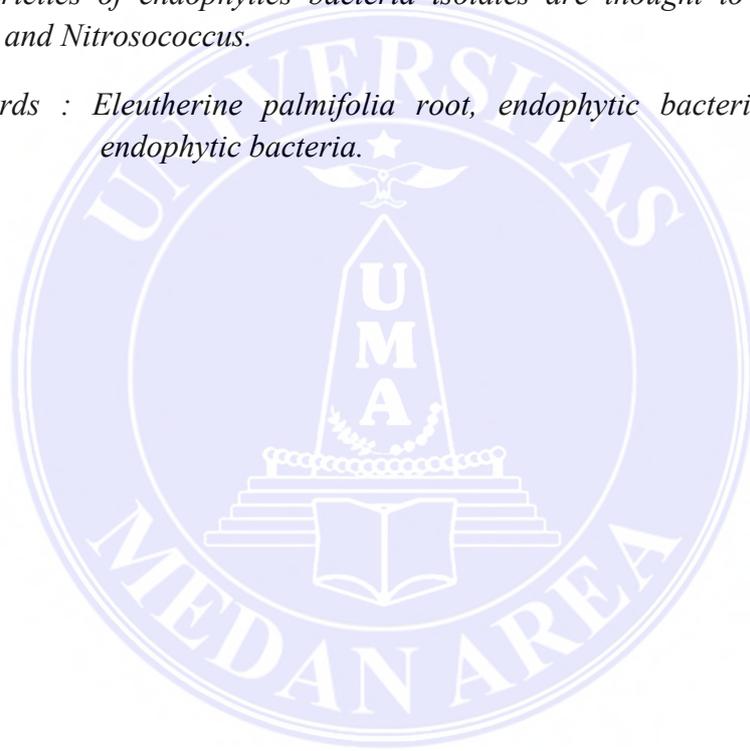
Kata kunci : Akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.), Bakteri endofit, Isolasi bakteri endofit



ABSTRACT

The objective of this research to determine the characteristics of endophytic bacteria in Eleutherine palmifolia root visually and microscopically. This research was conducted in 3 steps, started from media preparation, isolation and characterization. The data obtained were then analysed descriptively, namely providing an explanation or description of the types of endophytic bacteria found on the roots of Eleutherine palmifolia. As many as 3 bacteria isolates obtained from Eleutherine palmifolia root which named AB₁, AB₂ and AB₃. The coloration results show AB₁ and AB₂ in the form of bacilli and gram positive while AB₃ is in the form of gram negative round. Variations in biochemical properties are shown by AB₁, AB₂ and AB₃. Based on the morphological and biochemical characteristics of endophytic bacteria isolates are thought to originate from Bacillus and Nitrosococcus.

Key words : Eleutherine palmifolia root, endophytic bacteria, isolation of endophytic bacteria.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, pada tanggal 28 Agustus 1995 anak dari ayahanda Zulkifli dan ibunda Ana Fitri dan merupakan anak satu-satunya. Pada tahun 2001, penulis mulai memasuki pendidikan SD Negeri Inpres 064028 Medan dan lulus pada tahun 2007. Tahun 2008, penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 4 Medan dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun 2010, penulis melanjutkan pendidikan di SMK Negeri 3 Medan dan lulus pada tahun 2013. Selanjutnya pada tahun 2014 terdaftar sebagai mahasiswa Strata Satu (S1) di Fakultas Biologi Universitas Medan Area.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya. Sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini dengan dengan judul **”Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Pada Akar Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)”**

Ucapan terima kasih penulis kepada pihak yang banyak membantu dalam penulisan proposal ini. Terutama kepada Bapak Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc selaku dosen pembimbing I dan Abdul Karim, S.Si, M.Si selaku pembimbing serta sekretaris komisi pembimbing Bapak Ahmad Safwan, S.Pd, M.Si yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna dalam penulisan proposal ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada bapak/ibu dosen/staf Fakultas Biologi, keluarga besar dan teman-teman Mahasiswa/I fakultas Biologi Universitas Medan Area.

Penulis menyadari penulisan proposal penelitian ini belum sempurna, masih banyak kesalahan dan kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan proposal ini.

Akhirnya penulis berharap, kiranya proposal penelitian ini dapat bermanfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan bagi pembaca

Penulis

Agustina

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-------------|
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACT | vii |
| RIWAYAT HIDUP | viii |
| KATA PENGANTAR | ix |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4. Manfaat Penelitian | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. Deskripsi Tanaman Bawang Dayak | 4 |
| 2.2. Morfologi Bawang Dayak | 6 |
| 2.3. Penyebaran | 7 |
| 2.4. Budidaya | 7 |
| 2.5. Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman | 8 |
| 2.6. Komposisi Senyawa Metabolit Sekunder Bawang Dayak | 11 |
| 2.7. Bakteri Endofit | 12 |
| 2.8. Peranan Bakteri Endofit | 14 |
| 2.9. Karakterisasi Bakteri | 14 |
| III. METODOLOGI PENELITIAN | 17 |
| 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian | 17 |
| 3.2. Alat dan Bahan Penelitian | 17 |
| 3.3. Sampel Penelitian | 18 |
| 3.4. Metode Penelitian | 18 |
| 3.5. Prosedur Kerja | 18 |
| 3.5.1 Penyediaan Akar Bawang Dayak | 18 |
| 3.5.2 Sterilisasi Alat Dan Media Uji | 18 |
| 3.5.3 Isolasi Bakteri Endofit | 19 |
| 3.5.4 Inokulasi Isolat Bakteri | 19 |
| 3.5.5 Karakterisasi Bakteri Endofit | 19 |
| 3.6. Analisis Data | 22 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHAAN | 23 |
| 4.1. Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Bawang Dayak | 23 |
| 4.2. Karakterisasi Mikroskopis Bakteri Endofit | 26 |
| 4.2.1 Pewarnaan Gram | 26 |
| 4.2.2 Hasil Uji Biokimia | 28 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| V. SIMPULAN DAN SARAN..... | 31 |
| 5.1. Simpulan..... | 31 |
| 5.2. Saran..... | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 33 |
| LAMPIRAN | |



