

**PENAPISAN CENDAWAN ENDOFIT SIRIH (PIPER BETLE)
DAN UJI ANTAGONISNYA TERHADAP PSEUDOMONAS
AERUGINOSA, PROPIONIBACTERIUM ACNES DAN
STREPTOCOCCUS MUTANS**

SKRIPSI

**Oleh :
FITRI REZEKI
178700032**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2019**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 12/6/26

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

**PENAPISAN CENDAWAN ENDOFIT SIRIH (PIPER BETLE)
DAN UJI ANTAGONISNYA TERHADAP PSEUDOMONAS
AERUGINOSA, PROPIONIBACTERIUM ACNES DAN
STREPTOCOCCUS MUTANS**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana di Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Medan Area*



Oleh :

FITRI REZEKI

178700032

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2019**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 12/6/26

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)12/6/26

Judul Skripsi : Penapisan Cendawan Endofit Sirih (Piper Betle) Dan Uji Antagonisnya Terhadap Pseudomonas Aeruginosa , Propionibacterium Acnes Dan Streptococcus Mutans

Nama : Fitri Rezeki

NPM : 178700032

Prodi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Disetujui Oleh

Komisi Pembimbing

UB.


Dr. Kiki Nurtjahja, M.Sc

Pembimbing I


Rahmiati, S.Si., M.Si

Pembimbing II




Dr. Syahbudin Hasibuan, M.Si

Dekan




Rahmiati, S.Si., M.Si

Ka. Prodi

HALAMAN PERNYATAAN

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

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



Medan, 13 April 2019



Fitri Rezeki

178700032

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR/SKRIPSI/TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai Civitas Akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Fitri Rezeki
NPM : 178700032
Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenis Karya : Skripsi


Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Noneklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul Penapisan Cendawan Endofit Sirih dan Uji Antagonisnya Terhadap *Pseudomonas Aeruginosa*, *Propionibacterium Acnes* dan *Streptococcus Muntas* di Laboratorium USU Medan.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan), Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, megalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (databesa), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir/skripsi/tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebgagai pemilik Hak Cipta, Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya,

Dibuat: Universitas Medan Area

Pada tanggal : 13 April 2019

Yang menyatakan,



(Fitri Rezeki)

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, pada tanggal 09 April 1992 dari ayah DRS H M KIFRAWI MA dan ibu HJ TJUT SYAHRIANI SH. Penulis merupakan anak ke Empat dari 5 bersaudara. Penulis menempuh pendidikan sekolah Dasar (SD) di Nur Hasanah medan pada tahun 2004, dan masuk Menengah Pertama (SMP) di MTSN 1 Medan pada tahun 2007 dan penulis masuk sekolah Menengah Atas (SMA) di MAN 1 Medan pada tahun 2010 dan penulis masuk sebagai Mahasiwa di UNIVERSITAS MEDAN AREA medan Program Studi Biologi tamat pada tahun 2019.



ABSTRAK

Cendawan endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa merugikan tanaman inangnya. Cendawan endofit dapat ditemukan pada berbagai tumbuhan termasuk tanaman obat dan diketahui dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti antibakteri. Penelitian ini bertujuan Mengetahui keberadaan jamur endofit pada jaringan daun sirih (*P.betteL.*), dan untuk mengetahui kemampuan metabolit sekunder jamur endofit dari jaringan daun sirih (*P.betteL.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri streptococcus mutans, propioni bacterium acnes dan pseudomonas aeruginosa. Isolasi jamur endofit dilakukan dengan mengamati dibawah mikroskop dan makroskopis untuk menentukan cendawan yang tumbuh. Uji antagonis cendawan endofit dengan bakteri patogen di lakukan dengan menggunakan media PDA yang diamati Selama 5 hari dengan menggunakan cookburer dan diantagoniskan terhadap cendawan dengan bakteri *Trichodermsp* dengan *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* dengan *Streptococcusmutans*, *Aspergillusniger* dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Setelah itu mengamati adanya zona bening dan zona hambat dengan menggunakan jangkas orong.

Kata kunci: antibakteri, cendawanendofit, identifikasi, tanamanobat.

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that live in plant tissues without harming their host plants. Endophytic fungi can be found in various plants including medicinal plants and are known to produce various bioactive compounds such as antibacterials. This study aims to determine the presence of endophytic fungi in the betel leaf tissue (*P. betle*L.), And to determine the ability of secondary endophytic fungi metabolites from betel leaf tissue (*P. betle*L.) As antimicrobials against the bacteria *Streptococcus mutans*, *propioni acnes* bacterium and *pseudomonas aeruginosa*. Endophytic fungal isolation is carried out by observing under a microscope and macroscopically to determine which fungus grows. The endophytic antagonist test with pathogenic bacteria was carried out using PDA media which was observed for 5 days by using the cookburer and antagonized to the fungus with *Trichoderm* sp bacteria with *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* with *Streptococcus mutans*, *Aspergillus niger* with *Pseudomonas aeruginosa*. After that, observe the presence of clear zones and inhibition zones by using calipers.

Keywords: antibacterial, endophytic fungi, identification, medicinal plants.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam tak lupa penulis sampaikan keharibaan junjungana Nabi Besar Muhammad SAW yang membuka mata hati dari alam kegelapan ke alam yang penuh rahmat dan dihiasi dengan ilmu pengetahuan.

Skripsi ini berjudul “Penapisan cendawan endofit sirih (*Piper betle*) dan uji antagonisnya terhadap *Streptococcus mutans*, *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa*” yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada program studi Biologi Fakultas Biologi Universitas Medan Area. Skripsi ini tidak lepas dari bantuan serta dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih banyak kepada Bapak Dr. Kiki Nurtjahja M.Sc. selaku anggota Komisi Pembimbing I yang telah membimbing dan memperhatikan selama masa penyusunan skripsi ini, Ibu Rahmiati S.Si M.Si. selaku anggota Komisi Pembimbing II yang telah membimbing dan memperhatikan selama masa penyusunan skripsi ini Ayah dan ibunda rekan-rekan mahasiswa yang telah banyak membantu.

Medan , 13 April 2019



Fitri Rezeki

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	
2.1. Tanaman Sirih (Piper betle L.).....	5
2.1.1. Manfaat dan Kandungan Kimia	6
2.2. Fungi Endofit	10
2.2.1. Produksi Senyawa Antibiotika Oleh Fungi Endofit.....	12
2.2.2. Potensi Mikroba Endofit.....	13
2.2.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba	16
2.2.4. Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba	19
2.3. Streptococcus mutans	21
2.4. Propionibacterium acnes.....	22
2.5. Pseudomonas aeruginosa	23
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.2. Prosedur Penelitian	24
3.2.1. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih.....	24
3.2.2. Isolat Jamur Endofit	25
3.2.3. Identifikasi Isolat Jamur Endofit.....	25
3.2.4. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba	25
a. Produktifitas Metabolit Antimikroba.....	25
b. Uji Antimikroba Terhadap Streptococcus mutans, Propionibacterium acnes dan Pseudomonas aeruginosa.....	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (Piper betle L).....	27
4.2 Identifikasi Isolatb Jamur Endofit	30
4.3 Seleksi JAmur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Diskripsi Bentuk dan Warna Koloni Isolat Jamur Endofit	28
Tabel 4.2 Rata-rata Diameter Zona Hambat Metabolit Endofit	35



DAFTAR GAMBAR

Lampiran 1. Sample Tanaman Piper betle L	38
Lampiran 2. Alat-alat Penelitian	39



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian Keyes tahun 1960; Fitzgerald dan Keyes tahun 1960 pada binatang bebas kuman memperlihatkan bahwa plak yang didominasi oleh kuman *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* menyebabkan terbentuknya karies (Kidd dan Joyston, 1992).

