

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT
PADA AKAR PINANG (*Areca catechu L*)**

SKRIPSI

OLEH :

**DESWITA PASARIBU
14.870.0030**





**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
2018**

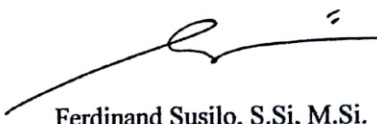
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Akar Pinang
(*Areca catechu* L)
Nama : Deswita Pasaribu
Npm : 14.870.0030
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing


Abdul Karim S.Si M.Si
Pembimbing I


Rahmiati S.Si M.Si
Pembimbing II



Dr. Mufti Sudibyo, M.Sc
Dekan


Ferdinand Susilo, S.Si, M.Si.
Ka. Prodi/WD I

Tanggal Lulus : 30 Mei 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.

Medan, Januari 2018



Deswita Pasaribu
14.870.0030

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Deswita Pasaribu
NPM : 14.870.0030
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 Pinang (*Areca catechu, 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 :
Yang menyatakan


(Deswita Pasaribu)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit pada akar pinang (*Areca catechu* L) secara visual dan mikroskopis. Penelitian 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 pinang (*Areca catechu* L). Sebanyak 3 isolat bakteri endofit di peroleh dari akar tanaman pinang yaitu sp1, sp2, dan sp3. Hasil pewarnaan menunjukkan ketiga isolat bakteri endofit berbentuk basil dan gram positif. Variasi sifat biokimiawi diperlihatkan oleh sp1, sp2, dan sp3. Berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia isolat bakteri endofit tersebut merupakan genus *Bacillus*.

Kata kunci : Akar pinang (*Areca catechu* L), Bakteri endofit, Isolasi bakteri Endofit.

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize endophyte bacteria from Areca catechu L root visually and microscopically. The research was conducted in 3 steps, started from media preparation, isolation and characterization. Collected data then analyzed descriptively by explaining and describes endophyte bacteria spesies isolated from Areca catechu L root which named sp1, sp2, and sp3. The staining result shamed that all species were and belong to the group of gram positive bacteria and Bacillus genus.

Keywords : Areca catechu L root, Endophyte bacteria, Isolation endophyte bacteria.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tolang Julu, pada tanggal 25 Mei 1996 anak dari ayahanda Sutan Pasaribu dan ibunda Lilis Suryani Hutasuhut, S.Pd dan merupakan anak ketiga dari lima bersaudara.

Pada tahun 2002, penulis mulai memasuki pendidikan SD Negeri 1000509 Tolang Gunung Aek bilah Kabupaten Tapanuli Selatan dan lulus pada tahun 2008. Tahun 2008, penulis melanjutkan pendidikan di Mtsn Saipardolok Hole dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan di MAN 1 Padang Sidempuan dan lulus pada tahun 2014. 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 skripsi ini dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Akar Pinang (*Areca catechu* L)”.

Ucapan terima kasih penulis kepada pihak yang banyak membantu dalam penulisan skripsi ini. Terutama kepada Bapak Dr. Mufti S.Si selaku Dekan Fakultas Biologi, Pembimbing I Bapak Abdul Karim S.Si M.Si, Pembimbing II Ibu Rahmiati S.Si, M.Si dan sekretaris komisi pembimbing Ibu Ida Fauziah S.Si, M.Si. yang memberikan saran dan masukan yang sangat berguna dalam penulisan skripsi ini. Serta ucapan terima kasih kepada bapak/ibu dosen/staf Fakultas Biologi, keluarga besar dan teman-teman mahasiswa/I Fakultas Biologi Universitas Medan Area.

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

Akhirnya penulis berharap, kiranya skripsi ini dapat bermanfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan bagi penulis dan pembaca. Amin.