DAFTAR GAMBAR

| No.Judul | Halaman |
|---|---------|
| 1. Tanaman Bawang Dayak | 5 |
| 2. Koloni Bakteri Endofit Pada Media NA | 23 |
| 3. Isolat AB1 (<i>Bacillus</i>) | 28 |
| 4. Isolat AB2 (<i>Actinobacillus</i>) | 29 |
| 5. Isolat AB3 (<i>Nitrococcus</i>) | 30 |



DAFTAR LAMPIRAN

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

| Judul | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian | 35 |
| Lampiran 2. Alat-alat Penelitian | 36 |
| Lampiran 3. Uji Biokimia | 37 |
| Lampiran 4. Tabel Hasil Identifikasi Bakteri Endofit..... | 38 |



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya dengan flora dan fauna. Banyak jenis tumbuhan yang merupakan sumber plasma nutfah yang tidak ternilai jumlahnya. Beberapa tahun terakhir ini penggalian sumber daya mikroba di dalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian yang dikenal dengan bakteri endofit. Bakteri endofit tersebut mulai dipelajari untuk berbagai tujuan, karena bakteri endofit yang berasal dari tumbuhan tersebut masih banyak yang belum diketahui karakter dan potensinya. Telah diketahui bahwa hubungan antara bakteri endofit dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh bakteri memiliki berbagai jenis bioaktif (Radji, 2005).

Bakteri endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tanaman, akar, daun, batang, dan buah selama periode tertentu dari siklus hidupnya. Bakteri endofit dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Sifat bakteri endofit yang tidak berdampak negatif pada jaringan tanaman menunjukkan kemungkinan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan inangnya (Strobel & Daisy, 2003). Setiap tanaman dapat mengandung beberapa bakteri endofit salah satunya ialah tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.). Tanaman ini banyak terdapat di daerah Kalimantan, sudah secara turun menurun dipergunakan oleh masyarakat Dayak (Tan & Zou, 2001).

Walaupun dikenal sebagai bawang dayak, di daerah Jawa Barat (Sunda), tanaman ini dikenal juga dengan nama daerah yaitu *Babawangan bebereum*. Tanaman ini mempunyai banyak jenis dengan bentuk dan jenis yang

beragam seperti bawang merah, bawang putih dan berbagai jenis bawang lainnya. Secara empiris diketahui tanaman bawang dayak dapat menyembuhkan penyakit kanker usus, kanker payudara, diabetes melitus, hipertensi, menurunkan kolesterol, obat bisul, keputihan, *stroke* dan sakit perut sesudah melahirkan (Galingging, 2009).

Bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit. Kemampuan bakteri endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut (Tan & Zou, 2001).

Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, dan daun. Tanaman mendapat manfaat dengan adanya bakteri endofit seperti memacu pertumbuhan tanaman karena bakteri endofit mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan hormon pertumbuhan. Bakteri endofit juga mampu meningkatkan resistensi tanaman terhadap berbagai macam mikroba patogen dengan cara menginduksi ketahanan tanaman yang dikenal dengan *induced systemic resistance* (ISR) sehingga mampu bertahan terhadap serangan penyakit tanaman (Hallman & Berg, 2006).

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang bakteri endofit pada akar bawang dayak sebagaimana telah diketahui tanaman tersebut memiliki khasiat untuk menurunkan kolesterol, kanker usus, kanker payudara, penurun darah tinggi dan obat bisul.

1.2 Rumusan Masalah

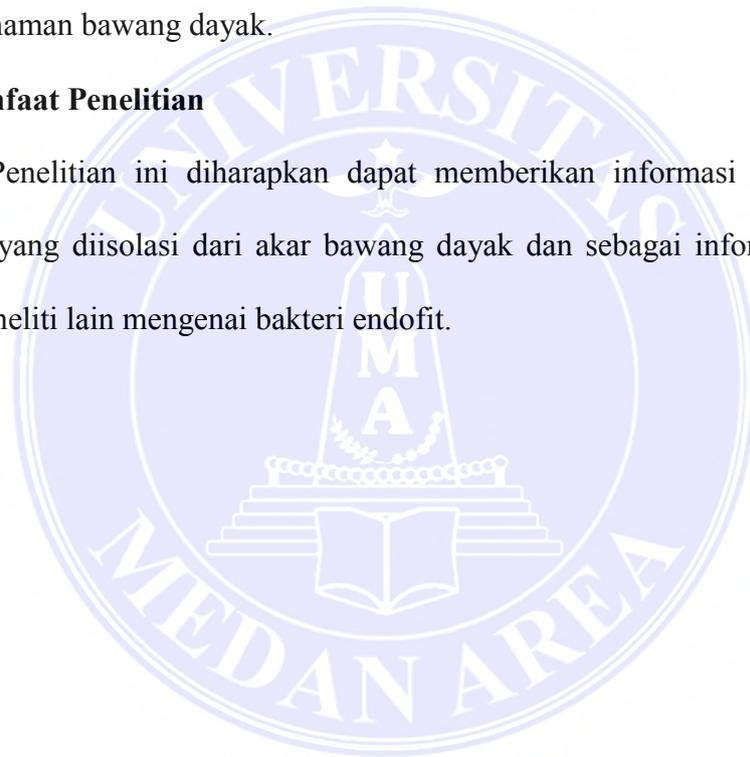
Dari latar belakang yang telah diuraikan di atas, permasalahan yang muncul dalam penelitian ini adalah apakah jenis bakteri endofit yang di dapat dari akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L) ? serta bagaimana identitas bakteri endofit tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis bakteri endofit pada akar tanaman bawang dayak.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang bakteri endofit yang diisolasi dari akar bawang dayak dan sebagai informasi tambahan pada peneliti lain mengenai bakteri endofit.