Sedangkan bahan anti kuman yang digunakan berupa bahan kimiawi seperti pasta gigi yang telah dijual secara luas maupun bahan-bahan alami seperti pasta gigi yang mengandung ekstrak daun sirih (Sasmita *et. al.*, 2006). Namun beberapa penelitian menemukan bahwa bahan kimia yang terkandung dalam pasta gigi mengandung bahan yang berbahaya bagi kesehatan seperti *fluoride* dan *DEG* (*Diethylene Glycol*). Efek biologis dari *fluoride* dalam buku *fluoride the aging factor* karangan Dr. John Yiamouyiannis antara lain menyebabkan fluorosis (keropos gigi), kerusakan gigi yang pada stadium lanjut gigi menjadi bergaris-garis gelap dan terlihat seperti lubang dan gigi yang tanggal, penurunan kecerdasan pada anak, penuaan dini, aborsi spontan, tulang rapuh, dan kanker. Sedangkan kerusakan akibat keracunan DEG diawali dengan gagal ginjal, paralisis saraf yang mengakibatkan gagal nafas dan akhirnya meninggal dunia (Turner, 2007; CDC, 2002).

Jenis tumbuhan yang telah lama digunakan masyarakat Indonesia untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut adalah daun sirih. Kandungan kimianya bersifat antiseptik karena daun sirih mengandung minyak atsiri.

Dayaantibakteri minyak atsiri daun sirih disebabkan kandungan senyawa fenol danturunannya yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri. Heyne (1987)menyebutkan, komponen utama minyak atsiri terdiri dari fenol dan senyawaturunannya, salah satunya adalah kavikol yang memiliki daya bakterisida limakali lebih kuat dibandingkan fenol (Hasim, 2003).

Propionibacterium acnes adalah bakterigram positif dan anaerobik yang lambat pertumbuhannya dan dianggap sebagai salah satu pemicu jerawat pada manusia. Bakteri ini juga dapat memicu blefaritis dan endoftalmitis. Genom bakteri ini telah diurutkan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa gen bakteri ini dapat menghasilkan enzim yang mungkin bersifat imunogenik (mengaktifkan sistem kekebalan tubuh) (Gottschalk, G (2004).

Bakteri ini memiliki hubungan komensalisme dengan manusia dan merupakan salah satu bakteri yang ada di kulit manusia. Bakteri ini dapat bertahan hidup dengan memanfaatkan asam lemak dalam sebum yang dikeluarkan oleh kelenjar minyak di folikel. Bakteri ini juga dapat ditemui di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan-hewan lainnya.

Nama ilmiah bakteri ini mengacu kepada kemampuannya dalam menghasilkan asam propionik. Bakteri *P. acnes* hidup di dalam folikel dan kelenjar keringat yang jauh dari permukaan kulit. Di folikel tersebut, bakteri *P. acnes* menggunakan sebum, sisa-sisa sel yang sudah mati dan produk sampingan metabolik dari jaringan kulit di sekitar sebagai sumber energi utama mereka. Peningkatan produksi sebum yang dipicu oleh kelenjar minyak yang

terlalu aktif atau penyumbatan folikel dapat melipatgandakan jumlah bakteri *P. Acnes*.

Bakteri *P. acnes* mengeluarkan banyak protein, termasuk beberapa enzim pencernaan. Enzim-enzim ini digunakan untuk mencerna sebum dan memperoleh nutrisi lainnya. Enzim ini juga dapat mendestabilisasi lapisan sel yang membentuk dinding folikel David H. (2004).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0 μm . Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan tidak dapat menfermentasikan karbohidrat. Pada uji biokimia, bakteri ini menghasilkan dampak positif pada uji indol, Merah Metil, dan Voges-Proskauer. Bakteri ini secara luas dapat ditemukan di alam, contohnya di tanah, air, tanaman, dan hewan. *P. aeruginosa* adalah patogen oportunistik. Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi pneumonia nosokomial.

Ketika bakteri ini ditumbuhkan pada media yang sesuai, bakteri ini akan menghasilkan pigmen nonfluoresen berwarna kebiruan, piosianin. Beberapa strain *Pseudomonas* juga mampu menghasilkan pigmen fluoresen berwarna hijau, yaitu pioverdin. bakteri ini juga sering digunakan untuk mendegradasi zat - zat pestisida N.; Li, H. (2014).

1.2 Rumusan Masalah

Pemanfaatan senyawa antimikrob yang diperoleh dari ekstrak tanaman memerlukan biomasa yang besar yang dapat mengganggu kelestarian tumbuhan. Pemanfaatan mikrob endofit dapat menjaga kelestarian tumbuhan selain dapat dihasilkan senyawa dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat.

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui keberadaan jamur endofit pada jaringan daun sirih (*P.betleL.*), dan untuk mengetahui kemampuan metabolit skunder jamur endofit dari jaringan daun sirih (*P.betleL.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri streptococcus mutans, propioni bacterium acnes dan pseudomonas aeruginosa.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang adanya jamur endofit pada jaringan daun sirih (*Piper betle*), yang dapat dipakai sebagai antimikrob menggantikan antimikrob yang diekstrak dari tumbuhan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirih (*Piper betle*L.)

Sirih (*Piper betle* L.) adalah tanaman tumbuh di hampir semua tempat di Indonesia tanaman sirih memiliki namamisalnya ranub (Aceh), belo (Batak Karo), demban (Batak Toba), lahina atautawuo (Nias), sireh, sirih (Palembang), suruh, sirih (Minang), canbai (Lampung), seureuh (Sunda). Namun, nama yang paling umum adalah sirih (Suriawiria, 2006).

Daun sirih mempunyai bau yang khas aromatik, rasanya agak pedas. Daunnya berbentuk bulat telur, adapula yang bulat telur memanjang, berujung runcing, pangkal daun berbentuk jantung yang kadang-kadang tidak setangkup. Permukaan daun berwarna hijau tua, hijau muda agak kekuning-kuningan. Panjangnya sekitar 5-18 cm dan lebar 2-20 cm (Kartasapoetra, 1992).

Tanaman sirih bisa mencapai tinggi 15 m. Batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, beruas dan merupakan tempat keluarnya akar. Bunganya majemuk berbentuk bulir dan terdapat daun pelindung \pm 1 mm berbentuk bulat panjang. Pada bulir jantan panjangnya sekitar 1,5-3 cm dan terdapat dua benang sari yang pendek, sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 1,5-6 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Buahnya buah buni berbentuk bulat berwarna hijau keabu-abuan. Akarnya tunggang, bulat dan berwarna coklat kekuningan (Suriawiria, 2006).

2.1.1 Manfaat dan Kandungan Kimia Daun Sirih

Hingga kini, penelitian tentang tanaman ini masih terus dikembangkan. Daun sirih telah berabad-abad dikenal oleh nenek moyang kita sebagai tanaman obat berkhasiat. Tanaman ini mengandung zat antiseptik yang mampu membunuh kuman. Kandungan *fenol* dalam sifat antiseptiknya lima kali lebih efektif dibandingkan dengan *fenol* biasa (Triarsari,2007).

Daun dapat digunakan sebagai obat batuk, bronchitis, gangguan lambung, rematik, menghilangkan bau badan, keputihan, dan sebagainya. Rebusan daun sirih dipakai sebagai obat sariawan, pelancar dahak, pencuci luka, obat gatal-gatal, obat sakit perut yang melilit, obat jantung, menghentikan pendarahan (Suriawiria,2006).