Penulis

Deswita Pasaribu

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iii
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	2
1.3.Tujuan Penelitian	2
1.4.Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Tumbuhan Pinang (<i>Areca catechu</i> L)	3
2.1.1. Morfologi	3
2.1.2. Klasifikasi Tanaman Pinang.....	4
2.1.3. Data Perkebunan Pinang	5
2.1.4. Manfaat Pinang di Indonesia.....	6
2.1.5. Kandungan Kimia.....	6
2.2. Endofit	6
BAB III METODE PENELITIAN	9
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	9
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	9
3.3. Metode Penelitian	9
3.4. Sampel Penelitian.....	10
3.5. Sterilisasi Alat dan Media Uji	10
3.6. Prosedur Kerja.....	10
3.6.1. Isolasi Bakteri	10
3.6.2. Identifikasi Bakteri Endofit	11
3.7. Analisis Data	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1. Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	14
4.2. Karakteristik Mikroskopis Isolat Bakteri Endofit.....	17
4.2.1. Pewarnaan Gram	17
4.2.2. Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit	18
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	22
5.1. Kesimpulan	22
5.2. Saran.....	23

DAFTAR PUSTAKA

24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biakan Murni Bakteri Endofit	15
Gambar 2. Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofit	17

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Isolat Bakteri Endofit	15
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Biokimia.....	29
-------------------------------------	----

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman pinang (*Areca catechu*) memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antikanker, mencegah kantuk, bahan kosmetik, obat pelangsing, sebagai anti depresi dan sebagai bahan baku obat. Menurut WHO (*World Health Organization*), 80% penduduk dunia masih bergantung pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan obat dari tanaman. Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi dan kawasan hujan tropis yang luas sehingga merupakan satu kelebihan dalam pencarian sumber-sumber senyawa bioaktif (Radji, 2005).

Menurut Strobel & Daisy (2000) menyatakan bahwa sebagian besar komponen kimia berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jaringan tumbuh-tumbuhan memiliki aktivitas biologi yang tinggi. Metabolit sekunder termasuk antibiotik/antimikrobia dapat diproduksi oleh mikroorganisme endofit yang didalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman. Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi. Mikroorganisme endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman diantaranya biji, ovula, buah, batang, akar dan daun, tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut.

Mikroorganisme endofit telah berhasil diisolasi dari berbagai tanaman diantaranya tanaman tebu, kedelai, anggur, kentang, kopi, tanaman jawer kotok,

andaliman, tanaman sambung nyawa, mangrove, wortel dan beberapa tanaman pertanian. Mikroorganisme endofit mempunyai arti ekonomis karena mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Hal ini karena mikroorganisme merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi. Oleh karena itu, isolasi mikroorganismse endofit yang dapat memproduksi metabolit sekunder dari tanaman inangnya merupakan sebuah peluang besar dimasa mendatang (Wang and Lee, 1996).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis-jenis bakteri endofit pada akar tanaman pinang (*Areca catechu*).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana karakteristik isolat bakteri endofit pada akar pinang (*Areca catechu L.*).

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit pada akar pinang (*Arecha catecu L.*).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi ilmiah mengenai bakteri endofit dan karakteristiknya pada akar pinang (*Areca catechu L.*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Pinang (*Areca catechu L.*)

2.2.1 Morfologi

Balai Penelitian Tanaman Palma menyatakan bahwa (2012), tanaman pinang seluruhnya merupakan tanaman perkebunan rakyat. Jumlah yang terlibat dalam budidaya tanaman pinang mencapai 305.445 KK. Ekspor biji pinang pada tahun 2009 mencapai 197.197 ton dengan nilai US\$92,58 juta. Petani umumnya menanam tanaman pinang secara tradisional sebagai tanaman pagar atau pembatas kebun. Pemeliharaan tanaman hanya sebatas membersihkan gulma disekitar pohon, tanpa pemupukan dan pengendalian hama dan penyakit. Kebiasaan ini telah berlangsung sejak lama dan belum ada kemajuan teknologi yang berarti.

Bagian-bagian dari tanaman pinang antara lain : (a). Akar : berakar serabut, putih kotor, (b). Batang : tegak lurus dengan tinggi 10-30 cm, bergaris tengah 15 cm, tidak bercabang dengan bekas daun yang lepas, (c). Daun : majemuk menyirip tumbuh berkumpul diujung batang membentuk roset batang, (d). Bunga : Tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap, (e). Biji : biji 1, bentuknya seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan. Pinang memiliki nama daerah seperti pineng, pineung (Aceh), pinang (Gayo), batang

mayang (Karo), pining (Toba), batang pinang (Minang Kabau) dan jambe (Sunda, Jawa). Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid diantaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi. Biji pinang dapat di makan bersama sirih dan kapur, yang berkhasiat untuk menguatkan gigi. Diduga bahwa tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis sebagai anti bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan perannya sebagai obat tradisional yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat luas dalam hal Se. Komponen Se ini dapat dihasilkan melalui proses fermentasi konsorsium (Yulineri, 2006).

