

# ISOLASI SENYAWA POLIHIDROKSI DARI EKSTRAK AKTIF ANTIBAKTERI BIOMASSA JAMUR ENDOFITIKDAUN TANAMAN SAWI LANGIT (*Ageratum* *conyzoides* Linn.)

*by* Indi Silvia

---

**Submission date:** 29-Jul-2019 12:45PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1155864132

**File name:** SKRIPSI\_INDI\_SILVIA.pdf (1.92M)

**Word count:** 18270

**Character count:** 109116

1  
**ISOLASI SENYAWA POLIHIDROKSI DARI EKSTRAK  
AKTIF ANTIBAKTERI BIOMASSA JAMUR  
ENDOFITIKDAUN TANAMAN SAWI LANGIT (*Ageratum conyzoides* Linn.)**

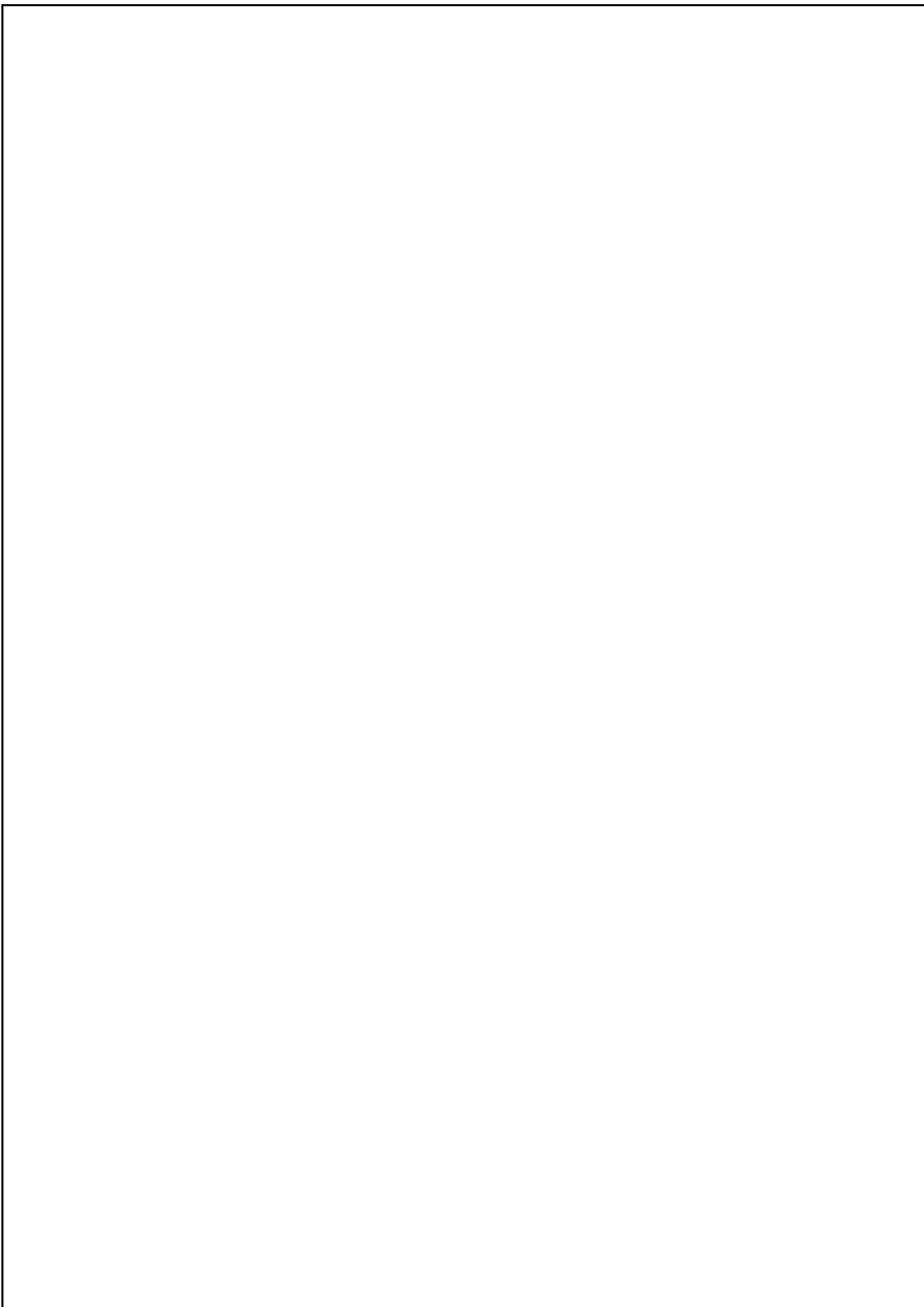
1  
**Skripsi**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



**Oleh :**  
**INDI SILVIA**  
**08061381520065**

**JURUSAN FARMASI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**  
**2019**



## HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Hasil: Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Ekstrak Aktif Antibakteri Biomassa Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit (*Ageratum conyzoides* Linn.).

Nama Mahasiswa : Indi Silvia

NIM : 08061181520010

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 25 Juni 2019 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 27 Juni 2019

Pembimbing:

1. Prof. Dr. Elfita, M.Si.

NIP. 196903261994122001

  
.....

2. Dr.rer.nat.Mardiyanto, M.Si., Apt.

NIP. 197103101998021002

  
.....

Pembahas:

1. Herlina, M.Kes., Apt.

NIP. 197107031998022001

  
.....

2. Indah Solihah. M.Sc., Apt.

NIP. 198803082014082201

  
.....

3. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt.

NIP. 198711272013012201

  
.....

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi  
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.  
NIP. 197103101998021002

### HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : ISOLASI SENYAWA POLIHIDROKSI DARI EKSTRAK AKTIF ANTIBAKTERI BIOMASSA JAMUR ENDOFITIK DAUN TANAMAN SAWI LANGIT (*Ageratum conyzoides* Linn.).

Nama Mahasiswa : INDI SILVIA

NIM : 08061381520065

Jurusan : FARMASI

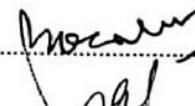
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya pada tanggal 25 Juli 2019 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 29 Juli 2019

Ketua:

1. Prof. Dr. Elfita, M.Si (.....)   
NIP. 196703261994122001

Anggota:

1. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt (.....)   
NIP. 195810261987032002

2. Herlina, M.Kes., Apt (.....)   
NIP. 197107031998022001

3. Indah Solihah, M.Sc., Apt (.....)   
NIP. 198803082014082201

4. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt (.....)   
NIP. 198711272013012201

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi  
Fakultas MIPA, UNSRI



## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Indi Silvia

NIM : 08061381520065

Fakultas / Jurusan : MIPA / Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua Informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang telah dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, Juli 2019

Penulis,



Indi Silvia

NIM. 08061381520065

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Indi Silvia  
NIM : 08061381520065  
Fakultas / Jurusan : MIPA / Farmasi  
Jenis Karya : Skripsi

Demi Pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif (non-exclusively royalty-free right) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Ekstrak Aktif Antibakteri Biomassa Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit (*Ageratum conyzoides* Linn.)” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media / memformat, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis / pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, Juli 2019

Penulis,



INDI SILVIA

NIM. 08061381520065

## **HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO**

**بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ**

**(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)**

**Skripsi ini saya persembahkan untuk keluarga tercinta, sahabat, teman  
seperjuangan Farmasi 2015 dan Almamater.**

**Motto:**

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

**(Q.S. Al-Insyirah 5-6)**

“Tidak ada Kesuksesan melainkan dengan pertolongan Allah”

**(Q.S. Al-Huud (11): 88)**

“Sesungguhnya Allah Tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri”

**(Q.S. Ar-Ra’d (13):11)**

“Maka berlomba-lombalah kalian dalam melakukan kebaikan”

**(Q.S. Al-Baqarah (2): 148)**

“Menyi-nyiakan waktu lebih buruk dari kematian. Karena kematian memisahkanmu dari dunia, sementara menya-nyiakan waktu memisahkanmu dari Allah”

**(Imam bin Al Qayim)**

“Karunia Allah yang paling lengkap adalah kehidupan yang didasarkan pada ilmu pengetahuan”

**(Ali bin Abi Thalib)**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT Tuhan Semesta Alam yang telah melimpahkan rahmat, ridho, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Ekstrak Aktif Antibakteri Biomassa Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit (*Ageratum conyzoides* Linn.)<sup>1</sup>”. penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Peneliti menyadari dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT, berkat izin dan kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan studi ini.
2. Kedua orang tua penulis (Bapakku Indra Jaya dan Ibuku Yulia) yang telah mendukung saya dari segi materi, usaha, Do'a, dan kasih sayang sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dan studi dengan baik. Tanpa do'a dan dukungan kalian mungkin saya tidak dapat berdiri seperti sekarang ini.
3. Kedua adik penulis (Dini Oktavia dan Adith Kurniawan) serta kakak perempuan yang sangat saya rindukan (Almh. Nurjannah) yang telah mendukung saya baik dari Do'a maupun kasih sayang.
4. Alm. H. Baslah dan Almh. Hj. Yusmah selaku kakek dan nenek (orang tua dari Ibuku), H. Abdullah dan Almh. Siti Surya selaku kakek dan nenek (orang tua dari Bapakku) yang telah ikut serta dalam membesaranku, mendo'akanku, mendukungku serta memberikan kasih sayang kepada penulis dari kecil.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaf, MSCE., selaku Rektor Universitas Sriwijaya, Bapak Prof. Dr. Iskhaq Iskadar selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan Bapak Dr. rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi atas sarana dan

prasarana yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.

6. Kedua dosen pembimbing saya. Prof. Dr. Elfita, M.Si. selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Dr. Rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing kedua atas seluruh bantuan, ide, usaha, bimbingan, nasihat, serta do'a yang telah diberikan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
7. Ibu Annisa Amriani, M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing akademik atas semua dukungan, nasihat dan do'a yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan hingga penyusunan skripsi selesai.
8. Ibu Dr. Budi Untari, M.Si., Apt., Ibu Herlina, M.Kes., Apt., Ibu Indah Solihah, M.Sc., Apt., dan Ibu Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt. selaku dosen pembahas atas saran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
9. Seluruh dosen, staf, dan analis laboratorium Jurusan Farmasi, serta analis laboratorium Dasar Bersama FMIPA Universitas Sriwijaya atas ilmu, bantuan dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis.
10. Kak Ria dan Kak Adi selaku admin Jurusan Farmasi Universitas Sriwijaya atas usaha, waktu dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis.
11. Feti Fera, Juwita Eka Larasati, Rismawati Simangunsong selaku partner seperjuangan penelitian tugas akhir Isolasi seyawa antibakteri dari jamur endofitik atas kerjasama selama penelitian.
12. Teman-Teman seperjuangan farmasi angkatan 2015atas kebersamaan dan semangat selama perkuliahan.
13. Kakak Putri Agusti Asgaf S.Farm selaku kakak asuh penulis atas waktu, buku-buku, nasihat, bantuan dan Do'a yang telah diberikan selama perkuliahan dan penyusunan skripsi.
14. Kak Khairunnisa S.Farm yang sedang melanjutkan studi Apotekernya selaku kakak tingkat angkatan 2014 atas waktu, usaha, bantuan dan semangat selama penelitian dan penulisan skripsi.
15. Una-Una (Dian Adiyatama dan Wulan Widiastuti) selaku teman dari SD atas nasihat, tempat berkeluh kesah, dan untuk hari-harinya selama ini.

16. Teman deket rumah (Neni okcharia, Betha Oktarina, Pesta oktaria) selaku teman perempuan satu komplek yang sangat minim perempuan atas waktunya, nasihatnya, dan untuk hari-harinya.
17. Seluruh mahasiswa farmasi angkatan 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018 atas kebersamaan selama perkuliahan.
18. Seluruh pihak yang membantu penulis dalam meyelesaikan studi hingga selesai.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Hanya kepada Allah SWT penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca.

Inderalaya Juli 2019

Penulis,



Indi Silvia

NIM. 08061381520065

**Isolation of Polyhidroxy Compound from Sawi Langit's Leaves (*Ageratum conyzoides* Linn.) Biomass Fungi Active Antibacterial Extract**

**Indi Silvia**

**08061381520065**

**ABSTRACT**

Sawi Langit plant (*Ageratum conyzoides* Linn.) is a wild plant used for healing diseases caused by diarrhea and abscess. This plant has etnomedicine history as pathogen infection remedy, and is promising as a candidate to obtain antibacterial activity from endophytic. The utilization of endophytic fungi is one of efficient method to obtain antibacterial substance. This research was initialized by the extraction of endophytic fungi biomass via soxhletation and was evaporated until methanol thick extract was obtained. Biomass methanol extract was being done antibacterial activity test against *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* bacteria. Methanol extract that gave strong category of activity (DSL1) was then separated and purified with chromatography method. Pure substance which was successfully isolated has the form of white crystalline. The following analysis was molecular structure analysis using spectroscopy which included spectroscopy infrared, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. Based on spectroscopy data analysis and literature data, the result of isolation substance is mannitol.

**Keyword (s) :** endophytic fungi, *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves, UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, and DEPT-135 antibacteri, mannitol.

## Isolasi Senyawa Polihidroksi Intraselular dari Ekstrak Aktif Antibakteri Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit (*Ageratum conyzoides* Linn.)

Indi Silvia  
08061381520065

### ABSTRAK

Tanaman sawi langit (*Ageratum conyzoides* Linn.) merupakan tanaman liar yang digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri seperti diare dan bisul. Tanaman yang memiliki sejarah etnomedisin sebagai obat infeksi bakteri patogen, merupakan kandidat yang menjanjikan untuk mendapatkan senyawa antibakteri dari jamur endofitiknya. Penggunaan jamur endofitik merupakan cara yang efisien untuk memperoleh senyawa antibakteri. Penelitian ini diawali ekstraksi biomassa jamur endofitik secara sokletasi dan dievaporasi <sup>6</sup>mpai didapatkan ekstrak pekat metanol. Ekstrak metanol biomassa dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Ekstrak metanol yang memberikan aktivitas kategori kuat (DSL1) dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa murninya dengan teknik kromatografi. Senyawa murni yang berhasil diisolasi berupa kristal putih. Selanjutnya senyawa murni dianalisis struktur molekul dengan spektroskopi yang meliputi spektroskopi inframerah, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR. Berdasarkan analisis data spektroskopi dan data literatur, maka senyawa hasil isolasi adalah mannitol.

**Kata Kunci:** Jamur endofitik, daun *Ageratum conyzoides* Linn., UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, dan DEPT-135 antibakteri, mannitol.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	x
ABSTRAK.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
DAFTAR ISTILAH.....	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1.Latar Belakang.....	1
1.2.Rumusan Masalah.....	3
1.3.Tujuan Penelitian .....	3
1.4.Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TIN AUAN PUSTAKA	
2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman <i>Sawi Langit</i> <i>(Ageratum conyzoides</i> Linn.).....	4
2.2 Manfaat Tanaman <i>Sawi Langit</i> .....	5
2.3 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis Tanaman <i>Sawi Langit</i> .....	6
2.4 Jamur Endofitik.....	7
2.5 Senyawa Antibakteri dari Jamur Endofitik.....	8
2.6 Bakteri.....	10
2.6.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.6.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
2.6.3 Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	13
2.6.4 Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	13
2.7 Antibakteri.....	14
2.8 Metode uji Aktivitas Antibakteri .....	16
2.8.1 Metode Difusi Agar .....	16
2.8.1.1 Cara Kirby-Bauer .....	16
2.8.1.2 Cara Sumuran.....	17
2.9 Tetrasiklin.....	17
2.10 Identifikasi Struktur.....	18
2.10.1 Spektroskopi Inframerah.....	19
2.10.2 Spektroskopi Uv-vis.....	20

2.10.3 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti NMR.....	20
2.10.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti $^1\text{H-NMR}$ ....	21
2.10.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti $^{13}\text{C-NMR}$ ..	21
2.11 Mannitol.....	22
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat.....	23
3.2 Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.3.2 Bahan.....	24
3.3 Prosedur Kerja.....	24
3.3.1 Kultivasi dan Ekstraksi Biomassa Jamur Endofitik...	24
3.3.2 Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Biomassa Jamur Endofitik.....	25
3.3.2.1 Peremajaan Bakteri Uji.....	25
3.3.2.2 Pembuatan Suspensi Uji.....	25
3.3.2.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode 1 Kirby-Bauer.....	25
3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis.....	26
3.3.4 Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Biomassa .....	27
3.3.5 Penentuan Struktur Molekul.....	27
3.3.6 Identifikasi Jamur Endofitik.....	27
3.3.7 Pengolahan Analisis Data.....	27
<b>BAB IV PEMBAHASAN</b>	
4.1 Kultivasi dan Ekstraksi Biomassa Jamur Endofitik.....	29
4.2 Kromatografi Lapis Tipis.....	29
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
4.4 Hasil Analisis Data .....	35
4.5 Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Biomassa Jamur Endofitik.....	37
4.6 Penentuan Struktur Molekul .....	40
4.6.1 Identifikasi dengan Spektrum Inframerah.....	41
4.6.2 Identifikasi dengan Spektrum $^1\text{H-NMR}$ .....	41
4.6.3 Identifikasi dengan Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ .....	44
<b>BAB V KESIMPULAN.....</b>	47
5.1 Kesimpulan .....	47
5.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	48
<b>LAMPIRAN .....</b>	54
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....</b>	81

## DAFTAR TABEL

	Halaman
TABEL 1.	Kriteria untuk menentukan aktivitas antibakteri.....
TABEL 2.	Rendemen ekstrak metanol biomassa daun tanaman sawi tinggi.....
TABEL 3.	Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol bandingkan dengan antibiotik tetrasiklin.....
TABEL 4.	Penggabungan hasil kromatografi kolom gravitasi ekstrak metanol biomassa jamur endofitik .....
TABEL 5.	Pengelompokan fraksi F4 hasil kromatografi kolom gravitasi.....
TABEL 6.	Puncak-puncak serapan murni hasil isolasi pada spektrum IR dibandingkan dengan literatur .....
TABEL 7.	Data spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 1 dibandingkan dengan literatur .....

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1	Tanaman sawi langit ..... 4
Gambar 2	Senyawa kimia yang diisolasi dari tanaman sawi langit.... 7
Gambar 3	Senyawa kimia dari fraksi bioaktif ekstrak heksana Tiri tanaman <i>Ageratum conyzoides</i> ..... 7
Gambar 4	Senyawa antibakteri jamur endofitik ..... 8
Gambar 5	Senyawa antibakteri jamur endofitik ..... 9
Gambar 6	Senyawa antibakteri jamur endofitik ..... 10
Gambar 7	Struktur mannitol ..... 22
Gambar 8	Pola noda pada plat KLT dengan eluen heksan : etil (2:3) yang dihasilkan oleh biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit dengan penampak noda menggunakan lampa UV CAMAG pada $\lambda$ 254 nm ..... 31
Gambar 9	Skema pemisahan dan pemurnian senyawa-1 ..... 38
Gambar 10	KLT hasil kolom ekstrak metanol jamur DSL-1 fraksi 1-4 dengan eluen heksan : etil (2:8) ..... 39
Gambar 11	Hasil KLT dari fraksi F3 ..... 40
Gambar 12	Hasil KLT pemurnian fraksi F4.3 ..... 40
Gambar 13	Spektrum IR senyawa murni hasil isolasi..... 41
Gambar 14	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat pada daerah $\delta$ -1 – 14 ppm ..... 42
Gambar 15	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat pada daerah $\delta$ 3,25 – 4,65 ppm. 43
Gambar 16	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat pada daerah $\delta$ 3,26 – 3,70 ppm. 43
Gambar 17	Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ isolat pada daerah $\delta$ -10 – 240 ppm.. 44
Gambar 18	Spektrum DEPT 135 isolat pada daerah $\delta$ 60 – 80 ppm.... 45
Gambar 19	Struktur senyawa murni hasil isolasi dari biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit ( <i>Ageratum conyzoides</i> Linn.) ..... 46
Gambar 17	Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ isolat pada daerah $\delta$ -10 – 240 ppm..... 44
Gambar 18	Spektrum DEPT 135 isolat pada daerah $\delta$ 60 – 80 ppm..... 45
Gambar 19	Struktur senyawa murni hasil isolasi dari biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit ( <i>Ageratum conyzoides</i> Linn.) ..... 46

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Skema Isolasi Biomassa Jamur Endofitik ..... 54
Lampiran 2	Skema Kerja Uji Aktivitas Antibakteri..... 55
Lampiran 3	Pembuatan Medium PDB ( <i>Potato Dextrose Broth</i> ) ..... 56
Lampiran 4	Pembuatan Medium PDA ( <i>Potato Dextrose Agar</i> )..... 57
Lampiran 5	Pembuatan Medium NA ( <i>Nutrient Agar</i> ) ..... 58
Lampiran 6	Perhitungan Konsentrasi Senyawa Antibakteri dan Antibiotik Tetasiklin ..... 59
Lampiran 7	Dokumentasi Proses Ekstraksi Biomassa Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit ..... 61
Lampiran 8	Kultur Biomassa Jamur Endofitik pada Minggu Ke-6..... 62
Lampiran 9	Biomassa Jamur Endofitik Kering yang Telah direndam dengan Metanol..... 63
Lampiran 10	Dokumentasi Biomassa Kering Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit..... 64
Lampiran 11	Surat Keterangan Hasil Determinasi ..... 65
Lampiran 12	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol DSL1-DSL6 dan Antibiotik Tetasiklin..... 66
Lampiran 13	Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri..... 67
Lampiran 14	Analisis Data..... 69
Lampiran 15	Hasil Identifikasi Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit ..... 77

## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
atm	: atmosfer
Cm	: <i>centimeter</i>
COSY	: <i>Correlations Spectroscopy</i>
DEPT	: <i>Distortionless Enchancement by Polarisation Transfer</i>
df	: <i>degree of freedom</i>
DMSO	: Dimetilsulfoksida
DSL	: <sup>1</sup> Daun Sawi Langit
FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
Gr	: Gram
HSD	: <i>Honestly Significant Difference</i>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Asam Sulfat
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LC50	: <i>Lethal Concentration 50</i>
LSD	: <sup>1</sup> <i>Least Significant Difference</i>
MHz	: Megahertz
mL	: mililiter
mm	: milimeter
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PDA	: <sup>1</sup> <i>Potato Dextrose Agar</i>
PDB	: <i>Potato Dextrose Broth</i>
pH	: <i>Power of Hidrogen</i>
PPM	: <i>Part Per Million</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>

Sig	: Signifikansi
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TMS	: Tetra Metil Silan
UV-Vis	: <i>Ultraviolet Visible</i>
<sup>1</sup> H-NMR	: <i>Proton Nuclear Magnetic Resonance</i>
<sup>13</sup> C-NMR	: <i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>
1D	: <i>One Dimension</i>
2D	: <i>Two Dimension</i>
µg	: mikrogram
µm	: mikrometer
°C	: Derajat Celcius

## DAFTAR ISTILAH

	1
Antibiotik	: Senyawa kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang memiliki khasiat menghambat bahkan mematikan pertumbuhan pertumbuhan kuman atau obat yang digunakan untuk berbagai penyakit infeksi.
ANOVA	: membandingkan variansi data numerik pada suatu kelompok atau lebih. 1
Bakterisid	: substansi yang dapat membunuh bakteri.
Bakteriostatik	: substansi yang mencegah pertumbuhan bakteri.
Difusi	: proses berpindahnya suatu zat dalam pelarut dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah.
Ekstraksi	: proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan larutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut.
Endofitik	: mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa merugikan bagi tanaman tersebut.
Etnomedisin	: cabang antropologi medis yang membahas tentang asal mula penyakit, sebab-sebab dan cara pengobatan menurut kelompok masyarakat tertentu.
Evaporasi	: proses yang bertujuan untuk memekatkan larutan yang terdiri atas pelarut yang <i>volatile</i> dan zat terlarut yang <i>non volatile</i> .
1 FTIR	: teknik analisis yang umum digunakan untuk menganalisis gugus fungsi yang terkandung dalam suatu senyawa.
Isolasi	: proses pengambilan atau pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai.
Kirby-bauer	: salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.
Kultivasi	: proses pembiakan mikroorganisme dalam suatu media.
Kultur	: penanaman atau pemeliharaan sel atau jaringan dalam suatu laboratorium.
1 Magnetic stirrer	: alat untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan.
Pioneer	: tanaman yang pertama hadir dan dapat membuka lahan hidup untuk organisme lain.
Polihidroksi	: kelompok senyawa yang memiliki banyak gugus hidroksi.
Sokletasi	: suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu,

sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi.