Zat antiseptik di dalam sirih dapat digunakan sebagai obat kumur dan menjaga kesehatan alat kelamin wanita. Sirih juga umum digunakan untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng, serta mengobati keputihan pada wanita. Daun sirih juga dapat memperbanyak keluarnya air susu ibu (ASI) untuk ibu yang baru melahirkan dengan banyak meminum air rebusan daun sirih (Suriawiria, 2006).

Nurswida (2002) membuktikan bahwa dekok sirih pada konsentrasi 7,5 % dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Efek hambat dekok sirih terhadap pertumbuhan *C. albicans* disebabkan komponen derivat *fenol*, seperti *eugenol*, *iseugenol*, *allypyrocatechol*, *chavichol*, *safrole*, *anethole*, *cavibetol*, *carvacrol*, *betlefenol*. *Fenol* adalah denaturan protein yang

poten. Mekanisme kerja *phenolic* melalui perusakan membran plasma, inaktivasi enzim dan denaturasi protein. Disini fenol BI berkaitan dengan membran yang ergosterol akan merusak membran tersebut sehingga jamur akan mati.

Dalam daun sirih 100 gram terdapat kandungan: air 85,4 mg; protein 3,1 mg; karbohidrat 6,1 mg; serat 2,3 mg; yodium 3,4 mg; mineral 2,3 mg; kalsium 230 mg; fosfor 40 mg; besi ion 3,5 mg; karoten (vitamin A) 9600 iu, kalium nitrat 0,26–0,42 mg; tiamin 70 mg; riboflavin 30 mg; asam nikotinal 0,7 mg; vitamin C 5 mg; kanji 1,0–1,2%; gula non reduksi 0,6–2,5%; gula reduksi 1,4–3,2%. Sedangkan minyak atsirinya terdiri dari: *alil katekol* 2,7–4,6%; *kadinen* 6,7–9,1%; *karvakol* 2,2–4,8%; *kariofilen* 6,2–11,9%; *kavibetol* 0,0–1,2%; *kavikol* 5,1–8,2%; *sineol* 3,6–6,2%; *eugenol* 26,8–42,5%; *eugenol metil eter* 26,8–15,58%; *pirokatekin* (Agustin, 2005). Sedangkan menurut Kartasapoetra (1992) komponen di dalam daun sirih meliputi minyak atsiri sampai 4,2% yang di dalamnya terdapat fenol yang khas disebut betelfenol, khavikol, diastase, zat penyamak, gula dan pati.

Minyak atsiri merupakan senyawa terpenoid. Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Kadang-kadang minyak atsiri terdapat di dalam sel kelenjar khusus pada permukaan daun (Harborne, 1987). Sifat fisik terpenting minyak atsiri adalah sangat mudah menguap pada suhu kamar dan larut dalam lemak. Famili tumbuhan Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Myristicaceae, Astereaceae, Apocynaceae, Umbeliferae, Pinaceae, Rosaceae dan Labiatae adalah famili tumbuhan yang sangat populer sebagai penghasil minyak atsiri (Agusta, 2000).

Fungsi minyak atsiri yang paling luas dan paling umum diminati adalah sebagai pengharum, baik itu sebagai parfum untuk tubuh, kosmetik, pengharum ruangan, pengharum sabun, pasta gigi, pemberi citra rasa pada makanan maupun produk rumah tangga lainnya (Agusta, 2000).

Kebanyakan minyak atsiri bersifat sebagai antibakteri dan antijamur yang kuat. Minyak atsiri daun sirih (*P. betle* L.) merupakan salah satu minyak atsiri yang bersifat antibakteri. Minyak ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri merugikan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* dan *Pasteurella* (Agusta, 2000).

Setiap tanaman memiliki senyawa aktif yang berbeda satu sama lain. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan. Menurut Kartasapoetra (1989) faktor yang mempengaruhi sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan antara lain adalah sebagai berikut:

a. Faktor Genetik

Faktor ini menyesuaikan sifat hasil tanaman yang mana sifat ini merupakan sifat bawaan dari induk tanamannya, seperti rasa, bau, komposisi kimiawi, nilai gizi dan termasuk kemampuan produksinya. Tanaman jenis unggul dapat memberikan produk lebih baik dan banyak dari jenis tanaman tidak unggul.

b. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan merupakan faktor luar dari tanaman yang juga banyak berpengaruh terhadap sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan. Faktor lingkungan/faktor luar ini dapat dikatakan pula faktor lingkungan hidup seperti:

1. Sinar Matahari

Sinar matahari banyak berpengaruh pada pembentukan zat makanan dalam jaringan tanaman, melalui fotosintesis misalnya pembentukan zat makanan dalam jaringan tanaman itu akan sangat terbantu. Hasil penelitian menyatakan bahwa banyak atau sedikitnya sinar matahari yang diterima tanaman akan mempengaruhi pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan dan sifat hasil tanamannya. Sebagai contoh misalnya pada buah yang tanamannya banyak menerima sinar matahari kandungan vitamin C-nya akan lebih tinggi dibanding dengan buah yang tanamannya kurang memperoleh sinar matahari.

2. Temperatur

Bagi tanaman, temperatur lingkungan yang optimum merupakan faktor yang penting karena berpengaruh terhadap produksi hasil-hasil tanamannya (pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan). Hasil tanaman yang tumbuh baik pada kondisi temperatur yang cocok akan sangat berbeda dengan hasil tanaman yang tumbuh pada temperatur yang tidak cocok.

3. Musim

Musim juga sangat berpengaruh terhadap produksi hasil-hasil tanamannya (pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan). Hasil tanaman yang tanamannya biasa tumbuh pada musim kering yang panas akan mengandung zat makanan lebih tinggi.

4. Tempat/Daerah Pertumbuhan

Tempat/daerah pertumbuhan merupakan faktor geografis yang kaitannya sangat erat dengan macam atau sifat tanahnya. Mutu hasil tanaman yang

tanahnya merupakan tanah lempung akan berbeda dengan mutu hasil tanaman Fitri Rezeki - Penapisan Cenda Wan Endofit Sirih (Piper Betle) dan sejenis yang tumbuh pada ketinggian yang sama yang tanahnya merupakan tanah berkapur.

5. ZatMakanan

Zat makanan atau pupuk juga merupakan faktor yang dapat meningkatkan hasil tanaman. Pemupukan dengan dosis yang memadai dimaksudkan agar zat makanan cukup tersedia bagi pertumbuhan tanaman. Tanaman yang tumbuh pada lahan yang

kurang kandungan zat makanan maka menyebabkan tanaman tersebut akan tumbuh kerdil, sedangkan keadaan tersebut akan mengurangi sifat dan mutu hasil tanaman.

c. Faktor Tingkat Kemasakan

Perbedaan tingkat kemasakan sangat berpengaruh pada zat-zat penyusun yang terkandung, tekstur dan warna hasil tanaman. Hasil penelitian menyatakan bahwa dengan makin masakny hasil tanaman, maka kandungan zat tepung, zat gulanya makin meningkat pula, sedangkan kandungan vitamin C pada umumnya menurun kecuali pada buah/hasil tanaman seperti tomat, mangga, asparagus, anggur, apel dan sebagainya.

2.2 Fungsi Endofit

Fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Fungi ini

menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzimserta antibiotika (Carrol, 1988; Clay, 1988 dalam Worang, 2003). Tan et al., (2001) dalam Radji (2005) menambahkan bahwa setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau trasfer genetik (genetic recombination) dari tanaman inangnya ke dalam mikrobaendofit.

Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan inangnya, oleh Carrol (1988) dalam Worang (2003) digolongkan dalam dua kelompok, yaitu mutualisme konstitutif dan induktif. Mutualisme konstitutif merupakan asosiasi yang erat antara fungi dengan tumbuhan terutama rumput-rumputan. Pada kelompok ini fungi endofit menginfeksi ovula (benih) inang, dan penyebarannya melalui benih serta organ penyerbukan inang. Mutualisme induktif adalah asosiasi antara fungi dengan tumbuhan inang, yang penyebarannya terjadi secara bebas melalui air dan udara. Jenis ini hanya menginfeksi bagian vegetatif inang dan seringkali berada dalam keadaan metabolisme inaktif pada periode yang cukup lama.