A. Daerah Sebaran

Pusat penyebaran tanaman pinang di Indonesia berada di Pulau Sumatera. Pada tahun 2011, area tanaman pinang di Pulau ini mencapai 95.536 ha, dengan produksi 59.108 ton. Selain di Sumatera tanaman pinang juga banyak dijumpai di Nusa Tenggara Timur dengan area 42.388 ha dan produksi biji pinang pinang kering 7.273 ton. Area tanaman pinang di Indonesia meningkat setiap tahun. Pada tahun 2007, area tanaman pinang tercatat 125.609 ha dengan produksi biji pinang kering 56.646 ton. Pada tahun 2011 luas areanya meningkat menjadi 147.890 ha dengan produksi 69.881 ton (Balai Tanaman Palma, 2012).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Pinang (*Areca catechu*)

Tanaman pinang diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Permatophyte
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Arecales

Family : Arecaceae
Genus : Areca
Spesies : *Areca catechu L*

(Syamsuhidayat and Hutapea, 1991).

2.13 Data Perkebunan Pinang

Luas area tanaman pinang di Indonesia pada tahun 2011 ditaksir 147.890 ha dengan produksi 69.881 ton dan produktivitas rata-rata 743 kg/ha. Petani umumnya menanam pinang secara tradisional sebagai tanaman batas kebun atau tanaman pagar. Pengolahan buah pinang menjadi biji pinang kering pun masih secara tradisional. Peningkatan produksi dan produktivitas biji pinang akan membuka lapangan kerja di pedesaan serta meningkatkan pendapatan petani dan ekspor.

Pusat penyebaran tanaman pinang di Indonesia berada di Pulau Sumatera. Pada tahun 2011 area tanaman pinang di Pulau ini mencapai 95.536 ha dengan produksi 59.108 ton. Selain di Sumatera tanaman pinang juga banyak di jumpai di Nusa Tenggara Timur dengan area 42.388 ha dan produksi biji pinang kering 7.273 ton. Area tanaman pinang di Indonesia meningkat setiap tahun. Pada tahun 2007, area tanaman pinang tercatat 125.609 ha dengan produksi biji pinang kering 56.646 ton. Pada tahun 2011 luas areanya meningkat menjadi 147.890 ha dengan produksi 69.881 ton, dengan demikian dalam jangka waktu lima tahun area tanaman pinang bertambah 22.281 ha atau meningkat 3,55% setiap tahun.

Tanaman pinang seluruhnya merupakan tanaman perkebunan rakyat. Jumlah keluarga yang terlibat dalam budidaya tanaman pinang mencapai 305.445 KK. Ekspor biji pinang mencapai 197.197 dengan nilai 92,58 juta (Satya, 2013).

2.1.4 Manfaat Pinang di Indonesia

Tumbuhan pinang memiliki banyak manfaat diantaranya air rebusan dari biji pinang digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi penyakit seperti haid dengan darah berlebihan, hidung berdarah (mimisan), koreng, borok, bisul, eksim, kudis, difteri, cacingan (kremitis, gelang, pita, tambang), mencret dan disentri (Ouidha, 2010).

2.1.5 Kandungan Kimia

Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid diantaranya tanin, dapat menguatkan gigi. Tanin merupakan substansi yang tersebar luas dalam tanaman seperti daun, buah yang belum matang, batang dan kulit kayu. Biji pinang mengandung komponen utama berupa polifenol. Komponen lainnya adalah alkaloid, lemak, saponin, steroid (kriptogenin, sitosterol) dan asam amino. Di India menyatakan bahwa fraksi alkaloid dan tanin dalam biji pinang berkhasiat dalam meningkatkan kekuatan regangan pada luka insisi jahitan (Rairisti *et al*, 2014).