Spektroskopi : studi mengenai antaraksi cahaya dengan atom dan molekul.



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Antibiotik merupakan suatu senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh mikroorganisme sebagai metabolit sekunder yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen.<sup>1</sup> Senyawa ini bekerja dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein dan menghambat kerja enzim (Pelczar dan Chan, 2008). Sebagian besar senyawa antibiotik yang digunakan merupakan senyawa kimia sintetik yang berbahaya dan tidak aman bagi kesehatan jika dikonsumsi dalam jangka panjang karena memiliki efek samping tertentu. Penyalahgunaan antibiotik menyebabkan resistensi atau kuman tidak dapat dilemahkan oleh antibiotik sehingga menjadi masalah dalam bidang kesehatan (Tirtodiharjo, 2011). Penelitian untuk mencari antibiotik baru, perlu terus dilakukan untuk mengatasi permasalahan resistensi ini. Salah satunya bersumber dari bahan alam.

Jamur endofitik adalah mikroorganisme yang hidup didalam jaringan tanaman, daun, akar, buah, dan batang yang merupakan salah satu bahan alam yang berpotensi untuk menghasilkan antibiotik. Jamur ini hidup bersimbiosis dengan cara mendapatkan nutrisi hasil metabolisme dari tanaman (Tanaka *et.al.*, 1999). Cairan tubuh dari jamur endofitik dibedakan menjadi cairan intraseluler dan cairan ekstraseluler. Cairan intraseluler merupakan cairan yang terdapat di dalam tubuh sel jamur endofitik, yang di sebut juga dengan biomassa jamur endofitik. Sedangkan cairan ekstraseluler merupakan cairan yang terdapat di luar tubuh sel, yang biasa disebut sebagai isolat jamur endofitik. Untuk mendapatkan

jamur endofitik yang dapat menghasilkan antibiotik maka dipilih dari tanaman inang yang biasa digunakan untuk obat antibakteri.

Sumber tanaman yang mengandung metabolit sekunder yang berkhasiat obat salah satunya adalah tanaman sawi langit. Tanaman ini merupakan tanaman liar yang mudah ditemukan di Indonesia. Di Indralaya tanaman sawi langit ini digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri seperti diare dan bisul. Menurut Heyne (1987), secara tradisional tanaman sawi langit digunakan sebagai obat diare, luka dan antiinflamasi. Tanaman ini juga bermanfaat sebagai obat luka baru, luka berdarah, bisul, eksema dan berbagai penyakit lainnya yang disebabkan oleh adanya infeksi bakteri.<sup>1</sup>

Hasil studi literatur diketahui bahwa tanaman sawi langit mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, tanin, chromene, benzofuran dan terpenoid. Daun dan bunga tanaman ini mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Kamboj dan Saluja, 2008; Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Senyawa fenol berfungsi sebagai desinfektan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme yang bersifat patogen. Senyawa polifenol yang terkandung di dalam daun dan bunga sawi langit memiliki aktivitas antibakteri (Rahman, 1997).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi terhadap enam ekstrak jamur endofitik dari daun dan batang sawi langit. Selain itu, dilakukan juga isolasi metabolit sekunder dari ekstrak aktif antibakterijamur endofitiknya. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa polihidroksi dari ekstrak aktif antibakteri terhadap biomassa jamur endofitik. Penelitian ini diawali dengan kultivasi jamur endofitik dari daun tanaman sawi langit dalam media PDB selama

6 minggu, yang dilanjutkan dengan ekstraksi biomassa kering jamur endofitik.

Setiap ekstrak diuji <sup>6</sup> aktivitas antibakteri dengan bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Terhadap ekstrak aktif dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa polihidroksinya.

1

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana potensi aktivitas antibakteri dari ekstrak biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit ?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa polihidroksi dari ekstrak aktif biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini antara lain :

1. Melakukan skrining aktivitas antibakteri senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak biomassa jamur endofitik.
2. Mengidentifikasi senyawa polihidroksi dari biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan didapat dari penelitian ini antara lain memberikan bukti ilmiah mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit dan memberikan landasan ilmiah untuk pengembangan senyawa aktif hasil isolasi <sup>1</sup> dari ekstrak biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit.

1  
**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Sawi Langit (*Ageratum conyzoides L.*)**



Gambar 1. Tanaman sawi langit (Badan POM RI, 2008)

*Ageratum conyzoides L.* merupakan tanaman herba tahunan yang tersebar di seluruh dunia khususnya daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini dapat tumbuh hingga ketinggian 1 meter. Tanaman ini memiliki bulu putih halus yang menutupi batang dan daun (Shekar dan Goyal, 2012). Batang berbentuk bulat dan daun tunggal bertangkai yang letaknya berhadapan dan bersilang. Tepi daun bergerigi dengan panjang hingga 10 cm dan lebar hingga 7 cm. Bunga majemuk, berwarna ungu (Badan POM RI, 2008). Klasifikasi tanaman sawi berdasarkan Natural Resources Conservation Service (Kartesz, 2012) sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Asteridae

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : *Ageratum*

Spesies : *Ageratum conyzoides* Linn.

1

Tanaman sawi langit merupakan tanaman *pioneer* yang dapat tumbuh di daerah yang rusak, yang kemudian akan menjadi tanaman yang dominan sehingga akan membentuk koloni tersendiri. Tanaman ini juga memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap serangga dan penyakit yang menyerang tanaman. Tanaman ini termasuk sebagai gulma yang berbahaya untuk tanaman pangan seperti padi-padian dengan cara menginvasi lahan pertanian dan mengganggu komposisi dari komunitas yang ada (Ming, 1999).

1

## 2.2 Manfaat Tanaman Sawi langit (*Ageratum conyzoides*L.)

Secara tradisional tanaman sawi langit (*Ageratum conyzoides*) merupakan tanaman obat tradisional yang digunakan masyarakat untuk berbagai pengobatan seperti sebagai stimulan, analgesik, antipiretik, antitoksik, antiinflamasi, diuretik, karminatif, antidiare, antimikroba, antidiabetes, antikanker dan antioksidan (Dalimarta, 2000; Janarthanan *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti (2007) melaporkan bahwa ekstrak daun *Ageratum conyzoides* bersifat sitotoksik terhadap sel myeloma dengan LC50 sebesar 20,707 µg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Achuwa (2006) melaporkan bahwa ekstrak kloroform daun sawi langit dapat menghambat pertumbuhan virus *Newcastle Disease*.

4

Penelitian mengenai potensi *Ageratum conyzoides* di bidang kesehatan terus dilakukan. Salah satunya adalah potensinya sebagai obat antikanker.

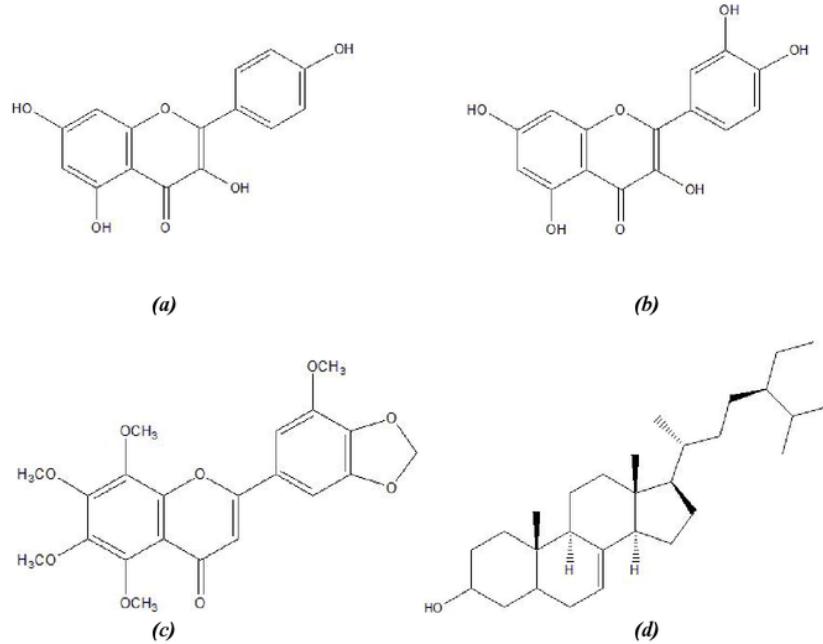
4

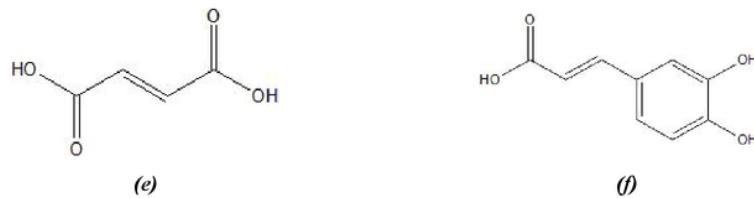
Penelitian yang dilakukan oleh Rahim *et al.* (2012) menguji sifat toksisitas dari

senyawa metabolit sekunder dari tanaman sawi langit yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana *Ageratum conyzoides* L. bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina Leach* dengan LC<sub>50</sub> sebesar 19,906ug/mL. Nasrin (2013) juga membuktikan bahwa ekstrak metanol batang sawi langit memiliki bioaktivitas yang sangat besar dan bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina Leach* dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 1,32 ug/mL.

### 2.3 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis Tanaman Sawi Langit

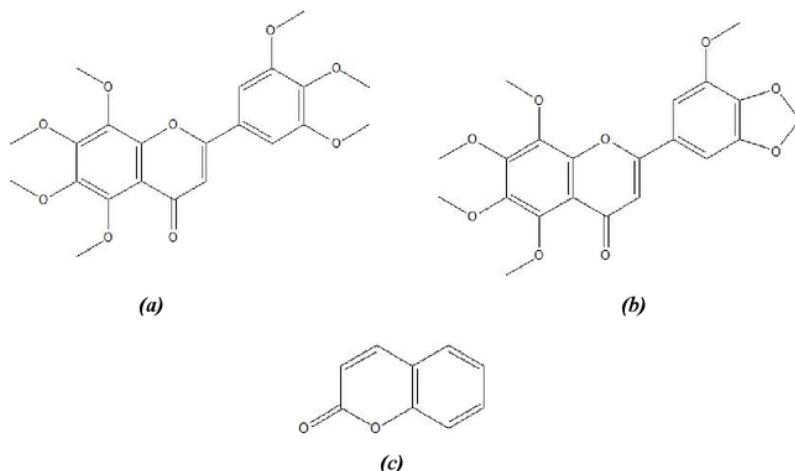
Secara umum *Ageratum conyzoides* mengandung banyak sekali senyawa bioaktif diantaranya flavonoid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, tanin, chromene, benzofuran dan terpenoid (Kamboj and Saluja, 2008). Selain itu banyak juga senyawa yang telah diisolasi dan diidentifikasi dari tanaman *Ageratum conyzoides*, diantaranya kaempferol (a), quercetin (b), eupalestin (c), stigmas-7-en-3-ol (d), fumaric acid (e) dan caffamic acid(f)(Nyunai et al., 2010).





**Gambar 2.** Senyawa kimia yang diisolasi dari tanaman sawi langit : kaempferol (a), quercetin (b), eupalestin (c), stigmas-7-en-3-ol (d), fumaric acid (e), dan caffeic acid (f) (Nyunai *et al.*, 2010).

Senyawa kimia yang diidentifikasi dari fraksi bioaktif ekstrak heksana dari tanaman *ageratum conyzoides* yaitu dua senyawa flavonoid (5,6,7,8,3',4',5'-heptamethoxyflavone (**a**) dan 5,6,7,8,3'-pentamethoxy-4',5'-methylenedioxy-flavone (**b**) dan kumarin (**c**). Flavonoid merupakan senyawa fitokimia yang banyak ditemukan di tumbuhan. Senyawa ini memiliki aktivitas mikroba, aktivitas farmakologi dan antioksidan serta sebagai desinfektan terhadap hama (Escheverriet *et al.*, 1991).



**Gambar 3.** Senyawa kimia dari fraksi bioaktif ekstrak heksana dari tanaman *Ageratum conyzoides* : 5,6,7,8,3',4',5'-heptamethoxyflavone (a) 5,6,7,8,3'-pentamethoxy-4',5'-methylenedioxy-flavone (b) dan kumarin(c) (Escheverriet *et al.*, 1991).

## 2.4 Jamur Endofitik

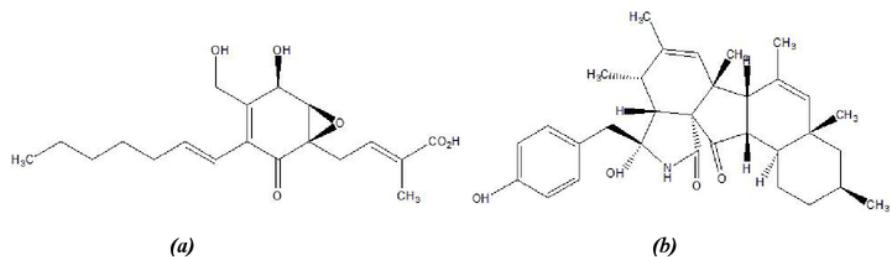
Jamur endofitik merupakan mikroorganisme yang hidup didalam jaringan akar, batang, dan daun tanaman. Hubungan antara jamur endofitik dan inangnya

dapat berbentuk simbiosis mutualisme sampai hubungan patogenik. Kemampuan jamur endofitik memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari jamur endofitik yang diisolasi dari tanaman inang (Strobel dan Daisy, 2003).

Keuntungan dari isolasi jamur endofitik dari suatu tanaman obat untuk menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan tanaman inangnya adalah untuk pelestarian tanaman, terutama tanaman langkah. Penggunaan jamur endofitik merupakan cara yang efisien karena tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk dapat dipanen (Radji, 2005).

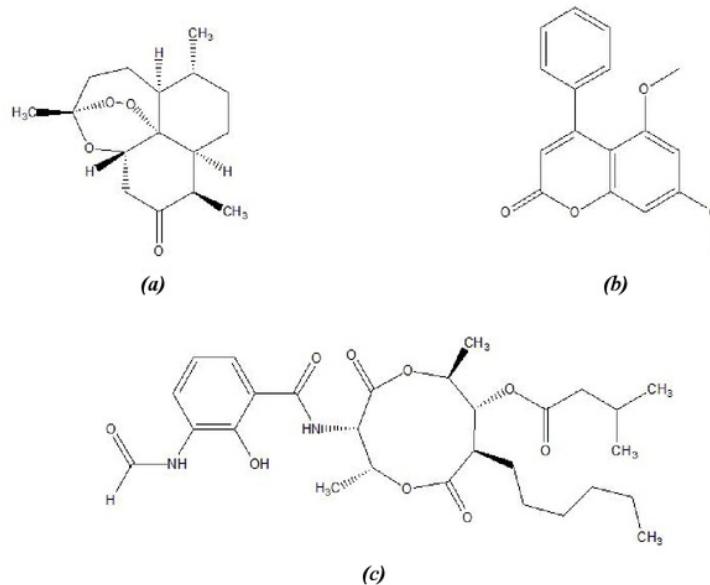
## 1 2.5 Senyawa Antibakteri dari Jamur Endofitik

Jamur endofitik yang paling sering ditemukan salah satunya adalah *Pestalotopsis micrispora*. Jamur endofitik ini menghasilkan metabolit sekunder berupa *ambuic acid(a)* yang berkhasiat sebagai antibakteri (Li *et al.*, 2001). *Phomopsichalasin(b)* Yang berkhasiat sebagai antibakteri merupakan senyawa antibakteri yang diisolasi dari jamur endofitik *Phomopsis spp.* Jamur ini menghambat bakteri *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida tropicalis* (Horn *et al.*, 1995).



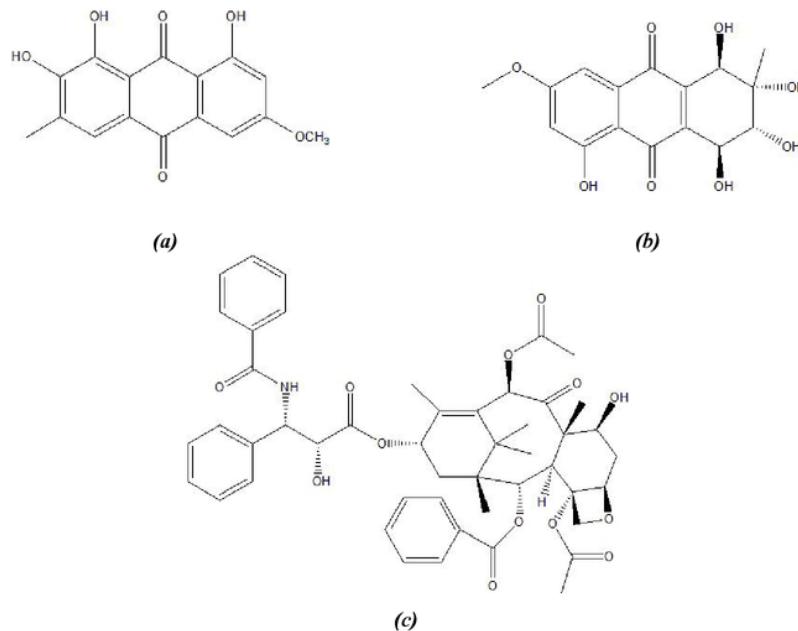
**Gambar 4.** Senyawa antibakteri jamur endofitik *ambuic acid* (a) (Li *et al*, 2001) *Phomopsichalasin* (b) (Horn *et al*, 1995).

Jamur endofitik *Colletotrichum sp.* diisolasi dari *A. annua* menghasilkan artemisinin (**a**) seperti pada tanaman inangnya (Wang *et al.*, 2002). *S. Aureofaciens* CMUAc 130 yang diisolasi dari *Zingiber officinale rose*, dilaporkan menghasilkan antijamur dan antitumor berupa 5,7-dimethoxy-4-phenylcoumarin (**b**) (Taechowisan *et al.*, 2012). *Streptomyces albidoflavus* diisolasi dari tanaman mangrove menghasilkan Antimycin A (**c**) yang merupakan antibiotik spektrum luas (Yan *et al.*, 2010).



**Gambar 5.** Senyawa antibakteri jamur endofitik artemisinin (**a**) (Wang *et al.*, 2002), 5,7-dimethoxy-4-phenylcoumarin (**b**) (Taechowisan *et al.*, 2005), dan Antimycin A (**c**) (Yan *et al.*, 2010).

Jamur endofitik *Ampelomyces sp* yang diisolasi dari *Urospermum picroides* menghasilkan dua senyawa antibakteri berupa 3-O-metillalaternin (**a**) dan altersolanol A (**b**). kedua senyawa ini menghambat bakteri gram positif seperti *S. Aureus*, *S. Epidermis*, dan *Enterococcus faecalis* (Yu *et al.*, 2010). *Colletotrichum gloeosporioides* yang diisolasi dari *Justicia gendarussa* menghasilkan senyawa taxol (**c**) (Gangdevi dan Muthusamy, 2008).



Gambar 6. Senyawa antibakteri jamur endofitik : 3-O-metillalaternin (a), altersolanol A (b)(Yu *et al.*, 2010), dan taxol (c) (Gangdevi dan Muthusamy, 2008).

Antibiotik munumbicin merupakan antibiotik spektrum luas yang dihasilkan oleh jamur endofitik *Streptomyces spp.* Strain NRRL 30562. Jamur endofitik ini diisolasi dari tanaman *Kennedia nigricans* yang multiresisten terhadap berbagai obat anti TBC (Castillo *et al.*, 2002). Jamur endofitik lainnya yang menghasilkan antibiotik berspektrum luas adalah jamur endofitik yang diisolasi dari tanaman *Grevillea pteridifolia*. Jamur endofitik ini menghasilkan metabolit sekunder Kakadumycin. Aktivitas antibakterinya sama seperti Munumbicin D. Kakadumycin ini juga berkhasiat sebagai antiinflamasi (Castillo *et al.*, 2003).

## 2.6 Bakteri

Mikroorganisme merupakan organisme hidup berukuran mikro yang hanya dapat diamati dengan menggunakan mikroskop. Mikroorganisme berdasarkan susunan selnya dibagi dua yaitu mikroorganisme yang tersusun atas

satu sel (uniseluler) dan mikroorganisme yang tersusun atas beberapa sel (multiseluler). Organisme yang termasuk kedalam golongan mikroorganisme antara lain bakteri, archaea, fungi (kapang dan khamir), protozoa, dan virus. Bakteri, virus, dan archaea termasuk kedalam golongan prokariot, sedangkan fungi dan protozoa termasuk kedalam golongan eukario (Pratiwi, 2008).

Organisme prokariot dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu eubakteri (bakteri sejati) dan archaea. Kelompok bakteri terdiri atas semua organisme prokariotik patogen dan nonpatogen, serta organisme prokariot yang bersifat fotoautotrof. Beberapa bentuk dasar bakteri antara lain bulat (tunggal: *coccus*, jamak: *cocci*), batang atau silinder (tunggal : *bacillus*, jamak : *bacilli*) dan spiral. (Pratiwi, 2008). Satuan ukuran bakteri adalah mikrometer, yaitu setara dengan 1/1000 mm atau  $10^{-3}$ mm. Bakteri umumnya berukuran sekitar 0,5-1,0 x 2,0-5,0 mikrometer (Pelczar, 1986).

### 2.6.1 Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif, dan tidak membentuk spora. Pembelahan *E.coli* bersifat aerob atau bisa juga anaerob fakultatif. Pertumbuhan optimum pada suhu 37°C (Juliantina et al., 2008). Selnya berukuran antara 0,4-0,7 x 1,4 mikrometer. *E.coli* biasanya terdapat disaluran pencernaan manusia dan binatang, sungai, danau, tanah, dan tempat lain yang telah terkontaminasi feses. Kontaminasi bakteri ini dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, misalnya diare. Bakteri ini berperan penting untuk pencernaan makanan dengan memproduksi vitamin K dari berbagai materi yang tidak tercernakan di usus besar (Syahrurachman et al., 1994). Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Juliantina et al., (2008) sebagai berikut.

Kingdom	: Prokaryota
Filum	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

### 2.6.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola dan berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  (Pelczar, 2008). Bakteri ini tidak bergerak dan tidak berspora. Pertumbuhan terbaik dan khas dari bakteri ini adalah pada suasana aerob, namun bakteri ini pun juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dengan ph optimum 7,4 (Syahrurachman *et al*, 1994). Bakteri ini ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses.