BAB III BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 sampai dengan bulan Februari 2018 di Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Utara.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, gelas ukur, labu erlenmayer, *beaker glass*, tabung reaksi, jarum ose, pinset, gunting bedah, tissue steril, pisau bedah, pinset, pipet tetes, spatula, kertas saring, pH indicator, kaca obyek, *cover glass*, timbangan analitik, inkubator, kertas label, *plastic wrap*, *aluminium foil*, oven, *hot plate*, inkubator, mikroskop cahaya dan mikroskop elektron, dan alat-alat gelas lain yang bisa digunakan di laboratorium mikrobiologi.

Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar bawang dayak, alkohol 70%, natrium hipoklorit (NaOCl) 3% aquadest steril, media NA (*Nutrient Agar*), hidrogen peroksida (uji katalase), media *Triple Sugar Ion Agar* (uji fermentasi laktosa), media *Sulfite Indole Motility* (uji motilitas/pergerakan bakteri), media *Simmons Citrate Agar* (uji sitrat), reagen pewarna (kristal violet, lugol, safranin, asetol alkohol) dan spritus.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel tanaman yang digunakan adalah akar bawang dayak (*Eleutherin palmifolia* L.) yang diperoleh dari budidaya sendiri. Sampel diambil dengan menggunakan *cutter* sebanyak 1 gr dan segera kemudian dimasukkan kedalam plastik steril untuk dibawa ke laboratorium.

3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode yang bersifat deskriptif (*descriptive research*). Penelitian deskriptif adalah suatu metode penelitian yang ditujukan untuk menggambarkan fenomena-fenomena apa adanya yang mengutamakan obyektivitas dan dilakukan dengan cermat.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Penyediaan Akar Bawang Dayak

Sampel penelitian adalah akar bawang dayak. Diperoleh dari tanaman/budidaya sendiri. Sampel diambil dengan menggunakan *cutter* dan segera dimasukkan ke dalam kantong plastik steril untuk kemudian dibawa ke laboratorium.

3.5.2 Sterilisasi Alat Dan Media Uji

Sterilisasi alat dan media uji yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan. Alat kemudian dibungkus dengan kertas pembungkus (aluminium foil), kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.3 Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Akar Bawang Dayak

Akar bawang dayak ditimbang sebanyak 1 gr dan segera dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan akar. Akar selanjutnya dikeringkan dan dimasukkan ke kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Kesehatan Sumatera Utara. Tahap awal isolasi adalah memotong bagian akar dan selanjutnya disterilisasi bagian permukaan menggunakan larutan alkohol 70% selama 1 menit, larutan NaOCl 3% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali. Setelah itu sampel akar dibilas dengan air steril 2 kali. Akar yang sudah steril di haluskan dengan mortal secara aseptis, kemudian dibuat pengenceran sampai 10^{-3} . Sebanyak 1 ml disebarkan pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37° (Yurnaliza, 2014).

3.5.4 Inokulasi Isolat Bakteri

Medium yang digunakan untuk inokulasi bakteri endofit yaitu medium NA (*Nutrient Agar*). Bakteri endofit yang tumbuh pada medium NA, diinokulasikan masing-masing pada media NA dengan metode goresan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Koloni yang memiliki bentuk dan warna yang sama dianggap sebagai isolate yang sama. (Nursulityarini dan Ainy, 2013).

3.5.5 Identifikas Bakteri Endofit

Bakteri yang telah diisolasi kemudian diidentifikasi berdasarkan morfologi, pewarnaan Gram dan secara biokimia yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (2005), karakterisasi yang dilakukan meliputi :

1 . Pengamatan secara Makroskopis Bakteri Endofit

Pengamatan makroskopis bakteri endofit dilakukan dengan mengamati morfologi dan pertumbuhan koloni. Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk koloni (*whole colony*) berupa titik-titik, bulat, berbenang, tak teratur, serupa akar, serupa kumpanan. Permukaan koloni (*elevation*) rata, timbul atau datar, melengkung, membukit, serupa kawah. Tepi koloni (*edge*) utuh, berombak berbelah bergerigi, berbenang, keriting. Warna koloni (*colour*) keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hamper bening (Mutmainnah, *et al*, 2008).

2. Pengamatan secara Mikroskopis Bakteri Endofit

Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri dan metabolisme sel bakteri. Pengamatan mikroskopis meliputi pewarnaan Gram. Untuk penentuan jenis bakteri dilanjutkan dengan serangkaian uji biokimia terhadap isolat yang diperoleh dengan berpedoman dengan pada buku *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*.

a. Pewarnaan Gram

Dibuat preparat ulas isolat bakteri endofit, kemudian difiksasi di atas pembakar spirtus. Diteteskan cat kristal violet dan didiamkan selama 1 menit. Sisa cat dicuci dengan air mengalir (kran) lalu ditetesi larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Dicuci dengan air mengalir (kran) kemudian ditambahkan larutan safranin, didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir, dikeringanginkan. Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Jika sel bakteri berwarna ungu berarti isolat bakteri endofit yang diisolasi termasuk gram positif tetapi jika sel bakteri berwarna merah berarti isolat bakteri endofit termasuk bakteri gram negatif.

c. Uji Biokimia

1. Uji pembentukan H₂S

Diinokulasikan kultur isolat bakteri endofit dengan jarum ose secara tusukan pada medium TSIA miring dan pada permukaan medium diinokulasikan secara goresan. Diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan uji H₂S ditunjukkan dengan terbentuknya endapan hitam yang berarti bakteri mampu menghasilkan senyawa desulfurase, selain itu dapat digunakan untuk mengamati fermentasi gula. Jika pada bagian bawah medium berwarna kuning sedang bagian atas berwarna merah berarti terjadi fermentasi glukosa. Jika baik pada bagian atas ataupun bawah medium berwarna kuning dan kadangkala disertai pembentukan gas berarti laktosa atau sukrosa atau keduanya difermentasikan. Dan jika seluruh medium berwarna merah berarti ketiga macam gula tidak difermentasikan.