2.2 Bakteri Endofit

Mikroorganisme endofit merupakan asosiasi antara mikroorganisme dengan jaringan tanaman. Tipe sosialisasi biologis antara mikroorganisme endofit dengan tanaman inang bervariasi dari netral, komensalisme sampai simbiosis. Pada situasi ini tanaman merupakan sumber makanan bagi mikroorganisme endofit dalam melengkapi siklus hidupnya (Clay, 1988). Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba

endofit yang dapat menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetik recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Radji, 2005).

Hampir semua tanaman vascular memiliki endofit. Endofit masuk kedalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman. Bakteri menembus jaringan tanaman di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka (Carrol, 1988). Bakteri endofit merusak jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Bakteri endofit gram positif dan gram negatif telah banyak diisolasi dari beberapa jaringan tanaman. Endofit gram positif dan gram negatif telah banyak diisolasi dari beberapa jaringan tanaman. Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar dan bagian-bagian tanaman yang terpapar udara luar seperti bunga, batang dan kotiledonnya.

Potensi bakteri endofit dalam memacu pertumbuhan tanaman telah banyak mendapat perhatian sehingga mikroorganisme endofit dapat di manipulasi untuk meningkatkan produktivitas tanaman. Pemanfaatan mikroba endofit dalam memproduksi senyawa aktif memiliki beberapa kelebihan antara lain cepat menghasilkan dengan mutu yang seragam, dapat diproduksi dalam skala besar, kemungkinan diperoleh komponen bioaktif baru dengan memberikan kondisi yang berbeda. Sejumlah mikroba endofit yang telah berhasil diisolasi dari bagian dalam beberapa tanaman pangan, yaitu pada tanaman padi, jagung, dapat meningkatkan produktivitas hormon pertumbuhan setiap tanaman tingkat tinggi mengandung beberapa mikroorganisme endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi

dan transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam mikroorganisme endofit (Khairani, 2009).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November sampai dengan bulan Februari 2018 di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Utara.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, *cover glass*, kaca objek, pipet tetes, spatula, pinset, jarum ose, tisu steril, kertas saring, plastik wrap, aluminium foil, oven, mikroskop cahaya (Olympus).

Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar pinang (*Areca catechu*), etanol 75%, larutan sodium hipoklorit 5,3%, akuades steril, media *Nutrien Agar*(NA), Hidrogen Peroksida (Uji Katalase), media *Triple Sugar Iron agar*(TSIA) (Uji Fermentasi Laktosa), media *Sulfite Indol Motility* (Uji Motilitas/pergerakan bakteri), media gelatin (Uji Hidrolisis Gelatin), media *Simmons Citrate Agar* (Uji Sitrat), reagen pewarnaan (Kristal violet, Lugol, Safranin, Aseton Alkohol) dan Spiritus.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah akar tanaman pinang (*Areca catechu L.*). Sampel diperoleh dari Desa Bandar Khalifa, Kecamatan Deli Serdang, Sumatera Utara. Sampel diambil dengan menggunakan cangkul dan cutter dengan jarak ± 10 cm dari permukaan tanah dan segera dimasukkan ke dalam plastik steril untuk dibawa ke laboratorium.

3.4 Metode Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari jenis-jenis bakteri endofit yang terdapat pada akar pinang.

3.5 Sterilisasi Alat dan Media

Seluruh alat yang tahan panas disterilkan didalam oven dengan suhu 180⁰C selama 2 jam. Sedangkan media dan bahan yang tidak tahan panas disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121⁰C tekanan 2 atm.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri endofit dilakukan menggunakan metode yang pernah digunakan oleh Hallmann et al. (1997) dengan modifikasi. Bakteri endofit diisolasi dari bagian akar tanaman. Sterilisasi permukaan pada akar tanaman dengan merendam bagian tanaman berturut-turut dalam etanol 75% selama 2 menit. Larutan sodium hipoklorit 5,3% selama 5 menit dan etanol 75% selama 30 detik.

Kemudian akar tanaman dibilas dengan akuades steril sebanyak 2 kali dan dikeringkan pada kertas saring steril. Setelah kering bagian ujung kiri dan kanan dari akar tanaman dibuang \pm 2 cm. Kemudian masing-masing akar dipotong menjadi 1 cm dan di potong menjadi 2 bagian.