<sup>2</sup> Klasifikasi bakteri ini menurut Sleigh dan Timbury (1994) :

Kingdom	: Prokaryota
Filum	: Bacteria
Kelas	: Schizomyces
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

### 2.6.3 Bakteri *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang, membentuk rantai, berspora, dan sifatnya aerob. Panjang bakteri ini sekitar 2-3 mikrometer dan lebarnya 0,7-0,8 mikrometer (Jawetz dan Adelberg, 1996). Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 45-55°C dan minimum pada suhu 5-20°C. Biasanya ditemukan di tanah, air, udara, saluran pencernaan hewan, dan pangan tertentu (Buckle, 1985). Klasifikasi *Bacillus subtilis* menurut Madigan (2005) :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i>

Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan cara mengganggu sistem imun manusia. Misalnya gastroenteritis akut dan meningitis (Jawetz dan Adelberg, 1996). Selain itu, bakteri ini juga dikenal sebagai bakteri yang menyebabkan keasaman pada makanan kaleng akibat fermentasi gula yang terkandung dalam bahan pangan tersebut (Buckle, 1985).

### 2.6.4 Bakteri *Salmonella typhi*

*Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, dan dominan bergerak dengan flagel peritrik. Bakteri ini memiliki ukuran lebar antara 0,7-1,5 mikrometer dan panjang 2,0-5,0 mikrometer. Umumnya bakteri ini bersifat patogen dan menginfeksi manusia dan hewan. Di

alam bebas, bakteri ini dapat tahan hidup lama dalam air, tanah atau pada bahan makanan. Dalam feses diluar tubuh manusia tahan hidup 11-2 bulan. Dalam air susu dapat berkembang biak dan hidup lebih lama. Hal ini dikarenakan di dalam air susu terdapat protein, lemak dan gula yang merupakan substrat saprofit (Monica et al., 2013). Klasifikasi *Salmonella typhi* menurut Batt dan Tortorello (2014) sebagai berikut.

Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Kelas	:	Gammaprotobacteria
Ordo	:	Enterobacteriales
Famili	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	<i>Salmonella</i>
Spesies	:	<i>Salmonella typhi</i>

## 2.7 Antibakteri

Antibakteri merupakan bagian dari antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme sebagai metabolit sekunder yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen. Senyawa ini bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein serta menghambat kerja enzim bakteri (Pelczar dan Chan, 2008).

Aktivitas zat antibakteri berdasarkan sifat toksitas selektif di kategorikan menjadi bakteriostatik dan bakterisid. Bakteriostatik merupakan kemampuan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Bakterisidal merupakan kemampuan antibakteri untuk membunuh bakteri dikarenakan hancurnya dinding sel bakteri akibat lisis (Brooks et al., 2005).

Kadar minimal untuk yang diperlukan untuk menghambat bakteri disebut dengan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar minimal untuk membunuh bakteri disebut dengan kadar bunuh minimum (KBM). Aktivitas antibakteri dapat meningkat menjadi bakteriosid apabila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM (Pelczar dan Chan, 1988). Aktivitas antibakteri dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu antibakteri dengan aktivitas lemah, sedang, dan kuat. Menurut Chan *et al* (2007), kriteria untuk menentukan aktivitas antibakteri sebagai berikut.

**Tabel 1. Kriteria untuk menentukan aktivitas antibakteri**

Aktivitas	Diameter Zona Hambat (mm)	Rumus
Lemah	1-5	$\frac{A}{B} \times 100\% < 50\%$
Sedang	5-10	$50 < \frac{A}{B} \times 100\% < 70\%$
Kuat	10-20	$\frac{A}{B} \times 100\% > 70\%$ .

**Keterangan:**

A: zona hambat (mm) senyawa antibakteri yang diuji

B: zona hambat (mm) antibiotik standar.

Antibakteri tersebar luas di alam dan memegang peranan yang sangat penting dalam mengatur populasi mikroba dalam tanah, air, limbah dan kompos. Antibakteri ini berbeda dalam segi susunan kimia dan cara kerjanya. Dari sekian banyak antibakteri yang telah berhasil ditemukan, hanya ada beberapa saja yang tidak toksik untuk digunakan dalam pengobatan. Antibakteri yang banyak digunakan antara lain dari genus *Bacillus*, *Penicilium*, dan *Streptomyces* (Syahrurachman *et al.*, 1994). Menurut Pelczar dan Chan (1988), ada beberapa faktor yang mempengaruhi kerja dari senyawa antibakteri dalam menghambat mikroorganisme patogen antara lain konsentrasi senyawa antibakteri, jumlah organisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik dan sifat asam basa.

## 2.8 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri untuk suatu senyawa antibakteri biasanya dilakukan menggunakan metode berikut :

### 2.8.1 Metode Difusi Agar

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Piringan berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah di tanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008). Metode difusi agar ini dibedakan menjadi dua yaitu metode *Kirby Bauer* dan metode sumuran.

#### 2.8.1.1 Metode *Kirby Bauer*

Metode ini disebut juga metode difusi disk. Metode *kirby bauer* merupakan uji sensitivitas dengan metode agar menggunakan teknik *disc diffusion* menggunakan media selektif yaitu media *Muller Hinton*. Metode ini bertujuan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Mekanisme kerja metode ini dengan cara piringan yang telah berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Parameter zona hambat ditunjukkan dengan terbentuknya Area jernih di sekitar cakram kertas. Area jernih ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri di permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Cakram kertas berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba yang akan diletakkan pada medium agar yang telah diinokulasi mikroba uji (Pelczar & Chan,

1988). Kelebihan cara ini yaitu fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diujikan (Sacher dan McPherson, 2004).

#### **2.8.1.2 Metode Sumuran**

Metode sumuran digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari tumbuhan atau ekstrak mikroba. Metode ini dilakukan dengan cara membuat lubang secara aseptik pada media agar dengan diameter agar dengan diameter kurang lebih 5 mm. Sebanyak 20-100  $\mu\text{L}$ . agen antibakteri atau larutan ekstrak kemudian dimasukkan kedalam sumuran sehingga dapat menyebar secara difusi. Hasil uji ditentukan dengan mengukur diameter zona jernih disekitar sumuran. Media yang digunakan berupa agar *Muller Hinton* setebal 3-4 mm yang telah ditambahkan inokulum bakteri (Yadav *et al.*, 2015).

#### **2.8.2 Metode Dilusi**

Metode dilusi merupakan metode yang digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum (KHM). KHM merupakan pengukuran aktivitas antibakteri secara kuantitatif. KHM ini ditentukan dari konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada media *broth*. Metode ini terbagi menjadi dua yaitu makrodilusi dan mikrodilusi (Jorgensen and Ferraro, 2009). Volume yang digunakan pada makrodilusi sebanyak 1 ml yang ditempatkan pada tabung. Sedangkan, mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 – 0,1 ml yang diletakkan dalam nampan mikrodilusi (Balouiri *et al.*, 2016)

#### **2.9 Antibiotik Tetrasiklin**

Antibiotik merupakan suatu senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme

lain (Munaf, 1994). Berdasarkan struktur kimianya, antibiotik digolongan menjadi beberapa golongan, yaitu golongan  $\beta$  laktam, aminoglikosida, makrolida, peptida dan kloramfenikol. Sedangkan berdasarkan daya kerjanya, antibiotik digolongkan menjadi 2 golongan, yaitu **antibiotik spektrum luas** dan **antibiotik spektrum sempit**. **Antibiotik spektrum luas** yaitu antibiotik yang memiliki kemampuan melawan sejumlah besar bakteri patogen (daya kerja luas). Contoh golongan antibiotik ini adalah tetrasi<sup>1</sup>klin. **Antibiotik spektrum sempit** yaitu antibiotik yang memiliki daya kerja sempit atau spesifik. **Contoh antibiotik golongan ini adalah penisilin** dan kloramfenikol (Katzung, 2010).

**Tetrasiklin** merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dengan spektrum kerja antibakteri luas, meliputi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Mekanisme kerja tetrasiklin adalah dengan menghalangi terikatnya RNA pada bagian spesifik dari ribosom, sehingga mengakibatkan **sintesis protein** mengalami hambatan (Tanu, 2009). Umumnya **tetrasiklin** diproduksi oleh beberapa anggota dari genus *Streptomyces* dan biasa digunakan untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh berbagai bakteri seperti jerawat (*Acne vulgaris*), kolera, malaria dan sifilis (Madigan, 2006). Antibiotik ini berbentuk kristal berwarna kuning dan sedikit larut dalam air. Kelarutan tetrasiklin dalam air pada suhu 28°C sebesar 1,7 mg/mL, sedangkan dalam metanol lebih dari 20 mg/mL (Schunack *et al.*, 1990).

## 2.10 Identifikasi Struktur

Umumnya, identifikasi struktur suatu senyawa umumnya menggunakan metode analisis spektroskopi. Spektroskopi merupakan metode analisis kimia yang didasarkan pada hasil interaksi antara materi dengan sinar. Apabila seberkas

sinar mengenai suatu materi maka akan terjadi interaksi antara sinar dengan materi tersebut.<sup>3</sup> Hasil interaksi antara materi dengan sinyal ini, biasanya dapat berupa penyerapan sinar, pemantulan, penerusan dan penghamburan (Pearsons, 2003).

### **2.10.1 Spektroskopi Inframerah**

Spektroskopi inframerah merupakan teknik analisis suatu senyawa dengan cara mengukur serapan radiasi inframerah pada berbagai variasi panjang gelombang.<sup>3</sup> Apabila radiasi inframerah dikenakan pada suatu molekul, maka akan terjadi perubahan dalam tingkat energi rotasi dan energi vibras. Spektroskopi ini terdapat dua vibrasi molekul, yaitu vibrasi ulur dan vibrasi tekuk. Vibrasi ukur terjadi perubahan jarak terus-menerus antara dua atom dalam molekul, sedangkan pada vibrasi tekuk terjadi perubahan sudut antara dua ikatan atom dalam molekul (Hoffman, 2004). Spektra inframerah digunakan untuk menginterpretasikan ada atau tidaknya gugus fungsional. Contohnya senyawa pirimidin dan purin absorbsi kuat terjadi pada bilangan gelombang  $1630\text{ cm}^{-1}$  karena adanya C=N, pada bilangan gelombang  $1580-1520\text{ cm}^{-1}$  dari C=C pada cincin, dan puncak C-H aromatis pada bilangan gelombang  $685-660\text{ cm}^{-1}$  (Lambert, 2001).

Daerah radiasi spektroskopi inframerah umumnya dibagi menjadi tiga, yaitu daerah IR dekat ( $12800-4000\text{cm}^{-1}$ ;  $3,8-12\times 10^4\text{Hz}$ ,  $0,78-2,5\text{ }\mu\text{m}$ ), daerah IR tengah ( $4000-200\text{cm}^{-1}$ ;  $3,8-12\times 10^4\text{Hz}$ ;  $2,5-50\text{ }\mu\text{m}$ ) dan daerah IR jauh ( $200-10\text{cm}^{-1}$ ;  $60-3\times 10^{11}\text{Hz}$ ;  $50-1000\text{ }\mu\text{m}$ ). Daerah IR tengah paling sering digunakan untuk berbagai keperluan praktis (Khopkar, 1990). Daerah disebelah kanan  $1400\text{ cm}^{-1}$  seringkali sangat rumit, karena pada daerah ini korelasi antara suatu pita dengan gugus fungsional tidak dapat disimpulkan dengan cermat, namun pada derah ini

serapan tiap senyawa organik sangat unik. Oleh karena itu, daerah tersebut disebut daerah sidik jari (*fingerprint region*). Daerah 400-1300 cm<sup>-1</sup> merupakan daerah gugus fungsi, dan derah 900-650 cm<sup>-1</sup> merupakan daerah aromatis (Wade,2006).

### 2.10.2 Spektroskopi UV-VIS

Spektroskopi UV-Vis merupakan suatu metode analisis analit yang didasarkan pada fenomena hasil interaksi antara materi dengan sinar (radiasi elektromagnetik) (Lambertet.al., 2001). Spektroskopi ini digunakan untuk menganalisis struktur dan mengidentifikasi adanya gugus kromofor, menetapkan kadar, memeriksa kemurnian dan memeriksa langsung konsentrasi analit. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 190-380 nm atau pada daerah cahaya tampak dengan panjang gelombang 380-780 nm (Pare dan Belanger, 1997). Prinsip dari spektroskopi UV-VIS yaitu penyerapan sinar tampak ultraviolet dengan suatu molekul menyebabkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang paling tinggi (Hendayanaet.al.,1994).

### 2.10.3 Spektroskopi Resonansi magnet inti NMR

Spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) didasarkan atas penyerapan gelombang radio oleh inti tertentu dalam molekul organik apabila molekul tersebut diletakkan dalam medan magnet yang kuat. Spektroskopi ini digunakan untuk memberikan gambaran mengenai atom H dan C dalam sebuah molekul organik (Lambertet.al., 2001). Tiap jenis inti dalam spektroskopi ini memiliki nilai pergeseran kimia dan kopling spin yang khas, tergantung dari lingkungan kinia spin inti yang diamati. Sampel yang digunakan berbentuk padat atau cair. Pengukurannya diperlukan suatu standar yaitu TMS (Tetra Metil Silan).

<sup>3</sup> Spektroskopi ini dibedakan menjadi dua yaitu spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR dan spektroskopi <sup>13</sup>C-NMR (Hoffman, 2004).

#### **2.10.4 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Proton <sup>1</sup>H-NMR**

Spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR bertujuan untuk memberikan informasi mengenai banyaknya jenis lingkungan hidrogen yang berbeda dalam suatu molekul, <sup>3</sup> banyaknya atom hidrogen yang ada pada masing-masing lingkungan tersebut, dan <sup>3</sup> banyaknya atom hidrogen pada atom karbon (Lambert et.al., 2001). Penentuan struktur molekul organik dengan metode ini harus menggunakan pelarut yang <sup>3</sup> tidak mengandung proton misalnya CDCl<sub>3</sub>. Larutan yang dianalisis kemudian diletakkan dalam medan magnet yang kuat, sehingga proton akan mengalami pergeseran kimia yang berlainan sesuai dengan lingkungan molekulnya (Pearson, 2003).

#### **2.10.5 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Karbon <sup>13</sup>C-NMR**

Spektroskopi <sup>13</sup>C-NMR digunakan untuk menetukan jumlah dan sifat atom karbon dari molekul organik. Pada spektroskopi ini, terjadi proses antaraksi atom karbon dengan proton yang berdekatan, sehingga letak atom karbon dapat diketahui dari sifatnya yang terdeskripsi pada sinyal. Daerah pergeseran kimia untuk <sup>13</sup>C-NMR terletak pada daerah 0-200 ppm. Pergeseran kimia atom karbon berbeda-beda tergantung pada kondisi lingkungannya (Shriner, 2004).

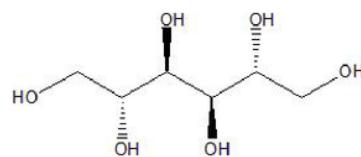
#### **2.10.6 Spektroskopi NMR 2D**

Spektroskopi NMR 2D digunakan untuk memberikan informasi tambahan yang sangat berguna dalam elusidasi struktur molekul. Teknik spektroskopi NMR 2D yang sering digunakan terbagi menjadi dua, yaitu DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer*) dan COSY (*Correlations Spectroscopy*).

DEPT digunakan untuk memberikan informasi mengenai berapa jumlah proton yang terikat pada tiap karbon. Pengukuran DEPT menggunakan variasi sudut putar. COSY digunakan untuk menemukan inti proton (*homonuclear*) melalui hubungan antar ikatan. Nilai sesungguhnya spektrum proton dalam pengujian ini terlihat pada sumbu diagonal di dalam spektrum 2D NMR (Gauglitz and Vo-Dinh, 2003).

### 2.11 Mannitol

Mannitol adalah senyawa polialkohol nonmetabolik C-6 dengan berat molekul 162 serta memiliki struktur kimia 1,2,3,4,5,6-hexanehehol ( $C_6H_{14}O_6$ ). Senyawa ini merupakan agen diuretik tertua serta paling banyak digunakan sebagai osmotik serta dalam industri makanan dan farmasi.(Better et.al., 1997; Shawkat et.al., 2012). Pemerian berupa serbuk hablur putih, tidak berbau, dan rasa agak manis. Larut dalam 6 bagian air, sukar larut dalam etanol (95%) P, dan praktis tidak larut dalam eter P. Suhu lebur antara 166 dan 169°C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).



Gambar 7. Struktur mannitol (Shawkat et.al., 2012)

Mannitol merupakan senyawa alami yang biasa ditemukan dalam ganggang laut, jamur segar, dan eksudat dari pohon. Senyawa ini juga merupakan isomer dari sorbitol, yang biasanya disintesis oleh hidrogenasi glukosa. Selain itu, mannitol juga telah terbukti sebagai *scavenger* efektif radikal hidroksil bebas dalam berbagai sistem biologis termasuk ekstraselular (Better et.al., 1997; Shawkat et.al., 2012).

## 1 BAB III

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019 sampai dengan selesai.

Proses isolasi jamur endofitik dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi. Isolasi metabolit sekunder intraseluler dari jamur endofitik dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Inderalaya. Pengukuran spektroskopi di lakukan di Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institute Teknologi Bandung.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

*Aluminium foil*, kertas cakram diameter 6mm, kertas saring, kertas label, kapas steril, karet gelang, kamera, jarum ose, botol kaca ukuran 1 liter, botol vial 10 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, corong kaca, corong pisah, gelas beker, batang pengaduk, gelas ukur, pipet tetes, *micropipet*, *tips micropipette*, chamber, lumpang dan alu, neraca analitik, kondensor, kuvet, *incubator shaker*, *magnetic stirer*, lampu spiritus, *hot plate*, oven, *ekstraktor soxhlet*, labu evaporator, *vacuum rotary evaporator*, seperangkat alat desstruk, *drygalsky*, satu set alat kromatografi kolom gravitasi, satu set alat kromatografi gas, lampu UV CAMAG 254 nm, spektrofotometer UV-vis Beckman DU-700, laminar air flow(LAF), Shimadzu FTIR 8400 dan spektrofotometer NMR JEOL JNM ECA-500.

### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, 6 jamur endofitik yang telah diisolasi sebelumnya oleh Rismawati (2019)(draft seminar hasil), aquadest, Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), <sup>5</sup> *Potato Dextrose Broth* (PDB), alkohol 70 %, larutan NaCl fisiologis, plat KLT kiessel gel 60 F<sub>254</sub> 20 x 20 cm, silika gel G 60 70-230 mesh. Pelarut organik teknis seperti n-heksan, metanol, etil asetat dan DMSO (dimetil sulfoksida). Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus* serta Antibiotik tetrasiklin.

### 3.3 Prosedur Kerja

#### 3.3.1 Kultivasi dan Ekstraksi Biomassa Jamur Endofitik

Suspensi jamur endofitik (yang telah diisolasi oleh Rismawati, 2019) <sup>5</sup> dibuat dengan cara mengambil dua ose jamur endofitik, lalu dimasukkan ke dalam 10 mL aquadest steril kemudian di shaker hingga homogen. Suspensi diinokulasi ke dalam 300 mL media PDB (*Potato Dextrose Broth*) yang ditempatkan pada botol 1 liter yang telah disterilisasi sebanyak 15 botol, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 8 minggu. Setelah 8 minggu, kultur jamur endofitik dipanen dengan memisahkan biomassa dari medianya (Legasari, 2010).

Kultur tiap jamur endofitik, diangkat miseliumnya menggunakan pinset. Miselium tersebut kemudian ditimbang dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 70°C. Miselium yang sudah dioven selanjutnya di gerus menggunakan lumpang sampai halus. Kemudian disokletasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 150 mL dan dievaporasi hingga diperoleh ekstrak pekat metanol. (Aryantha *et al.*, 2004).

### **3.3.2 <sup>1</sup>Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Biomassa Jamur Endofitik**

Setiap ekstrak metanol jamur endofitik (<sup>1</sup>DSL1, DSL2, DSL3, DSL4, <sup>1</sup>DSL5, dan <sup>1</sup>DSL6) dibuat konsentrasi <sup>1</sup>400 µg/disk atau 400 µg/10µL setara dengan <sup>1</sup>40 mg ekstrak dalam 1 mL pelarut DMSO. Konsentrasi antibiotik sebagai standar atau pembanding (antibiotik standar bakteri gram negatif dan gram positif: <sup>1</sup>tetasiklin 30 µg/disk) (Lampiran 6).

#### **3.3.2.1 Peremajaan Bakteri Uji**

Peremajaan bakteri *Echerichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* dilakukan secara aseptik dengan cara diambil sebanyak satu ose masing-masing biakan bakteri *Echerichia coli*, <sup>6</sup>*Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Selanjutnya <sup>6</sup>diinokulasikan ke dalam media agar miring NA secara zig-zag. Kemudian masing-masing diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembuatan media NA dapat dilihat pada Lampiran 5 (Lay, 1994).

#### **3.3.2.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Bakteri yang sudah diremajakan (disubkultur) umur 24–48 jam yang disebut suspensi dipindahkan menggunakan jarum ose ke tabung reaksi yang berisi larutan garam fisiologis (0,85 % NaCl), selanjutnya suspensi dihomogenkan <sup>1</sup>menggunakan vortex (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009).

#### **3.3.2.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Kirby-Bauer**

Kertas cakram berukuran 6 mm <sup>1</sup>di sterilisasi dengan cara di oven, kemudian dicelupkan ke dalam larutan uji yang sudah disiapkan. Sementara itu, 200 mL nutrient agar cair dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi.

Sebanyak 1 mL bakteri disebar merata di atas nutrient agar. Masing-masing kertas cakram yang telah dicelupkan ke larutan uji (sampel uji), larutan antibiotik standar (tetrasiklin), dan pelarut DMSO (kontrol negatif) diletakkan diatas nutrient agar, lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ukur diameter daya hambat (zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas) menggunakan jangka sorong.  
6  
Satu cawan petri berisi 5 cakram kertas yaitu 3 cakram kertas untuk larutan uji atau sampel ekstrak metanol biomassa tanaman sawi langit (kontrol positif), 1 cakram kertas untuk larutan antibiotik tetrasiklin (pembanding), dan 1 cakram kertas untuk DMSO (kontrol negatif). Tiap cawan dilakukan 3 kali replikasi untuk mendapatkan hasil yang akurat (Harley dan Prescot, 2002).

### 1 3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis

Sampel ekstrak metanol masing-masing jamur dianalisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel G60 F<sub>24</sub>. Masing-masing sampel sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 mL etil asetat. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipet kapiler dan dielusi dalam suatu bejana berisikan larutan eluen tertentu untuk melihat bercak / pemisahan noda terbaik. Penotolan dilakukan pada jarak 0,5 cm dari garis batas bawah dengan jarak antar totolan ± 0,7 cm. Setelah eluen sampai pada garis batas atas (0,5 cm dari batas atas) dengan jarak eluen 4 cm maka elusi dihentikan dan plat diangkat dari chamber lalu dikeringkan. Senyawa metabolit sekunder dilihat menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Ekstrak yang berpotensi mengandung metabolit sekunder (D5L1, D5L2, D5L3, D5L4, D5L5, dan D5L6)  
5  
dilakukan pemisahan dengan menggunakan teknik kromatografi kolom gravitasi.