Ditinjau dari sisi taksonomi dan ekologi, fungi ini merupakan organisme yang sangat heterogen. Petrini *et al.* (1992) dalam Worang (2003) menggolongkan fungi endofit dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina. Keragaman pada jasad ini cukup besar seperti pada Loculoascomycetes, Discomycetes, dan Pyrenomycetes. Strobell *et al.* (1996) dalam Worang (2003), mengemukakan bahwa fungi endofit meliputi genus *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Monochaetia*, dan lain-lain.

Clay (1988) dalam Worang (2003) melaporkan, bahwa fungi endofit dimasukkan dalam famili *Balansiae* yang terdiri dari 5 genus yaitu *Atkinsonella*, *Balansiae*, *Balansiopsis*, *Epichloe* dan *Myriogenospora*. Genus *Balansiae* umumnya dapat menginfeksi tumbuhan tahunan dan hidup secara simbiosis mutualistik dengan tumbuhan inangnya. Dalam simbiosis ini, fungi dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis serta melindungi tumbuhan inang dari serangan penyakit, dan hasil dari fotosintesis dapat digunakan oleh fungi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. (Bacon, 1991; Petrini *et al.*, 1992; Rao, 1994 dalam Worang, 2003).

2.2.1 Produksi Senyawa Antibiotika oleh Fungi Endofit

Banyak kelompok fungi endofit yang mampu memproduksi senyawa antibiotika yang aktif melawan bakteri maupun fungi patogenik terhadap manusia, hewan dan tumbuhan, terutama dari genus *Coniothirum* dan *Microsphaeropsis* (Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang, 2003). Penelitian Dreyfuss *et al.* (1986) dalam Worang (2003), menunjukkan aktivitas yang tinggi dari penisilin N, sporiofungin A, B, serta C yang dihasilkan oleh isolat-isolat endofit *Pleurophomopsis* sp. dan *Cryptosporiopsis* sp. yang diisolasi dari tumbuhan *Cardamin heptaphylla* Schulz.

Penelitian Brunner dan Petrini (1992) yang melakukan seleksi pada lebih dari 80 spora fungi endofit, hasilnya menunjukkan bahwa 75% fungi endofit mampu menghasilkan antibiotika. Fungi endofit *Xylotropik*, suatu kelompok fungi yang berasosiasi dengan tumbuhan berkayu, juga merupakan penghasil

metabolitsekunder. Pada suatu studi perbandingan yang dilakukan terhadap berbagai fungi, lebih dari 49% isolat *Xylotropik* yang diuji menunjukkan aktivitas antibiotika, sedangkan fungi pembandingnya hanya 28% (Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang 2003).

Fungi endofit juga mampu menghasilkan siklosporin A, yang berpotensi sebagai antifungal dan bahan immunosupresif (Borel *et al.*, 1976; Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang, 2003). Siklosporin dihasilkan oleh strain *Acremonium luzulae* (Fuckel) W.Gams, yang diisolasi dari buah strawberry (Moussaif *et al.*, 1977 dalam Worang, 2003). Senyawa antibiotika lainnya seperti sefalosporin mulanya dihasilkan oleh satu strain *Cephalosporium* dan *Emericellopsis* (*Acremonium*). Selanjutnya juga ditemukan pada fungi *Anixiopsis*, *Arachnomyces*, *Diheterospora*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis* dan *Spiroidium* (Morin, 1982 dalam Worang, 2003).

2.2.2 Potensi Mikroba Endofit

Mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi/jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan aktinomisetes. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibiotik disebabkan oleh aktivitasnya yang besar dalam membunuh mikroba-mikroba patogen. Disamping mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi

sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya (Prihatiningtias, 2006).

Mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan obat akan memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hiduptumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan menggunakan proses fermentasi. Di samping hal-hal yang sudah disebutkan di atas, ada keuntungan lain yang diperoleh, yaitu menjaga kelestarian tumbuhan-tumbuhan obat, terutama yang termasuk jenis tumbuhan langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Radji (2005) menyebutkan bahwa berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya, dan telah berhasil dibiakkan dalam media perbenihan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya. Beberapa diantaranya adalah:

1. Mikroba endofit yang menghasilkan antibiotika *Cryptocandin* adalah anti-fungi yang dihasilkan oleh mikroba endofit *Cryptosporiopsis quercina* yang berhasil diisolasi dari tanaman obat *Tripterigeum wilfordii*, dan berhasil sebagai antijamur yang patogen terhadap manusia yaitu *Candida albicans* dan *Trichopyton spp.* (Strobel et al., 1999 dalam Radji, 2005).

2. Jenis endofit lainnya yang juga menghasilkan antibiotika berspektrum luas adalah mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman *Grevillea pteridifolia*. Endofit ini menghasilkan metabolit *kakadumycin*. Aktifitas antibakterinya sama seperti *munumbicin D*, dan *kakadumycin* ini juga berkhasiat sebagai anti malaria (Castillo et al., 2003 dalam Radji, 2005).
3. Mikroba endofit yang memproduksi antivirus Jamur endofit *Cytonaema sp.* dapat menghasilkan metabolit *cytonic acid* A dan B, yang struktur molekulnya merupakan isomer p-tridepside, berkhasiat sebagai anti virus. *Cytonic acid* A dan B ini merupakan protease inhibitor dan dapat menghambat pertumbuhan cytomegalovirus manusia. (Guo et al., 2000 dalam Radji, 2005).
4. Mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sebagai antikanker *Paclitaxel* dan derivatnya merupakan zat yang berkhasiat sebagai antikanker yang pertama kali ditemukan yang diproduksi oleh mikroba endofit. *Paclitaxel* merupakan senyawa *diterpenoid* yang didapatkan dalam tanaman *Taxus*. Senyawa yang dapat mempengaruhi molekul tubulin dalam proses pembelahan sel-sel kanker ini, umumnya diproduksi oleh endofit *Pestalotiopsis microspora*, yang diisolasi dari tanaman *Taxus andreanae*, *T. brevifolia*, dan *T. wallichiana*. Saat ini beberapa jenis endofit lainnya telah dapat diisolasi dari berbagai jenis *Taxus* dan didapatkan berbagai senyawa yang berkhasiat sebagai anti tumor. Demikian pula upaya untuk sintesisnya telah berhasil dilakukan (Strobel et al., 2002 dalam Radji, 2005).
5. Mikroba endofit penghasil zat anti malaria *Colletotrichum sp.* merupakan endofit yang diisolasi dari tanaman *Artemisia annua*, menghasilkan metabolit

artemisinin yang sangat potensial sebagai anti malaria (Lu H. et al., 2000 dalam Radji, 2005). Di samping itu beberapa mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman *Cinchona* spp. juga mampu menghasilkan alkaloid *cinchonay* yang dapat dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat anti malaria (Simanjuntak et al., 2002 dalam Radji, 2005).

6. Endofit yang memproduksi antioksidan *Pestacin* dan *isopestacin* merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh endofit *P. microspora*. Endofit ini berhasil diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis*, yang tumbuh di Papua New Guinea. Baik *pestacin* ataupun *isopestacin* berhasiat sebagai antioksidan, dimana aktivitas ini diduga karena struktur molekulnya mirip dengan *flavonoid* (Strobel et al., 2002 dalam Radji, 2005).