Akar yang sudah steril digerus menggunakan mortar dan diencerkan sampai dengan pengenceran 10⁻⁴. Diambil 1 ose isolat dari masing-masing seri pengenceran diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi

selama 48 jam. Seterusnya dilakukan pengamatan karakter morfologi isolat bakteri yang tumbuh.

3.6.2 Identifikasi Bakteri Endofit

a. Pewarnaan Gram

Dibuat preparat ulas isolat bakteri endofit yang mempunyai potensi penghambatan paling kuat dari kultur yang berumur 48 jam, difiksasi di atas pembakar spiritus. Diteteskan cat kristal violet dan didiamkan selama 1 menit. Sisa cat dicuci dengan air mengalir lalu ditetesi larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Dicuci dengan air mengalir dan diberi larutan peluntur alkohol 96% kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian tambahkan larutan safranin didiamkan selama 45 detik. Kemudian dicuci dengan air mengalir, dikering anginkan. Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x dengan menggunakan minyak imercy oil. 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.

b. Identifikasi Morfologi

Diinokulasikan biakan bakteri endofit ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) tegak dengan menggunakan jarum inokulasi secara tusukan dan *Nutrient Agar* (NA) miring secara goresan dengan jarum ose. Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Pada medium cair diamati pertumbuhan pada permukaan, endapan yang terjadi, bau, dan kekeruhan. Pada *Nutrient Agar* (NA) tegak diamati tingkat pertumbuhan dan bentuk pertumbuhan pada bekas tusukan, kilat, topografi, warna, ciri-ciri optik, bau, konsistensi dan warna medium.

c. Uji Biokimia

1. Uji Motilitas

Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose jarum lalu diinokulasikan dengan cara tusukan pada media *Sulfie Indol Motility* (SIM) tegak. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 48 jam.

2. Uji Sitrat

Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose cincin kemudian diinokulasikan pada media *Simmon's Citrate Agar*(SCA) pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

3. Uji Hidrolisis Gelatin

Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose jarum lalu diinokulasikan dengan cara tusukan pada media gelatin. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Apabila terjadi pencairan gelatin berarti bakteri mampu menghasilkan *eksoenzim gelatinase*.

4. Uji Hidrolisis Gula (TSIA)

Ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose jarum. Kemudian diinokulasi dengan cara ditusukkan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Kemudian ambil lagi 1 ose isolat bakteri lalu digoreskan pada permukaan media. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37⁰C. Perubahan yang terjadi setelah diinkubasi yaitu warna media menjadi kuning menandakan asam, warna media menjadi basa menandakan basa, warna menjadi hitam menandakan terbentuknya H₂S dan bila media terangkat menandakan bahwa mikroba tersebut mampu untuk memproduksi gas.

5. Uji Katalase

Ambil 1 ose bakteri dengan menggunakan ose cincin kemudian dicelupkan kedalam tabung reaksi yang berisi reagen *Hidrogen Peroksida* (H_2O_2). Hasil positif jika terbentuk gelembung gas dan hasil negatif jika tidak terbentuk gelembung gas.

3.7 Analisis Data

Data-data yang diperoleh pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari bakteri yang di dapat hasil karakterisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amir, L. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman *Acacia decurrens*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Balai Penelitian Tanaman Palma. 2012. Prospek Pengembangan Tanaman Pinang. Volume 34. Nomor 1.
E-mail : balitka@litbang.deptan.go.id balitka@indosat.net.id
- Carrol & Clay, K. 1998. Fungal Endophytes of Gress : a Devensive Mutualisme Beetwen Plants and Fungi Ecology. 69 : 10-16.
- Clay, K. 1998. Fungal Endophytes of Tree Leaves. Didalam : Andrews JH, Hirano SS, editor. Microbial Ecology of Leaves. Barlin: Springer Verlag Him : 341-349.
- Cappucino, James. G dan Sherman, Natalie. 2001. Microbiology a laboratory Manual, San Francisco. Benjamin Cummings.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). Matera Medika Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 172-176.
- Fitriyah, N.L. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rumput Kebar (*Biophytum sp.*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Fajri, M.A., Agustien, A., dan Periadnadi. 2015. Isolasi, Karakteristik dan Potensi Bakteri Endofitik dari Tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) sebagai Penghasil Antibiotika. Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang. *Jurnal Biologi*. 4 (2) : 102-106.
- Halman, J. 2010. Plant Interaction With Endophytic Bacteria, in: jeger MJ. Spence NJ. Editor Blotic Interaction in Plant Patogen Assosiation CAB International.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Snteh, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 2000. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth Edition, ha 347, 559, Lipponcott William & Wilkins, Philadelphia, USA.
- Jutono, J., S, Soedarsono., S, Hartadi., S, Kabirun., Suhardi dan Soesanto. 1986. Pedoman Praktikum Mikrobiologi/Umum untuk Perguruan Tinggi Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Khairani, G. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (Indol Acetic Acid) Akar Tanaman Jagung (*Zea mays L.*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.