### 1 3.3.4 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Medium Kultur

Ekstrak pekat dilakukan pemisahan dengan menggunakan teknik kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa diam silika gel G 60 (70-230 mesh) dengan perbandingan 1:10. Sampel yang sudah disiapkan secara preabsorpsi, dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara merata dan dielusi menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (10 : 0 sampai 0 : 10) dan etil asetat : metanol (10 : 0 sampai 0 : 10). Eluat ditampung dalam vial dan masing-masing vial dianalisa dengan kromatografi lapis tipis untuk mengelompokkan fraksi kolom. Fraksi yang menunjukkan noda potensial di kromatografi kolom kembali hingga didapat noda tunggal. Senyawa murni ditentukan strukturnya dan di uji aktivitas antibakterinya (Hundley, 2005).

### 3.3.5 Penentuan Struktur Molekul

Senyawa murni yang diperoleh ditentukan struktur molekulnya dengan metode spektroskopi Inframerah, dan spektroskopi NMR ( $^1\text{H-NMR}$ , dan  $^{13}\text{C-NMR}$ )

### 3.3.6 Identifikasi Jamur Endofitik

Identifikasi isolat jamur endofitik yang telah diperlakukan dilakukan di Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong.

### 3.3.7 Pengolahan Analisis Data

Penentuan aktivitas antibakteri dari sampel uji dengan metode *Kirby-Bauer*. Penentuan aktivitas antibakteri dari sampel uji dilakukan dengan membandingkan zona hambat pada tiga antibiotik standar, sehingga dapat ditentukan aktivitas relatif sampel antibakteri yang diuji dengan tiga antibiotik standar (Wong *et al.*, 2010). Kriteria masing-masing konsentrasi senyawa

persamaan 1.

1 Lemah:  $\frac{A}{B} \times 100\% < 50\%$ ; Sedang:  $50 \leq \frac{A}{B} \times 100\% < 70\%$ ;

A: zona hambat (mm) senyawa antibakteri yang diuji

B: zona hambat (mm) antibiotik standar

Metode analisis data luas daerah hambat untuk uji aktivitas antibakteri

dilakukan secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 for windows.

**1** Pengujian normalitas distribusi data dilakukan dengan analisis *Shapiro-Wilk*, data berdistribusi normal jika nilai  $p > 0,05$ . Jika data berdistribusi normal pengujian dilanjutkan dengan *one way* ANOVA. Bila menunjukkan hasil yang signifikan yaitu ada perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post hoc test* untuk mengetahui perbedaan (signifikansi) antar kelompok nilai dengan  $\alpha = 0,05$ .

1 Data yang berdistribusi tidak normal akan dianalisis dengan *Kruskal-Wallis Test* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.



## BAB IV

### PEMBAHASAN

#### 4.1 Kultivasi dan Ekstraksi Biomassa Jamur Endofitik

Suspensi jamur endofitik yang telah dilakukan pemurnian(DSL1, <sup>1</sup>DSL 2, DSL 3, DSL 4, DSL 5, DSL 6) (Rismawati 2019, Draf seminar hasil), dibuat stok murni. Pemurnian ini dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Pemurnian secara makroskopik meliputi warna koloni, permukaan koloni, diameter pertumbuhan koloni jamur,serta lingkaran-lingkaran konsentris. Pemurnian secara <sup>6</sup>mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop meliputi pengamatan ada atau tidaknya sekat pada hifa, ada tidaknya cabang pada pertumbuhan hifa, ada tidaknya kolonida, bentuk konodifor dan bentuk konodia.

Keenam jamur endofitik yang telah murni dikultivasi kedalam <sup>1</sup>300 mL media PDB (*Potato Dextrose Broth*) masing-masing 5 botol selama 6 minggu (suhu ruang). Kultivasi dilakukan pada media cair seperti PDB, dikarenakan kontak antara jamur endofitik dengan nutrien akan lebih optimal. Sehingga apabila penyerapan lebih optimal maka metabolit sekunder yang dihasilkan akan lebih banyak. Sedangkan pada media padat seperti PDA (*Potato Dextrose Agar*), kontak antar jamur hanya terjadi dipermukaan, sehingga penyerapan nutrien terbatas. Apabila penyerapan terbatas, maka metabolit sekunder yang dihasilkan juga terbatas (Elfina dkk, 2013).

Biomassa jamur endofitik diperoleh dengan memisahkan biomassa dengan media kultur menggunakan pinset steril. Tiap biomassa dengan tipe yang sama dari kelima botol dikumpulkan menjadi satu. Kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 65°C sampai bobot konstan. Biomassa yang telah

kering, dihaluskan menggunakan lumpang dan direndam dengan metanol yang telah didestilasi. Ekstraksi biomassa dilakukan dengan metode sokletasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol hasil sokletasi dipekatkan kembali menggunakan alat *rotaryvacuum evaporator* pada suhu 65°C sehingga didapatkan ekstrak pekat metanol. Hasil rendemen tiap ekstrak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak Metanol Biomassa Daun Tanaman Sawi Langit

Ekstrak	Berat (gram)		Rendemen (%)
	Biomassa	Ekstrak Kental	
DSL1	16,83	1,04	6,17
DSL2	7,33	2,5	34,11
DSL3	8,1	0,52	6,42
DSL4	13,34	1,96	14,69
DSL5	8,13	2,34	28,78
DSL6	7,33	0,42	5,73

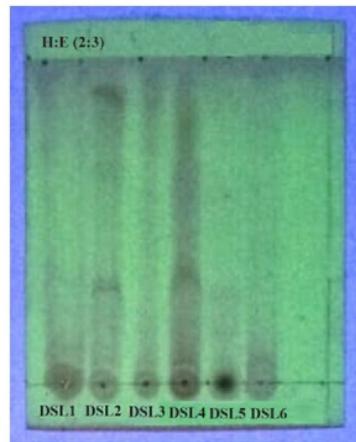
#### 4.2 Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak metanol sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 mL metanol. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipet kapiler dan dielusi dalam bejana yang berisikan larutan eluen tertentu untuk melihat pemisahan noda terbaik. Pola noda diamati menggunakan lampu UV CAMAG dengan panjang gelombang 254 nm. Pola noda yang dihasilkan menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder tertentu yang dihasilkan oleh biomassa jamur endofitik.

Noda berwarna ungu saat diamati dengan lampu UV menunjukkan adanya senyawa fenolik atau senyawa aromatik. Selain itu, kelompok senyawa fenolik atau aromatik ini juga khas jika disemprotkan dengan larutan pereaksi penampak noda serum sulfat. Apabila noda tidak terdeteksi oleh lampu UV, maka dideteksi menggunakan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20%. Setelah dipanaskan menggunakan hotplate, maka akan terbentuk noda berwarna biru kehijauan. Noda tersebut termasuk golongan senyawa steroid. Apabila noda yang terbentuk berwarna ungu

kemerahan maka noda tersebut termasuk kedalam kelompok senyawa triterpen.

Pola noda senyawa metabolit sekunder pada plat KLT yang dihasilkan oleh ekstrak biomassa jamur endofitik (Gambar 8).



**Gambar 8.** Pola noda pada plat KLT dengan eluen heksan : etil (5) yang dihasilkan oleh biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit dengan penampak noda menggunakan lampu UV CAMAG pada  $\lambda$  254 nm.

#### 4.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak metanol biomassa jamur endofitik yang diperoleh (DSL1, DSL2, DSL3, DSL4, DSL5, dan DSL6) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap 4 bakteri uji yaitu 2 bakteri yang mewakili gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan 2 bakteri yang mewakili gram negatif (*Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*). Keempat bakteri tersebut digunakan karena aman dan biasa digunakan dalam skala laboratorium untuk pengujian aktivitas antibakteri (Radji, 2009).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer* menggunakan kertas cakram berukuran diameter 6 mm. Prinsip kerja metode *Kirby-Bauer* adalah terdifusinya senyawa antibakteri (sampel ekstrak biomassa dan antibiotik) ke dalam media padat yang telah diinokulasikan pada bakteri uji.

Alasan digunakan metode ini karena sederhana dalam segi pengerjaannya, sampel yang digunakan sedikit, dan kertas cakram yang digunakan dapat di variasi dengan beberapa konsentrasi. Kertas cakram yang mengandung antibiotik diletakkan di atas permukaan medium agar (PDA) yang telah ditanami bakteri uji. Pengamatan dilakukan setelah 2 x 24 jam diinkubasi pada suhu ruang ( $37^{\circ}\text{C}$ ) dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong. Penggunaan jangka sorong bertujuan untuk mendapatkan hasil pengukuran yang lebih akurat dibandingkan dengan pengukuran menggunakan mistar (Hermawan *et al.*, 2007).

Keenam ekstrak jamur endofitik (kontrol positif) dibuat konsentrasi 400  $\mu\text{g}/\text{disk}$  atau 400  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  yaitu setara dengan 40 mg ekstrak dalam 1 mL pelarut DMSO. Sedangkan antibiotik tetrasiplin (kontrol positif pembanding) dibuat konsentrasi 30  $\mu\text{g}/\text{disk}$  atau 30  $\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  yaitu setara dengan 3 mg antibiotik tetrasiplin dalam 1 mL pelarut DMSO. Uji kontrol positif bertujuan untuk membandingkan antara diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak metanol biomassa jamur endofitik dengan larutan antibiotik standar tetrasiplin. Tetrasiplin merupakan antibiotik yang mempunyai spektrum luas dengan toksitas yang rendah. Kontrol negatif menggunakan pelarut dari DMSO (dimetilsulfoksida). pengujian kontrol negatif bertujuan untuk melihat apakah pelarut yang digunakan untuk melarutkan isolat memiliki aktivitas antibakteri atau tidak. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol DSL1-DSL6 dan antibiotik pembanding (tetrasiplin) dapat dilihat pada lampiran 10 dan 11. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan tidak ada zona hambat ( $KHM = 0$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pelarut DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri (tidak bersifat bakterisid).

maupun bakteriostatik) sehingga tidak mempengaruhi hasil aktivitas dari ekstrak yang diuji.

**Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Kolom dibandingkan dengan Antibiotik Standar**

<b>Sampel</b>	<b>Bakteri Uji</b>	<b>Zona Hambat (mm)</b>	<b>Percentase Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Kolom dibandingkan dengan Antibiotik Standar (%)</b>
			Rata-rata ± SD
DSL1	<i>S. typhi</i>	15.70 ± 0.70	83.5***
	<i>B. subtilis</i>	16.8± 0.25	87.5***
	<i>E. coli</i>	15.7 ± 0.55	85.3***
	<i>S. aureus</i>	18.8 ± 1.32	91.2***
DSL2	<i>S. typhi</i>	14.8 ± 0.35	78.7***
	<i>B. subtilis</i>	16.4 ± 0.38	85.4***
	<i>E. coli</i>	14.9± 0.70	80.9***
	<i>S. aureus</i>	17.2 ± 1.46	83.4***
DSL3	<i>S. typhi</i>	15.2 ± 0.61	80.8***
	<i>B. subtilis</i>	14.4 ± 1.15	75.0***
	<i>E. coli</i>	16.5 ± 0.95	89.6***
	<i>S. aureus</i>	14.1 ± 0.55	68.4**
DSL4	<i>S. typhi</i>	8.5 ± 2.10	45.2*
	<i>B. subtilis</i>	9.8 ± 1.06	51.0**
	<i>E. coli</i>	8.9 ± 1.95	48.3*
	<i>S. aureus</i>	10.5 ± 2.00	50.9**
DSL5	<i>S. typhi</i>	8.0 ± 2.42	42.5*
	<i>B. subtilis</i>	11.1 ± 1.18	57.8**
	<i>E. coli</i>	6.6 ± 0.96	35.8*
	<i>S. aureus</i>	8.3 ± 1.98	40.3*
DSL6	<i>S. typhi</i>	8.8 ± 0.85	46.8*
	<i>B. subtilis</i>	8.7 ± 1.58	45.3*
	<i>E. coli</i>	6.9 ± 0.78	37.5*
	<i>S. aureus</i>	8.0 ± 2.55	38.8*
Kontrol(-)	0	0	0

**Keterangan :**  
 \* : aktivitas lemah <50% (11 – 20 mm)  
 \*\* : aktivitas sedang 50-70% (6 – 10 mm)  
 \*\*\* : aktivitas kuat >70% (1 – 5 mm)

Zona hambat yang dihasilkan ekstrak yang diuji (DSL1-DSL6) yang dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin (Tabel 3) menunjukkan isolat biomassa DSL1, DSL2, dan DSL3 memiliki zona hambat lebih dari 10 mm yang dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Sedangkan isolat biomassa

DSL4, DSL5, DSL6 rata-rata memiliki zona hambat  $\leq 10$  mm yang dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang lemah sampai sedang jika dibandingkan dengan antibiotik terasiklin. Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif memiliki kecenderungan yang lebih sensitif dibandingkan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana yang tersusun atas peptidoglikan, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas lipopolisakarida. Struktur dinding sel yang lebih sederhana akan memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel bakteri gram positif (Brogden *et al.*, 2005)

Aktivitas antibakteri keenam ekstrak metanol tersebut jika dibandingkan dengan antibiotik standar (tetrasiklin), efektivitas ekstrak metanol terhadap bakteri uji masih lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin. perbedaan keefektivitasan ini disebabkan antibiotik tetrasiklin yang digunakan merupakan senyawa murni sehingga mempunyai aktivitas antibakteri yang tinggi. Sedangkan ekstrak metanol yang digunakan merupakan ekstrak kasar yang memungkinkan masih adanya kandungan senyawa lain yang mempengaruhi aktivitas antibakterinya sehingga aktivitas yang diperoleh belum maksimal. Tetrasiklin mempunyai spektrum yang luas dan efektif bekerja pada bakteri gram positif maupun gram negatif. mekanisme kerja tetrasiklin dengan merusak dinding sel pada membran plasma sehingga kemampuan membran plasma sel bakteri sebagai <sup>6</sup> *barrier osmosis* menjadi berkurang dan mengganggu proses biosintesis yang diperlukan dalam membran plasma (Brogden *et al.*, 2005)

#### 4.4 Hasil Analisis Data

Data aktivitas antibakteri dilakukan analisis data menggunakan software SPSS 16 for windows menggunakan metode statistik deskriptif. Uji yang dilakukan berupa uji normalitas, uji ANOVA, dan uji Post Hoc. Data dilakukan uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan menggunakan metode Shapiro-Wilk dan Kolmogorov-Smirnov dikarenakan data yang ada kurang dari 50 data. Variabel terikat (*dependent list*) menggunakan data zona hambat. Sedangkan variabel bebas (*independent list*) menggunakan data ekstrak. Taraf kepercayaan yang digunakan sebesar 95 %. Hasil seluruh data menunjukkan terdistribusi normal karena nilai signifikasinya  $>0,05$  sehingga data diuji kembali menggunakan metode one way ANOVA. Hasil uji normalitas dan uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 11.

One way ANOVA dilakukan untuk menguji perbedaan antara beberapa kelompok berdasarkan satu variabel independet sehingga dapat diketahui nilai homogenitas dan nilai signifikasinya. Data dinyatakan homogen jika signifikasinya  $\pm 0,05$ . Nilai signifikasi Uji ANOVA hasil analisis terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. typhi* masing-masing sebesar 0,543; 0,114; 0,194; dan 0,146 ( $p > 0,05$ ) maka data memiliki variasi yang sama. Pada uji ANOVA terdapat variabel zona hambat. Data signifikan jika nilai signifikasinya  $<0,05$ . Nilai signifikasi yang diperoleh semua bakteri sebersar 0,000 maka data tersebut berbeda signifikan. Hal ini menyatakan bahwa ekstrak berpengaruh signifikan terhadap zona hambat.

Nilai F pada hasil uji one way ANOVA menyatakan apakah antar kelompok data terdapat perbedaan yang signifikan dan berkaitan juga dengan penolakan ataupun penerimaan hipotesis sementara. Hipotesis diterima apabila

nilai F > dibandingkan nilai signifikansi. Nilai F pada bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. typhi*masing-masing sebesar 20,229; 31,981; 54,027; dan 21,033  
1 sedangkan nilai signifikasinya sebesar 0,000. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Pengujian dilanjutkan dengan uji Post-Hoc. Metode uji Post-Hoc yang 1 digunakan berupa metode uji Post-Hoc LSD yang bertujuan untuk menunjukkan 1 dan kekuatan signifikansi hubungan antara ekstrak dengan zona hambat. Uji Post-Hoc LSD didasarkan pada banyaknya pasangan perlakuan yang dibandingkan dalam satu percobaan, sedangkan uji Tukey didasarkan pada peluang melakukan kekeliruan dalam sederetan percobaan (Sawyer, 2008).

Berdasarkan hasil analisis Tukey dan LSD bakteri uji *S. aureus* menunjukkan nilai sig. > 0,05 kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL 4, DSL5, dan DSL6, DSL2 terhadap DSL 5 dan 6, DSL4 terhadap DSL2, DSL3, DSL5, dan DSL6, serta DSL5 dan DSL6 terhadap DSL1 dan DSL2. Sedangkan pada uji LSD nilai sig <0,05 terdapat perbedaan yang signifikan kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL2, DSL4 terhadap DSL 5 dan DSL6, DSL5 Terhadap DSL4 dan DSL6, serta DSL6 terhadap DSL4 dan DSL5 yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

1 Hasil analisis uji post-hoc Tukey dan LSD nilai zona hambat ( $p<0,05$ ) terhadap seluruh perlakuan pada bakteri uji *B. subtilis* kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2 dan DSL3, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL1 dan DSL2, DSL4 terhadap DSL5 dan DSL6, DSL5 terhadap DSL4 dan DSL6, DSL6 terhadap DSL4 dan DSL5. Sedangkan pada uji LSD nilai sig. <0,05

kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2, DSL2 terhadap DSL1, DSL4 terhadap DSL5 dan DSL6, DSL5 terhadap DSL4, DSL6 terhadap DSL4 yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

1

Hasil analisis uji post-hoc Tukey dan LSD nilai zona hambat ( $p<0,05$ )

terhadap seluruh perlakuan pada bakteri uji E. coli kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2 dan DSL3, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL1 dan DSL2, DSL4 terhadap DSL5 dan DSL6, DSL5 terhadap DSL4 dan DSL6, DSL6 terhadap DSL4 dan DSL5. Sedangkan pada uji LSD nilai sig.  $<0,05$  kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2 dan DSL3, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL1 dan DSL2, DSL5 terhadap DSL6, DSL6 terhadap DSL5 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan.

1

Hasil analisis uji post-hoc Tukey dan LSD nilai zona hambat ( $p<0,05$ )

terhadap seluruh perlakuan pada bakteri uji S. typhi kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2 dan DSL3, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL1 dan DSL2, DSL4 terhadap DSL5 dan DSL6, DSL5 terhadap DSL4 dan DSL6, DSL6 terhadap DSL4 dan DSL5. Sedangkan pada uji LSD nilai sig.  $<0,05$  kecuali pada ekstrak DSL1 terhadap DSL2 dan DSL3, DSL2 terhadap DSL1 dan DSL3, DSL3 terhadap DSL1 dan DSL2, DSL4 terhadap DSL5 dan DSL6, DSL5 terhadap DSL4 dan DSL6, DSL6 terhadap DSL4 dan DSL5 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan karena nilai sig.  $>0,05$ .

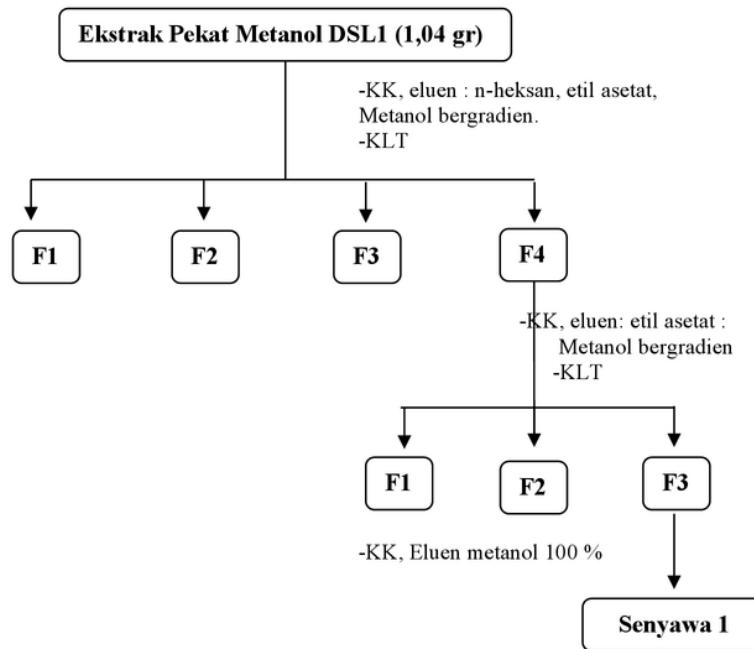
1

#### 4.5 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari jamur DSL1

5

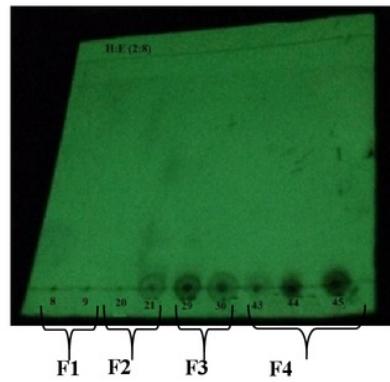
Ekstrak pekat metanol DSL1 (1,04 gr) dilakukan pemisahan menggunakan teknik kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa diam silika gel G 60 (70-230 mesh) dengan perbandingan ekstrak : silika gel (1:10). Proses pemisahan

dilakukan menggunakan pelarut sesuai dengan tingkat kepolaran seperti n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Sampel ekstrak dilakukan preabsorbsi, kemudian dimasukkan kedalam kolom gravitasi secara merata. Lalu dielusi menggunakan fase gerak dengan eluen n-heksan : etil asetat (10:0 – 0:10) dan etil asetat : metanol (10:0 – 0:10). Eluat yang turun, ditampung dalam vial berukuran 10 ml. Proses elusi dihentikan apabila dipastikan ekstrak yang dielusi sudah tidak ada lagi, dan warna eluat telah berwarna jernih. Skema pemisahan dan pemurnian senyawa 1 tertera pada Gambar 9.



Gambar 9. Skema Pemisahan dan Pemurnian Senyawa-1

Eluat yang turun ditampung dalam vial berukuran 10 mL dan diperoleh sebanyak 45 vial. Hasil kolom tersebut kemudian di KLT menggunakan eluen heksan : etil dengan perbandingan 2:8 (Gambar 10). KLT bertujuan untuk melihat pola noda yang terbentuk sehingga hasil kolom tersebut dapat dikelompokkan dalam beberapa fraksi.



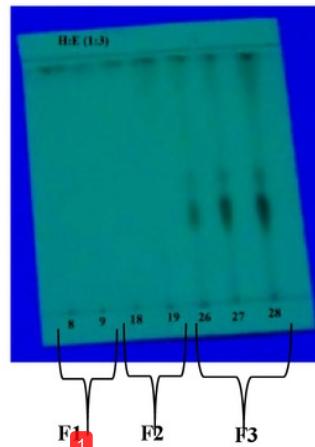
Gambar 10. KLT hasil kolom ekstrak metanol jamur DSL1 fraksi 1-4 dengan eluen heksan : etil (2:8)

Hasil KLT menunjukkan fraksi satu tidak tampak pola noda yang terbentuk. Fraksi 4 menunjukkan pola noda yang lebih tampak dibandingkan dengan pola noda yang terbentuk pada fraksi 2 dan fraksi 3. Setelah di KLT, kemudian dikelompokkan menjadi 4 fraksi kolom (F1-F4). Penggabungan hasil kolom gravitasi ekstrak metanol jamur endofitik dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Penggabungan hasil kromatografi kolom gravitasi ekstrak metanol biomassa jamur endofitik.