2.2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja bahan atau zat mikroba. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja zat antimikroba harus diperhatikan guna keefektifan penggunaan zat antimikroba tersebut. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba, diantaranya adalah: umur bakteri, konsentrasi zat antimikroba, suhu, kandungan bahan antimikroba, dan sebagainya.

Menurut Ristiati (2000) bahwa kecepatan populasi mikroba mengalami kematian erat hubungannya dengan umur mikroba. Pada umumnya mikroba yang lebih muda daya tahannya lebih rendah dibandingkan dengan bakteri yang lebih tua (fase stasioner). Kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau

membentuk mikrobater gantungpada tinggi rendahnya konsentrasi dan bahan antimikroba.Pada umumnya, kecepatan kematian mikroba berhubungan secara langsung dengan konsentrasi antimikroba.Ini berarti semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan, semakin cepat mikroba terbunuh. Sedangkan menurut Darkuni (1997) dalam Chasanah (2001) menyatakan bahwa keefektifan suatu bahan antimikroba untuk menghambat atau membunuh mikroorganismenya ditentukan dari rendahnya konsentrasi bahan yang digunakan, tetapi mempunyai daya hambat atau daya bunuh besar.Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba menurut Pelczar (1988) adalah sebagai berikut:

a. Konsentrasi atau intensitas zat antimikroba

Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba semakin tinggi zat antimikrobanya, artinya banyak bakteri akan terbunuh lebih cepat bila konsentrasi zat tersebut lebih tinggi.

b. Jumlah mikroorganismenya

Semakin banyak jumlah organisme yang ada makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya.

c. Suhu

Kenaikan suhu yang besar dapat menaikkan keefektifan suatu desinfektan atau bahan mikrobial lain. Hal ini disebabkan karena zat kimia merusak mikroorganismenya melalui reaksi kimia.Dan reaksi kimia dipercepat dengan meningkatkan suhu.

d. Spesies mikroorganismenya

Spesies mikroorganismenya menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap

suatu bahan kimia tertentu.

e. Adanya bahan organik

Adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antimikrobia dengan cara menginaktivkan bahan kimia tersebut. Adanya bahan organik dalam campuran zat antimikrobia dapat mengakibatkan:

- 1) Penggabungan zat antimikrobia dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antimikrobia.
- 2) Penggabungan zat antimikrobia dengan bahan organik menghasilkan suatu endapan sehingga antimikrobia tidak mungkin lagi mengikat mikroorganisme.
- 3) Akumulasi bahan organik pada permukaan sel mikroba menjadi suatu pelindung yang akan mengganggu kontak antara zat antimikrobia dengan sel.

f. Keasaman atau kebasahan (pH)

Mikroorganisme yang hidup pada pH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan yang basa.

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan antimikrobia. Hal ini disebabkan dengan meningkatnya suhu akan dapat mempercepat laju reaksi kimia, sehingga akan semakin cepat pula zat tersebut untuk merusak mikroba. Sedangkan adanya kandungan bahan organik akan dapat menghambat atau menurunkan keefektifan zat antimikrobia, yang mengakibatkan kemampuan bahan

antimikrobamenjadilemah. Disampingitu, pH dan spesies mikroba jugaberpengaru hterhadap keefektifan kerja zat antimikroba.

2.2.4 Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba

Brooks dkk. (1996) menyatakan bahwa pada dasarnya mekanisme kerja zat antimikroba adalah penghambatan sintesis dinding sel, fungsi selaput sel, sintesis protein dan sintesis asam nukleat.

Menurut Pelczar (1988) cara kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

a. Merusak dinding sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan menahan sel, dinding sel bakteri tersusun atas lapisan peptidoglikan yang merupakan polimer kompleks yang terdiri atas rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat yang tersusun secara bergantian. Keberadaan lapisan peptidoglikan ini menyebabkan dinding sel bersifat kaku dan kuat sehingga mampu menahan tekanan osmotik dalam sel yang kaku. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau dengan mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Selanjutnya dijelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi bahan antimikroba akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti.

b. Merubah molekul protein dan asam nukleat

Kelangsunganhidupselsangattergantunghadamolekul- molekulproteindanasam nukleat. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut.

c. Merubah permeabilitas sel

Sitoplasma dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sitoplasma berfungsi mengatur keluar masuknya bahan-bahan tertentu dalam sel. Proses pengangkutan zat-zat yang lebih diperlukan baik ke dalam maupun keluar sel kemungkinan karena di dalam membran sel terdapat protein pembawa (*carrier*), di dalam membran sitoplasma juga terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Apabila fungsi membran sel terganggu oleh adanya bahan antimikroba, maka permeabilitas sel bakteri akan mengalami perubahan, sehingga akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

d. Menghambat kerja enzim

Di dalam sel terdapat enzim protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa

dan senyawa logam berat lain, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif rendah. Dengan demikian kerja enzim yang terhambat akan menyebabkan proses metabolisme terganggu, sehingga aktifitas sel bakteri akan terganggu, hal ini dapat menyebabkan sel bakteri hancur dan akan mati.

e. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan

normal sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik dapat menghambat sintesis protein. Apabila keberadaan DNA, RNA dan protein mengalami gangguan atau hambatan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel sehingga proses kehidupan sel terganggu.

2.3 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans adalah kokus (bakteri berbentuk bulat) anaerob fakultatif gram-positif yang biasa ditemukan dalam rongga mulut manusia dan merupakan kontributor yang signifikan untuk kerusakan gigi. Bakteri ini adalah bagian dari "streptococci" (jamak, tidak miring, huruf kecil), nama umum informal untuk semua spesies dalam genus *Streptococcus*. Mikroba ini pertama kali dijelaskan oleh J Kilian Clarke pada tahun 1924.

Bakteri ini, bersama dengan spesies yang terkait erat *Streptococcus sobrinus*, dapat hidup bersama di mulut. Keduanya berkontribusi terhadap

penyakit mulut, dan biaya untuk membedakan mereka dalam pengujian laboratorium seringkali tidak diperlukan secara klinis. Oleh karena itu, untuk tujuan klinis mereka sering dianggap bersama-sama sebagai sebuah kelompok, yang disebut mutans streptococci (jamak, tidak miring karena itu adalah nama kelompok informal. Pengelompokan dari bakteri yang sama dengan tropisme yang sama juga dapat dilihat di viridans streptococci, kelompok lain dari spesies *Streptococcus*.

2.4 *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes adalah bakterigram positif dan anaerobik yang lambat pertumbuhannya dan dianggap sebagai salah satu pemicu jerawat pada manusia. Bakteri ini juga dapat memicu blefaritis dan endoftalmitis. Genom bakteri ini telah diurutkan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa gen bakteri ini dapat menghasilkan enzim yang mungkin bersifat imunogenik (mengaktifkan sistem kekebalan tubuh).

Bakteri ini memiliki hubungan komensalisme dengan manusia dan merupakan salah satu bakteri yang ada di kulit manusia. Bakteri ini dapat bertahan hidup dengan memanfaatkan asam lemak dalam sebum yang dikeluarkan oleh kelenjar minyak di folikel. Bakteri ini juga dapat ditemui di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan-hewan lainnya.

Nama ilmiah bakteri ini mengacu kepada kemampuannya dalam menghasilkan asam propionik. Bakteri *P. acnes* hidup di dalam folikel

dan kelenjar keringat yang jauh dari permukaan kulit. Di folikel tersebut, bakteri *P. acnes* menggunakan sebum, sisa-sisa sel yang sudah mati dan produk sampingan metabolik dari jaringan kulit di sekitar sebagai sumber energi utama mereka. Peningkatan produksi sebum yang dipicu oleh kelenjar minyak yang terlalu aktif atau penyumbatan folikel dapat melipatgandakan jumlah bakteri *P. Acnes*.