2. Uji sitrat

Diinokulasikan satu ose kultur isolat bakteri pada medium *simmon's citrate* secara miring. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan uji sitrat dilakukan dengan mengamati perubahan warna dari hijau menjadi biru yang menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

3. Uji katalase

Satu ose kultur bakteri endofit diletakkan pada *object glass*. Ditambahkan 1 tetes 3% H₂O₂, amati perubahan yang terjadi . Jika terjadi gelembung udara berarti bakteri memiliki enzim katalase.

6. Uji motilitas

Satu ose kultur isolat bakteri endofit diinokulasikan pada media sulfit Indol Motility (SIM) dengan cara memasukkannya hingga setengah media pada tabung reaksi lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji positif ditunjukkan dengan adanya jejak pergerakan bakteri.

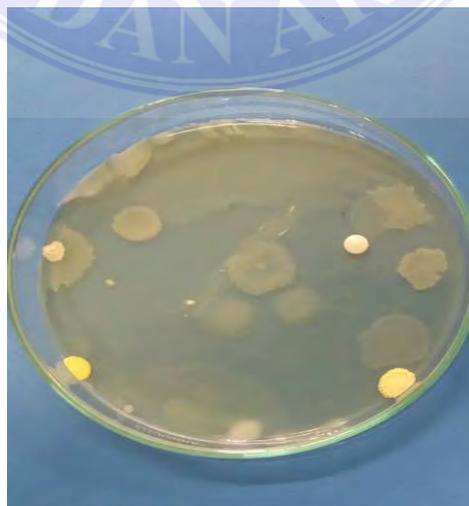
3.6 Analisis Data

Data diperoleh dengan cara mengumpulkan hasil dari semua pengamatan isolat dari proses isolasi serta mengukur diameter zona hambat yang terbentuk, pengumpulan data dilaksanakan sebagai berikut: mengamati isolat bakteri endofit, mengidentifikasi bakteri dilakukan dengan melihat sifat morfologi sel, morfologi koloni. Dari sifat-sifat tersebut dapat diidentifikasi bakteri endofit dengan buku panduan determinasi bakteri (Holt *et al*, 2000). Hasil keseluruhan data pengamatan dipaparkan secara deskripsidan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

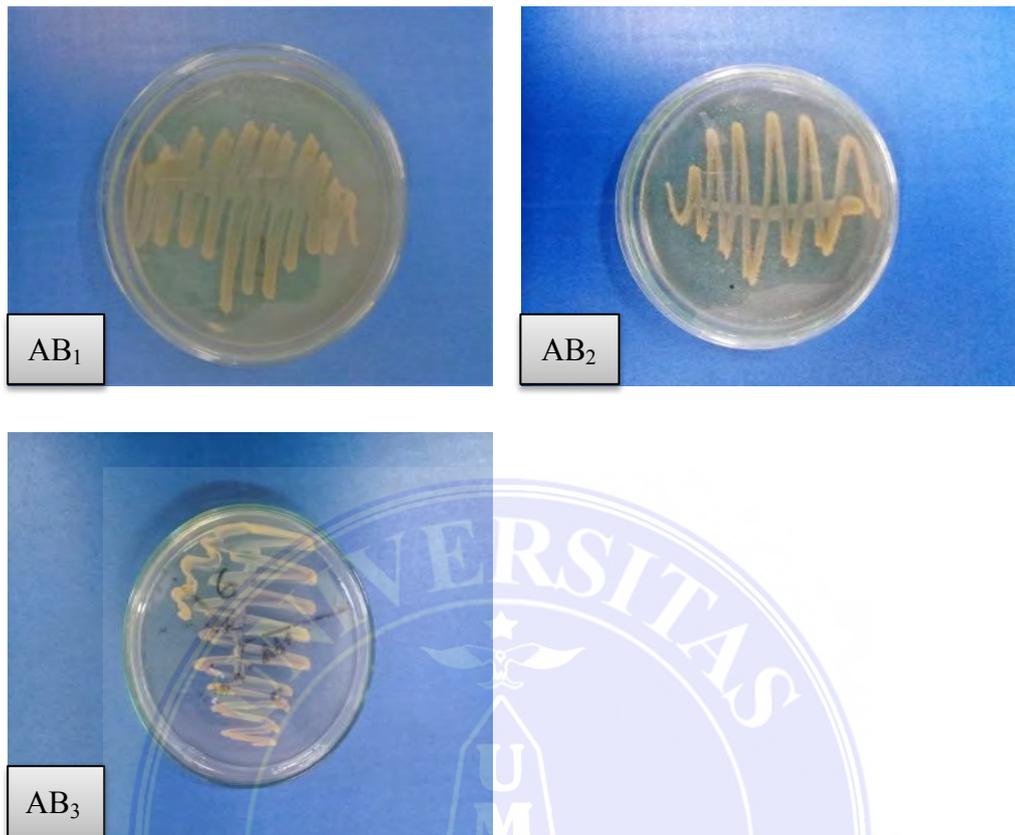
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Bawang Dayak

Isolasi bakteri endofit pada penelitian ini menggunakan akar tanaman bawang dayak. Media yang digunakan untuk isolasi adalah NA (*Nutrient Agar*). Proses isolasi dimulai dengan mencuci sampel dengan air mengalir (kran) hingga bersih, kemudian direndam di dalam larutan natrium hipoklorit 3% selama 2 menit, alkohol 70% 2 menit dan terakhir dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali. Akar yang telah steril dihaluskan dengan mortar dan setelah itu dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} . Kemudian diisolasi pada media NA dan di inkubasi selama 48 jam yang dengan suhu 37° . Berdasarkan hasil penelitian dilakukan dan berdasarkan hasil pengujian sifat morfologis secara makroskopis dan mikroskopis serta uji biokimia didapatkan 3 jenis isolat bakteri endofit dari akar tanaman bawang dayak yang tumbuh pada media NA. 3 jenis isolat bakteri endofit yang diperoleh tersebut diberi kode AB₁, AB₂ dan AB₃. Data hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Pertumbuhan Koloni Bakteri Endofit yang diisolasi dari Akar Tanaman Bawang Dayak



Gambar 3. Biakan murni bakteri endofit pada akar bawang dayak

Koloni bakteri yang berhasil diisolasi dari tanaman akar bawang dayak menunjukkan keragaman, baik dari segi warna dan bentuk. Hal ini sesuai dengan Bhore dan Shatisha (2010) yang menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah.