- Lay, B. 1994. Analisis Mikrobial di Laboratorium, 79-101, 129-132. Manajemen PT. Grafindo Persada, Jakarta.
- Lubis, S., Riwayati dan Idramsa. 2015. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tumbuhan Raru (*Cotilelobium melanoxyton*) Pendegradasi Selulosa. Biologi, FMIPA UNIMED. *Jurnal Biosains*. 1 (3).
- Mutmainah, S. 2008. Pengaruh Penerapan Metode Pembelajaran Kooperatif Berbasis Kasus yang Berpusat Pada Mahasiswa Terhadap Efektivitas Pembelajaran dan Keperilakuan 11. Pontianak.
- Nurkhiimah. 2017. Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar. Makassar.
- Ouidha, P. 2001. Tradisional Medicinal Knowledge About Common Herbs Used in India. Diakses pada tanggal 2 januari.
- Pelczar, M.J & E.C.S Chan, 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Hal 131-154. Diterjemahkan oleh Ratnasari, dkk. Edisi I. UI Press, Jakarta.
- Priharta, A.A.Y.D. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dalam Batang Tanaman *Artemisia annua L.* yang diuji Potensi Antibakterinya Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Yogyakarta.
- Pratiwi, S.,T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Purwanto, U.M.S., Pasaribu, F.H., dan Bintang M. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih (*Piper betle L.*) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. *Curr. Biochem*. 1 (1) : 51-57.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. II, No.3, 113-126.
- Rairisti, A., Wahdaninasi, S dan Wicaksono, A. 2014. NASKAH PUBLIKASI. Uji Aktifitas Ekstrak Etanol Biji pinang (*Areca catechu L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih (*Ratus norvagitus*). Fakultas Kedokteran Universitas Tanjung Pura.
- Satya, B., DS. 2013. Koleksi Tumbuhan Berkhasiat. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Strobel, G.A., & Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Mikrobial Endophytes and Their Natural Products, *Microbial, And Mol. Biology Rev*. 67 (4): 491-502.
- Syamsuhidayat, S dan Hutapea, J.R. 1991. Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia, Balitbang Departemen Kesehatan. Vol: 64-65.
- Sunaryanto, R dan Marwanto, B. 2012. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 14 (3): 228-233.

- Tan, R.X dan Zou, W.X. 2001. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep.* 18: 448-459.
- Wang, (K)., and Lee, W.H. 1996. Separation Characteristic, and Biological Activites of Phenolics In Area Fruit, *J. Agric. Food., Chem*, 44, 2014-1653.
- Walpajri, F., Roza, R.M., dan Fitmawati. 2014. Eksplorasi dan Uji Daya Hambat Bakteri Endofit dari Tanaman Benalu Sawo (*Helixanthera sp.*), Benalu Coklat (*Scurulla sp.*) dan Benalu Kopi (*Helixanthera sp.*) Terhadap *Eschericia coli*. Bidang Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Kampus Bina Widya Pekan baru. *JOM FMIPA.* 1 (2).
- Yulineri, T. 2006. Selenium dari Ekstrak Biji dan Akar Pinang (*Areca catechu L.*) yang Difermentasi dengan Konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces* Sebagai Antiseptik Obat Kumur. Vol. 7. Nomor 1. Halaman : 18-20.
- Zulkifli, L., Jekti, D.S.D., Mahrus., Lestari, N., dan Rasmi, D.A.C. 2016. Isolasi Bakteri Endofit Dari Sea Grass yang Tumbuh di Kawasan Pantai Pulau Lombok dan Potensinya Sebagai Sumber Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram. Mataram. Vol. 16. Halamn : 80-93.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Biokimia

Isolat bakteri endofit sp₁.