Bakteri *P. acnes* mengeluarkan banyak protein, termasuk beberapa enzim pencernaan. Enzim-enzim ini digunakan untuk mencerna sebum dan memperoleh nutrisi lainnya. Enzim ini juga dapat mendestabilisasi lapisan sel yang membentuk dinding folikel.

2.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0 μm . Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan tidak dapat menfermentasikan karbohidrat. Pada uji biokimia, bakteri ini menghasilkan dampak positif pada uji indol, Merah Metil, dan Voges-Proskauer. Bakteri ini secara luas dapat ditemukan di alam, contohnya di tanah, air, tanaman, dan hewan. *P. aeruginosa* adalah patogen oportunistik. Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi pneumonia nosokomial.

Ketika bakteri ini ditumbuhkan pada media yang sesuai, bakteri ini akan menghasilkan pigmen nonfluoresen berwarna kebiruan, piosianin. Beberapa strain *Pseudomonas* juga mampu menghasilkan pigmen fluoresen berwarna hijau, yaitu pioverdin. bakteri ini juga sering digunakan untuk mendegradasi zat - zat pestisida



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai November 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih

Sterilisasi alat, kemudian memasukkan kedalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu (25°C), lalu di timbang 2,34 gram tepung media pda di masukkan ke beaker glass tambahkan aquades steril 60 ml dan tambahkan 1 kapsul Chloramphenicol lalu masak sampai mendidih, kemudian tuangkan media pda pada cawan petri hingga merata, batang dan daun di cuci dengan air mengalir selama 5 menit, batang dan daun tadi di potong-potong sebanyak 5 bagian dalam 1 cawan petri. dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendamnyadi dalam larutan etanol 70 % selama 5 menit, dilanjutkan ke dalam larutan NaOCI 1 % selama 5 menit, kemudian dimasukkan kedalam aquades streil. Batang daun yang sudah distrerilisasi permukaan dikeringkan dengan kertas saring. Setelah itu potong batang menjadi dua bagian lalu di tanam di atas cawan petri kemudian disimpan dalam inkubatr jamur. Kemudian di lalukan pengamatan sampai jamur tumbuh.

3.2.2 Isolasi Jamur Endofit

Medium yang digunakan untuk permurnian jamur endofit yaitu medium PDASV. Jamur endofit yang tumbuh pada medium PDASV, dimurnikan masing-masing pada medium plat dan media miring PDASV. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 25⁰C, setelah inkubasi dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDASV. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur lagi pada medium PDASV baru.

3.2.3 Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 25⁰C tadi diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara langsung melihat bentuk dan warna koloni jamur endofit. Sedangkan pengamatan ciri-ciri mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan setiap hari sampai tampak adanya konidia.

3.2.4 Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba

a. Produktifitas Metabolit Antimikroba

Produksi metabolit antimikroba oleh jamur endofit dilakukan dengan cara menumbuhkannya di dalam medium PDASV. Koloni jamur endofit yang telah diinkubasi pada medium PDASV selama 24 jam pada suhu 25⁰C, diambil satu sengkeli dengan menggunakan jarum Ose dan diinokulasikan ke medium PDB dalam Erlenmeyer 50 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 25⁰C dalam shaker

incubator 130 rpm selama 48 jam. Setelah selesai, masing-masing medium disentrifugasi dengan kecepatan 3800 rpm pada suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan diambil dan dipergunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba terhadap jamur *P. acnes*, *S. mutans* dan *P. Aeuruginosa*.

b. Uji Antimikroba Terhadap *P. acnes*, *S. mutans* dan *P. aeuruginosa*

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba isolat bakteri yaitu medium PDA. Uji aktivitas antimikroba isolat jamur terhadap bakteri *P. acnes*, *S. mutans* dan *P. aeuruginosa* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,22 um, dengan cara mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam supernatan kultur jamur endofit selama 30 menit. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antimikroba medium plat NA). Kemudian diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37⁰C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

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

1. Jamur endofit berhasil diisolasi dari daun sirih (*Piper betle* L.), sebanyak 5 isolat yaitu daun sirih merah dan daun sirih hijau dari kecamatan medan Amplas Harjosari I.
2. Hasil uji 5 isolat jamur endofit, memperlihatkan bahwa tiga isolat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*, *P. euruginosa* dan *S. mutans* dengan zona hambat 0,5 pada *S. mutans*, 2,2 pada bakteri *P. euruginosa* dan 1,6 pada bakteri *P. euruginosa*. Sedangkan dua belas isolat lainnya dari jamur endofit tidak bisa menghambat pertumbuhan jamur.

5.2. Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut

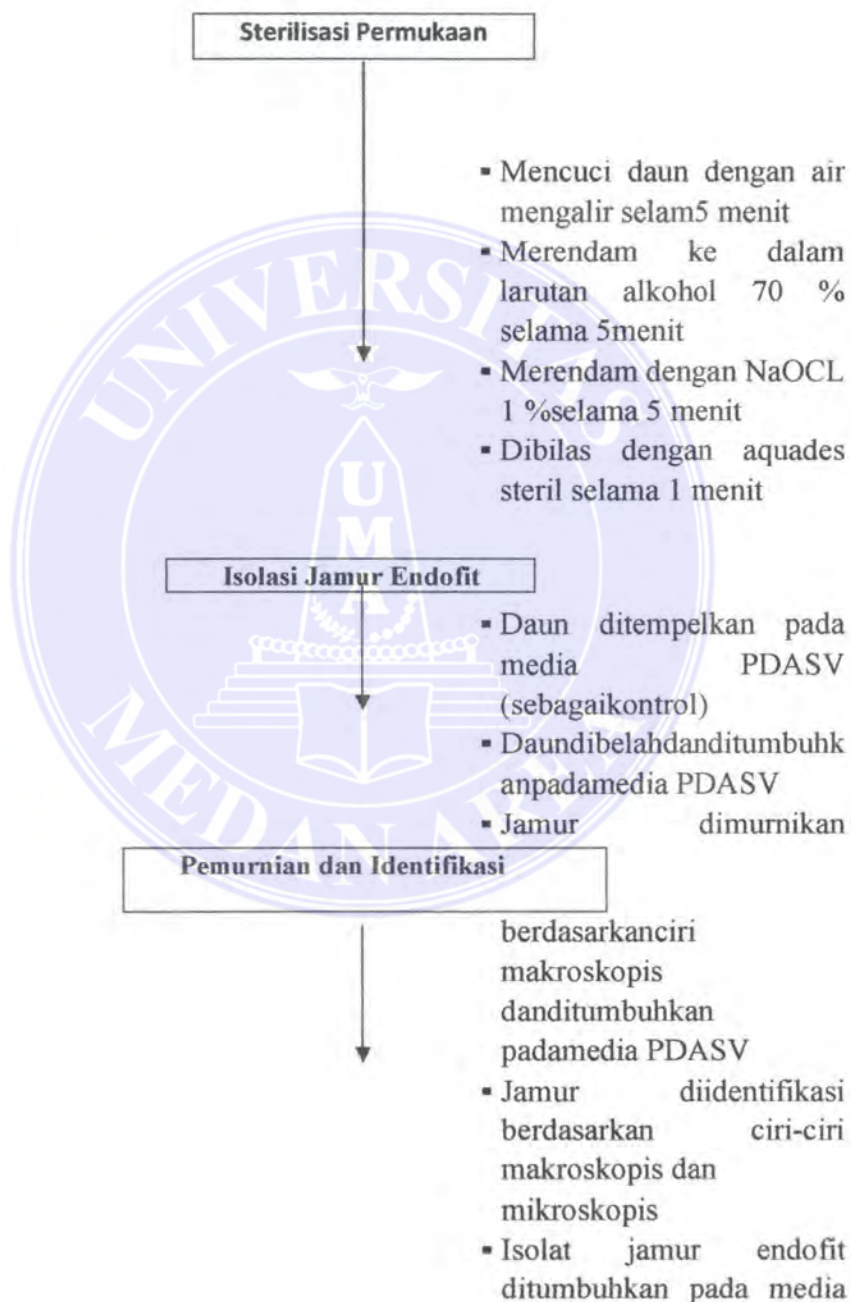
1. Melakukan uji lanjutan tentang spesifikasi jenis antimikroba yang terdapat dalam metabolit jamur endofit dari daun sirih.
2. Melakukan karakterisasi dari interaksi mikroba endofit dengan inang.
3. Melakukan pengujian terhadap konsentrasi mikroba uji dan konsentrasi metabolit jamur endofit yang paling tepat untuk mendapatkan hasil yang maksimal di dalam pengujian aktivitas antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