Ketiga isolat murni selanjutnya diamati karakteristik morfologi koloni dan selnya yang meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni, bentuk sel, uji biokimia dan sifat dinding sel (tipe gram). Menurut Cappucino dan Sherman (2001) karakterisasi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun

morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah diseleksi. Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel isolat bakteri endofit dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Endofit

| Pengamatan | Isolat | | |
|--------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
| | AB ₁ | AB ₂ | AB ₃ |
| Morfologi Koloni | | | |
| Bentuk koloni | bulat (<i>circular</i>) | bergerigi | bergerigi |
| Warna koloni | putih susu | kuning | putih |
| Elevasi koloni | cembung | <i>raised</i> | <i>flat</i> |
| Tepi koloni | rata | bergerigi | bergerigi |
| Morfologi Sel | | | |
| Pewarnaan gram | + | - | + |
| Bentuk sel | batang | batang | bulat |
| Uji Biokimia | | | |
| Katalase | - | - | - |
| Sitrat | - | + | - |
| + | | | |
| Gelatin | + | - | - |
| Motilitas | - | - | - |
| Fermentasi Karbohidrat : | | | |
| Glukosa | + | + | + |
| Laktosa | + | + | + |
| Sukrosa | + | + | + |
| Gas | - | - | - |
| H ₂ S | - | - | - |

Tabel 1. Diatas menunjukkan keragaman morfologi isolat bakteri endofit dari akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) baik koloni maupun selulernya. Koloni yang diperoleh berdasarkan data dari Tabel 1 di atas dapat kita ketahui bahwa bakteri endofit AB₁, AB₂ dan AB₃ memiliki ciri morfologi, yaitu bentuk koloni *circular* (bulat) dan bergerigi, warna koloni putih susu, kuning, putih,

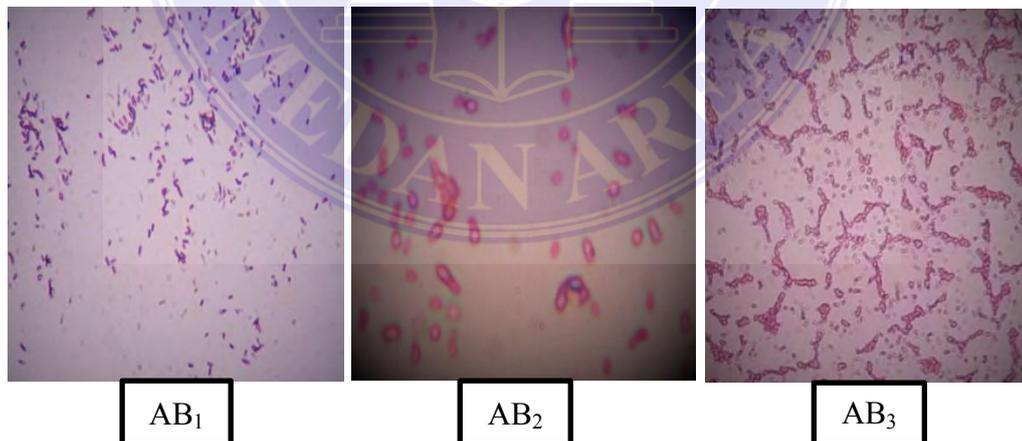
elevasi koloni *umbanate*, *raised* dan *flat* serta tepi koloni rata, bergerigi dan tak beraturan.

Dikatakan bakteri endofit jika warna pada permukaan koloni yaitu putih kekuningan atau putih kental seperti susu. Sselain itu bakteri endofit di cirikan dengan bentuk sel individu yang batang maupun bulat, serta bentuk koloni yang bulat, oval atau tidak beraturan. Bakteri endofit tergolong bakteri gram negatif atau positif (Pelczar, 1986).

4.2 Karakteristik Mikroskopis Bakteri Endofit

4.2.1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang telah diisolasi termasuk dalam kelompok gram positif atau gram negatif. Dari hasil ketiga jenis bakteri endofit hasil isolasi, terdapat 2 jenis bakteri endofit termasuk gram positif dan 1 gram negatif. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Pewarnaan gram isolat bakteri endofit dengan perbesaran 100x. AB₁ bentuk sel basil, AB₂ bentuk sel basil, AB₃ bentuk sel cocus.
(Sumber : Koleksi pribadi)

Menurut Lay (1994) menyatakan, perbedaan hasil pewarnaan disebabkan oleh adanya perbedaan struktur kedua kelompok bakteri sehingga terjadi

perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna penambahan larutan pemucat. Selain itu pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau tipisnya lapisan peptidoglikan di dinding sel dan banyak sedikitnya lapisan lemak pada membrane sel bakteri.

Prinsip pewarnaan gram adalah kemampuan dinding sel terhadap zat warna dasar (kristal violet) setelah pencucian alkohol. Bakteri gram positif terlihat berwarna ungu karena dinding selnya mengikat kristal violet lebih kuat, sedangkan sel gram negatif mengandung lebih banyak lipid sehingga pori-pori mudah membesar dan kristal violet mudah larut saat pencucian alkohol (Fardiaz, 1989).

Bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel. Lapisan terluar yaitu lipoposakarida (lipid) sehingga pada saat diwarnai dengan safranin akan berwarna merah setelah tercuci oleh alkohol. Bakteri gram positif memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Setelah dengan pewarnaan dengan kristal violet, pori-pori dinding sel menyempit akibat dekolonisasi oleh alkohol sehingga dinding sel tetap menahan warna biru atau ungu (Fitria, 2009).