Uji katalase terdapat adanya gelembung (+)



Uji motilitas ditemukan adanya jejak pergerakan (+)



Uji Sitrat (-)

Tidak terjadi perubahan warna pada media



Uji hidrolisis gelatin (-)

Tidak terjadi pencairan gelatin



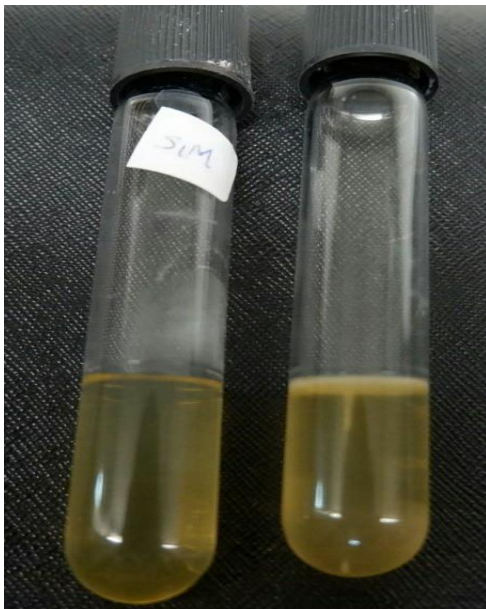
Uji TSIA (+) A/A gas (-) H₂S (-)

A/A = kuning/kuning, menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa.

Gas (-) = tidak adanya rongga yang terbentuk pada bagian bawah agar dan media terangkat.

H₂S (-) = tidak terbentuknya endapan hitam pada dasar media.

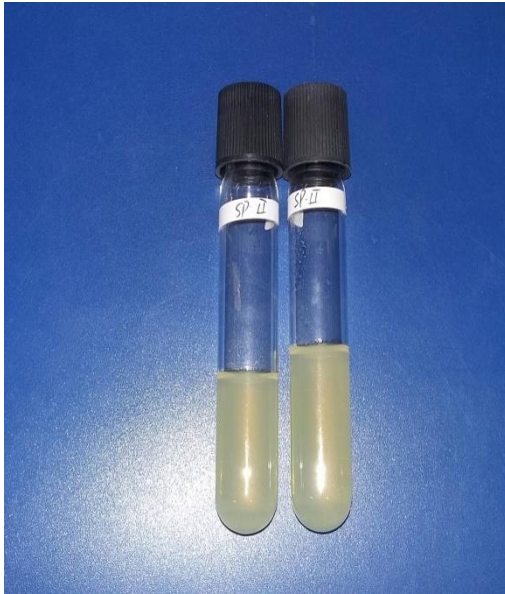
Isolat bakteri endofit sp₂



Uji Motilitas (-)



Uji Katalase tidak terdapat adanya gelembung (-)



Uji hidrolisis gelatin (-)

Tidak terjadi pencairan gelatin pada media



Uji Sitrat (-)

Tidak terjadi perubahan warna pada media



Uji TSIA (-) A/A Gas (-) H₂S (-)

A/A = kuning/kuning, menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa

laktosa, dan sukrosa.

Gas (-) = tidak adanya rongga yang terbentuk pada bagian bawah agar dan media terangkat.

H₂S (-) = tidak terbentuknya endapan hitam pada dasar media.

Isolat bakteri endofit sp₃



Uji Motilitas (-)

Uji katalase (-)

Tidak terdapat jejak pergerakan pada media Tidak terdapat adanya gelembung



Uji hidrolisis gelatin (-)

Uji sitrat (+)

Tidak terjadi pencairan gelatin pada media

Terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru



Uji TSIA (+) A/A Gas (-) H₂S (-)

A/A = kuning/kuning, menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa laktosa, dan sukrosa.

Gas (-) = tidak adanya rongga yang terbentuk pada bagian bawah agar dan media terangkat.

H₂S (-) = tidak terbentuknya endapan hitam pada dasar media.