Vial	Fraksi	Berat (mg)
1-9	F1	205
9-21	F2	280
21-31	F3	260
31-45	F4	295

Fraksi F4 menunjukkan campuran padatan putih sehingga dilakukan pemisahan lagi menggunakan kromatografi kolom (rekromatografi) menggunakan eluen etil asetat : metanol bergradien. Hasil rekromatografi fraksi F4 diperoleh 28 vial. Hasil kolom sealnjutnya di KLT menggunakan eluen heksan : etil asetat (1:3)(Gambar 11). Hasilnya kemudian dikelompokkan ke dalam tiga fraksi kolom (F1 – F3).

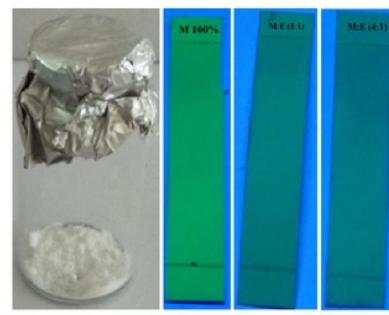


Gambar 11. Hasil KLT dari fraksi kolom F3

Tabel 5. Pengelompokan fraksi F4 hasil kromatografi kolom gravitasi

Vial	Fraksi	Berat (mg)
1-8	F1	85
8-19	F2	106
20-28	F3	104

Fraksi F4.3 dengan noda potensial dimurnikan dengan rekromatografi kolom hingga diperoleh senyawa 1 berupa serbuk berwarna putih sebanyak 104 mg.



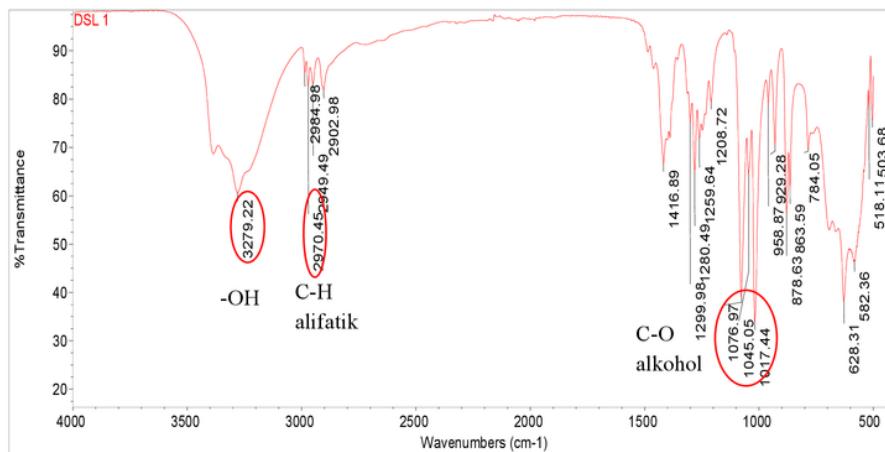
Gambar 12. Serbuk senyawa murni (a) Hasil KLT pemurnian fraksi F4.3 dengan eluen metanol (100%) (b), meatnol-ethyl asetat (1:1) (c), dan metanol-ethyl asetat (4:1) (d).

#### 4.6 Penentuan Struktur Molekul

Senyawa murni yang didapatkan kemudian dilakukan penetuan struktur molekul dengan metode spektroskopi Inframerah dan spektroskopi NMR ( $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$ ).

#### 4.6.1 Identifikasi dengan Spektrum Inframerah

Pengukuran spektrum inframerah bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Hasil pengukuran spektrum inframerah sampel DSL1 menunjukkan adanya puncak gugus O-H yang muncul pada daerah  $3279,22\text{ cm}^{-1}$ . Selain itu, tampak juga puncak pada daerah  $2970,44\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya ikatan C-H alifatik. Daerah  $1076,44 - 1076,97\text{ cm}^{-1}$  tampak puncak tajam dengan intensitas kuat yang mengindikasikan adanya ikatan gugus C-O alkohol.



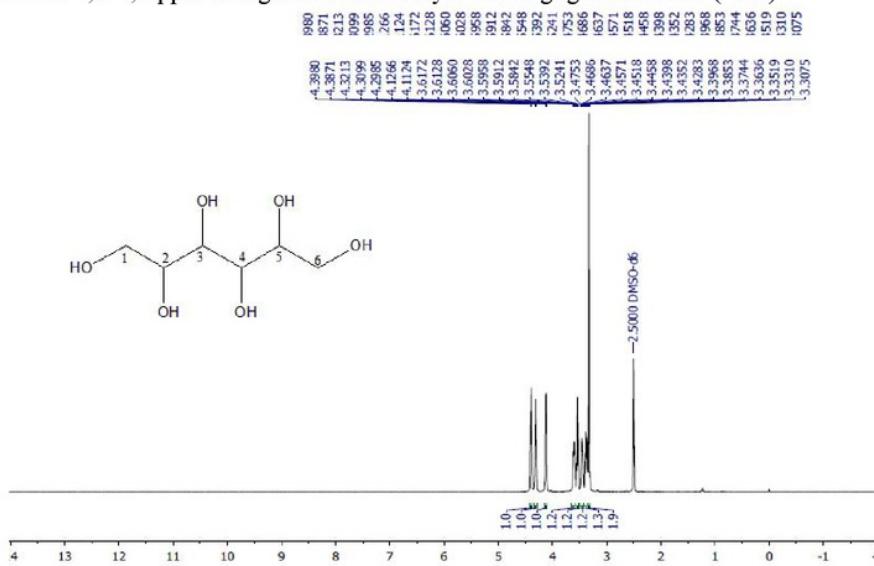
Gambar 13. Spektrum IR senyawa murni hasil isolasi

**Tabel 6. Puncak-puncak serapan senyawa murni hasil isolasi pada spektrum IR dibandingkan dengan literatur (Branco, Alexandre et.al. 2010)\*.**

Bilangan Gelombang	Bentuk Pita	Intensitas	Gugus Dugaan	Bilangan Gelombang*	Gugus Dugaan*
$3279,22\text{ cm}^{-1}$	Melebar	Sedang	-OH	$3100 - 3500\text{ cm}^{-1}$	-OH
$2970,45\text{ cm}^{-1}$	Sedang	Lemah	C-H alifatik	$2935\text{ cm}^{-1}$	C-H alifatik
$1076,44 - 1017,44\text{ cm}^{-1}$	Tajam	Kuat	C-O alkohol	$1081 - 1019\text{ cm}^{-1}$	C-O alkohol

#### 4.6.2 Identifikasi dengan Spektrum $^1\text{H-NMR}$

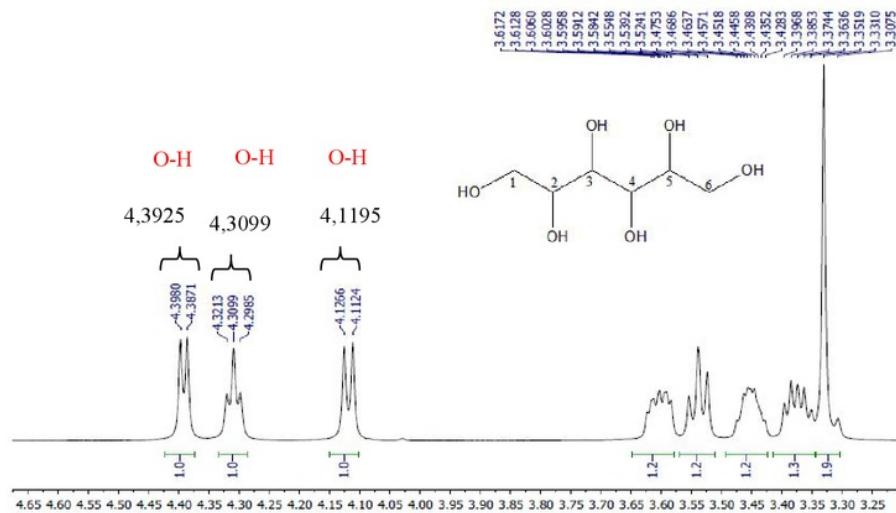
Data spektrum  $^1\text{H-NMR}$  untuk mengetahui jumlah proton yang terkandung dalam senyawa murni hasil isolasi. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO) senyawa murni hasil isolasi (Gambar 14) pada daerah  $-1,0 - 4,0$  ppm menunjukkan adanya sinyal yang menumpuk pada daerah  $3,4 - 3,6$  ppm dan pada daerah  $4,1 - 4,3$  ppm. Sinyal yang menumpuk pada daerah  $3,4 - 3,6$  ppm ini mengindikasikan sinyal untuk C-H alifatik, baik dalam bentuk metil, metilen, maupun metin dalam bentuk  $\text{C } Sp^3$ . Sedangkan sinyal yang menumpuk pada daerah  $4,1-4,3$  ppm mengindikasikan sinyal untuk gugus hidroksil (-OH).



Gambar 14. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Isolat pada daerah  $\delta -1 - 14$  ppm

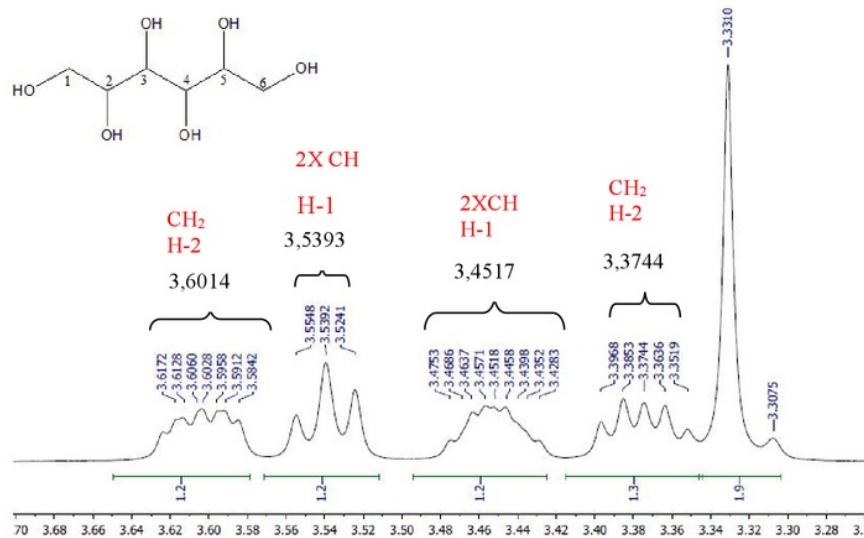
Data spektrum  $^1\text{H-NMR}$  isolat pada Gambar 15 menunjukkan adanya sinyal pada daerah  $\delta 4,12$  ppm. Sinyal yang terbentuk mengindikasikan adanya enam gugus hidroksil diantaranya pada daerah  $\delta 4,12$  ppm ( $2 \times \text{O-H, s}$ ); daerah  $\delta 4,31$  ppm ( $2 \times \text{O-H, t}$ ); dan daerah  $\delta 4,39$  ppm ( $2 \times \text{O-H, d}$ ). Sinyal  $\text{C}_1\text{-OH}$  muncul pada daerah  $\delta 4,31$  ppm (t). Sinyal  $\text{C}_2\text{-OH}$  muncul pada daerah  $\delta 4,39$  ppm (d). Sinyal  $\text{C}_3\text{-OH}$  muncul pada daerah  $\delta 4,11$  ppm (d). Sinyal  $\text{C}_4\text{-OH}$  muncul pada

daerah  $\delta$  4,11 ppm (d). Sinyal C<sub>5</sub>-OH muncul pada daerah  $\delta$  4,39 ppm (d). Sinyal C<sub>6</sub>-OH muncul pada daerah  $\delta$  4,31 ppm (t).



Gambar 15. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR Isolat pada daerah  $\delta$  3,25 – 4,65 ppm

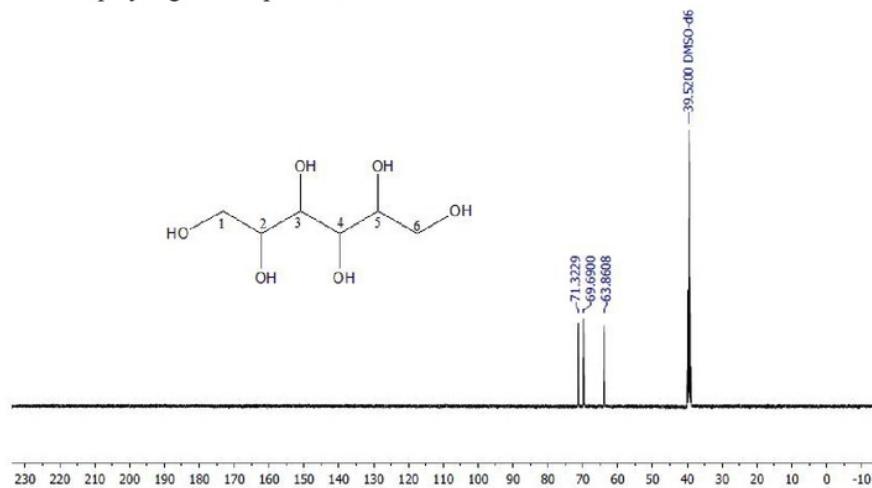
Data spektrum <sup>1</sup>H-NMR pada daerah  $\delta$  3,26 – 3,70 ppm (Gambar 16) menunjukkan 4 sinyal metin pada daerah  $\delta$  3,42 – 3,47 ppm (1 x 1H, m) dan  $\delta$  3,52 – 3,55 ppm (1 x 1H, t). Selain itu, tampak juga 2 sinyal metin pada daerah  $\delta$  3,35 – 3,39 ppm (2H, m) dan daerah  $\delta$  3,58 – 3,61 (2H, m).



Gambar 16. Spektrum  $^1\text{H}$ -NMR Isolat pada daerah  $\delta$  3,26 – 3,70 ppm

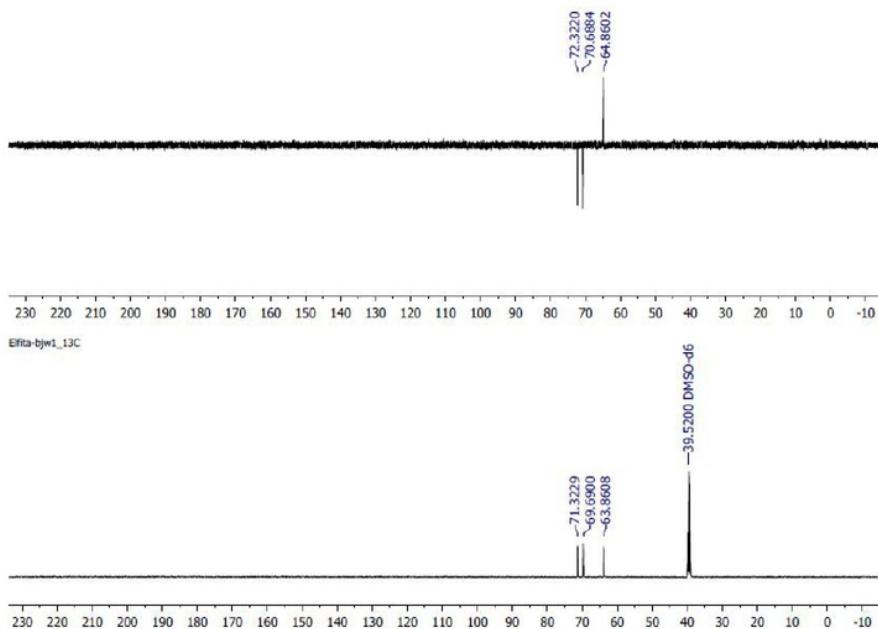
#### 4.6.3 Identifikasi dengan Spektrum $^{13}\text{C}$ -NMR

Data spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR digunakan untuk menentukan jumlah atom karbon yang terkandung dalam struktur senyawa hasil isolasi. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz, DMSO) pada daerah  $\delta$  -10 – 240 ppm menunjukkan adanya sinyal yang terbentuk pada daerah  $\delta$  63,86 – 71,32 ppm yang mengindikasikan sinyal untuk C  $Sp^3$  yang terikat pada heteroatom.



**Gambar 17. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Isolat pada daerah  $\delta$  -10 – 240 ppm**

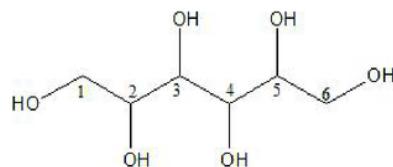
Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR menunjukkan munculnya tiga sinyal karbon. Berdasarkan spektrum DEPT 135 diketahui bahwa dua sinyal karbon adalah  $\text{CH}_2$  yang ditunjukkan oleh sinyal yang mengarah ke bawah ( $\delta$  C 70,7 dan 71,3 ppm). Satu sinyal yang lain adalah karbon  $\text{CH}_3$  yang ditunjukkan oleh sinyal yang mengarah ke atas ( $\delta$  C 64,9 ppm). Berdasarkan jumlah proton yang terikat pada atom H ( $^1\text{H}$ -NMR) ada 8, maka diduga 3 sinyal karbon tersebut adalah ekuivalen untuk 6 karbon. Data spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR dan DEPT menunjukkan adanya keberadaan 6 karbon pada daerah  $\delta$  63,86 – 72,32 ppm. Atom karbon tersebut terdiri dari 2 atom  $\text{CH}_2$  dan 4 atom CH. Sinyal untuk 2 atom  $\text{CH}_2$  muncul pada daerah  $\delta$  63,86 ppm yang muncul juga pada spektrum DEPT daerah  $\delta$  64,86 dengan puncak menghadap ke atas. Sinyal untuk 4 atom CH muncul pada daerah  $\delta$  69,69 ppm (2 x CH) dan daerah  $\delta$  71,32 ppm yang muncul juga pada spektrum DEPT pada daerah  $\delta$  70,68 ppm dan  $\delta$  72,32 ppm dengan posisi puncak menghadap ke bawah. Data spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR dan DEPT membuktikan terdapat adanya 6 karbon.



**Gambar 18. Spektrum DEPT 135 Isolat pada daerah  $\delta$  60 - 80 ppm****Tabel 7. Data spektrum  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  senyawa 1 dibandingkan dengan literatur (Branco, Alexandre *et.al* 2010)\*.**

No. C	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm)	DEPT 135 (ppm)	$\delta\text{C}^*$ (ppm)	$\delta\text{H}^*$ (ppm)
1	63,86	3,60 <sub>a</sub> dan 3,37 <sub>b</sub> (2H)	CH <sub>2</sub>	64,15	3,54 <sub>a</sub> dan 3,39 <sub>b</sub> (2H)
2	69,69	3,45 (2H)	CH	69,94	3,45 (2H)
3	71,32	3,53 (2H)	CH	71,58	3,61 (2H)
4	71,32	3,53 (2H)	CH	71,58	3,61 (2H)
5	69,69	3,45 (2H)	CH	69,94	3,45 (2H)
6	63,85	3,60 <sub>a</sub> dan 3,37 <sub>b</sub> (2H)	CH <sub>2</sub>	64,15	3,54 <sub>a</sub> dan 3,39 <sub>b</sub> (2H)
C <sub>1</sub> -OH		4,31 (t)			4,31 (t)
C <sub>2</sub> -OH		4,39 (d)			4,39 (d)
C <sub>3</sub> -OH		4,11 (d)			4,11 (d)
C <sub>4</sub> -OH		4,11(d)			4,11(d)
C <sub>5</sub> -OH		4,39 (d)			4,39 (d)
C <sub>6</sub> -OH		4,31 (t)			4,31 (t)

Berdasarkan interpretasi data  $^{13}\text{C-NMR}$ , senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya 6 sinyal karbon. Dari 6 sinyal tersebut, 2 sinyal untuk metilen dan 4 sinyal untuk metin. Sedangkan dari data  $^1\text{H-NMR}$ , senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya 12 sinyal proton. Dari 12 sinyal tersebut, 2 sinyal proton untuk metin, 4 sinyal proton untuk metilen, dan 6 sinyal proton untuk gugus hidroksil. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa senyawa hasil isolasi memiliki kerangka alifatik, dengan rumus molekulnya adalah  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$ . *Double Bond Equivalent* (DBE) adalah 0, yaitu tidak ada ikatan rangkap pada senyawa yang diisolasi. Dengan demikian, diusulkan struktur molekulnya yaitu Mannitol. Struktur molekul senyawa hasil isolasi tertera pada Gambar 19.



Gambar 19. Struktur senyawa murni hasil isolasi (Mannitol) dari jamur endofitik daun tanaman sawi langit (*Ageratum conizoides* Linn.)



## BAB V

### KESIMPULAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biomassa jamur endofitik daun tanaman sawi langit menunjukkan bahwa adanya zona hambat pada bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Salmonella thypi* sedang sampai kuat.
2. Hasil identifikasi metabolit sekunder dari ekstrak aktif biomassa daun tanaman sawi langit menunjukkan mengandung senyawa mannitol.

#### 5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian lebih lanjut adalah perlu dilakukan isolasi senyawa polihidroksi dari biomassa tanaman lain yang memiliki potensi antibakteri.



## DAFTAR PUSTAKA

- Achuwa, Siti Nur. 2006, *Uji Daya Antiviral Ekstrak Kloroform Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L.) terhadap Infeksi Virus Newcastle Disease (ND) pada Telur Ayam Berembrio*, Skripsi, S.Farm., Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia.
- 1 Aryantha dkk. 2004, *Eksplorasi Fungi Deuteromycetes (Aspergillus sp dan Penicilium sp.) Penghasil Senyawa Anti Kolesterol Lovastatin*, Laporan Penelitian, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institusi Teknologi Bandung (ITB), Bandung, Indonesia.
- 1 Balai Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008, *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*, CV Global Express, Jakarta, Indonesia.
- Balouiri, M., Moulay Sadiki, dan Saad Koraichi Ibnsouda. 2016, *Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity*, Journal of Pharmaceutical Analysis, **6**: 71-79.
- Batt, C.A. dan Tortello, M.L. 2014, *Encyclopedia of Food Microbiology*, Elsevier, London, 987.
- Besung, K. N. 2009, *Pegagan (Centella asiatica) sebagai Pencegah Infeksi pada Ternak*, Jurnal Penelitian, **2(1)**, Universitas Udayana, Bali, Indonesia.
- Better, O.S., Rubinstein, I., Winaver, J.M., and Knochel, J.P. 1997, *Mannitol Therapy Revisited (1940-1997)*, Kidney International, **51**: 886-894.
- Branco, A., David G. Santos, J., Monalisa M.A.M Pimentel, Juan T.A. Osuna, Luciano S. Lima, & Jorge M. David. 2010, *D-Mannitol from Agave sisalana Biomass Waste*, **32**: 507-510.
- Brogden, K.A. 2005, *Antimicrobial Peptides: Pore Formers of Metabolic Inhibitors in Bacteria*, Nature Reviews Microbiology, **3**: 238-250.
- Brooks, G.F., et.al. 2005, *Jawetz, Melnick, dan Adelberg's: Microbiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris Oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.
- 2 Buckle, K.A. 1985, *Ilmu Pangan*, UI Press, Jakarta, Indonesia.
- 2 Castillo, U.F., Strobel, G.A., Ford, E.J., Hess, W.M., Porter, H., Jensen, J.B. et.al. 2002, *Munumbicins, Wide-Spectrum Antibiotics Produced by Streptomyces NRRL 30562, Endophytic on Kennedia Nigricans*, Microbiology, **148**: 2676.
- Castillo U.J. et.al. 2003, *Kakandumycins, Novel Antibiotics from Streptomyces sp. NRRL 30566, An Endophyte of Grevillea pteridifolia*, FEMS Lett, **24**: 183-190.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y. dan Omar, M. 2007, *Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaves of Etlingera Species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia*, Food Chemistry, **104**: 1586-1593.

1 Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009, *Susceptibility Tests for Bacteria That Growicall*, Approved Standard – 8<sup>th</sup> Ed, Pennsylvania.

Dalimartha, Setiawan. 2000, *Atlas Tumbuhan Obat*, Jilid 2, Trubus Agriwidya, Jakarta, Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979, *Farmakope Indonesia, Edisi ke-3*, Jakarta, Indonesia.

Echeverri F, Cardona G, Torres F, Pelaez C, Quinones W and Renteria E. 1991, *Ermanin: An Insect Deterrent Flavonoid from Passiflora foetida Resin*, Phytochemistry, **(30)**:153-155.

6 Elfina, D., Martina, A., Roza., R.M. 2013, *Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) sebagai Antimikroba terhadap Candida albicans, Staphylococcus aureus, dan Escherichia coli*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Kampus Binawidya, Pekabaru, Riau.

Gangdevi, V. dan J. Muthusamy. 2008, *Isolation of Colletotrichum gloeosporioides, A NovelEndophytic Taxol-Producing Fungus from the Leaves of a Medicinal Plant Justicia gendarussa*, Mycol, Balcanica, **5**: 1-4.

Gauglitz, G. dan T. Vo-Dinh. 2003, *Handbook of Spectroscopy*, Wiley-VCH Verlag GmbH dan Co. KgaA, Weinheim, Jerman.

Gibson, J. M. 1996, *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*, diterjemahkan oleh IKG Soma Persada, Penerbit Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.

Harley and Prescott. 2002, *Reduction of Fat Storage in Mice Fed a High-Fat Diet Long Term by Treatment with Saponins Prepared from Kochia Scoparia Fruit*, Phytother Res, **20**: 877-882.

1 Hendayana, S., Kadarohma, A., Sumarna, A.A., dan Supriatna, A. 1994, *Kimia Analisis Instrumen*, Edisi kesatu, IKIP Semarang Press, Semarang, Indonesia.

1 Hermawan, A., Hana, W., & Wiwick, T. 2007, *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk*, **9(2)**: 306-308.

Heyne, K. 1987, Terjemahan Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kehutanan Jakarta, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid III, Cetakan I, Hal 1825-1826, Penerbit Yayasan Wanajaya, Jakarta, Indonesia.

Hoffman, R. V. 2004, *Organic Chemistry : An Intermediate Text*, 2<sup>nd</sup> Ed, John Willey dan Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 332-388.

- <sup>2</sup> Horn WS et al. 1995, *Phomopsichalasin, a Novel Antimicrobial Agent from an Endophytic Phomopsis Spp.* *Tetrahedron*, **(14)**: 3969-3978.
- <sup>1</sup> Hundley, N.J. 2005, *Struktur Elucidation of Bioactive Compounds Isolated from Endophytes of Alstonia Scholaris and Acmena Graveolens*, Thesis Departement of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University.
- Janarthanan, Karthikeyan, V, Jeykar., B, Balakrishnan., B.R., Senthilkumar., K.L., dan Anandharaj, G. 2016, *Pharmacognostic Studies on the Whole Plants of Ageratum conyzoides Linn. (Asteraceae)*, European Journal of Pharmaceutical and Medical Researcrh, **3(5)** : 618-626.
- <sup>2</sup> Jawetz, Melnik dan Adelberg. 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Jorgensen, J.H. dan Ferraro, M.J. 2009, *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices*, Clinical Infectious Disease, **49**: 1749-1755.
- Juliantina, F.R., Ayu, D.C.M., dan Nurwani, B. 2008, *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Kamboj, A dan Saluja A.K. 2008, *Ageratum conyzoides L. : A Review on its Phytochemical and Pharmacological Profile*, Int J Green Pharm.,**2(2)**:59-68.
- Kartesz, J. T. 2012, *North American Plant Atlas Maps Generated*, The Biota of North America Program (BONAP), Chapel Hill.
- Katzung, Bertram G. 2010, *Farmakologi dasar dan klinik*, Edisi 10, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Khopkar, S.M. 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Lambert, J.B., Shurvell, H.F., Lightner, D.A., Cooks, R.G. 2001, *Organic Structrural Specroscopy*, Prentice-Hall, Inc, United States of America.
- Lay.B.W. 1994, *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*, PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Legasari L, Darwati. 2010, *Antimarial Coumpounds Endophytic Fungi of Brotowali (Tinospora crispa L.)*, Indones J Chem **(1)**:53-58.
- <sup>2</sup> Li J.Y. et al. 2001, *Ambuic Acid, a Highly Functionalized Cyclohexonone with Antifugal Activity from Pestalotiopsis spp. and Monochaetia spp.* *Pytochemistry*, **(56)**: 463-468.
- <sup>2</sup> Madigan, M. 2005, *Brock Biology of Microorganism*, Englewood Cliff, Prentice Hall.

- Ming, L.C. 1999, *Ageratum conyzoides : A tropical source of medicinal and Agricultural Product*, J. Janick, ASHS Press, Alexandria, VA.
- Monica, S.M., Mahatmi, H., dan Besung, K. 2013, *Pola Resistensi Salmonella Typhi yang Diisolasi dari Ikan Serigala (Hoplias malabaricus) terhadap Antibiotik*, Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan, **1(2)**: 64-69.
- Mutschler, E. 1991, *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*, Edisi V, diterjemahkan oleh Mathilda B, Widianto dan Anna Setia Ranti, Penerbit ITB, Bandung.
- <sup>1</sup> Napitupula, R., Mahmood, A.A., Sidik, K dan Noor, S. M. 2005, *Evaluation of Wound Healing Potential of Agertaum conyzoides Extract in Combination with Honey in Rats as Animal Model*. In J Mol Med Adv Sci, **1(4)**: 406-408.
- Nasrin, Fatema. 2013, *Antioxidan and Cytotoxic Activities of Ageratum conyzoides Stems*, Inter Cur Pharma, **2(2)**:33-37.
- Nyunai, N., A. Manguelle-Dicoum, N. Njifutie, E.H. Abdennebi, C. Gerard. 2010, *Antihyperglycemic Effect of Ageratum conyzoides L. Fractions in Normoglycemic and Diabetic Male Wistar Rats*, IJBPS, **(4)**:38-42.
- Nasrin, F. 2013, *Antioxidant and Citotoxix Activities of Ageratum conyzoides Stems*, International Current Pharmaceutical Journal, **2(2)**:33-37.
- Pare, J.R. dan Belanger J.M. 1997, *Instrumental Methods In Food Analysis*, Elsevier Science, Amsterdam.
- Pearsons, A.F. 2003, *Keynote in Organic Chemistry*, Blackwell Science Ltd, Oxfot, UK, 143-175.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S., Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Pelczar, M.L.Jr. dan Chan, E.C.S. 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, edisi ke-1, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S.L., Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Pelczar, M.L.Jr. dan Chan, E.C.S. 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S.L., Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Petrini, O., Siebern, T.N., Toti, L. dan Viret, O. 1992, *Ecology Metabolite Production and Substrate Utilization in Endophytic Fungi Natural Toxins*, **1(3)**:185-96.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Jakarta.

Radji, M. 2009, *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*, EGC, Jakarta, Indonesia.

<sup>4</sup> Rahim, A., Gemini, A., Agustina, R., Rusyidi, M. 2012, *Skrining Toksisitas Ekstrak Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test*, Majalah Farmasi dan Farmakologi.

Rahman, A. 1997, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antimikrob dari Daun Elaeocarpus grandiflorus J.E. Smith.*, Tesis, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.

<sup>1</sup> Sawyer, S.F. 2008, *Analysis of Variance: The Fundamental Concepts, J Manual & Manipulative Therapy*, **17(2)**: 27-38.

Simarmata, R, Lekatompessy S, dan Sukiman H. 2007, Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gymura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba, Berk Panel Hayati, **13**: 85-90.

Sacher, R.A, dan McPherson, R.A. 2004, *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Cetakan I, EGC, Jakarta, Indonesia.

<sup>1</sup> Sawyer, S.F. 2008, *Analysis of Variance: The Fundamental Concepts, J Manual & Manipulative Therapy*, **17(2)**: 27-38.

Schunack, W., Mayer, K., and Haake, M. 1990, *Medical Compound*, diterjemahkan oleh Wattimena, J.R., Edisi II, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Shawkat, H., Westwood, M., and Mortimer, A. 2012, *Mannitol : A Review of Its Clinical Uses*. Contin Educ Anaesth Crit Care Pain, **12**: 82-85.

Shekar, T.A. dan Goyal.A. 2012, *A Chomprehensive Review on Ageratum conyzoides Linn. (Goat Weed).* Inter J Pharmac Phytopharmacol Res., **1(6)** : 391-395.

Sheriner, R.P., Hermann, C.K., Morril, T.C., Curtin, D.Y., Fuson, R.c. 2004, *The Systematic Identification of Organic Compound*, 8<sup>th</sup> Edition, John Willey dan Sons, Hoboken, United States of America, 26-30.

<sup>4</sup> Singh, S.B., Devi, W.R., Marina, A., Devi, L., Swapana, N., Sing, C.B. 2013, *Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of Ageratum conyzoides Linn (Asteraceae)*, Journal of Medical Plants Research, **7(8)**:371-385.

<sup>2</sup> Sleigh, JD dan Timbury, M.C. 1994, *Notes on Medical Bacteriology*, Churchill Livingstone, Tokyo.

<sup>2</sup> Strobel, Gary dan Bryn Daisy. 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products, *Microbiology and Molecular Biology Review*, **67(4)**: 491-502.

Sweetman, S. C. 2009, *Martindale 36th Edition The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical Press, London.

<sup>2</sup>

Syahrurachman, Agus et al. 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Binarupa Aksara, Jakarta, Indonesia.

Syamsuhidayat, S.S. 1984, *Simposium dan Expo Farma Obat Tradisional Indonesia*, Bandung.

Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea, J. R. 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi Kedua, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.

Taechowisan, T., Lu, C., Shen, Y., dan Lumyong, S. 2005, *4-Arylcoumarins From Endophytic Streptomyces aureofaciens CMUAc 130 and Their Antifungal Activity*, Annals of Microbiology, **55(1)** : 63-66.

Tanaka, M., H., Sukiman, M. Takebayashi, K. Saito, M. Suko, M. S. Prana, dan F. Tomita. 1999, Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia, *Microbes and Environment*, **14(4)**: 237-241.

<sup>1</sup>

Tanu, I. 2009, *Farmakologi dan Terapi*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.

Tirtodiharjo, K. 2011, *Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten Terhadap Antibiotika*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.

<sup>3</sup>

Wade, L., Illgen, K., Almstetter., M. 2000, *Discovery of Multi Component Reaction with Combinatorial Methods*, NewTools in Synth., **3**: 336-374.

Wade, L.G. 2006, *Organic Chemistry*, 6 edition, Pearson Eucation International, New Jersey.

Wang, M.Y., West, B.J., Jensen, C.J., Nowicki, D., Su, C., Palu, A. K., dan Anderson, G. 2002, *Morinda citrifolia* (Noni): A Literature Review and Recent Advances in Noni Research, *Acta Pharmacol Sin*, **23(12)**: 1127-1141.

Wang, J.W., Tan R.X. 2002, Artemisinin Production in *Artemisia Annua* Hair Root Cultures with Improved Growth by Altering the Nitrogen Source in The Medium, *Biotechnol Lett*, **24** : 1153-1156.

Wijayanti, Y. 2007, *Uji Toksisitas Ekstrak Gubal Daun Bandotan (*A. conyzoides* L.) terhadap Sel Myeloma*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

<sup>1</sup>

Wong SK, Lim YY., and Chan EWC. 2010, *Evaluation of Antioxidant, Antityrosinase, and Antibacterial Activities of Selected Hibiscus Species*, *Ethnobotanical Leaflets*, **14**: 781-796.

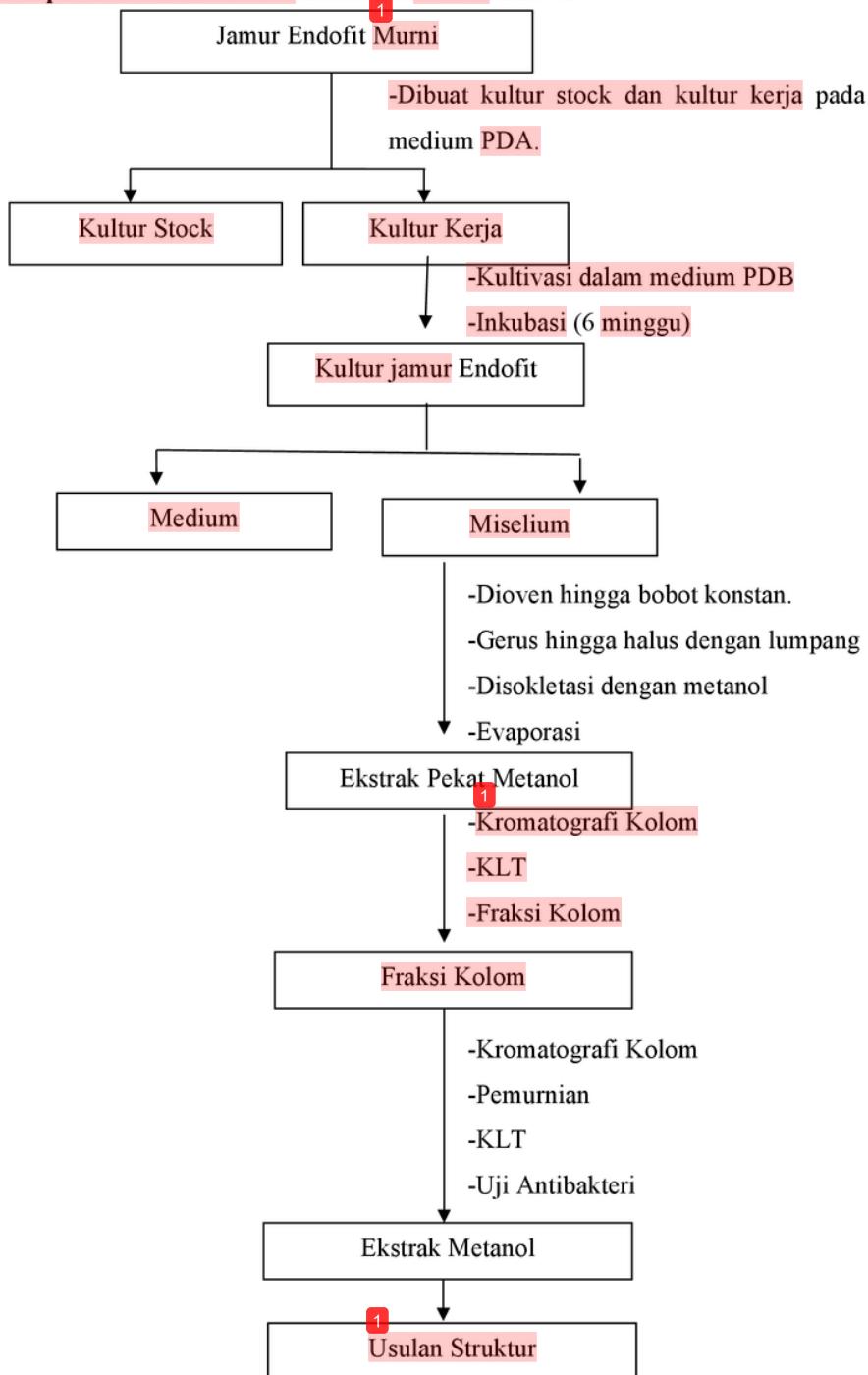
Yadav, S, Trivedi N.A, dan Bhatt J.D. 2015, *Antimicrobial Activity of Fesh Garlic Juice: An in Vitro Study*, An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda, **36(2)**: 203-207.

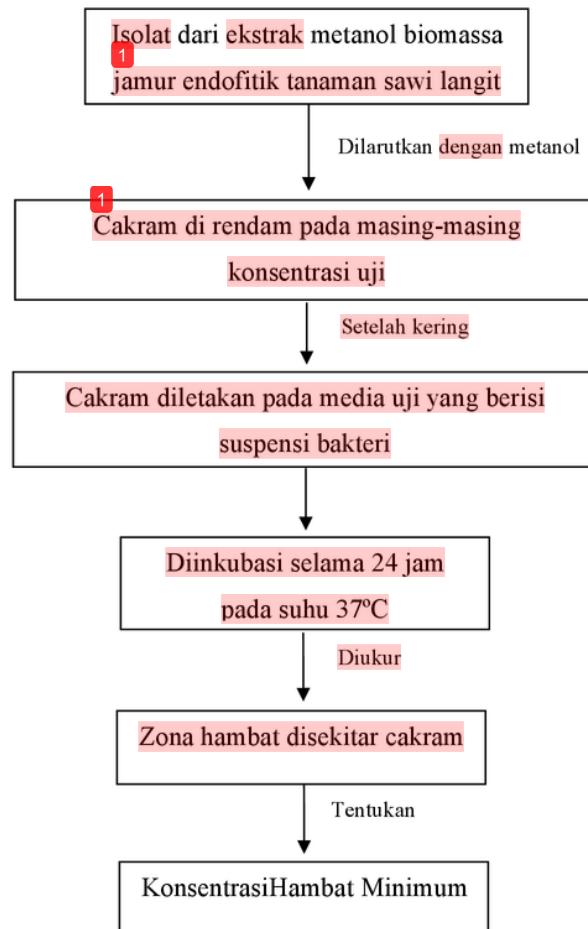
Yan, L.L., N.N., Han, Y.Q., Zhang, L.Y., Yu and J. Chen et al. 2010, *Antimycin A18 Produced by an Endophytic Streptomyces albidoflavus Isolated from a Mangrove Plant*. *J. Antibiotic*, **63**: 259-261.

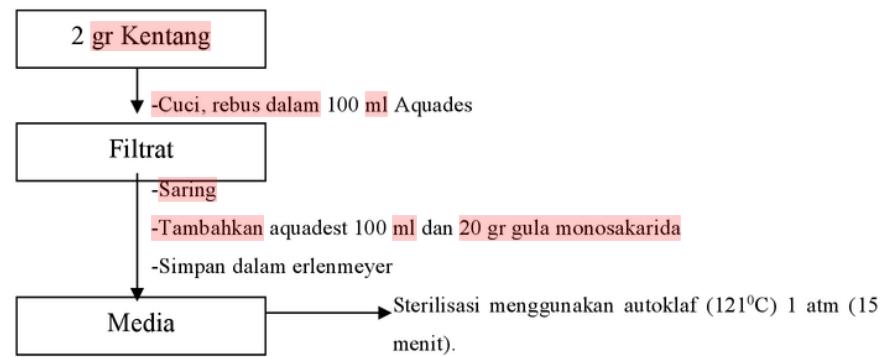
Yu, H., L. Zang, L., Li, C. Zheng, L. Guo, W. Li, P. Sun, L. Qin. 2010, *Recent Developments and future Prospects of Antimicrobial Metabolites Produced Endophytes*, Microbiological Research, **165**: 437-449.

1  
**LAMPIRAN**

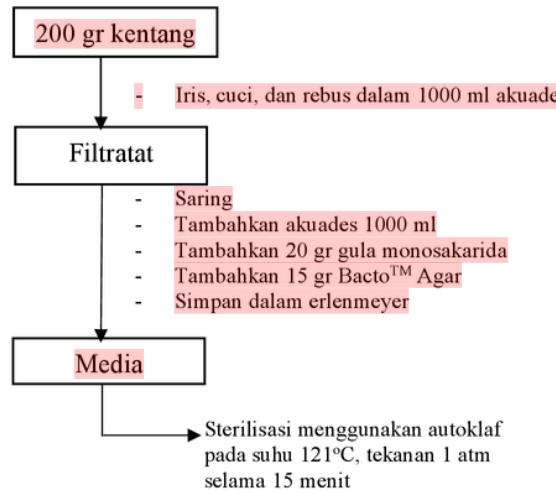
**Lampiran 1. Skema Isolasi Biomassa Jamur Endofit**



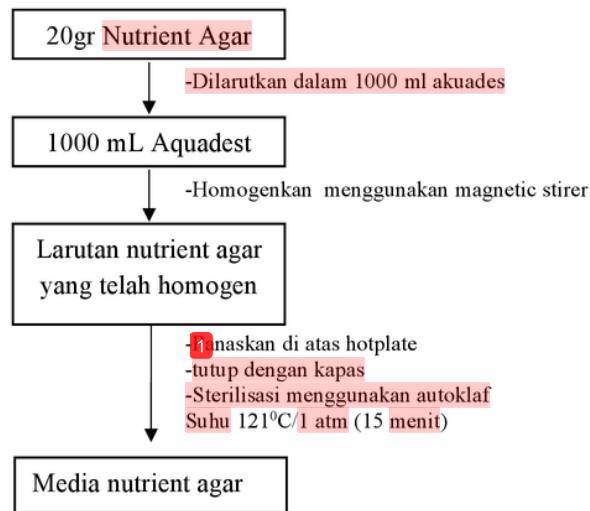
**Lampiran 2. Skema kerja uji aktivitas antibakteri**

**Lampiran 3. Pembuatan Medium PDB (Potato Dextrose Broth)**

1  
**Lampiran 4. Pembuatan Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*)**



**Lampiran 5. Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)**



**Lampiran 6. Perhitungan Konsentrasi Senyawa Antibakteri dan Antibiotik Standar**

1. Konsentrasi sampel ekstrak metanol biomassa tanaman sawi langit 400

μg/disk

$$400 \text{ } \mu\text{g}/\text{disk} = 400 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ } \mu\text{L}$$

$$\frac{400 \text{ } \mu\text{g}}{10 \text{ } \mu\text{L}} = \frac{400 \text{ } \mu\text{g}}{0,01 \text{ } mL} : \frac{100}{100}$$

$$= \frac{4 \text{ } \mu\text{g}}{0,0001 \text{ } mL} \times \frac{10.000}{10.000}$$

$$= \frac{40.000 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ } mL}$$

$$= 40.000 \text{ ppm atau } 4\%$$

$$4\% = \frac{4 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{4.000.000 \text{ } \mu\text{g}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{4000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{40 \text{ mg}}{1 \text{ mL}}$$

1 Jadi yang diambil adalah 40 mg ekstrak dalam 1 mL metanol

2. Konsentrasi senyawa antibiotik tetrasiiklin (30μg/disk)

$$1 \\ 30 \text{ } \mu\text{g}/\text{disk} = 30 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ } \mu\text{L}$$

$$\frac{30 \text{ } \mu\text{g}}{10 \text{ } \mu\text{L}} = \frac{30 \text{ } \mu\text{g}}{0,01 \text{ } mL} : \frac{100}{100}$$

$$= \frac{0,3 \text{ } \mu\text{g}}{0,0001 \text{ } mL} \times \frac{10.000}{10.000}$$

$$= \frac{3.000 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ } mL}$$

$$= 3.000 \text{ ppm atau } 0,3\%$$

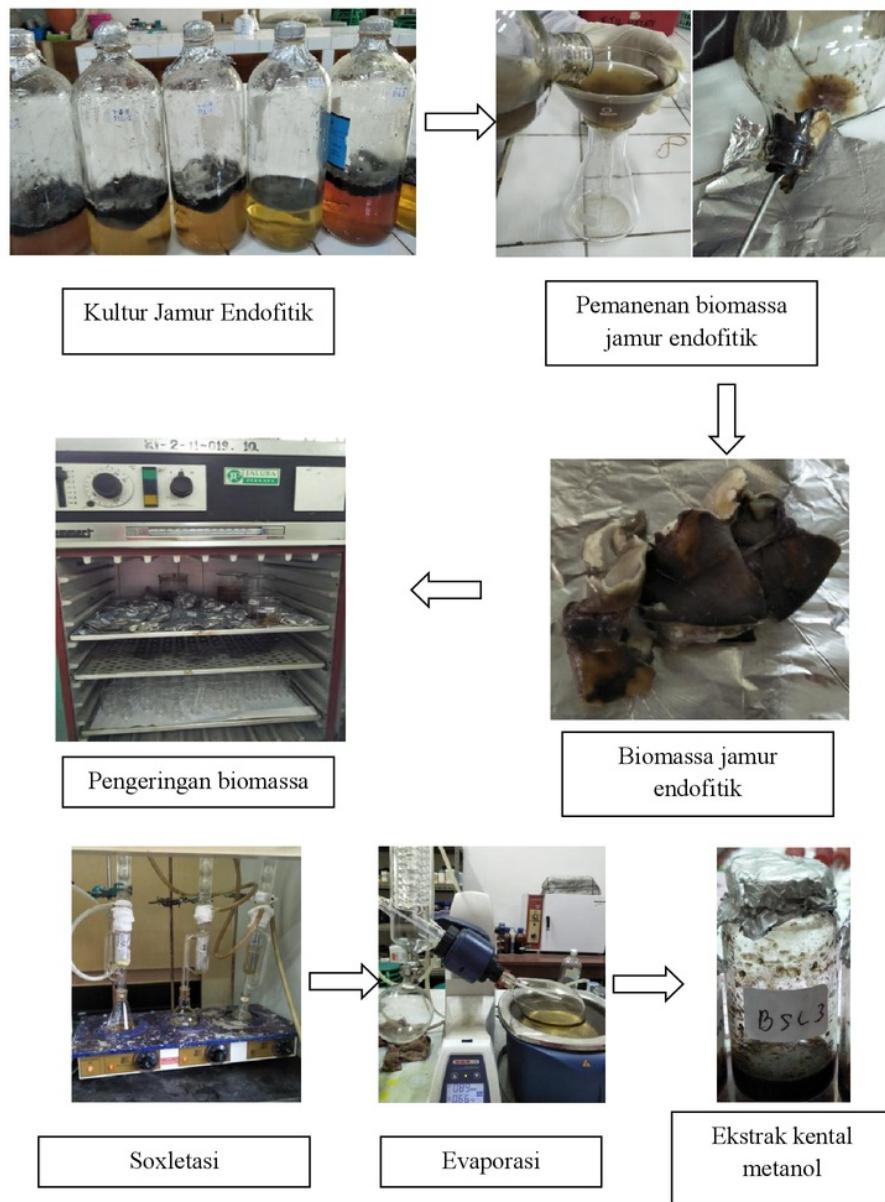
$$0,3\% = \frac{0,3 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{300.000 \mu g}{100 mL}$$

$$= \frac{300 mg}{100 mL}$$

$$= \frac{3 mg}{1 mL}$$

1 Jadi yang diambil adalah 3 mg ekstrak dalam 1 mL metanol

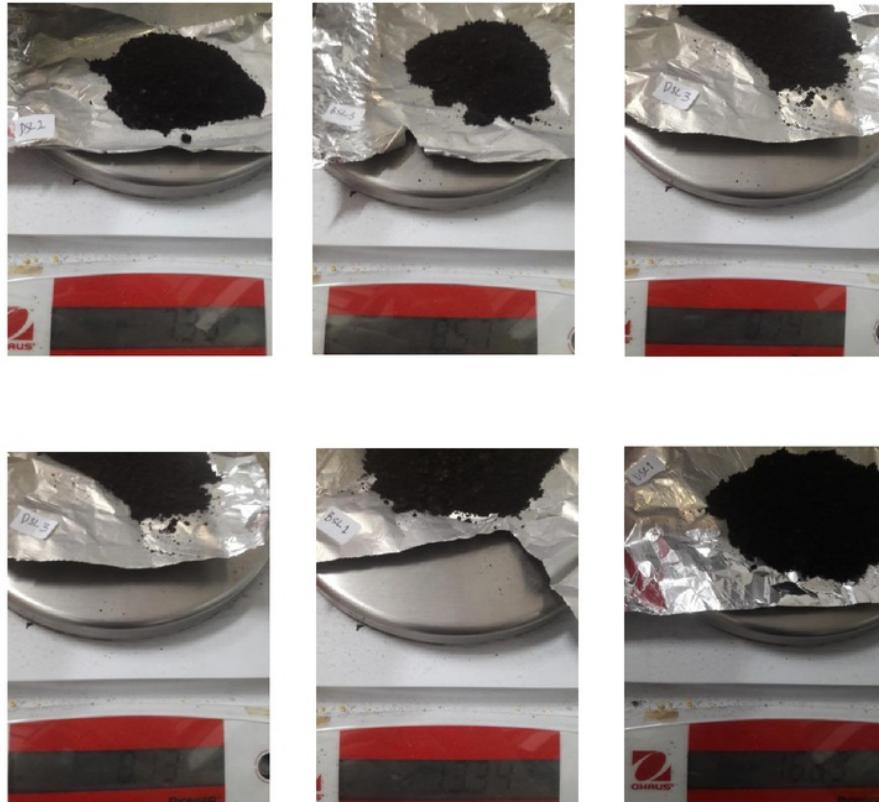
**Lampiran 7. Dokumentasi Proses Ekstraksi Biomassa Jamur Endofit Tanaman Sawi Langit**

**Lampiran 8. Kultur biomassa jamur endofitik pada minggu ke-6.**

**Lampiran 9. Biomassa jamur endofitik kering yang telah dihaluskan dan direndam dengan metanol.**



Lampiran 10. Dokumentasi Biomassa Kering <sup>1</sup> Jamur Endofitik Daun Tanaman Sawi Langit



### Lampiran 11. Surat Keterangan Hasil Determinasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
 UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
 JURUSAN BIOLOGI  
 Jalan Palembang-Prabumulih, KM 32 Indralaya Kabupaten Ogan Ilir 30662  
 Telepon (0711)-588306, Laman : [biologi.mipa.unsri.ac.id](http://biologi.mipa.unsri.ac.id)

#### SURAT KETERANGAN

Nomor : 3.6.2./UN9.1.7/4/PP/2017

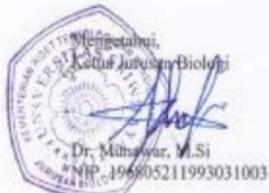
Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Dr. Elfita, MSi.  
 Asal instansi : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Sampel	Familia	Genus	Species	Nama Daerah
1.	Asparagaceae	<i>Cordyline</i>	<i>Cordyline fruticosa</i> (L.) A.Chev.	Debuang merah
2.	Salicaceae	<i>Flacourtie</i>	<i>Flacourtie rukam</i> Zoll. & Mor.	Rukam
3.	Loranthaceae	<i>Scurrula</i>	<i>Scurrula atropurpurea</i> (BL) Dans	Kaya Aro singgah
4.	Compositae	<i>Vernonia</i>	<i>Vernonia cinerea</i> (L.) Less.	Sawi Langit
5.	Crassulaceae	<i>Bryophyllum</i>	<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken	Cungur Bebek
6.	Lamiaceae	<i>Coleus</i>	<i>Coleus scutellarioides</i> (L.) Benth.	Kembang Ati-Ati
7.	Cucurbitaceae	<i>Berinjanga</i>	<i>Berinjanga hispida</i> (Thunb.) Cogn.	Kundur
8.	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia</i>	<i>Euphorbia hirta</i> L.	Patiakan Kebo
9.	Solanaceae	<i>Physalis</i>	<i>Physalis angulata</i> L.	Ciplukan
10.	Mimosaceae	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa pigra</i> L.	Batang Kayu Berduri
11.	Melastomataceae	<i>Melastoma</i>	<i>Melastoma malabathricum</i> L.	Seduduk
12.	Euphorbiaceae	<i>Codiaeum</i>	<i>Codiaeum variegatum</i> (L.) Blume	Puding Merah

Identifikasi tersebut dibantu oleh Dr. Laila Hanum, MSi.  
 Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.



Dr. Mulyawati, MSi  
 NIP. 196805211993031003

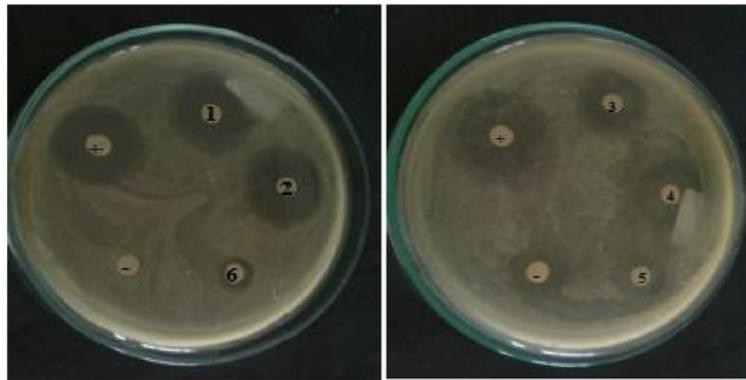
Indralaya, 11 Januari 2017  
 Kepala Laboratorium  
 Taksonomi Tumbuhan

Dra. Nita Aminasih, MP.  
 NIP. 196205171993032001

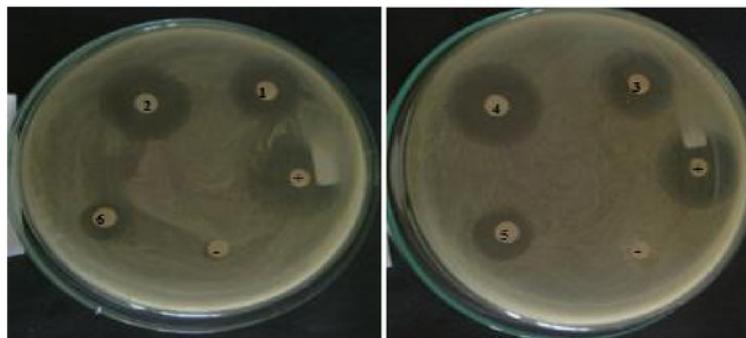
**Lampiran 12. Hasil uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol DSL1-DSL6 dan Antibiotik Standar**

<b>Ekstrak</b>	<b>Bakteri Uji</b>	<b>Replikasi (mm)</b>			<b>Rata-rata</b>	<b>SD</b>
		1	2	3		
<b>DSL1</b>	S. aureus	20,2	18,5	17,6	18,76666667	1,320353
	B. subtilis	16,8	16,6	17,1	16,83333333	0,251661
	E. coli	16,4	15,5	15,4	15,76666667	0,550757
	S. typhi	16,5	15,4	15,2	15,7	0,7
<b>DSL2</b>	S. aureus	18,5	17,4	15,6	17,16666667	1,464013
	B. subtilis	16,2	16,8	16,1	16,36666667	0,378594
	E. coli	14,2	15,6	14,9	14,9	0,7
	S. typhi	14,8	15,2	14,5	14,83333333	0,351188
<b>DSL3</b>	S. aureus	14,5	14,4	13,5	14,13333333	0,550757
	B. subtilis	15,5	14,6	13,2	14,43333333	1,159023
	E. coli	17,5	16,4	15,6	16,5	0,953939
	S. typhi	15,6	15,5	14,5	15,2	0,608276
<b>DSL4</b>	S. aureus	12,5	10,6	8,5	10,53333333	2,000833
	B. subtilis	10,5	10,4	8,6	9,83333333	1,069268
	E. coli	10,6	9,5	6,8	8,966666667	1,955335
	S. typhi	10,6	8,5	6,4	8,5	2,1
<b>DSL5</b>	S. aureus	10,5	7,6	6,7	8,266666667	1,985783
	B. subtilis	12,5	10,4	10,5	11,13333333	1,184624
	E. coli	7,5	6,8	5,6	6,63333333	0,960902
	S. typhi	10,6	7,6	5,8	8	2,424871
<b>DSL6</b>	S. aureus	10,5	8,2	5,4	8,033333333	2,554082
	B. subtilis	10,6	8,5	7,5	8,866666667	1,582193
	E. coli	7,8	6,5	6,4	6,9	0,781025
	S. typhi	9,8	8,5	8,2	8,833333333	0,85049

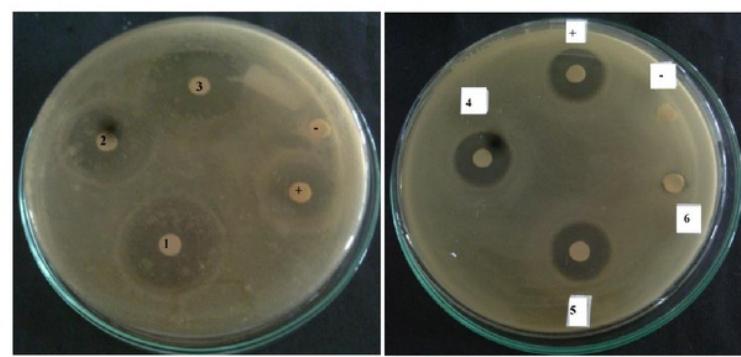
<b>Antibiotik</b>	<b>Bakteri Uji</b>	<b>Replikasi (mm)</b>			<b>Rata-rata</b>	<b>SD</b>
		1	2	3		
Standar						
Tetrasiklin	S. aureus	22,5	18,6	20,7	20,6	1,951922
	B. subtilis	19,5	19,2	18,9	19,2	0,3
	E. coli	18,6	18,2	18,4	18,4	0,2
	S. typhi	18,6	18,8	18,9	18,766667	0,152753

**Lampiran 13. Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

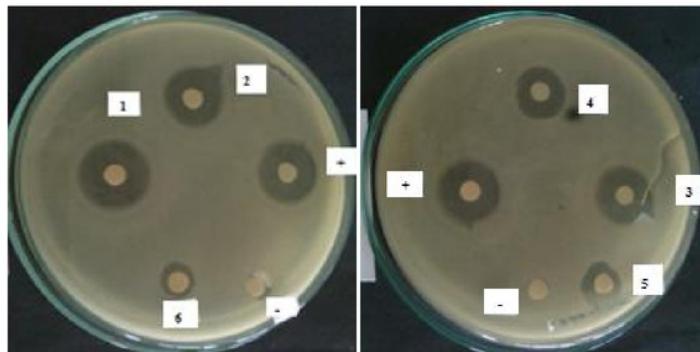
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, tetrasiklin dan pelarut DMSO terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.



6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, tetrasiklin dan pelarut DMSO terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.



6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, tetrasiklin dan pelarut DMSO terhadap bakteri *Escherichia coli*.



**6**  
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, tetrasiklin dan pelarut DMSO terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

1  
**Lampiran 14. Analisis Data**

**1. Uji Normalitas**

a. *Staphylococcus aureus*

<b>Tests of Normality</b>							
	Ekstrak	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona_Hambat	DSL1	.247	3	.	.969	3	.664
	DSL2	.230	3	.	.981	3	.736
	DSL3	.353	3	.	.824	3	.174
	DSL4	.180	3	.	.999	3	.945
	DSL5	.298	3	.	.915	3	.437
	DSL6	.193	3	.	.997	3	.892

a. Lilliefors Significance Correction

b. *Bacillus subtilis*

<b>Tests of Normality</b>							
	Ekstra	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona_Hambat	DSL1	.219	3	.	.987	3	.780
	DSL2	.337	3	.	.855	3	.253
	DSL3	.224	3	.	.984	3	.762
	DSL4	.369	3	.	.789	3	.089
	DSL5	.370	3	.	.786	3	.081
	DSL6	.258	3	.	.960	3	.614

a. Lilliefors Significance Correction

c. *Escherichia coli*

<b>Tests of Normality</b>							
	Ekstra	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona_Hambat	DSL1	.353	3	.	.824	3	.174
	DSL2	.175	3	.	1.000	3	1.000
	DSL3	.208	3	.	.992	3	.826
	DSL4	.274	3	.	.944	3	.545
	DSL5	.236	3	.	.977	3	.712
	DSL6	.362	3	.	.803	3	.122

a. Lilliefors Significance Correction

d. *Salmonella typhi*

<b>Tests of Normality</b>							
	Ekstra	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona_Hambat	DSL1	.333	3	.	.862	3	.274
	DSL2	.204	3	.	.993	3	.843
	DSL3	.356	3	.	.818	3	.157
	DSL4	.175	3	.	1.000	3	1.000
	DSL5	.232	3	.	.980	3	.726
	DSL6	.319	3	.	.885	3	.339

a. Lilliefors Significance Correction

- 1  
2. Uji ANOVA One Way  
a. *Staphylococcus aureus*

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>					
Zona_Hambat	Levene	df1	df2	Sig.	
	Statistic	.846	5	12	.543

<b>ANOVA</b>					
Zona_Hambat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	314.565	5	62.913	20.229	.000
Within Groups	37.320	12	3.110		
Total	351.885	17			

- b. *Bacillus subtilis*

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>					
Zona_Hambat	Levene	df1	df2	Sig.	
	Statistic	2.263	5	12	.114

<b>ANOVA</b>					
Zona_Hambat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175.898	5	35.180	31.981	.000
Within Groups	13.200	12	1.100		
Total	189.098	17			

- c. *Escherichia coli*

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>					
Zona_Hambat	Levene	df1	df2	Sig.	
	Statistic	1.767	5	12	.194

<b>ANOVA</b>					
Zona_Hambat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	317.858	5	63.572	54.027	.000
Within Groups	14.120	12	1.177		
Total	331.978	17			

d. *Salmonella typhi*

**1**  
Test of Homogeneity of Variances

Zona_Hambat	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.029	5	12	.146

**ANOVA**

Zona_Hambat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	210.271	5	42.054	21.033	.000
Within Groups	23.993	12	1.999		
Total	234.264	17			

3. Uji Post Hoc

**a. *Staphylococcus aureus***

Multiple Comparisons

		Dependent Variable: Zona_Hambat						
		(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Ekstrak	Ekstrak				Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	DSL1	DSL2		1.60000	1.43991	.868	-3.2365	6.4365
		DSL3		4.63333	1.43991	.063	-.2032	9.4699
		DSL4		8.23333*	1.43991	.001	3.3968	13.0699
		DSL5		10.50000*	1.43991	.000	5.6635	15.3365
		DSL6		10.73333*	1.43991	.000	5.8968	15.5699
		DSL1		-1.60000	1.43991	.868	-6.4365	3.2365
DSL2	DSL2	DSL3		3.03333	1.43991	.345	-1.8032	7.8699
		DSL4		6.63333*	1.43991	.006	1.7968	11.4699
		DSL5		8.90000*	1.43991	.001	4.0635	13.7365
		DSL6		9.13333*	1.43991	.000	4.2968	13.9699
		DSL1		-4.63333	1.43991	.063	-9.4699	.2032
		DSL2		-3.03333	1.43991	.345	-7.8699	1.8032
DSL3	DSL3	DSL4		3.60000	1.43991	.198	-1.2365	8.4365
		DSL5		5.86667*	1.43991	.015	1.0301	10.7032
		DSL6		6.10000*	1.43991	.011	1.2635	10.9365
		DSL1		-8.23333*	1.43991	.001	-13.0699	-3.3968
		DSL2		-6.63333*	1.43991	.006	-11.4699	-1.7968
		DSL3		-3.60000	1.43991	.198	-8.4365	1.2365
DSL4	DSL4	DSL5		2.26667	1.43991	.628	-2.5699	7.1032
		DSL6		2.50000	1.43991	.536	-2.3365	7.3365
		DSL1		-10.50000*	1.43991	.000	-15.3365	-5.6635
		DSL2		-8.90000*	1.43991	.001	-13.7365	-4.0635
		DSL3		-5.86667*	1.43991	.015	-10.7032	-1.0301
		DSL4		-2.26667	1.43991	.628	-7.1032	2.5699
DSL5	DSL5	DSL6		.23333	1.43991	1.000	-4.6032	5.0699
		DSL1		-10.73333*	1.43991	.000	-15.5699	-5.8968
		DSL2		-9.13333*	1.43991	.000	-13.9699	-4.2968
		DSL3		-6.10000*	1.43991	.011	-10.9365	-1.2365

		DSL4	-2.50000	1.43991	.536	-7.3365	2.3365
		DSL5	-.23333	1.43991	1.000	-5.0699	4.6032
LSD	DSL1	DSL2	1.60000	1.43991	.288	-1.5373	4.7373
		DSL3	4.63333*	1.43991	.007	1.4960	7.7706
		DSL4	8.23333*	1.43991	.000	5.0960	11.3706
		DSL5	10.50000*	1.43991	.000	7.3627	13.6373
		DSL6	10.73333*	1.43991	.000	7.5960	13.8706
	DSL2	DSL1	-1.60000	1.43991	.288	-4.7373	1.5373
		DSL3	3.03333	1.43991	.057	-.1040	6.1706
		DSL4	6.63333*	1.43991	.001	3.4960	9.7706
		DSL5	8.90000*	1.43991	.000	5.7627	12.0373
		DSL6	9.13333*	1.43991	.000	5.9960	12.2706
	DSL3	DSL1	-4.63333*	1.43991	.007	-7.7706	-1.4960
		DSL2	-3.03333	1.43991	.057	-6.1706	.1040
		DSL4	3.60000*	1.43991	.028	.4627	6.7373
		DSL5	5.86667*	1.43991	.002	2.7294	9.0040
		DSL6	6.10000*	1.43991	.001	2.9627	9.2373
	DSL4	DSL1	-8.23333*	1.43991	.000	-11.3706	-5.0960
		DSL2	-6.63333*	1.43991	.001	-9.7706	-3.4960
		DSL3	-3.60000*	1.43991	.028	-6.7373	-.4627
		DSL5	2.26667	1.43991	.141	-.8706	5.4040
		DSL6	2.50000	1.43991	.108	-.6373	5.6373
	DSL5	DSL1	-10.50000*	1.43991	.000	-13.6373	-7.3627
		DSL2	-8.90000*	1.43991	.000	-12.0373	-5.7627
		DSL3	-5.86667*	1.43991	.002	-9.0040	-2.7294
		DSL4	-2.26667	1.43991	.141	-5.4040	.8706
		DSL6	.23333	1.43991	.874	-2.9040	3.3706
	DSL6	DSL1	-10.73333*	1.43991	.000	-13.8706	-7.5960
		DSL2	-9.13333*	1.43991	.000	-12.2706	-5.9960
		DSL3	-6.10000*	1.43991	.001	-9.2373	-2.9627
		DSL4	-2.50000	1.43991	.108	-5.6373	.6373
		DSL5	-.23333	1.43991	.874	-3.3706	2.9040

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### b. *Bacillus subtilis*

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

	(I)	(J)	Mean	Std.	Sig.	95% Confidence Interval		
	Ekstrak	Ekstrak	Difference (I-J)	Error		Lower Bound	Upper Bound	
Tukey	HSD	DSL1	DSL2	.46667	.85635	.993	-2.4097	3.3431
		DSL1	DSL3	2.40000	.85635	.124	-.4764	5.2764
		DSL1	DSL4	7.00000*	.85635	.000	4.1236	9.8764
		DSL1	DSL5	5.70000*	.85635	.000	2.8236	8.5764
		DSL1	DSL6	7.96667*	.85635	.000	5.0903	10.8431
		DSL2	DSL1	-.46667	.85635	.993	-3.3431	2.4097
	DSL2	DSL3	DSL1	1.93333	.85635	.282	-.9431	4.8097
		DSL4	DSL1	6.53333*	.85635	.000	3.6569	9.4097
		DSL5	DSL1	5.23333*	.85635	.001	2.3569	8.1097
		DSL6	DSL1	7.50000*	.85635	.000	4.6236	10.3764
		DSL3	DSL1	-2.40000	.85635	.124	-5.2764	.4764
		DSL2	DSL1	-1.93333	.85635	.282	-4.8097	.9431
	DSL3	DSL4	DSL1	4.60000*	.85635	.002	1.7236	7.4764
		DSL5	DSL1	3.30000*	.85635	.022	.4236	6.1764
		DSL6	DSL1	5.56667*	.85635	.000	2.6903	8.4431
		DSL4	DSL1	-7.00000*	.85635	.000	-9.8764	-4.1236
		DSL2	DSL1	-6.53333*	.85635	.000	-9.4097	-3.6569
		DSL3	DSL1	-4.60000*	.85635	.002	-7.4764	-1.7236

		DSL5	-1.30000	.85635	.660	-4.1764	1.5764	
		DSL6	.96667	.85635	.860	-1.9097	3.8431	
		DSL1	-5.70000*	.85635	.000	-8.5764	-2.8236	
		DSL2	-5.23333*	.85635	.001	-8.1097	-2.3569	
		DSL3	-3.30000*	.85635	.022	-6.1764	-.4236	
		DSL4	1.30000	.85635	.660	-1.5764	4.1764	
		DSL6	2.26667	.85635	.159	-.6097	5.1431	
		DSL6	DSL1	-7.96667*	.85635	.000	-10.8431	-5.0903
		DSL2	-7.50000*	.85635	.000	-10.3764	-4.6236	
		DSL3	-5.56667*	.85635	.000	-8.4431	-2.6903	
		DSL4	-.96667	.85635	.860	-3.8431	1.9097	
		DSL5	-2.26667	.85635	.159	-5.1431	.6097	
LSD	DSL1	DSL2	.46667	.85635	.596	-1.3992	2.3325	
		DSL3	2.40000*	.85635	.016	.5342	4.2658	
		DSL4	7.00000*	.85635	.000	5.1342	8.8658	
		DSL5	5.70000*	.85635	.000	3.8342	7.5658	
		DSL6	7.96667*	.85635	.000	6.1008	9.8325	
	DSL2	DSL1	-.46667	.85635	.596	-2.3325	1.3992	
		DSL3	1.93333*	.85635	.043	.0675	3.7992	
		DSL4	6.53333*	.85635	.000	4.6675	8.3992	
		DSL5	5.23333*	.85635	.000	3.3675	7.0992	
		DSL6	7.50000*	.85635	.000	5.6342	9.3658	
	DSL3	DSL1	-2.40000*	.85635	.016	-4.2658	-.5342	
		DSL2	-1.93333*	.85635	.043	-3.7992	-.0675	
		DSL4	4.60000*	.85635	.000	2.7342	6.4658	
		DSL5	3.30000*	.85635	.002	1.4342	5.1658	
		DSL6	5.56667*	.85635	.000	3.7008	7.4325	
	DSL4	DSL1	-7.00000*	.85635	.000	-8.8658	-5.1342	
		DSL2	-6.53333*	.85635	.000	-8.3992	-4.6675	
		DSL3	-4.60000*	.85635	.000	-6.4658	-2.7342	
		DSL5	-1.30000	.85635	.155	-3.1658	.5658	
		DSL6	.96667	.85635	.281	-.8992	2.8325	
	DSL5	DSL1	-5.70000*	.85635	.000	-7.5658	-3.8342	
		DSL2	-5.23333*	.85635	.000	-7.0992	-3.3675	
		DSL3	-3.30000*	.85635	.002	-5.1658	-1.4342	
		DSL4	1.30000	.85635	.155	-.5658	3.1658	
		DSL6	2.26667*	.85635	.021	.4008	4.1325	
	DSL6	DSL1	-7.96667*	.85635	.000	-9.8325	-6.1008	
		DSL2	-7.50000*	.85635	.000	-9.3658	-5.6342	
		DSL3	-5.56667*	.85635	.000	-7.4325	-3.7008	
		DSL4	-.96667	.85635	.281	-2.8325	.8992	
		DSL5	-2.26667*	.85635	.021	-4.1325	-.4008	

1 \*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### c. Escherichia coli

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona_Hambat							
	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	Ekstrak	Ekstrak				Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	DSL1	DSL2	.86667	.88569	.916	-2.1083	3.8416
		DSL3	-.73333	.88569	.956	-3.7083	2.2416
		DSL4	6.80000*	.88569	.000	3.8250	9.7750
		DSL5	9.13333*	.88569	.000	6.1584	12.1083
		DSL6	8.86667*	.88569	.000	5.8917	11.8416
	DSL2	DSL1	-.86667	.88569	.916	-3.8416	2.1083
		DSL3	-1.60000	.88569	.497	-4.5750	1.3750
		DSL4	5.93333*	.88569	.000	2.9584	8.9083

		DSL5	8.26667*	.88569	.000	5.2917	11.2416
		DSL6	8.00000*	.88569	.000	5.0250	10.9750
DSL3	DSL1	.73333	.88569	.956	-2.2416	3.7083	
	DSL2	1.60000	.88569	.497	-1.3750	4.5750	
	DSL4	7.53333*	.88569	.000	4.5584	10.5083	
	DSL5	9.86667*	.88569	.000	6.8917	12.8416	
	DSL6	9.60000*	.88569	.000	6.6250	12.5750	
	DSL1	-6.80000*	.88569	.000	-9.7750	-3.8250	
DSL4	DSL2	-5.93333*	.88569	.000	-8.9083	-2.9584	
	DSL3	-7.53333*	.88569	.000	-10.5083	-4.5584	
	DSL5	2.33333	.88569	.162	-.6416	5.3083	
	DSL6	2.06667	.88569	.253	-.9083	5.0416	
	DSL1	-9.13333*	.88569	.000	-12.1083	-6.1584	
	DSL2	-8.26667*	.88569	.000	-11.2416	-5.2917	
DSL5	DSL3	-9.86667*	.88569	.000	-12.8416	-6.8917	
	DSL4	-2.33333	.88569	.162	-5.3083	.6416	
	DSL6	-.26667	.88569	1.000	-3.2416	2.7083	
	DSL1	-8.86667*	.88569	.000	-11.8416	-5.8917	
	DSL2	-8.00000*	.88569	.000	-10.9750	-5.0250	
	DSL3	-9.60000*	.88569	.000	-12.5750	-6.6250	
DSL6	DSL4	-2.06667	.88569	.253	-5.0416	.9083	
	DSL5	.26667	.88569	1.000	-2.7083	3.2416	
	DSL1	DSL2	.86667	.88569	.347	-1.0631	2.7964
	DSL3	-.73333	.88569	.424	-2.6631	1.1964	
	DSL4	6.80000*	.88569	.000	4.8703	8.7297	
	DSL5	9.13333*	.88569	.000	7.2036	11.0631	
LSD	DSL1	DSL2	8.86667*	.88569	.000	6.9369	10.7964
	DSL2	DSL1	-.86667	.88569	.347	-2.7964	1.0631
	DSL3	-1.60000	.88569	.096	-3.5297	.3297	
	DSL4	5.93333*	.88569	.000	4.0036	7.8631	
	DSL5	8.26667*	.88569	.000	6.3369	10.1964	
	DSL6	8.00000*	.88569	.000	6.0703	9.9297	
DSL3	DSL1	.73333	.88569	.424	-1.1964	2.6631	
	DSL2	1.60000	.88569	.096	-.3297	3.5297	
	DSL4	7.53333*	.88569	.000	5.6036	9.4631	
	DSL5	9.86667*	.88569	.000	7.9369	11.7964	
	DSL6	9.60000*	.88569	.000	7.6703	11.5297	
	DSL4	DSL1	-6.80000*	.88569	.000	-8.7297	-4.8703
DSL4	DSL2	-5.93333*	.88569	.000	-7.8631	-4.0036	
	DSL3	-7.53333*	.88569	.000	-9.4631	-5.6036	
	DSL5	2.33333*	.88569	.022	.4036	4.2631	
	DSL6	2.06667*	.88569	.038	.1369	3.9964	
	DSL5	DSL1	-9.13333*	.88569	.000	-11.0631	-7.2036
	DSL2	-8.26667*	.88569	.000	-10.1964	-6.3369	
DSL5	DSL3	-9.86667*	.88569	.000	-11.7964	-7.9369	
	DSL4	-2.33333*	.88569	.022	-4.2631	-.4036	
	DSL6	-.26667	.88569	.769	-2.1964	1.6631	
	DSL6	DSL1	-8.86667*	.88569	.000	-10.7964	-6.9369
	DSL2	-8.00000*	.88569	.000	-9.9297	-6.0703	
	DSL3	-9.60000*	.88569	.000	-11.5297	-7.6703	
DSL6	DSL4	-2.06667*	.88569	.038	-3.9964	-.1369	
	DSL5	.26667	.88569	.769	-1.6631	2.1964	

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1  
d. *Salmonella typhi*

**Multiple Comparisons**

		Dependent Variable: Zona_Hambat						
		(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
				(I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	DSL1	DSL2	.86667	1.15454	.971		-3.0113	4.7447
		DSL3	.50000	1.15454	.998		-3.3780	4.3780
		DSL4	7.20000*	1.15454	.000		3.3220	11.0780
		DSL5	7.70000*	1.15454	.000		3.8220	11.5780
		DSL6	6.86667*	1.15454	.001		2.9887	10.7447
		DSL2	-.86667	1.15454	.971		-4.7447	3.0113
	DSL3	DSL3	-.36667	1.15454	.999		-4.2447	3.5113
		DSL4	6.33333*	1.15454	.001		2.4553	10.2113
		DSL5	6.83333*	1.15454	.001		2.9553	10.7113
		DSL6	6.00000*	1.15454	.002		2.1220	9.8780
		DSL1	-.50000	1.15454	.998		-4.3780	3.3780
		DSL2	.36667	1.15454	.999		-3.5113	4.2447
	DSL4	DSL4	6.70000*	1.15454	.001		2.8220	10.5780
		DSL5	7.20000*	1.15454	.000		3.3220	11.0780
		DSL6	6.36667*	1.15454	.001		2.4887	10.2447
		DSL1	-7.20000*	1.15454	.000		-11.0780	-3.3220
		DSL2	-6.33333*	1.15454	.001		-10.2113	-2.4553
		DSL3	-6.70000*	1.15454	.001		-10.5780	-2.8220
	DSL5	DSL5	.50000	1.15454	.998		-3.3780	4.3780
		DSL6	-.33333	1.15454	1.000		-4.2113	3.5447
		DSL1	-7.70000*	1.15454	.000		-11.5780	-3.8220
		DSL2	-6.83333*	1.15454	.001		-10.7113	-2.9553
		DSL3	-7.20000*	1.15454	.000		-11.0780	-3.3220
		DSL4	-.50000	1.15454	.998		-4.3780	3.3780
	DSL6	DSL6	-.83333	1.15454	.975		-4.7113	3.0447
		DSL1	-6.86667*	1.15454	.001		-10.7447	-2.9887
		DSL2	-6.00000*	1.15454	.002		-9.8780	-2.1220
		DSL3	-6.36667*	1.15454	.001		-10.2447	-2.4887
		DSL4	.33333	1.15454	1.000		-3.5447	4.2113
		DSL5	.83333	1.15454	.975		-3.0447	4.7113
LSD	DSL1	DSL2	.86667	1.15454	.467		-1.6489	3.3822
		DSL3	.50000	1.15454	.673		-2.0155	3.0155
		DSL4	7.20000*	1.15454	.000		4.6845	9.7155
		DSL5	7.70000*	1.15454	.000		5.1845	10.2155
		DSL6	6.86667*	1.15454	.000		4.3511	9.3822
	DSL2	DSL1	-.86667	1.15454	.467		-3.3822	1.6489
		DSL3	-.36667	1.15454	.756		-2.8822	2.1489
		DSL4	6.33333*	1.15454	.000		3.8178	8.8489
		DSL5	6.83333*	1.15454	.000		4.3178	9.3489
		DSL6	6.00000*	1.15454	.000		3.4845	8.5155
	DSL3	DSL1	-.50000	1.15454	.673		-3.0155	2.0155
		DSL2	.36667	1.15454	.756		-2.1489	2.8822
		DSL4	6.70000*	1.15454	.000		4.1845	9.2155
		DSL5	7.20000*	1.15454	.000		4.6845	9.7155
		DSL6	6.36667*	1.15454	.000		3.8511	8.8822
	DSL4	DSL1	-7.20000*	1.15454	.000		-9.7155	-4.6845
		DSL2	-6.33333*	1.15454	.000		-8.8489	-3.8178
		DSL3	-6.70000*	1.15454	.000		-9.2155	-4.1845
		DSL5	.50000	1.15454	.673		-2.0155	3.0155
		DSL6	-.33333	1.15454	.778		-2.8489	2.1822
	DSL5	DSL1	-7.70000*	1.15454	.000		-10.2155	-5.1845

	DSL2	-6.83333*	1.15454	.000	-9.3489	-4.3178
	DSL3	-7.20000*	1.15454	.000	-9.7155	-4.6845
	DSL4	-.50000	1.15454	.673	-3.0155	2.0155
	DSL6	-.83333	1.15454	.484	-3.3489	1.6822
DSL6	DSL1	-6.86667*	1.15454	.000	-9.3822	-4.3511
	DSL2	-6.00000*	1.15454	.000	-8.5155	-3.4845
	DSL3	-6.36667*	1.15454	.000	-8.8822	-3.8511
	DSL4	.33333	1.15454	.778	-2.1822	2.8489
	DSL5	.83333	1.15454	.484	-1.6822	3.3489

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

---

1  
Lampiran 15. Hasil Identifikasi Jamur Endofitik Sawi Langit

 <b>LIPI</b>	<b>PUSAT PENELITIAN BIOLOGI - LIPI</b>	<b>ID</b> : FR- <b>Dokumen</b> CC.03-02 <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">1</span> <b>Ed/Rev</b> : 2/1
	<b>FORMULIR</b>	<b>Tgl</b> : 18-09- <b>Berlaku</b> 2018
	<b>LAPORAN HASIL IDENTIFIKASI MOLEKULER MIKROB</b>	<b>Halaman</b> : 82 <i>dari</i> <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">2</span>

### I. Deskripsi Sampel

No	Asal sampel	Kode identifikasi	Kode/ Nomor sampel	Media tumbuh
1.	Ibu Elfita – Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya  Palembang - Sumsel	401/F/Mol- 03/5/2018	D5L1	PDA*slant

**Ket.(\*):** Potato Dextrose Agar

### II. Proses Identifikasi

Identifikasi isolat fungi dilakukan secara molekuler berdasarkan analisis genetika secara parsial pada lokus *Internal Transcribed Spacer (ITS)ribosomal DNA* fungi.

Isolasi DNA diawali dengan menumbuhkan isolat fungi dalam media cair *Potato Dextrose Broth (PDB)* dan diinkubasi selama 72 jam. Biomassa berupa miselia fungi selanjutnya dipanen untuk proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA fungi dilakukan dengan menggunakan reagen **nucleon PHYTOpure** (Amersham LIFE SCIENCE).

Amplifikasi PCR pada ITS menggunakan **Primer ITS 4: 5'-- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3'** dan **Primer ITS 5: 5'--GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G –3'** (White *et al.*, 1990; O'Donnell, 1993).

Purifikasi *PCR product* dilakukan dengan *PEG precipitation method* (Hiraishi *et al.*, 1995) dan dilanjutkan dengan siklus sekruensing. Hasil siklus sekruensing dipurifikasi kembali dengan *Ethanol purification method*. Analisis pembacaan urutan basa nitrogen menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI

PRISM 3130 Genetic Analyzer) (Applied Biosystems).

Data mentah hasil sekuening selanjutnya di *trimming* dan di *assembling* menggunakan program BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Data sekuen yang telah di *assembling* selanjutnya di BLAST dengan data genom yang telah didaftarkan di DDBJ/ DNA Data Bank of Japan (<http://blast.ddbj.nig.ac.jp/>) atau NCBI/ National Center for Biotechnology Information( <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) guna menentukan takson/ spesies yang memiliki *homology/ similarity* terbesar dan terdekat secara molekuler.

### **III. Hasil Identifikasi Molekuler**

#### **A. Sekuen ITS rDNA Isolat**

##### **A.1. Strain D5L1**

**>D5\_ITS4**

```
GACACGAGTTGAATTAAACGTTCTTAATTCCAATTGCTTTTCCA
ATTGAAAAAAAATTGATGCAAAGGAAAAAGCAAGAAACTTTTT
GTTAACCTATGGACTCATTTCAGGATGAAAGGTTCCCTTGACAT
CCAATCCAATGGACATTCAATTAAAAATGTCATTGTGGGTTGT
AGTTGTACTGAAACAAGCATCCCCAAGGACAAGCCAAGGGTCAA
GGTGCCTCAAGAACTCGATGATTGCAGAATGCAGATCGCACTAATT
ATCGCAATTGCTACGCTTCAATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCAT
TGCTTAAAGTTAAAAGAAAAAGTCCAATGCCATTATCTTT
CAATACTTCAATTCAATTAGAATCAATTGTAATTAAATGAAAAAAA
AAAATGTTGAATTAAAAAAATCCATTCTTGTTAACCCAGGAATC
GTTGCAATAAACGGGGTGAATACCAATTCTTCCCCTCTCAATTGAA
AAAAGAAAAAAAATTGGAAAAATCCTCCGCAGGTTCACCTACG
GAAACCTT
```

**>D5\_IT5S**

```
CATTCCAATTTTTTCTCTTCAATTGAAGAGGGGAAACGAATTG
GTATTCAACCAGTCTATTGCAACGATTCTGGGTTAACAAAGAATGGA
TCTTTTAATTCAAAACATTTTTTCTTAATTACCAATTGATT
CCAAATTGAATTGAATTATTGAAAAAATAAAAGGCTTGGACTTTT
TTCTTTAAACAACCTTAAACAAGGGATCTCTGGCTCTCCATCGATA
AAAAGCGTAAAAAATTGCGATAATTAGGGCGATCTGCTTCTGCGAAT
CATCGATTTTGAAACGCCCTGCCCCCTTGGCTTGCCTGGGTA
TGCTTGTTCAGTACAACATACAAACCCACAAATGACCTTCTTAATTGA
AATGTCCTGGGGATGGGATGGCAAAGGGAAACCTTCACCCGAA
AATGACCCCAAAGGATTAAACAAAAAGTTCTGGCTTTCTTTG
```

CATCAATTTCCTCAATTGAAAAACCAATGGAATAAAACCGTAATT  
CAACTCTGCCTGAATCAGTAGATTACCCCTGATTCC

**>Contig-D5L1**

AAGGTTCCGTAGGTGAAACCTGCGGAAGGATTTCATTCCAATTTTT  
TTTCTCTCTCAATTGAAGAGGGAAAGAATTGGTATTCACCCAGTCT  
ATTGCAACGATTCTGGGTTAACAAAGAATGGATCTTTTAATTCAA  
AACATTTTTTTCATTAATTACCAATTGATTCCAAATTGAATTGA  
AGTATTGAAAAAATAAAAGGCATTGGACTTTCTTTAAACAAC  
TTTAAACAAGGGATCTCTGGGCTCTCCCATCGATAAAAAGCGTAAAAA  
ATTGCGATAATTAGGGCGATCTGCATTCTGCGAATCATCGAGTTCTG  
AACGCACCTTGCACCCTTGGCTGCCCTGGGTATGCTTGTTCAGT  
ACAACATACAAACCCACAAATGACATTCTTAATTGAAATGTCCATTGG  
GGATGGGGATGGCAAAGGGAAACCTTCACCCGGAAAATGACCCCAA  
AGGATTAAACAAAAAAAGTTCTGGCTTTCTTCATTGCATCAATT  
TTTCAATTGGAAAAAAAGCAATTGGAATTAAAGAAACCGTTAATTCA  
AACTCGTGCCTGAATCAGTAGATTACCCCTGATTCC

**B. Takson Terdekat Hasil BLAST**

<b>Kode Identifikasi</b>	<b>Kode / Nomor Sampel</b>	<b>Takson Fungi Terdekat Hasil Homologi BLAST di DDBJ/NCBI</b>  [ <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a> ]
		<b>ITS1, 5.8S, ITS2 of Rdna</b>
401/F/Mol-03/5/2018	<b>DSL1</b>	<p><b><i>Syncephalastrum racemosum</i> strain AHBR11</b>            (Accession no: <b>KF305750</b>) [ Homologi: 93%; Max score: 832;            Total score: 832; Query coverage: 93%; E-value: 0.0;            Max identities: 542/584(93%); Gaps: 15/584(2%) ]</p>
		<p><b><i>Syncephalastrum racemosum</i> strain UBOCC-A-101374</b>            (Accession no: <b>KF225036</b>) [ Homologi: 93%; Max score: 824;            Total score: 824; Query coverage: 93%; E-value: 0.0;            Max identities: 542/584(93%); Gaps: 15/584(2%) ]</p>



## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama	:	Indi Silvia
NIM	:	08061381520065
Tempat / Tanggal Lahir	:	Pedamaran / 31 Maret 1998
Universitas / Fakultas / Jurusan	:	Sriwijaya / Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam / Farmasi
Bidang Ilmu Skripsi	:	Bahan Alam dan Farmakologi
Alamat Rumah	:	Jalan Bukit Baru 2 Lt. Bersama No. 4 RT 01 RW 06 Kelurahan Bukit Baru, Kecamatan Ilir Barat 1, Palembang, Sumatera Selatan.
No. HP	:	+6282176143679
Email	:	<a href="mailto:indisilvia2015@gmail.com">indisilvia2015@gmail.com</a>
Riwayat Pendidikan	:	<ul style="list-style-type: none"><li>- SDN 13 Palembang 2003 s.d. 2009</li><li>- SMPN 18 Palembang 2009 s.d. 2012</li><li>- SMA Islam Az-Zahra 2012 s.d. 2015</li><li>- Universitas Sriwijaya 2015 s.d. 2019</li></ul>
Judul Skripsi	:	<p>Isolasi Senyawa Polihidroksi dari Ekstrak Aktif Antiakteri Biomassa Jamur Endofitik</p> <p>Daun Tanaman Sawi Langit (<i>Ageratum Conyzoides</i> Linn.)</p>

# ISOLASI SENYAWA POLIHIDROKSI DARI EKSTRAK AKTIF ANTIBAKTERI BIOMASSA JAMUR ENDOFITIK DAUN TANAMAN SAWI LANGIT (*Ageratum conyzoides* Linn.)

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

- |   |   |            |
|---|---|------------|
| 1 | <b>Submitted to Sriwijaya University</b><br>Student Paper   | <b>19%</b> |
| 2 | <b>www.repository.uinjkt.ac.id</b><br>Internet Source   | <b>3%</b>  |
| 3 | <b>www.scribd.com</b><br>Internet Source  | <b>2%</b>  |
| 4 | <b>Muhammad Irmawan, Frederyk Mandey, Seniwati Dali. "Isolation, Identification, Characterization, And Toxicity Essay Of Non-polar Secondary Metabolite Fraction From <i>Ageratum conyzoides</i> L", Indo. J. Chem. Res., 2018</b><br>Publication | <b>1 %</b> |
| 5 | <b>eprints.unsri.ac.id</b><br>Internet Source   | <b>1 %</b> |
| 6 | <b>repository.uinjkt.ac.id</b><br>Internet Source   | <b>1 %</b> |

---

Exclude quotes      On

Exclude bibliography      On

Exclude matches      < 1%