4.2.2 Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit

Pada uji biokimia bakteri endofit meliputi uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), sitrat, motilitas, katalase dan hidrolisis gelatin. Uji katalase dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya enzim katalase pada bakteri. Pengujian ini menggunakan H_2O_2 karena H_2O_2 merupakan salah satu respirasi aerobik bakteri, dimana hasil respirasi tersebut justru dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena bersifat toksik bagi bakteri itu sendiri sehingga komponen ini harus dipecah agar tidak bersifat toksik lagi. Penguraian H_2O_2 dinyatakan positif bila menghasilkan gelembung udara dan dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk

gelembung udara (Koneman, 2006). Pada isolat AB₁, AB₂ dan AB₃ tidak mengalami perubahan setelah ditetesi H₂O₂ yaitu tidak terbentuknya gelembung .

Uji hidrolisis gelatin dilakukan untuk melihat apakah bakteri tersebut mempunyai enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin. Permukaan media yang telah diinokulasikan isolat bakteri AB₁ mengalami perubahan yaitu permukaan media mencair sementara AB₂ dan AB₃ tidak mengalami perubahan yaitu permukaan media tidak mencair. Hidrolisis gelatin terjadi karena bakteri menghasilkan gelatinase untuk menghidrolisis polimer protein, gelatin dan asam amino (Capuccino dan Sherman, 2001).

Uji TSIA digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat. Pada isolat AB₁, AB₂ dan AB₃ menunjukkan bakteri bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa yang mana pada dasar dan lereng media berwarna kuning (asam). Pada media TSIA dari ketiga isolat bakteri tersebut tidak ditemukannya H₂S dan gas. Media TSIA berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Glukosa berada di dasar (*butt*) media sedangkan laktosa dan sukrosa berada di bagian lereng (*slant*). Bila pada dasar media berwarna kuning (asam) dan lereng berwarna merah (basa) menunjukkan bahwa bakteri tersebut hanya memfermentasikan glukosa saja dan apabila pada dasar dan lereng media berwarna merah (basa) menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memfermentasi semua karbohidrat. Pada dasar dan lereng media berwarna kuning (asam) menunjukkan bakteri tersebut memfermentasikan semua karbohidrat sementara jika pada dasar media berwarna merah (basa) dan kuning (asam) pada lereng media maka bakteri tersebut memfermentasi laktosa dan

sukrosa. Media TSIA juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H₂S yaitu melihat apakah bakteri memfermentasi metionin dan sistein. Pada media TSIA terdapat asam amino metionin dan sistein, jika bakteri memfermentasi kedua asam amino ini maka gugus S akan keluar dan bergabung dengan H₂O membentuk H₂S. selanjutnya H₂S bergabung dengan Fe²⁺ membentuk FeS berwarna hitam dan mengendap (Buchanan, 2003).

Uji sitrat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Media yang dipakai adalah Simons sitrat, pada media tersebut berisi BTB (*Brom Tymol Blue*). Hasil positif terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang artinya bakteri menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon. Hasil negatif tidak mengalami perubahan warna dari hijau menjadi biru yang artinya bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Ratna, 2012). Pada AB₁ dan AB₃ mengalami perubahan warna dari hijau menjadi biru yang menunjukkan hasil positif. Sedangkan pada AB₂ tidak mengalami perubahan warna dari hijau menjadi biru. Hal ini menunjukkan hasil negatif uji sitrat untuk isolat AB₂.

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

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

1. Sebanyak 3 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman akar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.), yaitu dengan kode AB₁, AB₂, AB₃. Ketiga isolat bakteri endofit ini memiliki bentuk basil (batang) yang bersifat gram positif dan bentuk coccus (bulat)
2. Hasil uji biokimia menunjukkan isolat AB₁ menunjukkan pada uji katalase negatif, uji simons sitrat, indol dan motilitas negatif, memfermentasi gula (glukosa, laktosa dan sukrosa), menghidrolisis gelatin. Pada isolat AB₂ menunjukkan uji katalase negatif, uji simons sitrat, indol dan motilitas negatif, memfermentasi gula (glukosa, laktosa dan sukrosa), tidak menghidrolisis gelatin . Sedangkan, isolat AB₃ pada uji katalase negatif, uji simons sitrat dan motilitas negatif, tidak menghidrolisis gelatin memfermentasi gula (glukosa, laktosa dan sukrosa).
3. Dari ketiga isolat bakteri endofit dengan bentuk koloni bulat, bergerigi tidak beraturan, warna koloni putih susu, kuning, putih, tepi koloni rata bergerigi dan tidak beraturan, elevasi cembung, *rised* dan *flat*. Ketiga isolat yang diduga sebagai bakteri endofit tersebut merupakan genus dari *Bacillus* sp, *Actinobacillus* sp dan *Nitrosococcus* sp.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian selanjutnya yaitu :

1. Perlu dilakukan isolasi, identifikasi dan uji aktivitas bakteri endofit akar tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) terhadap bakteri patogen.
2. Skrining fitokimia isolat bakteri endofit yang potensial.