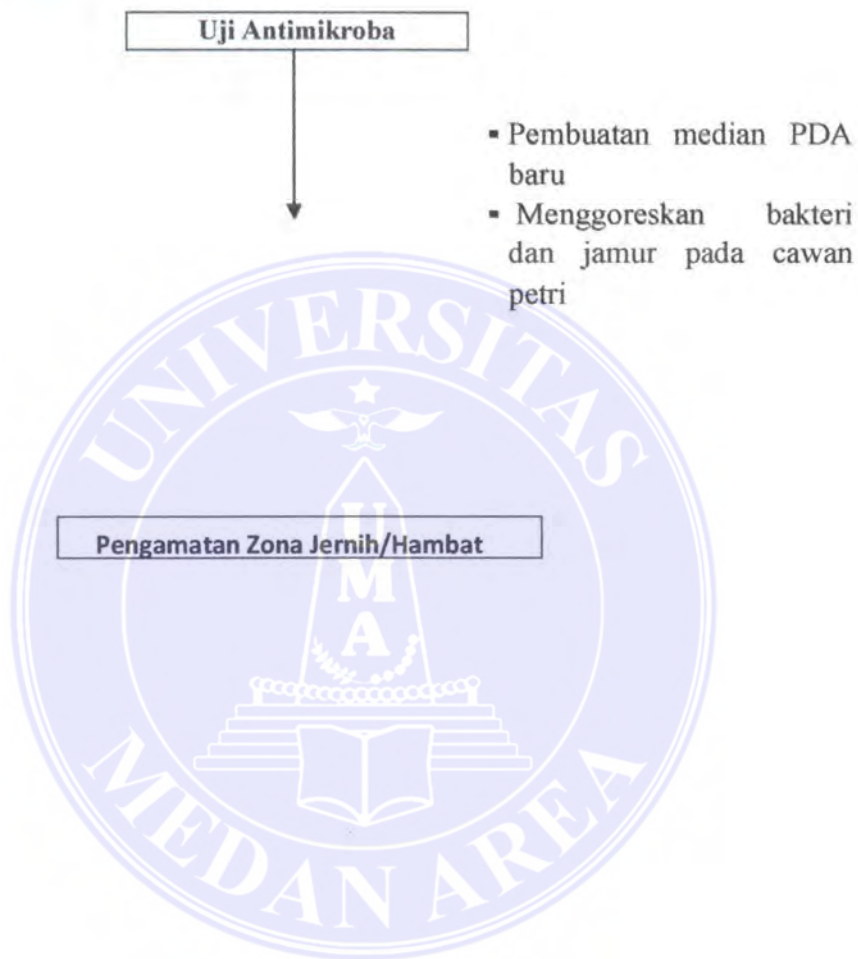
- Agusta, A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik Indonesia. Bandung: ITB.
- Agustin W, D. 2005. Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi antara Hidrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% Terhadap Bakteri Mix Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.), No. 1 Januari 2005: 45–47.
- Agustrini, S. 2006. Keputihan-S iPutih Yang Mengganggu. <http://www.pom.go.id/medikaholistik.com/2006/journal/item> Diakses pada 4 November 2007
- Atmosukarto, I. dan Anggia P. 2006. Mikroba Endofit: Sumber Molekul Baru yang Berpotensi. *BioTrends* Vol 1 Nomor 2.
- Barnett, L. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company.
- Bonang, G dan Enggar S. K. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Brooks, G.F, Janet S. B., L. Nicholas O. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dan RF Maulany. Jakarta: EGC.
- Chasanah, N. 2001. *Pengujian Daya Antimikroba Air Perasan Blimbing Wuluh (Averhoa blimbi L.)*. Universitas Negeri Malang FMIPA. Skripsi Tidak Diterbitkan.
- Dasuki, U. A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati ITB.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiolog*. Jakarta: Djambatan.
- Gan, V.H.S dan Setiabudy, R. 1987. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 3. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fotokimia*. Bandung: ITB.
- Indriana, H.H. 2005. *Eksplorasi Jamur Endofit Antagonis Terhadap Phytophthora spp. Penyebab Penyakit Busuk Pada Batang Jeruk*. Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Tidak Diterbitkan.
- Kartasapoetra, A.G. 1989. *Teknologi Penanganan Pasca Panen*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.

- Kartasapoetra, A.G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: PT. Rineka Cipta Lay, B.W dan Sugyo H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers
- Nurswida, I. 2002. *Efektivitas Dekok Sirih Hijau dan Sirih Kuning Dalam Menghambat Pertumbuhan Candida albicans (uji In Vitro)*. Universitas Brawijaya. Skripsi Tidak Diterbitkan. Pangarungan, E. 2003. *Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Air Daun Sirih [Piper betle L]* Diakses pada 8 November 2007. Pelczar, M.J. dan E.S.C. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Terjemahan Ratna S.H, Teja I., S. Sutarmi dan Sri L.A. Jaarta: UI-Press.
- Pelczar, M.J. dan E.S.C. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi II*. Terjemahan Ratna S.H., Teja I., S. Sutarmi dan Sri L.A. Jakarta: UI-Press.
- Ramadhan, N.S., Rasyid, R., dan Sy, E., 2015, *Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Cetella asiatica*) yang Diambil di Bayusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholera* secara In Vitro*, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(1)
- Reveny, J., 2011, *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle Linn.)*, *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol.12 No. 1, 6-12.
- Sendy, V.A.A., Pujiastuti, P., dan Ermawati, T., 2014, *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (Pipper Crocatum) Terhadap Porphyromonas Gingivalis*, *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja

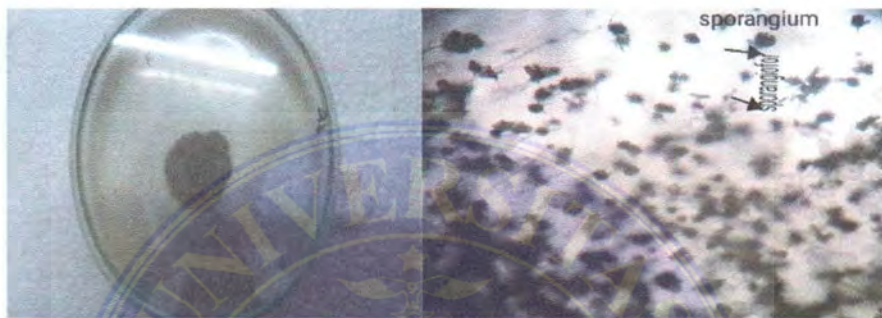


PDA sampai tumbuh misellium

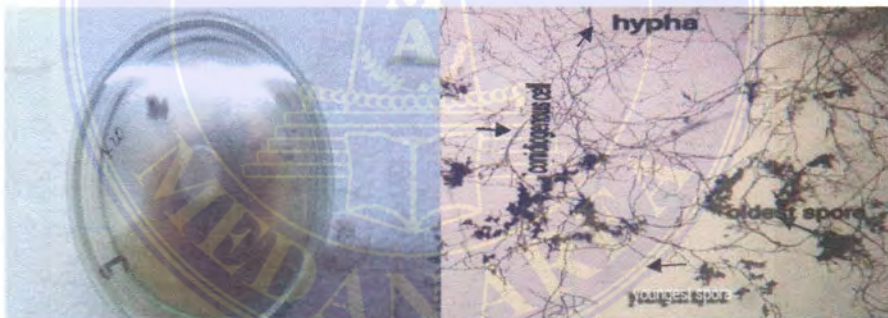


Gambar 1. Diagram alir metode kerja

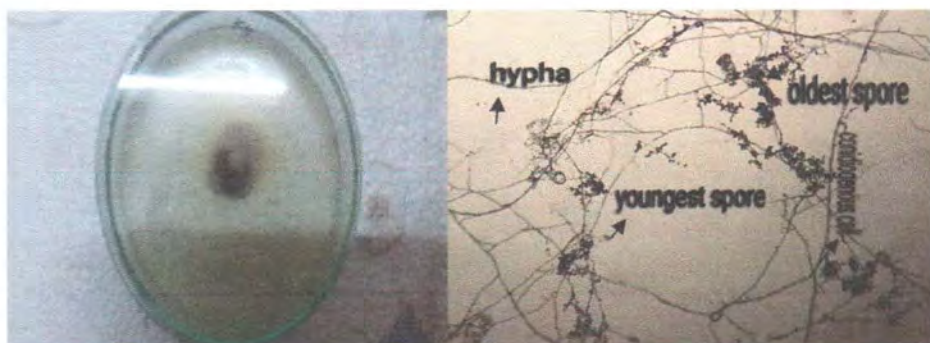
Lampiran 2. Hasil makroskopis dan mikroskoipis cendawan endofit dari batang dan daun sirih merah dan daun sirih hijau.



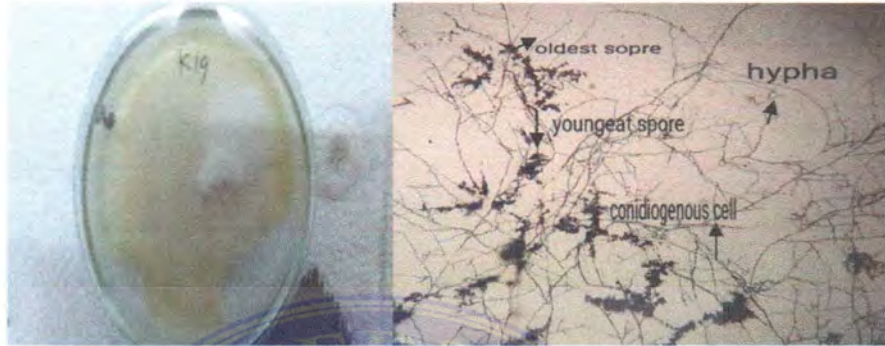
A. Koloni Isolat DMI, B. Foto mikroskopis Isolat DMI dengan perbesaran 400x



A. Koloni Isolat DH2, B. Foto mikroskopis Isolat DH2 dengan perbesaran 400x



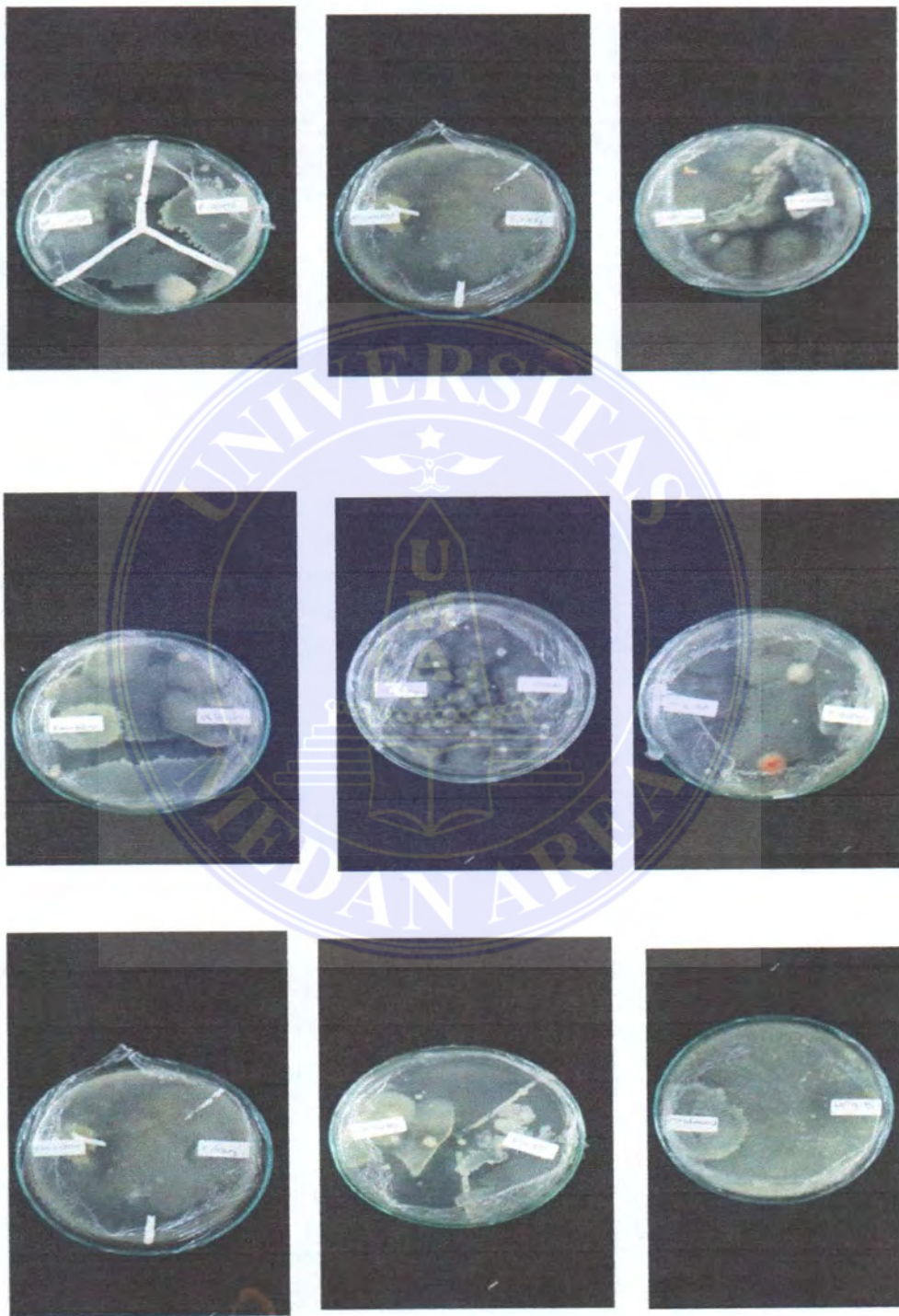
(Ket: A. Koloni Isolat BH1, B. Foto mikroskopis Isolat BH2 dengan perbesaran 400x)



(Ket: A. Koloni Isolat BM2, B. Foto mikroskopis Isolat BM2 dengan perbesaran 400x)



Lampiran 3. Gambar tidak adanya zona hambat antara jamur terhadap baktri.



Lampiran 4. Sampel Tanaman *Piper betle* L



Daun Sirih Merah



batang Daun Sirih Merah



Daun Sirih Hijau



Batang Sirih Hijau

Lampiran 5. Alat alat dalam Penelitian