DAFTAR PUSTAKA

- Babula P, Mikelova R, Patesil D, Adam V, Kizek R, Havel L dan Sladky Z. 2005. *Determination of 1,4 naphthoquinone, lawson5, juglon and plumbgin by liquid chromathography with UV detection. Biomed paper* 149:25.
- Becker, C. A., Van den Brink, Jr, R. C. B, 1965. *Flora of Java*. Noordhoff Groningen, The Netherland.
- Becker, C. A., & Van den Brink, R. C. B., 1968. *Flora of Java (Spermatophytes only) vol II*. Groningan-The Netherlands: Wolters-Noordhoff.
- Bonang, G. & Koeswardono E.S., 1982, *Mikrobiologi Kedokteran, Untuk Laboratorium dan Klinik*, 135-137, Penerbit PT. Gramedia, Jakarta.
- Buchanan, RE. & Gibbons, NE. 2003. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams & Wilkins Company Baltimore. USA.
- Bhore, S.J., Satisha, G. 2010. *Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin Like Compounds: Crude Cell-Freebroth of Endophytic Colonizing Bacteria is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. World Journal of Agricultural SSciences.*, 6 (4): 345-352.
- Cappucino, James G. and Natalie Sherman. 2001. *Microbiology : A Laboratory Manual*, 6th Edition. Pearson Education Inc. San Fransisco. USA
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor : IPB
- Fitria, Bayu. 2009. *Pewarnaan Gram (Gram Positif dan Gram Negatif)*. Diaksespada tanggal 5 Mei 2013.
- Galingging, R.Y. 2007. *Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Sebagai tanaman Obat Multifungsi*. BPTP, Kalimantan Tengah.
- Galingging, R.Y., 2009, *Bawang Dayak Sebagai Tanaman Obat Multifungsi, Warta, Penelitian dan Pengembangan, Kalimantan Tengah, Volume 15(3)*.
- Hallman. J., & G. Berg. 2006. *Spectrum and Population Dynamics of Bacterial Root Endophytes. Microbial Roots Endophytes*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Holt, Krieg, Sneath, Stanley, and Williams, 2000, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*, Lippincot Williams & Wilkins, Phildelphia, 528.

- Hugo, W.B & Russel, A.D., 1987, *Pharmaceutical Microbiology*, 20-21, Blacwell Scientific Publication, Oxford.
- Irianto, dan Koes, 2013, *Mikrobiologi Medis (Medical Microbiology)* pp. 71-3, Penerbit Alfabeta, Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XX*, 128, 239, 240, Diterjemahkan oleh Nugroho, E., Maulany, R, F., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Jutono, Sudarsono, Hartadi, Suhadi, dan Susanto, 1980, *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi)*, Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta, 90-115.
- Kasahara, S. & S. Hemmi. 1995. *Medicinal Herbs Index in Indonesia*, 2nd ed. Jakarta: PT. EISAI.
- Kloppenburg dan Versteegh. 1988. *Petunjuk Lengkap Mengenai Tanam-tanaman di Indonesia dan Khasiatnya Sebagai Obat-obatan Tradisional*. Jilid I Bagian Botani. Yogyakarta: CD. RS. Bethesda Yogyakarta dan Andi Offset.
- Koneman, E.W. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkinns, USA.
- Kumala, S., Fransisca S, Priyo W. 2006. *Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (Cassia fistula L.)*. *Jurnal farmasi Indonesia* 3(2) : 97 – 102.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Rajawali Press. Jakarta
- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Medan: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Makkar, H. P. S., 2003. *Effect and Fate of Tannins in Ruminant Animals, Adaptation to Tannins, and Strategies to Overcome Detrimental Effects of Feeding Tannin-Rich Feeds*. *Small Ruminant Research*, 49: 241-256
- Mutmairah, S. 2008. *Pengaruh Penerapan Metode Pembelajaran Kooperatif Berbasis Kasus yang Berpusat Pada Mahasiswa Terhadap Efektivitas Pembelajaran dan Keperilakuan* 11. Pontianak
- Mudihardi E, Kuntaman, WasitoEB et al. Jakarta: Salemba Medika, 2005 : 317-27

- Nur, A. M. 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. Skripsi. IPB. Bogor.
- Nursuliyarini, Fenni dan Erny Qurotul Ainy. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (*Andera cordifolia*). Seminar nasional XI Pendidikan Biologi. FKIP UNS
- Patel, Jay M. 2008. *A Review of Potential Health Benefits of Flavonoids*. *Lethbridge Undergraduate Research Journal* 3(2)
- Prasetyoputri, A., I. Atmosukarto. 2006. Mikroba Endofit. *Bio Trends: Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI. Cibinong*. 1(2): 113-126.
- Prida Oesman, dkk. 2010. *Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of Cebera Odollam*. Vol. 10
- Pelczar, M.J & E.C.S Chan, 1986, Dasar-Dasar Mikrobiologi, hal 131- 154, Diterjemahkan oleh Ratnasari, dkk, Edisi I, UI Press, Jakarta.
- Radji, M., 2005, Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3, 113-126.
- Ratna, Siri. 2013. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. PT. Gramedia, Jakarta.
- Robinson T. 1995. Karakteristik *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Usakti*. 29-30(10) : 112-5
- Setiawati MR, Dedeh HA, Pujawati S, dan Ridha H. 2009. Formulasi Produk Hayati Bakteri Endofitik Penambat N₂ dan Aplikasinya Untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi. Fakultas Pertanian UNPAD. Bandung.
- Sirait M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung : Institut Teknologi Bandung (Hlm. 55-69; 93-122; 131-133; 147-148)
- Solomon-Wisdom, G., Ugoh, S., & Mohammed , B. (2014). *Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of Annona muricata (L) Leaf Extract*. *American Journal Biology Chemistry Pharmaceutical Science* 2(1), 1-7.
- Strobel, G. A., & Daisy, B., 2003, *Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products*, *Microbiol. And Mol. Biology Rev.* 67 (4): 491-502.

Tan, R. X., & W. X. Zou, 2001, *Endophytes : a Rich Source of Functional Metabolites*, *The Royal Society of Chemistry*, Available from www.NaturalProduct.com, Diakses pada 24 Februari 2006.

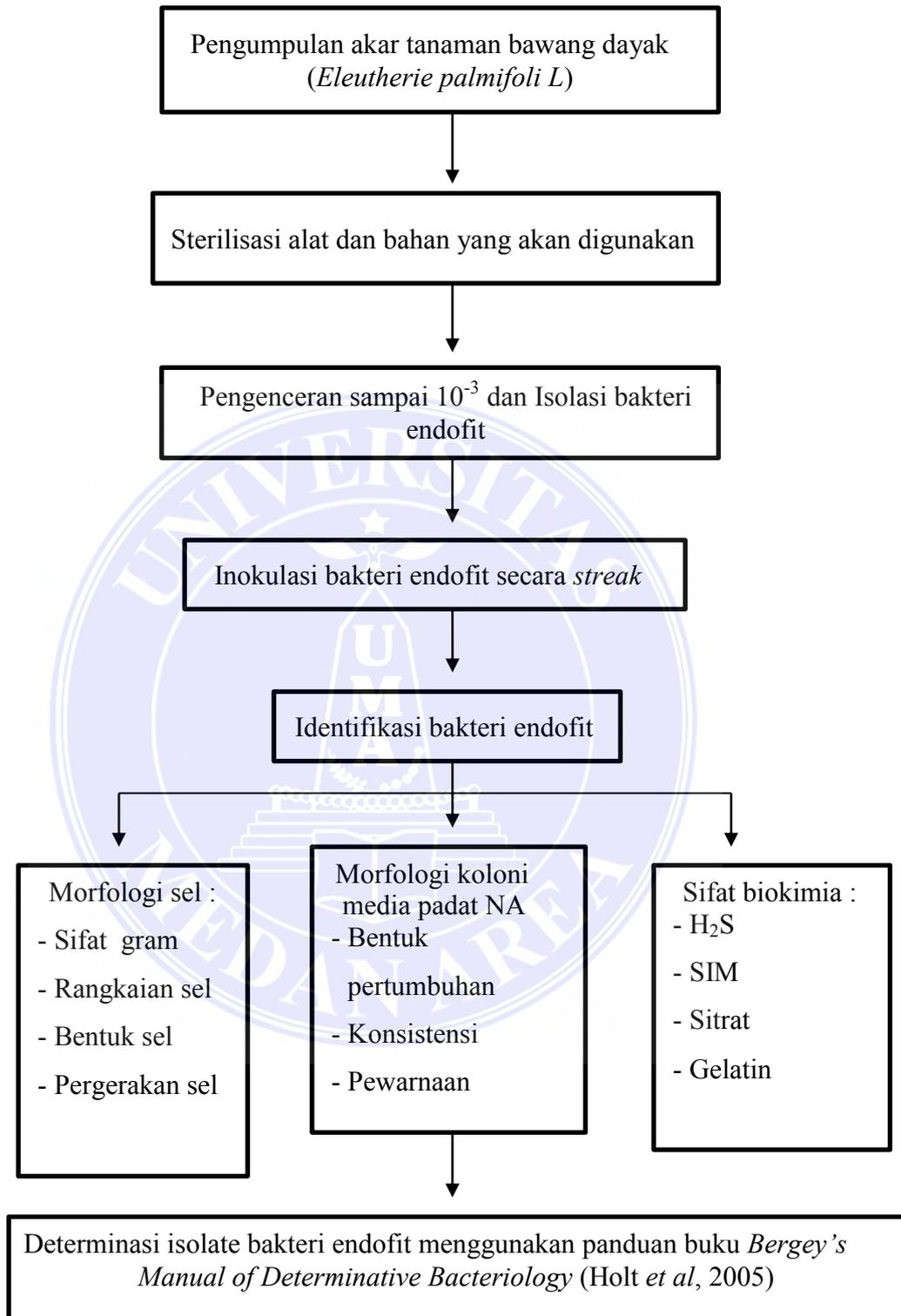
Tjitrosoepomo, Gembong. 1989. *Tasonomi Tumbuhan*. Yogyakarta : UGM

Usuki F dan Narasiwa K. 2007. *A mutualistic Symbiosis between a Dark Septate Endophytic Fungus, Heteroconium chaetospira, and a Nonmycorhizal Plant, Chinese Cabbage*. *Mycologia*, 99(2) : 175-184

Yurnaliza, Mustika Wildasari Siregar, dan Nunuk Priyani. 2014. *Peran Bakteri Endofit Penghasil IAA (Indole Acetid Acid) Terseleksi Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi (Oryza sativa L.)*.



Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Uji Biokimia



Uji TSIA, SIM, *Cimmons citrate*, Gelatin



Uji TSIA, SIM, *Cimmons citrate*, Gelatin



Uji TSIA, *Cimmons citrate*, SIM, Gelatin



Uji katalase

Lampiran 3. Alat dan Bahan Penelitian



Erlenmeyer



Inkubator



Tabung reaksi



Timbangan analitik



Mikroskop



Autoklaf

Lampiran 5. Tabel Hasil Identifikasi Bakteri Endofit

Tabel 1

Kode Isolat : AB1

Genus : *Bacillus*

| No. | Uji Biokimia | Hasil |
|-----|------------------|-------|
| 1. | Laktosa | + |
| 2. | Oksidasi | - |
| 3. | Motility | - |
| 4. | Glukosa | + |
| 5. | Sukrosa | + |
| 6. | Common Citrat | - |
| 7. | H ₂ S | - |
| 8. | Gelatin | + |
| 9. | Katalase | - |

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Tabel 2

Kode Isolat : AB2

Genus : *Actinobacillus*

| No. | Uji Biokimia | Hasil |
|-----|------------------|-------|
| 1. | Laktosa | + |
| 2. | Oksidasi | - |
| 3. | Motility | - |
| 4. | Glukosa | + |
| 5. | Sukrosa | + |
| 6. | Cimmon Citrat | + |
| 7. | H ₂ S | - |
| 8. | Gelatin | - |
| 9. | Katalase | - |

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Tabel 3

Kode Isolat : AB3

Genus : *Actinobacillus*

| No. | Uji Biokimia | Hasil |
|-----|------------------|-------|
| 1. | Laktosa | + |
| 2. | Oksidasi | - |
| 3. | Motility | - |
| 4. | Glukosa | + |
| 5. | Sukrosa | + |
| 6. | Cimmon Citrat | + |
| 7. | H ₂ S | - |
| 8. | Gelatin | - |
| 9. | Katalase | - |

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif