SKRIPSI

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN AWAR-AWAR (*Ficus septica* Burm.F) TERHADAP *Escherichia coli*

BADARIA

NIM : D1B324047

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

SKRIPSI

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN AWAR-AWAR (*Ficus septica* Burm.F) TERHADAP *Escherichia coli*

Disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi Pada Universitas Megarezky

BADARIA

NIM : D1B324047

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini : Badaria

Nim : D1B324047

Tempat Tangga Lahir : Singkalong, 20 Juni 2001

Program Studi : S1 Farmasi

Judul : Isolasi, Identifikasi, Dan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri dan bukan plagiat, apabila dalam skripsi ini ternyata ditemukan unsur plagiat, maka saya siap mendapatkan sanksi akademik terkait dengan hal tersebut.

Makassar, Agustus 2025

Penyusun

Badaria

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan Judul:

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN AWAR-AWAR (*Ficus septica* Burm.F) TERHADAP *Eschierichia coli*

Telah disetujui untuk dipertahankan dihadapan

Tim Penguji

Fakultas Farmasi Universitas Megarezky

Pada hari Jum'at **tanggal** 15 Agustus 2025

Pembimbing I	Pembimbing II
(Sirajul Firdaus, S.Si., M.Si.)	(apt. Ummu Kalsum T, S.Farm., M.P.H)
NIDN. 0916058606	NIDN. 09 110787 01

Mengetahui

Ketua Program Studi S1 Farmasi

(apt. Nurhikma Asvaluddin, S.Farm., M.Si.)

NIDN. 09 020193 01

HALAMAN PENGESAHAN

Pada hari Jumat tanggal ...15.. bulan...08. tahun 2025, bertempat di Ruang Tutorial II, lantai 3, Gedung D, Fakultas Farmasi Universitas Megarezky, telah dilaksanakan Ujian Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Sarjana terhadap mahasiswa atas nama:

Nama : Badaria

NIM : D1B324047

Program Studi : Farmasi

Jenjang : Strata I

Judul : Isolasi, Identifikasi, Dan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Yang telah diuji oleh Tim Penguji Skripsi, sebagai berikut:

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. apt. Imran Firman, S.Farm., M.Si.	(.....)
2. Sirajul Firdaus, S.Si., M.Si.	(.....)
3. apt. Ummu Kalsum T, S.Farm., M.P.H.	(.....)

Dekan

(Dr. Apt. Besse Yuliana, S.Si., M.Si)

NIDN. 09 231179 01

Ketua Program Studi S1 Farmasi

(apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si.)

NIDN. 09 020193 01

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul: Isolasi, Identifikasi, Dan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap *Escherichia coli.*

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta almarhum ayah **Abdullah** dan Ibu **Emi Wunde** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moral maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan**

Islam Mega Rezky Makassar, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.

3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Dr. apt. Besse Yuliana, S.Si., M.Si.**, sebagai **Dekan Fakultas Farmasi**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si. sebagai Ketua Program Studi Sarjana Farmasi**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Bapak Sirajul Firdaus, S.Si., M.Si. dan Ibu apt. Ummu Kalsum T, S.Farm., M.P.H. sebagai Dosen Pembimbing I dan II**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Bapak apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.S. sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu,

perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.

10. **Seluruh Staf Laboratorium Universitas Megarezky**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 15 Agustus 2025

BADARIA

ABSTRAK

Badaria (D1B324047). ''Isolasi, Identifikasi, Dan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*'' (Dibimbing oleh Sirajul Firdaus dan Ummu Kalsum).

Daun Awar-Awar mengandung metabolit sekunder yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli.* Tanaman yang mengandung metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Penelitian ini brtujuan untuk mendapatkan isolat bakteri endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) dan mendapatkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* serta mengetahui jenis isolat bakteri endofit tersebut. Metode penelitian merupakan eksperimental laboratorium dimana isolasi bakteri endofit Daun Awar-Awar dilakukan dengan metode penanaman langsung dan pemurnian isolat dilakukan dengan menggunakan metode *streak plate*. Isolat yang dihasilkan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar menggunakan *paper disk*. Identifikasi bakteri endofit dilakukan secara makroskopik, mikroskopik, media selektif dan uji biokimia. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa Daun Awar-Awar menghasilkan 3 isolat bakteri endofit yaitu BE 1, BE 2, BE 3, dan BE 3. Ketiga isolat bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Dimana rata-rata diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli* pada isolat BE 1 sebesar 19,7 mm, pada isolat BE 2 sebesar 18,8, dan BE 3 sebesar 18,7 mm. Daun Matoa mengandung bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli.*

Kata Kunci : Daun Awar-Awar, Bakteri Endofit, *Escherichia coli,* zona hambat.

ABSTRACK

Badaria (D1B324047). *"Isolation, Identification, and Antibacterial Activity of Endophytic Bacteria from Awar-Awar Leaves (Ficus septica Burm.F) Against Escherichia coli" (Supervised by Sirajul Firdaus and Ummu Kalsum).*

Awar-Awar leaves contain secondary metabolites that provide antibacterial activity against Escherichia coli. Plants that contain the same secondary metabolites as their host. This study aims to isolate endophytic bacteria from Awar-Awar leaves (Ficus septica Burm.F) and determine their antibacterial activity against Escherichia coli, as well as to identify the type of endophytic bacterial isolate. The research method was a laboratory experiment. Isolation of endophytic bacteria from Awar-Awar leaves was carried out using the direct cultivation method and isolation of the isolates using the streak plate method. The resulting isolates were tested for their antibacterial activity against Escherichia coli using agar diffusion using paper disks. Identification of endophytic bacteria was carried out macroscopically, microscopically, using selective media, and biochemical tests. The results of this study indicate that Awar-Awar leaves produce three endophytic bacterial isolates: BE 1, BE 2, BE 3, and BE 3. All three endophytic bacterial isolates exhibit antibacterial activity against Escherichia coli. The average inhibition zone diameter for BE 1 was 19.7 mm, for BE 2 it was 18.8 mm, and for BE 3 it was 18.7 mm. Matoa leaves contain endophytic bacteria that exhibit antibacterial activity against Escherichia coli.

***Key words**: Awar-Awar leaves, endophytic bacteria, Escherichia coli, inhibition zone.*

DAFTAR ISI

SKRIPSI.....i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... iii
HALAMAN PERSETUJUAN..... iii
HALAMAN PENGESAHAN..... iv
KATA PENGANTAR v
ABSTRAK viii
DAFTAR ISI..... x
DAFTAR TABEL..... xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN..... xiv
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang..... 1
B. Rumusan Masalah 6
C. Tujuan Penelitian..... 6
D. Manfaat Penelitian..... 7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 8
A. Uraian Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)..... 8
1. Klasifikasi Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)..... 8
2. Nama Daerah 8
3. Morfologi Tanaman 9
4. Kandungan Kimia Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)..... 10
5. Manfaat Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)..... 11
B. Uraian Tentang Diare..... 11
1. Defenisi Diare 11
2. Etiologi Diare..... 11

C. Uraian Bakteri 13
1. Bakteri *Escherichia coli* 13
D. Bakteri Endofit 18
1. Defenisi Bakteri Endofit 18
2. Ekologi Bakteri 20
3. Morfologi Bakteri Endofit 21
4. Manfaat Bakteri Endofit 23
5. Metode Isolasi Bakteri Endofit 24
6. Identifikasi Bakteri Endofit 25
E. Metode Pengujian Antibakteri 32
1. Metode Difusi 32
2. Metode Dilusi 33
F. Kerangka Teori 34
G. Kerangka Konsep 35
H. Hipotesis 35
BAB III METODE PENELITIAN 36
A. Desain Penelitian 36
B. Lokasi Dan Waktu Penelitian 36
C. Alat Dan Bahan 36
D. Populasi Dan Sampel 37
E. Prosedur Kerja 37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 44
A. Hasil Penelitian 44
B. Pembahasan 50
BAB V PENUTUP 60
A. Kesimpulan 60
B. Saran 60
DAFTAR PUSTAKA 61
DAFTAR LAMPIRAN 67

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica Burm.F*) 45

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica Burm.F*) terhadap Escherichia coli 1x24 jam. 46

Tabel 4.3 Isolat Bakteri Endofit dari Daun Awar-Awar.....46

Tabel 4.4 Hasil Identifikasi secara Makroskopik..... 47

Tabel 4.5 Hasil Identifikasi Mikroskopik 48

Tabel 4.6 Hasil Uji Bakteri Endofit Pada Media Selektif 49

Tabel 4.7 Hasil Identifikasi Uji Biokimia..... 49

Tabel 4.8 Kesimpulan dari semua Hasil Pengujian. 49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) 8

Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli* 13

Gambar 2.3 Kerangka Teori.....35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Isolasi Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica Burm.F*) 67

Lampiran 2. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri Bakteri Daun Awar - Awar (*Ficus septica Burm.F*) Terhadap Escherichia coli dengan Metode Difusi Agar Menggunakan Paper Disk..... 68

Lampiran 3. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica Burm.F*) 69

Lampiran 4. Perhitungan Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica Burm.F*) 70

Lampiran 5. Perhitungan Bahan 71

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian..... 72

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang telah dikenal sebagai salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati tinggi. Salah satu kekayaan flora Indonesia adalah *famili Moraceae*. Salah satu tanaman dari suku *Moraceae* yaitu awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) (Dewi, 2020). Awar-awar tersebar di hutan tropis, tepi sungai, dan daerah dataran rendah hingga ketinggian 1.500 mdpl. Awar-awar dikenal dalam etnobotani masyarakat lokal sebagai tanaman obat tradisional untuk mengatasi infeksi, peradangan, dan gigitan ular, terutama di Jawa dan Sulawesi.

Menurut *World Health Organization* (WHO) tanaman awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) digunakan sebagai obat untuk meredakan batuk, sakit kepala, menurunkan demam, mengobati sakit perut, mencegah diare, mengobati luka dan sebagai obat untuk infeksi jamur. Daun awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional Indonesia untuk mengatasi infeksi, inflamasi, dan gangguan pencernaan (diare). Tanaman ini mengandung senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan polifenol. Penggunaan Daun awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) biasa digunakan sebagai antibakteri untuk membunuh bakteri *Escherichia coli* sebagai salah satu bakteri penyebab diare.

Infeksi yang ditimbulkannya memicu gejala klinis seperti diare akut, peningkatan suhu tubuh, nyeri abdomen, hingga keracunan sistemik. Pada kasus ekstrim, komplikasi infeksi dapat berujung pada kematian, terutama jika tidak ditangani secara tepat (Xu et al., 2021). Diare merupakan peristiwa buang air

besar yang tidak seperti biasanya atau tidak normal seperti terjadi perubahan peningkatan keenceran, volume, atau frekuensi seperti lebih dari tiga kali sehari dan pada neonatus lebih dari empat kali sehari, penyebab tingginya angka diare adalah terkontaminasinya makanan dan minuman oleh bakteri ataupun virus. Diare dapat disebabkan oleh berbagai macam mikroba, seperti *Escehericchia coli, Salmonella sp* (Tuang, 2021). Salah satu anggota *famili Enterobacteriaceae* adalah *Escherichia coli*, Akan tetapi terdapat lebih dari satu kelompok bakteri lain yang biasa menjadi penyebab penyakit pada manusia, dikenal sebagai *Escherichia coli* pathogen, pada tahun 1935 *Escherichia coli* yang merupakan patogen, pertama kali diidentifikasi sebagai penyebab diare (Rahayu et al., 2018).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ismiranti , et al (2016) bahwa ekstrak daun awar-awar berpotensi memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan hasil penelitian mendapatkan rata-rata zona hambat ekstrak daun awar-awar konsentasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml berturut-turut ialah 24,8 mm, 21mm, 18,3 mm, 17 mm. Serta pada penelitian yang dilakukan Dewi (2020) diperoleh bahwa ekstrak etanol daun awar awar memiliki senyawa metabolit sekunder yang meliputi senyawa alkaloid, tanin, flavanoid, dan saponin. Kadar total metabolit sekunder ekstrak etanol daun awar-awar yaitu alkaloid sebesar 0,16 % b/b, saponin sebesar 8,21% b/b, tanin sebesar 68,76% b/b, dan flavanoid sebesar 6,33% b/b. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilakukan dengan cara mengekstraksi maka peneliti tertarik melakukan penelitian dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun awar-awar tanpa merusak inangnya.

Potensi tanaman awar-awar sebagai tanaman obat ini semakin menarik perhatian para peneliti untuk mengkaji lebih dalam kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalamnya, termasuk melalui penelitian terhadap ekstraksi tanaman awar-awar, maupun terhadap mikroba endofit yang hidup di dalamnya. Ekstraksi adalah proses pengambilan substansi yang dihasilkan melalui proses ekstraksi kimia atau mekanik dari bagian tumbuhan, hewan, atau mikroorganisme. Proses ini melibatkan pemisahan senyawa kimia tertentu (seperti alkaloid, flavonoid, atau minyak esensial) dari bahan alam menggunakan pelarut, penyaringan, atau penguapan. Ekstrak umumnya digunakan secara langsung dalam bidang medis, makanan, atau kosmetik karena mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat (Pratiwi, 2019).

Endofit merujuk pada organisme hidup (biasanya bakteri atau jamur) yang tinggal di dalam jaringan tumbuhan secara simbiosis mutualisme, tanpa menyebabkan kerusakan pada inangnya. Endofit berkembang secara alami selama fase pertumbuhan tumbuhan atau melalui kolonisasi. Keberadaannya penting karena banyak endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang mirip dengan yang dihasilkan tumbuhan inang, bahkan berpotensi meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap penyakit atau stres lingkungan (Pratiwi, 2019).

Bakteri endofit yaitu bakteri yang berasal dari bagian tumbuhan. Keberadaan bakteri ini memberikan pengaruh positif terhadap tumbuhan karena terjadi simbiosis mutualisme antara tumbuhan dengan bakteri. Bakteri endofit ialah bakteri yang terdapat didalam jaringan tumbuhan, bakteri ini tidak menyebabkan kerusakan ataupun kerugian pada tumbuhan yang ditempatinya atau di inangnya.

Bakteri yang membentuk spora akan lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim karena disebabkan oleh metabolisme yang buruk (Heriansya, 2020; Kim *et al,*2019; seprina *et al*, 2017).

Pada setiap tumbuhan setidaknya terdapat satu mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan fungi. Bakteri ataupun fungi yang terdapat pada tumbuhan mampu menghasilkan metabolit , dimana senyawa metabolit yang dihasilkan tersebut dapat berperan sebagai antibakteri, antibiotik, antikanker, antioksidan, antidiabetes, antimalaria, antivirus, antiserangga, dan antimikroba, zat pengatur tumbuh dan penghasil enzim. Bakteri endofit dapat dihasilkan dari isolasi di permukaan jaringan tumbuhan yang steril atau didapat melalui ekstraksi jaringan bagian dalam tumbuhan. Senyawa metabolit bisa disintesis melalui cara membiakkan mikroba endofit pada media yang tepat dalam jangka waktu tertentu (Monggoot *et al,*2018). Bakteri endofit diketahui dapat menghasilkan beberapa jenis senyawa metabolit sekunder seperti senyawa antibiotik, senyawa antikanker, senyawa antifungi, senyawa antivirus, dan senyawa antibakteri (Sagita *et al,* 2017).

Mengingat bahwa senyawa aktif biasanya diperoleh melalui ekstraksi tanaman, terutama tanaman obat, kemampuan mikroba endofit untuk memperoleh senyawa aktif tersebut adalah potensi yang dapat dikembangkan (Purnamasari, 2021). Dikarenakan penggunaan tanaman obat yang terus menerus berlangsung, memungkinkan tanaman tersebut akan menjadi langka dan bahkan punah (Widyatmoko,2019). Sehingga menggunakan mikroba endofit merupakan salah satu cara untuk melakukan eksplorasi senyawa bioaktif dari tumbuhan karena

tidak membutuhkan sampel tumbuhan dengan jumlah yang besar (Pasappa et al., 2022).

Isolasi tanaman adalah proses pemisahan dan pemurnian senyawa tertentu dari berbagai campuran yang ada dalam bahan tanaman, sehingga diperoleh senyawa tunggal yang murni. Proses ini melibatkan beberapa tahapan utama seperti ekstraksi untuk mengambil senyawa dari tanaman, pemisahan atau fraksinasi, dan pemurnian menggunakan teknik seperti kromatografi untuk mendapatkan senyawa murni. Identifikasi adalah proses menetapkan atau menentukan identitas sesuatu, baik itu orang, benda, maupun konsep, melalui pengenalan ciri-ciri atau karakteristiknya. Aktivitas antibakteri adalah sifat suatu zat untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penyebab penyakit, sehingga infeksi dapat dicegah atau diatasi. Zat yang memiliki aktivitas ini, yang disebut zat antibakteri, dapat bekerja dengan mengganggu komponen sel bakteri seperti dinding sel, menghentikan metabolisme, atau mekanisme lainnya.

Adapun penelitian terkait isolasi, identifikasi, dan aktivitas anti bakteri dari fungi endofit daun awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) sejauh pengamatan peneliti masih sangat kurang ditemukan penelitian yang meneliti hal tersebut. Adapun isolasi bertujuan untuk melihat atau mendapatkan biakan murni bakteri tertentu tanpa kontaminasi mikroorganisme lain serta tujuan dilakukannya identifikasi yaitu untuk mengetahui jenis bakteri endofit yang hidup di dalam tanaman, serta karakteristiknya karena seperti yang diketahui bahwa tanaman awar-awar ini termasuk tanaman yang tumbuh di hutan tropis, tepi sungai dan daerah ketinggian sehingga memungkin kan tanaman ini sulit untuk di dapatkan dan tanaman ini

juga memiliki manfaat sebagai obat sehingga masyarakat akan terus menerus menggunakan tanaman awar awar yang memungkin kan tanaman tersebut akan langkah dan bahkan punah. Adapun uji efektivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui apakah tanaman tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab infeksi atau tidak.

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti bermaksud untuk melakukan penelitian terkait Isolasi, Identifikasi, dan Aktivitas Antibakteri dari bakteri endofit daun awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) mengandung isolat bakteri endofit?
2. Bagaimana identifikasi isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap *Escherichia coli*?
3. Bagaimana aktivitas dari isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap *Escherichia coli*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan isolat bakteri endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F).
2. Mengetahui jenis isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F).
3. Mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap *Escherichia coli.*

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

   Diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan serta pemahaman terkait masalah-masalah yang berhubungan dengan fungi endofit.

2. Bagi Institusi

   Diharapkan penelitian ini dapat memperkaya bahan kepustakaan dan mampu memberikan kontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan mahasiswa farmasi tentang fungi endofit.

3. Bagi Masyarakat

   Diharapkan penelitian ini bisa menjadi sumber referensi untuk menambah ilmu pengetahuan terkait pengobatan diare dengan memanfaatkan tanaman tradisional.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)



Gambar 2.1. Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)
Sumber : wikipedia.com

1. Klasifikasi Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)

Kingdom	: *Plantae*
Divisi	: *Magnoliophyta*
Kelas	: *Magnoliophyta*
Sub kelas	: *Hamamelidea*
Bangsa	: *Urticales*
Suku	: *Moraceae*
Marga	: *Ficus*
Spesies	*: Ficus septica* Burm.F (Maulida, 2020)

2. Nama Daerah

Tanaman awar-awar dikenal dengan beragam sebutan lokal di berbagai daerah di Indonesia. Di wilayah Sunda, tanaman ini disebut Ki ciyat, sementara masyarakat Jawa Tengah menyebutnya Awar-awar. Di Madura, tanaman ini

dinamai Barabar, sedangkan di Bali dikenal sebagai Awakawak. Di Sulawesi, nama lokalnya bervariasi: Loloyan di Minahasa, Tobo-tobo di Makassar, dan Dausalo di Bugis. Sementara itu, di Halmahera disebut Babu lutu, di Ternate dikenal sebagai Tagalolo, dan di Ambon dinamai Sirih popar (Maulida, 2020).

3. Morfologi Tanaman

Awar-awar tergolong sebagai perdu atau pohon kecil dengan ciri morfologi unik. Daunnya berbentuk oval (ovate), ujungnya meruncing, dan tersusun berseling (alternate) di sepanjang batang. Permukaan daun kasar, berwarna hijau gelap di sisi atas dan lebih terang di bawah, berukuran panjang 8–20 cm serta lebar 5–15 cm. Tangkai daunnya pendek (1–3 cm) dengan tulang daun menyirip (*pinnate*) yang jelas. Batangnya berkayu, berwarna abu-abu kecokelatan, dan memiliki permukaan kasar disertai lentisel (pori pernapasan) yang terlihat nyata. Tinggi tanaman ini bervariasi antara 5–10 meter, tergantung kondisi lingkungan tempat tumbuhnya (Abraham dkk, 2020).

Sistem perakaran awar-awar terdiri dari akar tunggang yang kokoh dan akar lateral yang menyebar untuk menstabilkan pertumbuhan. Bunga tanaman ini berukuran kecil, tersembunyi dalam struktur buah semu (*syconium*) khas genus *Ficus*, dan berwarna hijau kekuningan. Buahnya bulat, berdiameter 1–2 cm, berubah warna dari hijau saat muda menjadi kuning atau ungu saat matang. Getah berwarna putih susu yang lengket akan keluar jika batang atau daunnya terluka.

Ciri lain yang mencolok adalah bau menyengat yang muncul saat daun atau batang diremas, akibat kandungan senyawa seperti alkaloid dan flavonoid.

Morfologi ini membuat awar-awar mudah dikenali di habitat alaminya, seperti tepian hutan, lereng bukit, atau daerah lembap dengan ketinggian 0–1.500 meter di atas permukaan laut (Abraham dkk, 2020).

4. Kandungan Kimia Daun awar-awar

Tumbuhan Awar-awar *(Ficus Septica* Burm.F*)* memiliki komposisi fitokimia yang beragam pada organ tumbuhannya. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun awar-awar mengandung metabolit sekunder yang meliputi senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin (Dewi 2020).

a. Saponin, golongan senyawa surfaktan alami, memiliki kemampuan membentuk busa stabil saat dikocok dalam air. Pada konsentrasi rendah, senyawa ini dapat menginduksi hemolisis eritrosit melalui interaksi dengan membran sel. Bersifat polar, saponin memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut polar seperti air dan etanol, namun tidak larut dalam eter nonpolar.
b. Flavonoid, senyawa metabolit sekunder yang tersebar luas di kerajaan tumbuhan, umumnya terikat pada molekul gula dalam bentuk glikosida. Dalam satu spesies tumbuhan, aglikon flavonoid dapat hadir dalam beragam kombinasi glikosida, yang sebagian besar bersifat hidrofilik sehingga mudah larut dalam medium akuatik.
c. Tanin, senyawa fenolik dengan gugus khelasi aktif, dikenal memiliki afinitas tinggi terhadap protein, dimanfaatkan dalam proses penyamakan kulit. Selain berperan sebagai mekanisme pertahanan tumbuhan terhadap

herbivora, tanin juga menunjukkan aktivitas antitumor melalui inhibisi proliferasi sel abnormal.

5. Manfaat Daun Awar-awar

Manfaat daun Awar-awar untuk terapi, antara lain sebagai obat penyakit kulit, radang usus buntu, mengatasi bisul, mengatasi gigitan ular berbisa dan sesak nafas. Sedangkan akar digunakan sebagai penawar racun (ikan), penanggulangan asma. Getahnya bisa dimanfaatkan untuk mengatasi bengkak-bengkak dan kepala pusing. Buahnya biasa digunakan sebagai pencahar (Wahyuni et al,.2021).

B. Uraian Tentang Diare

1. Defenisi Diare

Diare merupakan kondisi keluarnya tinja tidak normal dengan gejala tinja yang meningkat dan encer dengan frekuensi buang air besar melebihi tiga kali per hari dan pada neonates melebihi empat kali per hari, dan kadang disertai dengan lendir berdarah (Deviazka & Setiyabudi, 2021). Berbagai faktor, termasuk kontaminasi makanan dan minuman karena sanitasi yang tidak baik sehingga dapat terkontaminasi oleh virus dan bakteri merupakan faktor tingginya kejadian diare (Hutasoit, 2020).

2. Etiologi Diare

Beberapa faktor yang turut menyebabkan penyakit diare adalah bakteri yang mengalami kontaminasi makanan dan minuman serta faktor terpenting yang menyebabkan penyakit diare adalah air, kebersihan makanan, toilet rumah tangga, dan air (Melvani et al., 2019). Infeksi, makanan, malabsorpsi dan faktor psikologis merupakan penyebab diare (Cahyani, 2020). Diare akut yang disebabkan oleh bakteri, virus, atau parasit disebabkan oleh infeksi

(Nolitriani et al., 2020). Menurut (Zaelani, 2021), berikut adalah faktor-faktor yang dapat menyebabkan diare.

a. Agen Infeksius

1) Infeksi enteral merupakan penyebab utama pada anak dengan kondisi infeksi saluran pencernaan. Penyebab dari infeksi enternal ialah:

a. Infeksi bakteri: *campylobacter, Escherichia coli, shigella, vibrio, salmonella*, dan *yershinia.*

b. Infeksi virus: adenovirus, enterovirus (virus *ECHO, coxsackaie, poliomyelitis*), *retrovirus*, dan lain-lain.

c. Infeksi parasit: cacing (*ascori, tricomonas hominis, trichoris, oxyuris, histolitika, gardia lambia*), jamur (*candida albicans*) 9

2) Infeksi parenteral merupakan infeksi diluar alat pencernaan makanan seperti aonsilotaringitis, encetalitis, Otitis Media Akut (OMA), tonsillitis, bronco pneumonia.

b. Faktor malabsorsi

1) Malabsorpsi karbohidrat disakarida dan monosakarida pada bayi dan anak-anak yang terpenting dan tersering adalah intoleransi laktosa (disakarida).

2) Malabsorpsi lemak

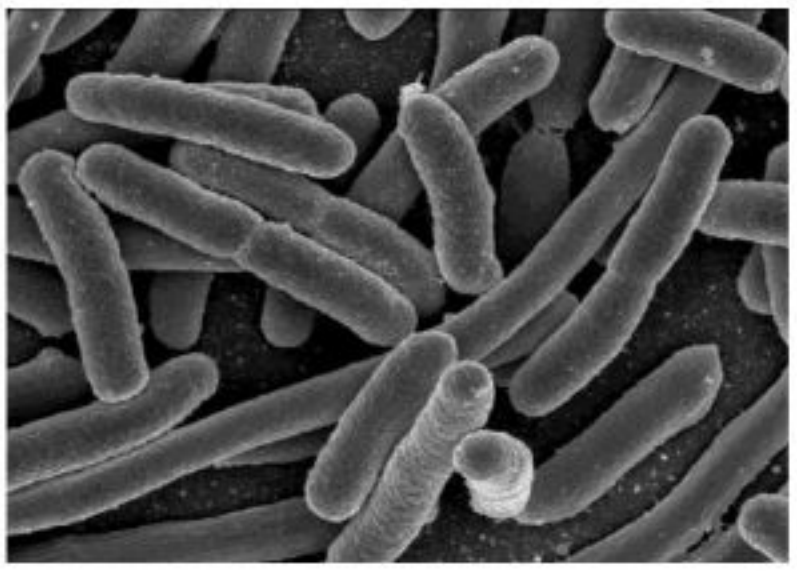
3) Malabsorpsi protein .

c. Faktor makanan: makanan beracun, basi, tidak matang saat dimasak, tidak higienis, dan alergi terhadap makanan.

d. Faktor psikologi: rasa cemas, takut, dan tegang pada anak dapat menyebabkan diare.

C. Uraian Bakteri

1. Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 2.2 : Bakteri *Eschercia coli*

(Sumber: Wikipedia, 2021)

a. Klasifikasi

Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology second edition* volume empat, klasifikasi *Salmonella thypi* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : *Bacteria*

Divisi : *Proteobakteria*

Kelas : *Gamma Proteobakteri*

Bangsa : *Enterobakteriales*

Suku : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherchia*

Spesies : *Escherchia coli* (Rollando, 2019)

b. Morfologi

Escherichia coli tergolong dalam *famili Enterobacteriaceae*. Bakteri gram-negatif ini berbentuk batang pendek atau kokobasil. *Escherichia coli* dilengkapi flagel (struktur pergerakan) dengan ukuran 0,4-0,7 μm × 1,4 μm serta memiliki lapisan simpai. Berdasarkan Hidayati dkk. (2016), panjang bakteri ini sekitar 2 μm dengan diameter 0,7 μm dan lebar 0,4-0,7 μm. *Escherichia coli* bersifat anaerob fakultatif dan membentuk koloni berbentuk bundar, cembung, serta permukaan halus dengan batas tepi yang jelas.

Esherichia coli memiliki variasi antigen yang kompleks, meliputi 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H, dan 90 tipe antigen K. Beberapa antigen O mirip dengan yang dimiliki *Shigella*, sehingga dapat memicu reaksi silang. Antigen O tertentu juga dikaitkan dengan penyakit spesifik seperti infeksi saluran kemih dan diare.

Sebagai bakteri anaerob fakultatif, *Escherichia coli* mampu bertahan dalam kondisi aerob (menggunakan oksigen untuk metabolisme oksidatif) maupun anaerob (memproduksi energi melalui fermentasi). Kemampuan adaptasi ini memungkinkannya tumbuh di berbagai lingkungan, termasuk dalam tubuh inang (Rollando, 2019).

c. Patogenesis

Escherichia coli dapat bersifat patogen ketika populasinya melebihi batas normal dalam tubuh. Bakteri ini memproduksi enterotoksin yang memicu diare. Sejumlah strain *Escherhia coli* telah mengalami evolusi,

mengembangkan kemampuan virulensi untuk menginfeksi inang. Beberapa strain patogenik bahkan menyebabkan infeksi saluran kemih. Berikut jenis-jenis patogen *Escherichia coli* beserta karakteristiknya (Allung, 2019):

1. ETEC (Enterotoxigenic *Escherichia coli*)

   ETEC merupakan penyebab utama diare akut disertai dehidrasi pada anak dan dewasa di negara beriklim tropis. Strain ini menghasilkan dua jenis enterotoksin yang merangsang ekskresi cairan dan elektrolit tubuh, mirip dengan toksin Vibrio cholerae:

   a) Labile Toxin (LT): Toksin bermolekul tinggi yang tidak tahan panas (rusak pada 60°C selama 10 menit) dan memiliki kemiripan struktural dengan toksin kolera.
   b) Stabile Toxin (ST): Peptida kecil (18-48 asam amino) dengan banyak ikatan sistein, tahan panas, dan tidak bersifat antigenik.
   c) Transmisi ETEC terjadi melalui makanan atau air terkontaminasi. Di daerah endemik seperti Indonesia, ETEC sering menyebabkan diare akut mirip kolera dan diare pelancong (*travellers' diarrhea*).

2. EPEC (Enteropathogenic *Escherichia coli*)

   EPEC pertama kali diidentifikasi sebagai penyebab diare pada bayi dan anak di rumah sakit Inggris dan Eropa. Di daerah urban, sekitar 30% kasus diare akut pada balita disebabkan oleh EPEC. Meski mekanisme pastinya belum jelas, EPEC diduga menghasilkan sitotoksin yang merusak sel usus. Infeksi umumnya sembuh sendiri, tetapi dapat berkembang menjadi diare persisten, terutama pada bayi di bawah 6

bulan. Di negara berkembang, kasus lebih sering terjadi pada anak di atas 1 tahun.

3. EIEC (Enteroinvasive *Escherichia coli*)

EIEC memiliki kesamaan sifat dengan Shigella, termasuk kemampuan menginvasi sel epitel kolon dan memicu peradangan. Kerusakan epitel usus menyebabkan diare berdarah disertai leukosit polimorfonuklear dalam feses. Gejala klinisnya mirip disentri akibat Shigella.

4. EHEC (Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*)

EHEC memproduksi sitotoksin yang menyebabkan peradangan dan perdarahan usus besar, serta sindrom hemolitik uremik (HUS) pada anak. Gejala khas meliputi diare akut berdarah, kejang, dan demam. Berbeda dengan Shigella, EHEC lebih jarang ditemukan di negara berkembang.

5. EAEC (Enteroadherent *Escherichia coli*)

EAEC menempel kuat pada mukosa usus, mengganggu fungsi intestinal. Diare yang ditimbulkan diduga berasal dari produksi sitotoksin, meski mekanismenya belum sepenuhnya dipahami. Strain ini dapat menyebabkan diare berair pada anak dan berpotensi menjadi persisten. Transmisinya terjadi melalui makanan atau air terkontaminasi.

d. Sifat Biakan

Pertumbuhan berlebih *Escherichia coli* dapat dipicu oleh konsumsi makanan/minuman terkontaminasi, seperti susu, produk tidak matang, atau yang terpapar tinja. Dalam jumlah tinggi, bakteri ini berpotensi menjadi

patogen di dalam tubuh. *Escherichia coli* mampu bertahan pada kisaran suhu ekstrem (7–44°C), tetapi pertumbuhan optimalnya terjadi pada 35–37°C dengan pH netral (7–7,5). Meski berkembang baik di lingkungan lembap, bakteri ini dapat dimatikan melalui pemanasan makanan yang memadai (Atiqoh, 2022).

e. Cara Penularan

Escherichia coli dapat mengalami pertumbuhan berlebih jika seseorang mengonsumsi makanan terkontaminasi bakteri tersebut, seperti susu, makanan yang tidak dimasak dengan benar, atau minuman yang terpapar tinja. Selain itu, bakteri ini dapat masuk ke tubuh manusia melalui kontak dengan tangan atau benda yang terpapar tinja, seperti botol, dot bayi, termometer, atau peralatan makan. Penularan juga sering terjadi akibat kurangnya higienitas pekerja pengolah makanan, yang berpotensi menyebabkan penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*). Risiko infeksi meningkat jika seseorang menggaruk area anus lalu tidak mencuci tangan, kemudian menyentuh benda atau makanan di sekitarnya. Benda atau makanan yang terkontaminasi tersebut dapat menjadi media penularan ke orang lain (Cahya, 2019).

f. Media Pertumbuhan Bakteri

Escherichia coli mampu tumbuh pada media *Endo Agar*, *Mac Conkey Agar*, dan *Eosin Methylen Blue* (EMB). Bakteri ini memiliki strain mikroaerofilik yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhan, meskipun sebagian strainnya tetap dapat bertahan hidup dalam kondisi anaerob. Selain

itu, terdapat strain aerofilik yang bersifat hemolitik, ditandai dengan kemampuan menghasilkan hemolisis β (hemolisis total) pada media Blood Agar Plate (BAP).

Bakteri yang tidak memfermentasi laktosa akan meningkatkan pH melalui metabolisme protein, sehingga koloninya tidak menunjukkan perubahan warna pada media tersebut. Proses fermentasi laktosa secara cepat oleh *Escherichia coli* menyebabkan pembentukan asam, yang kemudian memicu perubahan warna media menjadi hijau mengkilap (Atmayanto, 2022).

D. Bakteri Endofit

1. Defenisi Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan kerusakan atau gejala penyakit (Adityawarman *et al*., 2019). Bakteri ini memiliki bahan aktif yang sama dengan tanaman inangnya. Di Bumi, bakteri endofit terdapat pada sekitar 300.000 spesies tanaman yang berbeda. Bakteri endofit dapat diisolasi dari tanaman dengan cara mensterilkan permukaannya atau mengekstrak bakteri dari jaringan tanaman (Aqlinia, M., et al. 2020).

Endofit merujuk pada organisme hidup (biasanya bakteri atau jamur) yang tinggal di dalam jaringan tumbuhan secara simbiosis mutualisme, tanpa menyebabkan kerusakan pada inangnya. Endofit berkembang secara alami selama fase pertumbuhan tumbuhan atau melalui kolonisasi. Keberadaannya penting karena banyak endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang

mirip dengan yang dihasilkan tumbuhan inang, bahkan berpotensi meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap penyakit atau stres lingkungan (Pratiwi, 2019). Mikroba endofit sendiri terdiri atas bakteri endofit dan fungi endofit (Pasappa et al., 2022). Fungi endofit dapat memperoleh metabolit sekunder yang dapat dipergunakan sebagai bioaktif. Metabolit ini dapat dipergunakan sebagai antimikroba, antikanker, antiserangga hingga untuk biokontrol di bidang pertanian (Sari et al., 2020). Bakteri endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antibakteri (Maulida Aqlinia et al., 2020).

Fungi dan bakteri merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit, tetapi memiliki perbedaan mendasar dalam struktur, mekanisme interaksi, dan peran biologis. Fungi endofit, sebagai organisme eukariotik, memiliki struktur hifa dan dinding sel yang mengandung kitin, serta mampu menghasilkan senyawa sekunder kompleks (seperti alkaloid atau terpenoid) yang melindungi tanaman dari patogen atau stres lingkungan, sementara bakteri endofit (prokariotik) memiliki dinding sel peptidoglikan dan sering berperan dalam fiksasi nitrogen, produksi hormon pertumbuhan (misalnya auksin), atau sintesis senyawa antimikroba seperti siderofor. Fungi cenderung berkolonisasi di jaringan tanaman secara lebih persisten dan membentuk hubungan mutualistik jangka panjang, sedangkan bakteri sering menunjukkan interaksi yang lebih dinamis dan responsif terhadap perubahan lingkungan. Selain itu, bakteri endofit umumnya lebih mudah dikultur di laboratorium dibandingkan fungi endofit, yang

sebagian besar tergolong "*microbial dark matter*" karena sulit tumbuh di media buatan. Keduanya berkontribusi pada ketahanan tanaman, ttapi melalui jalur metabolik dan mekanisme genetik yang berbeda (Rante, 2021)

Bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder dan tidak berbahaya bagi inangnya. Antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit, yang secara alami membentuk koloni di jaringan vaskuler tanaman, adalah contoh metabolit sekunder. Bakteri endofit yang hidup di jaringan tanaman dapat memiliki sifat obligatif atau fakultatif. Biasanya, beberapa genus dan spesies bakteri endofit menghuni satu tanaman inang (Aqlinia, M., et al., 2020). Mayoritas bakteri endofit, yang biasa disebut sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria,* hal ini menguntungkan karena dapat berfungsi sebagai agen pengendali hayati dan menstimulasi pertumbuhan tanaman. (Nugraheni, et al., 2021).

2. Ekologi Bakteri

Endofit salah satu jenis simbiosis adalah pola kontak atau hubungan antara bakteri endofit dengan tanaman. Mutualisme adalah jenis hubungan simbiosis yang dapat berkembang antara bakteri endofit dan tanaman inang. Melalui kompetisi nutrisi, mekanisme pertahanan tanaman, produksi senyawa enzim dan antibiotik, atau modulasi hormon pertumbuhan, simbiosis jenis ini tidak hanya dapat menyuplai tanaman dengan berbagai nutrisi, tetapi juga menghambat pertumbuhan fitopatogen (Nugraheni et al., 2021).

Bakteri endofit terdapat pada setiap jenis tanaman, termasuk rumput-rumputan, tanaman obat, dan pohon berkayu keras. Pada jaringan tanaman

yang sehat seperti biji, akar, batang, dan daun, terdapat bakteri endofit (Kumala, 2014). Kehadiran enzim ekstraseluler berupa selulase yang dimiliki bakteri ini dapat berkontribusi pada kemampuannya untuk masuk ke dalam jaringan tanaman bagian dalam (Chairunnisa et al., 2019). Bakteri endofit akan berkolonisasi setelah melakukan penetrasi dan menghambat pertumbuhan kuman-kuman yang merugikan (Dewi et al., 2019).

3. Morfologi Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang didapatkan merupakan genus *Pseudomonas, Bacillus* dan *Staphylococcus.* Morfologi dari masing-masing genus tersebut yaitu sebagai berikut :

a. Genus *Pseudomonas*

Genus ini terdiri dari bakteri batang yang bersifat gram negatif dan berukuran 0,6-2 μm. Mereka bergerak dengan flagel tunggal di kutub dan bersifat katalase dan oksidase positif. Mereka adalah patogen oportunistik yang menyebabkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai infeksi. Bakteri ini tidak memiliki selubung dan spora. Suhu 42OC merupakan suhu ideal untuk pertumbuhan *Pseudomonas* (Jawetz et al., 1996). Pada uji glukosa, indol negatif, metil merah negatif, dan Voges-Proskauer negatif, genus *Pseudomonas* tidak menghasilkan gas. Koloni berbentuk bulat, tepinya bergerigi, tembus cahaya, dan tidak memiliki pigmen hijau (Madigan et al, 1997: 669).

b. Genus *Bacillus*

Bacillus adalah genus berbentuk batang gram positif besar yang berukuran 1x3-4 μm. Batang-batang ini dapat membentuk rantai dan bersifat motil. Mereka juga menghasilkan spora yang aerobik, katalase positif, dan memiliki ketahanan terhadap oksidasi dan panas yang bervariasi. Setiap spesies menggunakan gula secara berbeda; beberapa menggunakannya untuk fermentasi, sementara yang lain tidak (Jawetz et al, 1996: 194). Anggota genus *Bacillus* sangat toleran terhadap perubahan kondisi lingkungan karena sebagian besar dari mereka memiliki kemampuan untuk membuat endospora, yang terbentuk secara intraseluler sebagai respons terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan.

Bacillus dapat menghidrolisis pati dan gelatin, mengurangi nitrat, dan menghasilkan β-galaktosidase. Sebagai organisme saprofit, bakteri ini biasanya ditemukan di tanah, air, udara, dan debu. Beberapa bakteri, termasuk *Bacillus* cereus dan *Bacillus subtilis*, bersifat saprofit dan dapat ditemukan di tanah, air, udara, dan tanaman. Ketika terkena cahaya, koloni bulat dari bakteri ini menyerupai kaca yang terukir. Mereka memiliki kemampuan untuk mengencerkan gelatin, dan pertumbuhannya pada agaragar menyerupai pohon cemara yang terbalik (Jawetz et al, 1996: 194).

c. Genus *Staphylococcus*

Staphylococcus adalah sel gram positif, berbentuk bulat, berukuran 1 μm yang tidak menghasilkan spora dan biasanya tersusun dalam rangkaian yang tidak rata seperti anggur. Bakteri ini berbentuk bulat, halus, mencolok,

berkilau, dan mudah tumbuh dalam berbagai kondisi pembenihan. Bakteri ini juga merangkai karbohidrat, memiliki metabolisme yang aktif, dan menghasilkan pigmen yang warnanya berkisar dari putih hingga kuning tua (Jawetz et al., 1996: 211). Bakteri aerobik atau mikroaerofilik ini akan tumbuh subur pada kisaran suhu 220 hingga 370˚C.

Karena kemampuannya menghasilkan metabolit sekunder seperti antibiotik, antijamur, dan nematisida, bakteri endofit yang termasuk dalam genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* memiliki kemampuan untuk mengatur berbagai macam mikroorganisme berbahaya. (Hidayah dan Yulianti, 2008).

4. Manfaat Bakteri Endofit

Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman diketahui dapat memicu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Selain itu, bakteri endofit memiliki banyak manfaat dalam berbagai aspek kehidupan. Beberapa jenis bakteri endofit diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik, antimalaria dan antijamur, karena bakteri endofit memiliki kemampuan menghasilkan senyawa aktif yang potensinya dapat dikembangkan terutama dengan mengekstraksi tanaman khususnya tanaman obat (Susanti, 2021).

Manfaat zat yang dihasilkan oleh bakteri endofit tertentu dapat dimanfaatkan dalam bidang pertanian, persiapan medis, dan pembersihan lahan yang terkontaminasi serta kawasan industri (Arifuddin dan Banna, 2021). Peningkatan ketersediaan nutrisi, penghambatan pertumbuhan patogen,

produksi zat pengatur tumbuh, fiksasi nitrogen, dan manfaat lainnya diberikan oleh bakteri endofit untuk tanaman (Yuniawati dan Akhdiya, 2021).

Adanya bakteri endofit dapat menghasilkan zat yang mendorong perkembangan, memperbaiki nitrogen, memobilisasi fosfat, dan berkontribusi pada kesehatan tanaman, bakteri endofit ditemukan di jaringan tanaman dan memainkan peran penting dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Karena bakteri endofit dapat membuat bahan kimia antimikroba, enzim, asam salisilat, etilen, dan zat sekunder lainnya yang berkontribusi terhadap ketahanan tanaman, diyakini bahwa bakteri ini dapat memperkuat pertahanan tanaman terhadap masalah penyakit tanaman (Jamaludin et al., 2019).

Karena bakteri endofit dapat mengurangi waktu produksi dan memproduksi sejumlah besar senyawa bakteri dalam skala besar tanpa membutuhkan ruang yang besar, bakteri endofit bermanfaat sebagai agen biofactory senyawa aktif ini karena mereka memiliki siklus hidup yang pendek. Kemampuan untuk mengawetkan tanaman obat adalah manfaat lain yang diperoleh dari evolusi bakteri endofit penghasil bakteri (Jamaludin et al., 2019).

5. Metode Isolasi Bakteri Endofit

Lingkungan alam mengandung beragam mikroorganisme, termasuk yang ditemukan dalam makanan, air, tanah, udara, dan tubuh tanaman serta hewan. Untuk mengidentifikasi jenis, memeriksa kultur, morfologi, fisiologi, dan ciri-ciri mikroorganisme, diperlukan pemisahan bakteri (Sabbathini et al., 2017).

Umumnya proses isolasi bisa dilakukan menggunakan 3 cara, yaitu sebar (*spread-plate*), tuang (*pourplate*) dan gores (*streak-plate*) (Puspitasari et al., 2020) diantaranya:

1. Metode Sebar (*Spread plate*)

Menuangkan stok kultur bakteri di atas media yang padat adalah bagaimana teknik *spread plate* menumbuhkan mikroorganisme dalam media agar (Damayanti et al., 2020).

2. Metode Tuang (*Pour plate*)

Satu pendekatan lain untuk mendapatkan koloni murni mikroorganisme adalah metode cawan tuang. Kelemahan metode ini adalah bahwa metode ini tidak menuntut tingkat kemampuan yang tinggi, tetapi membutuhkan banyak waktu dan bahan (Fatiqin et al., 2019).

3. Metode Gores (*Streak plate*)

Teknik dasar untuk menginokulasi media agar yang masih cair pada suhu 450˚-460˚C adalah teknik streak plate. Menumbuhkan di dalam ose dan meninggalkan pola goresan tertentu pada permukaan media lempeng agar (Fatiqin et al., 2019).

6. Identifikasi Bakteri Endofit

1) Identifikasi Makroskopik

Morfologi makroskopis adalah kemampuan untuk menentukan bentuk bakteri dengan melihat ciri-ciri koloninya pada lempeng agar. Bentuk, ukuran, tepi, ketinggian, warna, permukaan, konsistensi, dan pigmen yang dihasilkan koloni adalah faktor-faktor yang membedakan karakteristik

koloni. Ketika diberi nutrisi dan menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan dan nutrisi yang menguntungkan, populasi bakteri berkembang biak dengan cepat. Berbagai jenis bakteri dapat memiliki penampilan yang berbeda sebagai hasil dari perkembangbiakan ini (Putri et al., 2018).

Berdasarkan morfologi koloni, bakteri dibagi menjadi 3 jenis sebagai berikut :

1) Batang (*Bacillus*)

Ada tiga jenis bakteri berbentuk batang: streptobasil, diplobasil, dan monobasil. Monobasil, atau bakteri batang tunggal, termasuk L. casei dan *Escheichia coli*. Diplobasil, atau pengelompokan dua batang, termasuk *S. typhosa* sebagai contoh. Contoh streptobasil, atau rantai batang, adalah *B. anthracis* dan *Azotobacter* (Rahman, 2020).

2) Bulat (*Coccus*)

Empat jenis bakteri berbentuk bulat adalah stafilokokus, streptokokus, diplokokus, dan monokokus. Salah satu contoh monokokus (tunggal) adalah *M. gonorrhoe*, yang menyebabkan gonore. Bakteri yang berpasangan dikenal sebagai diplokokus, seperti *pneumoniae* (penyakit radang paru-paru). Stafilokokus (kelompok seperti anggur) dan streptokokus (bakteri berbentuk rantai), seperti *Streptococcus Thermophilus* (bakteri yoghurt), adalah dua contoh bakteri ini. (Rahman, 2020).

3) Spiral (*Spirillum*)

Bakteri yang berbentuk spiral diklasifikasikan sebagai berikut: koma, seperti *Vibrio cholerae* (yang menyebabkan kolera). *Spirokaeta*, yang berarti "spiral dan berekor," *S. pallidum* adalah salah satu contohnya (penyakit raja singa) (Rahman, 2020).

2) Identifikasi Mikroskopik

a. Pewarnaan Gram

Reaksi bakteri terhadap pewarnaan Gram mengungkapkan ciri-ciri mikroskopis koloni bakteri. Tujuan pewarnaan Gram adalah untuk membagi bakteri ke dalam dua kelompok besar: Gram positif dan Gram negatif. Berdasarkan lapisan dinding peptidoglikan yang dimiliki bakteri, pewarnaan Gram dilakukan. Bakteri Gram negatif memiliki dinding peptidoglikan tipis yang diapit di antara dua lapisan membran sel, sedangkan bakteri Gram positif memiliki dinding peptidoglikan yang tebal (Nur Hamidah, M., et al., 2019).

Pewarnaan Gram ada 2, yaitu pewarnaan Gram positif dan Gram negatif. Bakteri yang diwarnai dengan pewarnaan gram diklasifikasikan sebagai Gram positif atau Gram negatif. Pewarnaan Gram negatif berwarna merah karena kompleksnya akan larut ketika larutan pemucat ditambahkan yang kemudian menyerap pewarna kedua yang berwarna merah. Sedangkan pewarnaan Gram positif tetap berwarna ungu karena kompleks zat warna kristal violet-iodin yang dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat (Nur Hamidah, M., et al., 2019)

b. Uji Biokimia

Selain melihat morfologi bakteri, seseorang dapat mengidentifikasinya dengan menguji karakteristik fisiologisnya berdasarkan reaksi biokimia yang terjadi pada media uji. Langkah yang lebih canggih yang diperlukan untuk mengidentifikasi bakteri adalah pengujian biokimia. Pengujian sifat biokimia meliputi :

1) Uji Katalase

Uji katalase adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi adanya enzim katalase dalam suatu organisme, terutama bakteri. Katalase adalah enzim yang ditemukan di sebagian besar organisme aerob. Fungsi utamanya adalah menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang merupakan produk sampingan metabolisme sel yang bersifat toksik. Enzim ini melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Dikatakan positif jika terbentuk gelembung udara dan negatif jika tidak ada gelembung (Wadjdjy & Setiadi, 2019).

2) Uji Pencairan Gelatin

Protein yang disebut gelatin berasal dari jaringan ikat hewan seperti tulang dan tulang rawan. Gelatinase adalah eksoenzim yang mengkatalisis hidrolisis gelatin oleh mikroorganisme. Gelatin yang telah dicerna bersifat cair dan tidak dapat membentuk gel.

3) Uji Hidrolisis Pati

Tujuan dari tes ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri dapat menggunakan enzim amilase untuk menghidrolisis pati.

4) Uji Motilitas

Tujuan dari tes ini adalah untuk memastikan motilitas bakteri (Lay, 1994). Inokulasi tusukan sebelumnya saja sudah menunjukkan struktur putih yang menyerupai akar yang menyebar, yang mengindikasikan bahwa hasil uji motilitas negatif (-). Dapat diasumsikan bahwa bakteri yang ditanamkan mengandung flagel, yang memungkinkan mereka untuk bermigrasi, jika positif (+) ditunjukkan dengan bentuk putih di sekitar inokulasi, seperti akar yang menyebar (Handayani, dkk., 2013)

5) Uji Fermentasi Karbohidrat

Tujuan dari uji fermentasi karbohidrat adalah untuk menemukan mikroorganisme yang dapat memfermentasi karbohidrat. Tabung Durham akan berubah dari warna merah ungu menjadi kuning selama proses fermentasi, dan juga akan terlihat adanya gelembung gas. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan bahwa bakteri ini mencerna glukosa untuk menghasilkan asam. Proses fermentasi karbohidrat inilah yang menyebabkan terbentuknya gelembung gas di dalam tabung Durham (Panjaitan, dkk., 2020).

6) Uji Indol

Zat yang mengandung nitrogen yang disebut indol dibuat ketika amino trifosfat dipecah. Karena indol hanya dapat dibentuk oleh spesies bakteri tertentu dan dapat diperiksa untuk tujuan identifikasi, maka uji indol sangat penting. Perkembangan warna merah pada media, tanda hasil tes indol positif, menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah enzim

triptonase asli yang mampu menghidrolisis gugus samping indol asam amino tipe triptofan yang sesuai, menyebabkan indol bereaksi dengan pereaksi uji dan membentuk indol merah. (Ferdiaz, 1992).

7) Uji Produksi Hidrogen Sulfida (H_2S)

Sebagian kecil isolat bakteri, khususnya MZ-3, CS-2, dan CS-4, dapat merombak Fe menjadi FeS yang berwarna gelap atau kehitaman akibat terbentuknya logam sulfida (H_2S+), berdasarkan hasil pengujian H_2S dan gas yang dilakukan terhadap isolat-isolat tersebut. Pengujian hidrogen sulfida (H_2S) digunakan untuk melihat apakah bakteri dapat mengubah asam amino alanin dan H_2S, isolat bakteri yang tidak dapat mengubah Fe menjadi FeS ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam atau kehitaman (Lumantouw., 2013).

8) Uji MR (Metyl Red)

Uji Methyl Red (MR) adalah salah satu metode dalam biokimia mikrobiologi untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemampuan mereka dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Hasil positif jika media MR-VP berubah menjadi merah setelah penambahan Methyl Red, ini menunjukkan bahwa bakteri telah memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam yang cukup untuk menurunkan pH media di bawah 4,4. Artinya, bakteri tersebut adalah penghasil asam kuat. Hasil negatif (kuning) menunjukkan bakteri tidak menghasilkan asam atau menghasilkan asam dalam jumlah kecil (Nuryanti et al., 2021).

9) Uji VP (Voges Proskauer)

Uji Voges-Proskauer (VP) adalah salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memproduksi asetil metil karbinol (acetoin) dari fermentasi glukosa. Uji ini sering dilakukan bersamaan dengan uji Methyl Red (MR) menggunakan media MR-VP. Bakteri yang positif VP akan memfermentasi glukosa menjadi asetoin (asetil metil karbinol). Asetoin kemudian dioksidasi menjadi diacetil dalam kondisi basa. Diacetyl bereaksi dengan alphanaphtol dan kreatin (dari pepton) membentuk kompleks berwarna merah. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby) (Nuryanti et al., 2021).

10) Uji Koagulasi

Uji Voges-Proskauer (VP) adalah salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memproduksi asetil metil karbinol (acetoin) dari fermentasi glukosa. Uji ini sering dilakukan bersamaan dengan uji Methyl Red (MR) menggunakan media MR-VP. Bakteri yang positif VP akan memfermentasi glukosa menjadi asetoin (asetil metil karbinol). Asetoin kemudian dioksidasi menjadi diacetil dalam kondisi basa. Diacetyl bereaksi dengan alphanaphtol dan kreatin (dari pepton) membentuk kompleks berwarna merah. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby) (Nuryanti et al., 2021).

11) Uji Novobiocin

Satu ose suspensi bakteri ditanam dalam media Mueller Hilton Agar sebelum menempatkan disk Novobiocin di atasnya. Selama 24

12) Uji TSIA

Kemampuan bakteri untuk memfermentasikan karbohidrat adalah tujuan dari tes ini. Dalam media TSIA terdapat tiga jenis karbohidrat: glukosa, laktosa, dan sukrosa. Dalam suasana asam, warna phenol red berubah dari merah muda menjadi kuning. Glukosa berada di dasar media, sedangkan laktosa dan sukrosa berada di lereng. Pembentukan gas CO2 disertai dengan fermentasi pada TSIA, yang dapat diamati dari pecah dan terangkatnya agar

E. Metode Pengujian Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode ini didasarkan pada penempatan cakram berisi antimikroba di permukaan media yang sudah diinokulasikan dengan bakteri, sehingga agen antimikroba akan menyebar atau meresap ke dalam media agar. Ada dua jenis metode difusi yang dapat dilakukan, yaitu (Nurhayati et al., 2020) :

a. Kertas Cakram

Metode difusi menggunakan cakram melibatkan penggunaan media kertas cakram yang telah menyerap bahan antimikroba dan kemudian dijenuhkan dengan bahan yang akan diuji. Kertas cakram lalu ditempatkan di atas media agar yang sudah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diuji, dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap area transparan yang terbentuk di sekitar cakram kertas

untuk menentukan adanya pertumbuhan mikroba. Diameter area transparan tersebut akan sebanding dengan jumlah mikroba yang ditambahkan ke cakram kertas. Keunggulan metode ini adalah mempersiapkan cakram lebih cepat pada saat pengujian.

b. Sumuran

Metode sumuran melibatkan pembuatan lubang vertikal pada media agar yang sudah diinokulasikan bakteri yang akan diuji. Jumlah dan lokasi lubang dapat disesuaikan sesuai kebutuhan, dan diisi menggunakan sampel yang ingin diuji. Setelah proses inkubasi, diamati pertumbuhan bakteri untuk menentukan adanya zona hambatan di sekitar lubang tersebut.

Karena bakteri bergerak ke bagian bawah nutrient agar dan juga ke bagian atas, metode sumur memiliki keuntungan karena memudahkan untuk memperkirakan luas zona hambat yang terbentuk. Namun, ada beberapa tantangan yang terkait dengan pembuatan sumur, termasuk kemungkinan adanya sisa-sisa agar dalam media pembuatan sumur dan kemungkinan media agar retak atau pecah di dekat sumur, yang dapat menghambat proses penyerapan antibiotik masuk ke dalam media dan mempengaruhi proses terbentuknya diameter zona hambat selama uji sensitivitas.

2. Metode Dilusi

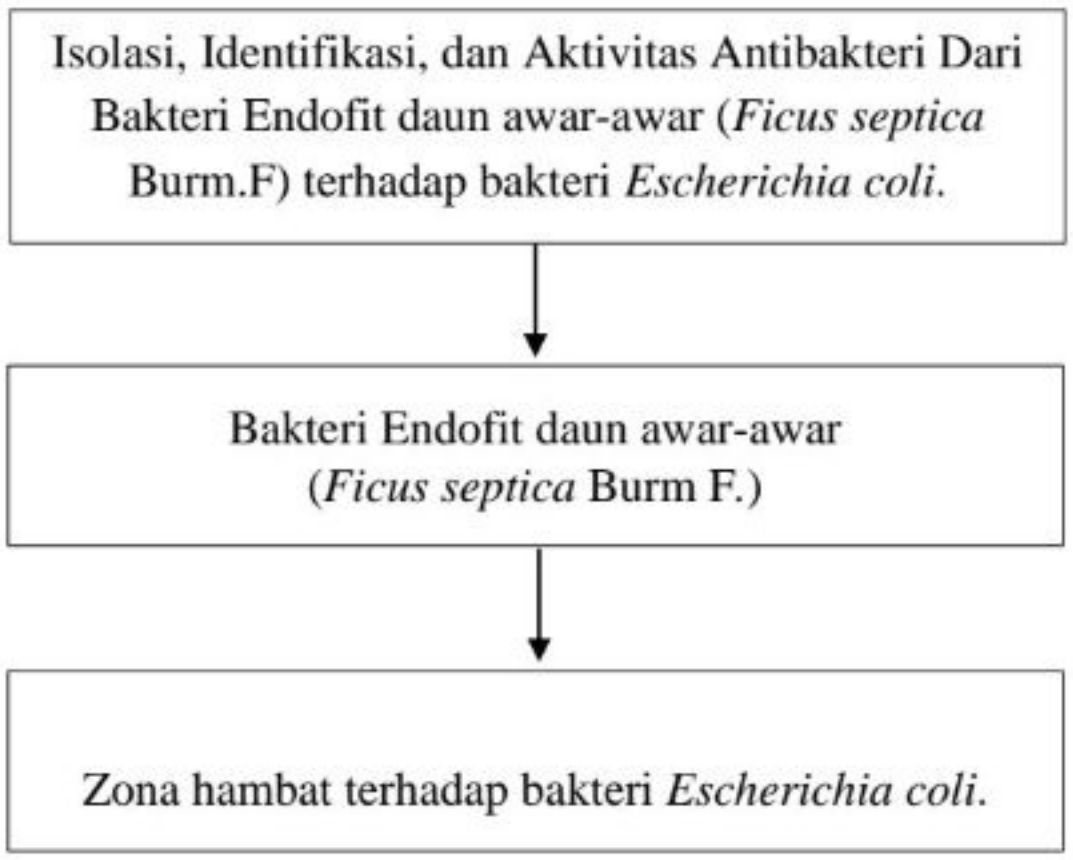
Salah satu pendekatan untuk menentukan aktivitas antibakteri bahan uji adalah metode pengenceran. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah parameter yang digunakan. Kemampuan untuk membasmi 99,9% dari jumlah kuman yang dapat

berkembang biak pada kelompok kontrol positif adalah prasyarat minimal untuk tingkat konsentrasi bunuh.

Teknik pengenceran cair dan padat diterapkan dalam proses pengenceran. Konsentrasi Hambat Minimum biasanya ditentukan dengan menggunakan metode pengenceran cair, dan Konsentrasi Bunuh Minimum biasanya ditentukan menggunakan metode pengenceran padat. Kemampuan metode ini untuk menguji beberapa jenis bakteri uji pada tingkat konsentrasi yang sama merupakan salah satu keunggulannya. (Febrianti, K., & Leliqia, N.P.E., 2023).

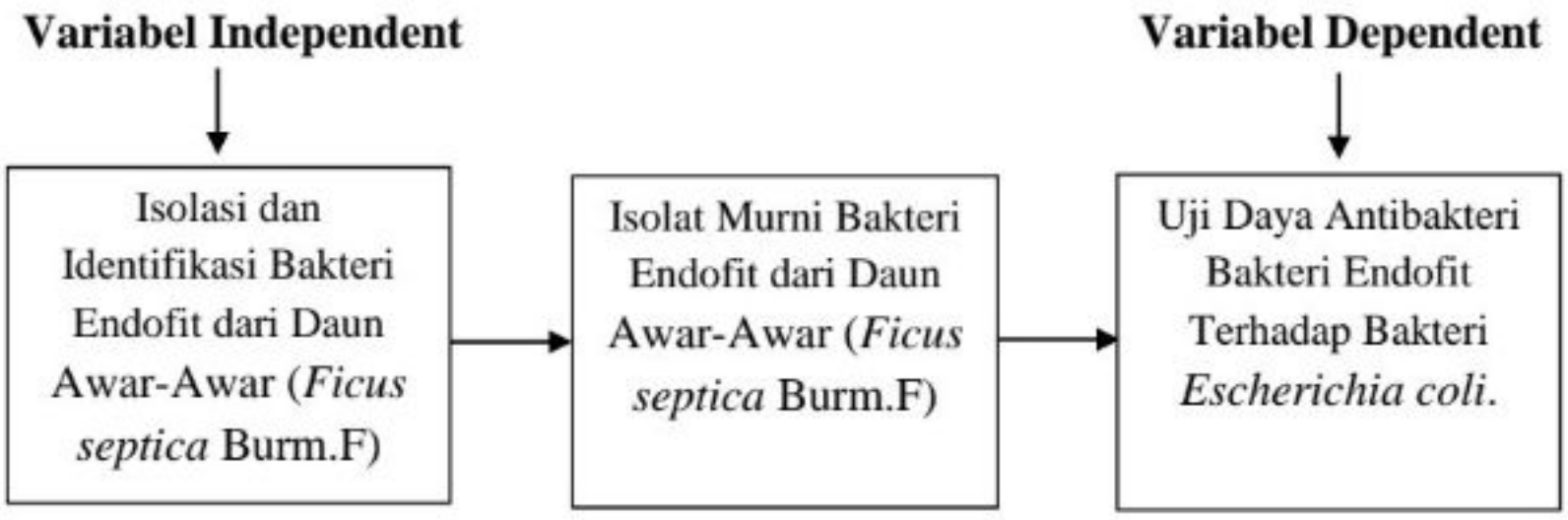
F. Kerangka Teori

Kerangka teori adalah rangkaian teori yang mendasari topik penelitian (Moleong, 2020).



Gambar 2.3 Kerangka Teori

G. Kerangka Konsep



H. Hipotesis

1. H_0: Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) mengandung isolat bakteri endofit
2. H_1: Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) tidak mengandung isolate bakteri endofit.
3. H_0: Isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*
4. H_1: Isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada saat meneliti adalah penelitian eksperimental di laboratorium untuk melakukan Isolasi, Identifikasi, Dan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap *Escherihcia coli* menggunakan metode difusi agar menggunakan *paper disk.*

B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Megarezky dan waktu penelitian dimulai pada bulan Mei – Agustus 2025

C. Alat Dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Autoklaf, bunsen, batang pengaduk, beaker glass, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, inkubator, LAF (*Laminary Air Flow*), mikroskop, neraca analitik, ose bulat, pipet, spoit, tabung reaksi, desikator, corong kaca, pinset, bunsen spiritus dan waterbath.

2. Bahan yang digunakan

Isolat bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F), aquadest steril, tissue, etanol 75%, Natrium hipoklorit 5,3%, NaCl 0,9%, aluminium foil, swab steril, *paper disk*, media *Nutrient Agar* (NA), reagen pewarnaan gram (kristal violet, iodin, aseton alkohol, safranin), media EMBA (*Eosin Methylene*

Blue Agar, reagen katalase H_2O_2 3%, media MRVP, larutan alpha naphtol, KOH 40, biakan *Escherichia coli.*

D. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah Tanaman Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) yang akan diambil dari Antang, Jln. Nipah-Nipah, Kecamatan Manggala, Kota Makassar.

2. Sampel

Sampel yang akan digunakan adalah bakteri endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F).

E. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel Daun Awar-awar diambil dari pohon Awar-awar diambil dari Antang, Jln. Nipah-Nipah, Kecamatan Manggala, Kota Makassar.

2. Sterilisasi Alat

Pertama, semua alat yang akan digunakan dibersihkan. Instrumen tertentu menjalani proses sterilisasi menggunakan autoklaf. Tujuan dari sterilisasi ini adalah untuk membasmi mikroorganisme dari alat. Khusus peralatan kaca seperti cawan petri dan tabung reaksi dibungkus dengan kertas lalu dipanaskan hingga suhu 180˚C, kemudian disterilkan selama 2 jam dengan tekanan 2 atm. Dan untuk ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran pada api spiritus. Alat yang mempunyai ukuran atau berskala disterilkan pada autoklaf dengan

suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan alkohol (Novita et al., 2023).

3. Sterilisasi Permukaan dan Isolasi Bakteri Endofit

Daun Awar-awar yang telah diambil dicuci menggunakan air mengalir, lalu dipotong kecil 1 - 2 cm. Setelah itu dilakukan proses sterilisasi permukaan dengan cara bahan uji direndam dalam etanol 75% selama 1 menit. Setelah itu, cairan perendam dibuang dan diganti dengan Natrium hipoklorit 5,3% lalu didiamkan selama 5 menit. Direndam dalam alkohol 75% selama 30 detik kemudian dibilas menggunakan aquadest steril sebanyak 3 kali. Daun Awar-awar yang sudah steril kemudian dikeringkan diatas kertas saring steril. Proses isolasi dilakukan dengan cara potongan Daun Awar-awar yang sudah steril ditanam pada media NA yang mengandung nistatin (0,01 % b/v) lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37˚C selama 24 jam hingga terlihat pertumbuhan koloni (Radji et al, 2011).

4. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Dibuat 400 ml NA dengan cara ditimbang 8,0 gram media NA, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass lalu dilarutkan dengan aquadest hingga 400 ml. Setelah itu, dididihkan hingga larut sempurna. Setelah media larut sempurna, dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121˚C selama 15 menit dengan tekanan 1-1,5 atm.

5. Pemurnian Isolat Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang tumbuh pada medium NA, dimurnikan pada medium NA yang baru dengan metode *streak plate* (cawan gores) dan diinkubasi

kembali selama 24 jam pada suhu 37˚C. Bakteri dimurnikan berdasarkan hasil dari pengamatan morfologi koloni yang berbeda (bentuk, warna, tepian, dan elevasi koloni).

6. Peremajaan Isolat Bakteri Endofit

Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode gores. Pertama, diambil 1 ose isolat bakteri, diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan diatas media NA baru secara aseptik. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37℃ selama 24 jam.

7. Fermentasi Bakteri Endofit

Tujuan fermentasi adalah untuk menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada isolat yang ditemukan. Dilakukan dengan cara isolat murni dibuat starter pada cawan petri yang berisi media NA, kemudian diinkubasi selama 1-2 hari sampai isolat tumbuh. Setelah isolat tumbuh, lalu dipotong berbentuk kotak dan diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 500 ml media *Nutrient Broth* (NB), lalu diinkubasi pada suhu ruang sambil dikocok selama 1 minggu.

Hasil fermentasi disaring lalu diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1. Setelah itu diuapkan di *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan lalu diuapkan diatas waterbath hingga didapatkan ekstrak kering. Setelah itu dilarutkan dengan DMSO untuk selanjutnya digunakan pada pengujian antibakteri bakteri *Escherichia coli.*

8. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

a. Pengamatan makroskopik

Dengan mengamati morfologi koloni (bentuk, warna, tepian, dan elevasi koloni).

b. Pengamatan mikroskopik

Untuk pengamatan ini dilakukan dengan cara pewarnaan gram sebagai berikut: Kaca objek yang telah disterilkan dengan alkohol 70% disiapkan, dan satu tetes akuades diteteskan di atasnya. Isolat bakteri endofit kemudian diambil dengan menggunakan jarum ose steril, dihomogenisasi, dan difiksasi di atas nyala api bunsen. Sampel kemudian ditetesi larutan kristal violet selama tiga menit, dibilas dengan akuades, ditetesi larutan yodium selama tiga menit, dibilas dengan akuades, ditetesi aseton alkohol 96% selama sepuluh sampai dua puluh detik, dibilas dengan akuades, dan terakhir ditetesi larutan safranin selama satu menit sebelum dibilas (Kumala, 2014).

c. Pengujian Media Selektif

1. Medium EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*)

Media ini digunakan untuk pertumbuhan *Escherichia sp.* dengan cara diambil 1 ose biakan isolat bakteri endofit murni kemudian diinokulasikan pada media EMBA secara *streak plate*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37˚C selama 24 jam lalu diamati.

d. Uji Biokimia

1. Uji Katalase

Disiapkan kaca objek yang telah ditetesi H_2O_2 3%. Selanjutnya, ditambahkan satu ose bakteri dan diamati terjadinya penguraian hidrogen peroksida. Dinyatakan positif apabila menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara dan negatif bila tidak ada gelembung udara (Damayanti et al., 2018).

2. Uji MR (*Methyl Red)*

Uji MR (*Methyl Red*) bertujuan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Dengan cara isolat bakteri endofit diinokulasikan kedalam media MR-VP lalu diinkubasi pada suhu 37˚C selama 24 jam. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes reagen Methyl red. Hasil positif jika berwarna merah, negatif jika berwarna kuning (Nuryanti et al., 2021).

3. Uji VP (*Voges Proskauer*)

Uji VP (*Voges Proskauer*) digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menghasilkan produk akhir non-asam atau netral seperti asetil metil karbinol dari asam organik dalam metabolisme glukosa. Dilakukan dengan cara diinokulasi 1 ose isolat bakteri endofit ke dalam MRVP broth. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Dipindahkan sebanyak 1 ml dari setiap MRVP broth yang tumbuh ke dalam tabung reaksi steril dan ditambahkan 0,6 ml larutan alpha

naphtol dan 0,2 ml KOH 40% kemudian dikocok. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby) (Nuryanti et al., 2021).

9. Penyiapan Bakteri Uji

a. Peremajaan Biakan Murni Bakteri Uji

Bakteri uji berupa *Escherichia coli* yang berasal dari biakan murni, diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium *nutrient agar* (NA) miring, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37˚C selama 24 jam.

b. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Hasil biakan murni kemudian disuspensikan ke dalam 10 ml NaCl fisiologis 0,9% dan disesuaikan kekeruhan dengan standar Mc. Farland 0,5.

11. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas bakteri endofit Daun Awar-awar dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *paper disk*. Pertama direndam *paper disk* dalam suspensi ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat bakteri endofit lalu ditiriskan. Medium MHA dituang secara aseptis ke dalam cawan petri steril sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat. Setelah itu diambil suspensi *Escherichia coli* diinokulasikan pada permukaan media MHA dengan menggunakan swab steril. Selanjutnya, diatas medium MHA yang telah diinokulasi dengan bakteri uji diletakkan *paper disk* yang telah direndam suspensi ekstrak etil asetat hasil fermentasi bakteri endofit. Diinkubasi pada suhu 37ºC selama 24 jam. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali *(triplo).*

12. Pengumpulan Data

Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah masa inkubasi selama 1x24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dengan penggaris dan dicatat. Adanya daerah zona bening di sekeliling *paper disk* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Zona hambat = diameter zona bening – diameter cakram

13. Analisis Data

Data pada penelitian ini menggunakan pengolahan data berupa tabel dan perhitungan nilai rata-rata untuk diameter zona hambatnya menggunakan Microsoft excel. Pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari bakteri endofit yang didapat dari hasil identifikasi.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)

Hasil penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan ditumbuhkan didapatkan 3 isolat bakteri endofit murni dari Daun Awar-Awar yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F)

Bahan Uji	**Bakteri Endofit**
Daun Awar – Awar	Ada 3 isolat yaitu ; - Isolat bakteri endofit 1 krem pucat - Isolat bakteri endofit 2 krem kekuningan - Isolat akteri endofit 3 krem pucat hingga Kekuningan

1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit dari Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap *Escherichia coli.*

Hasil penelitian yang diperoleh berupa zona hambat isolat bakteri endofit dari Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap *Escherichia coli* selama 1x24 jam pada suhu 37˚C sebagai berikut.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit dari Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) terhadap *Escherichia coli* 1x24 jam.

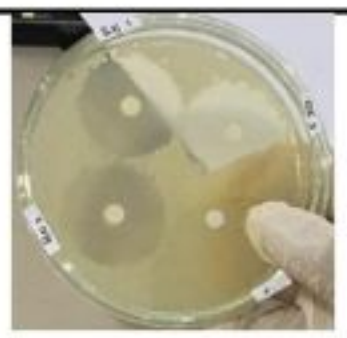
Isolat Bakteri Endofit	**Diameter Zona Hambat**			**Rata-rata ± SD**	**Kategori Hambatan**
	I	II	III		
BE 1	20,7 mm	20,35 mm	18,15 mm	19,73±1,382	Kuat
BE 2	20,35 mm	18,95 mm	18,65 mm	18,8±0,212	Kuat
BE 3	19,1mm	18,95 mm	18,1 mm	18,71±0,539	Kuat
Kontrol Negatif	0	0	0	0±0	

Keterangan:

BE 1 : Bakteri Endofit 1

BE 2 : Bakteri Endofit 2

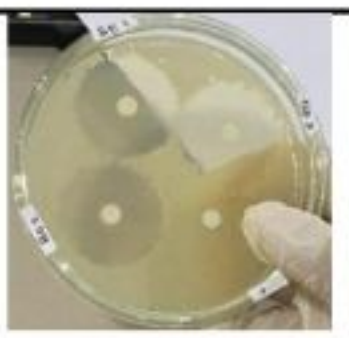
BE 3 : Bakteri Endofit 3



Gamabar Replikasi 1

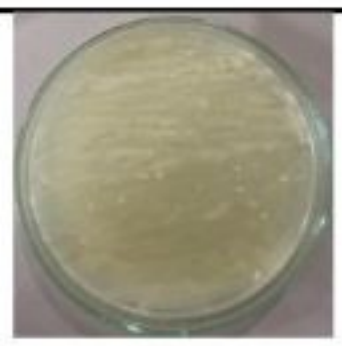
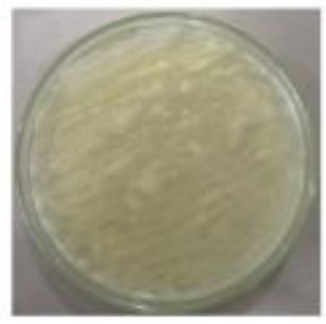


Gambar Replikasi 2



Gambar Replikasi 3

Tabel 4.3 Isolat Bakteri Endofit dari Daun Awar – Awar

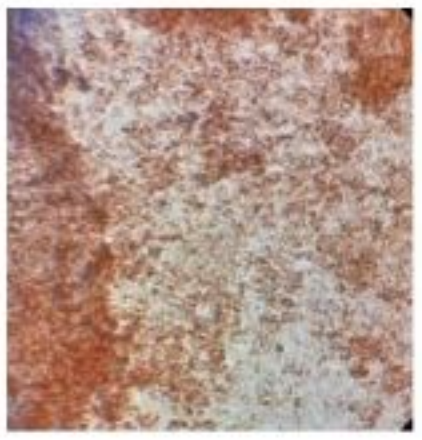
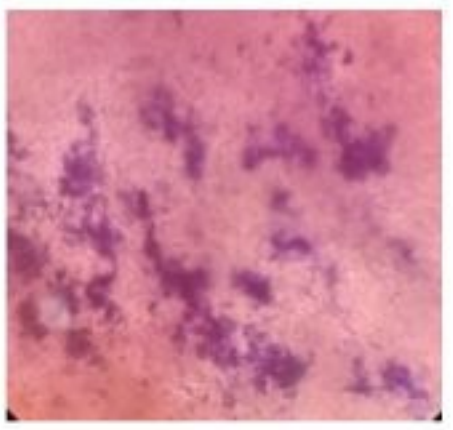
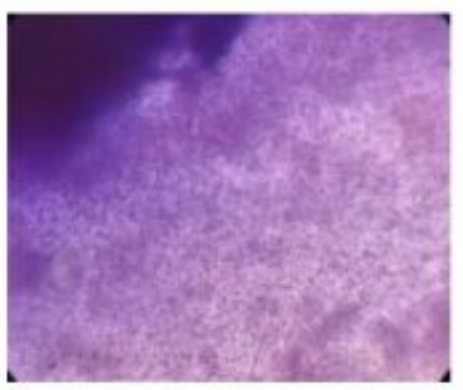
No.	Isolat Bakteri Endofit	Gambar
1	**Bakteri Endofit 1** **Krem pucat**	
2	**Bakteri Endofit 2** **Krem kekuningan**	
3	**Bakteri Endofit 3** **Krem pucat hingga kekukingan**	

Tabel 4.4 Hasil Identifikasi secara Makroskopik

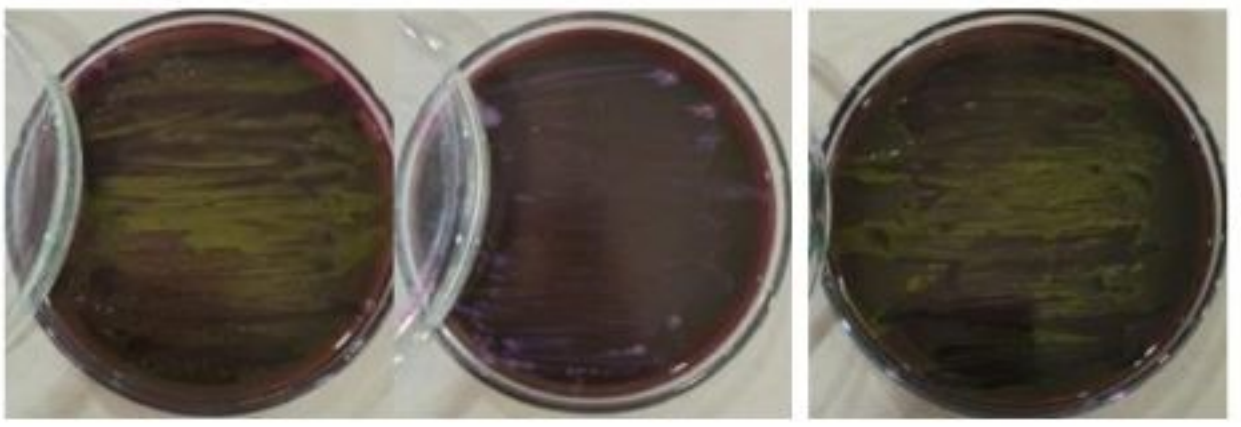
Isolat Bakteri Endofit	Pengamatan Morfologi			
	Bentuk	Warna	Evelasi (Permukaan)	Margin (Tepi)
BE 1	Bulat (Culcular) dan koloni menyatu	Krem pucat	Halus, mengkilap	(Entrire) rata
BE 2	Rhizoid (seperti akar), Bulat (Culcular), dan koloni	Krem kekuningan	Halus, mengkilap	(Entrire) rata

	menyatu			
BE 3	Bulat (Culcular) dan koloni menyatu	Krem pucat hingga kekuningan	Halus, mengkilap	Entrire) rata

Tabel 4.5 Hasil Identifikasi Mikroskopik

Isolat Bakteri Endofit	**Bentuk Morfologi**	**Pewarnaan Gram**	**Gambar**
BE 1	Basil	Negatif	
BE 2	Coccus	Positif	
BE 3	Coccus	Positif	

Tabel 4.6 Hasil Uji Bakteri Endofit Pada Media Selektif

Media Selektif	**Isolat Bakteri Endofit** B1	BE 2	BE 3	**Literatur**
EMBA				Koloni berwarna hijau metalik dan ungu (Bintang et al., 2024)

Keterangan :

EMBA : *Eosin Methylene Blue Agar*

Tabel 4.7 Hasil Identifikasi Uji Biokimia

Isolat Bakteri Endofit	**Uji Katalase**	**Uji Methyl Red (MR)**	**Uji Voges Proskauer (VP)**
BE 1	+ (Gelembung)	+ (Merah)	- (Putih)
BE 2	+ (Gelembung)	+ (Merah)	- (Putih)
BE 3	+ (Gelembung)	+ (Merah)	- (Putih)

Keterangan :

+ : Terjadi perubahan

- : Tidak terjadi perubahan

Tabel 4.8 Kesimpulan dari semua Hasil Pengujian

Parameter Pengujian	**Isolat Bakteri Endofit**		
	BE 1	**BE 2**	**BE 3**
Makroskopik	- Bentuk : koloni berbentuk bulat dan menyatu. - Warna : krem pucat. - Permukaan : halus mengkilap - Tepi : rata	- Bentuk: Koloni seperti akar dan menyatu. - Warna : Krem kekuningan. - Permukaan : Halus mengkilap. -Tepi : rata	- Bentuk : Koloni berbentuk bulat dan menyatu - Warna : Krem pucat hingga kekuningan - Permukaan : Halus mengkilap. - Tepi: Rata
Morfologi Sel	Basil	Coccus	Coccus
Pewarnaan Gram	Negatif	Positif	Positif
Selektif EMBA	+	-	+
Uji Katalase	+	+	+
Uji MR	+	+	+
Uji VP	-	-	-
Jenis Bakteri	***Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp.***	***Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp***	***Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp***

B. Pembahasan

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman yang dapat diisolasi melalui sterilisasi permukaan jaringan. Bakteri endofit dipilih karena penggunaan ekstrak langsung dari tanaman untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang dijadikan bahan antimikroba sudah tidak efektif lagi. Hal itu disebabkan karena cara tersebut membutuhkan lebih banyak bagian tanaman yang akan diambil secara terus-menerus sehingga mengakibatkan ketersediaan tanaman tersebut menjadi menurun dan menjadi langka (Radji, 2005).

Daun Awar-awar memiliki aktivitas antibakteri yang cukup tinggi. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ismiranti , et al (2016) bahwa ekstrak daun awar-awar berpotensi memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml berturut-turut ialah 24,8 mm, 21mm, 18,3 mm, 17 mm. Serta pada penelitian yang dilakukan Dewi (2020) diperoleh bahwa ekstrak etanol daun awar awar memiliki senyawa metabolit sekunder yang meliputi senyawa alkaloid, tanin, flavanoid, dan saponin. Kadar total metabolit sekunder ekstrak etanol daun awar-awar yaitu alkaloid sebesar 0,16 % b/b, saponin sebesar 8,21% b/b, tanin sebesar 68,76% b/b, dan flavanoid sebesar 6,33% b/b. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Hal ini dikarenakan adanya pertukaran genetik yang terjadi antara tanaman inang dengan bakteri endofit (Ruslan et al., 2022).

Penelitian selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar, dimana *paper disk* direndam dalam masing-masing ekstrak hasil fermentasi dan DMSO sebagai kontrol negatif. Pemilihan DMSO sebagai pelarut untuk melarutkan ekstrak dikarenakan pelarut ini lebih dapat melarutkan ekstrak daun Awar-awar dengan baik dibandingkan dengan aquadest. Hal ini dikarenakan DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar serta tidak memiliki aktivitas antibakteri. Sedangkan aquadest merupakan pelarut yang bersifat polar yang hanya dapat menarik senyawa polar (Noor et al., 2020).

Metode difusi agar merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap antibiotik dan digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis mikroba terhadap antimikroba pada konsentrasi tertentu. Metode ini menggunakan suatu cakram kertas saring yang biasa disebut *paper disk* yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. *Paper disk* tersebut kemudian diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi bakteri uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari bakteri (Maya Maimuna et al., 2023). Senyawa antimikroba akan berdifusi ke dalam media padat yang diinokulasi bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya daerah jernih di sekeliling *paper disk* (Maya Maimuna et al., 2023).

Berdasarkan hasil pengamatan, didapatkan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli* pada isolat BE (Bakteri Endofit) 1 yaitu 19,7 mm, pada isolat BE (Bakteri Endofit) 2 sebesar 18,8 mm, dan pada isolat BE (Bakteri

Endofit) 3 sebesar 18,7 mm, serta kontrol negatif 0 mm. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit dari Daun Awar-awar memiliki aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli.* Adapun pada kontrol negatif DMSO tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat yang membuktikan bahwa pelarut ini tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pembentukan zona bening menunjukan bahwa isolat bakteri endofit Daun Awar-awar mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Semakin luas zona bening yang terbentuk maka semakin kuat senyawa bioaktif karena memiliki potensi sebagai antibakteri (Seko et al, 2021)

Isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri kemudian dilanjutkan pada tahap identifikasi untuk mengetahui jenis dari isolat bakteri endofit tersebut. Hal pertama yang dilakukan yaitu identifikasi secara makroskopik dengan cara melihat bentuk, warna, permukaan, serta tepian dari masing-masing isolat. Isolat Bakteri Endofit 1 memiliki penampakan makroskopik koloni berbentuk bulat dan koloni menyatu, berwarna krem pucat, permukaan halus mengkilap dan tepian rata. Isolat Bakteri Endofit 2 memiliki penampakan mikroskopik koloni berbentuk seperti akar dan koloni menyatu, warna krem kekuningan, permukaan halus dan mengkilap, dan tepian rata. Kemudian untuk isolat Bakteri Endofit 3 memiliki penampakan makroskopik koloni berbentuk bulat dan koloni menyatu, warna krem pucat hingga kekuningan, permukaan halus dan mengkilap, dan tepian rata.

Selanjutnya dilakukan identifikasi dengan cara pewarnaan gram untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif serta melihat bentuk morfologi sel dan mengetahui aktif atau tidaknya suatu bakteri. Bakteri Gram positif pada pewarnaan gram akan mempertahankan warna utama ungu dari zat warna kristal violet meskipun telah dibilas menggunakan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena zat warna kristal violet dapat dengan mudah larut saat pemberian larutan alkohol dan mendapatkan zat warna merah safranin. Hal tersebut disebabkan karena perbedaan struktur dari bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Dimana bakteri gram positif memiliki ketebalan sekitar 20-80 nm, sedangkan bakteri gram positif sebesar 8-10 nm. Serta lapisan peptidoglikan gram positif tebal sedangkan gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis (Irawati et al., 2022). Kristal violet merupakan pewarna utama yang digunakan dalam pewarnaan gram yang akan meninggalkan warna ungu pada dinding sel. Dekolorisasi pewarna yang melekat pada peptidoglikan bakteri dilakukan dengan membilas preparat bakteri dengan menggunakan alkohol. Pencucian menggunakan alkohol juga dapat mendehidrasi peptidoglikan dan pori peptidoglikan mengkerut untuk mencegah terlepasnya kompleks kristal violet, sehingga bakteri gram positif akan tetap berwarna ungu dan gram negatif berwarna merah (Irawati et al., 2022).

Pada penelitian ini, didapatkan 1 isolat bakteri endofit yang mendapatkan zat warna merah safranin sehingga dikategorikan kedalam bakteri gram negatif. Isolat tersebut ialah BE (Bakteri Endofit) 1 dimana isolat tersebut memiliki morfologi sel berbentuk batang atau basil. Sedangkan isolat BE (Bakteri Endofit) 2 dan BE

(Bakteri Endofit) 3 mempertahankan zat warna kristal violet sehingga termasuk kedalam bakteri gram positif dan memiliki morfologi sel berbentuk bulat atau coccus.

Selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan media selektif. Pengujian ini dapat membantu dalam menentukan jenis bakteri dengan cara melihat pertumbuhan koloni yang terdapat pada media selektif yang digunakan. Media selektif yang digunakan pada percobaan ini yaitu media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) untuk pertumbuhan *Escherichia sp*.

Media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) adalah media selektif dan media diferensial untuk menumbuhkan bakteri gram negatif dan pada umumnya digunakan untuk isolasi dan diferensiasi bakteri non fecal coliform dan fecal coliform (Atmojo, 2019). Media ini merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri anggota genus *Escherichia* (Sari et al., 2019) . Komposisi media EMBA terdiri dari laktosa, sukrosa, pepton, eosin Y, dan *methylen blue. Eosin* Y dan *Methylen blue* dari EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) merupakan pewarna yang bergabung untuk membentuk kompleks pada pH asam dan menghambat bakteri gram positif (eosin pada tingkat lebih rendah), sementara eosin berubah warna ke ungu gelap ketika media sekitar koloni menjadi asam (Akhnah et al., 2022). Berdasarkan literatur, koloni yang positif pada media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) memiliki ciri-ciri yaitu koloni berwarna hijau metalik (Bintang et al, 2024), serta berdasarkan literatur, koloni yang positif pada media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) memiliki ciri-ciri yaitu koloni bulat, cembung, warna ungu gelap disertai kilap logam (Akhnah et al., 2022). Dari

hasil penelitian yang telah dilakukan, isolat bakteri endofit memiliki ciri-ciri tersebut yaitu isolat BE (Bakteri Endofit) 1, BE (Bakteri Endofit) 2, dan BE (Bakteri Endofit) 3 sehingga diduga merupakan *Escherichia coli*.

Untuk memperkuat dugaan jenis bakteri dari ketiga isolat bakteri endofit yang ada maka dilakukan uji biokimia. Uji biokimia bakteri adalah serangkaian tes laboratorium yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri berdasarkan aktivitas metabolisme dan sifat biokimianya. Uji-uji ini memberikan informasi tentang kemampuan bakteri dalam memecah senyawa tertentu, menghasilkan enzim spesifik, atau melakukan reaksi biokimia lainnya. Hasil dari uji-uji tersebut kemudian diinterpretasikan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini yaitu uji katalase, uji *Methyl Red* (MR) dan uji *Voges Proskauer* (VP).

Uji katalase adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi adanya enzim katalase dalam suatu organisme, terutama bakteri. Katalase adalah enzim yang ditemukan di sebagian besar organisme aerob. Fungsi utamanya adalah menguraikan hidrogen peroksida (H2O2), yang merupakan produk sampingan metabolisme sel yang bersifat toksik. Enzim ini melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Mekanisme biokimia yang terjadi yaitu:

$$2H_2O_2 \text{ (hidrogen peroksida)} \rightarrow 2H_2O \text{ (air)} + O_2 \text{ (oksigen)}$$

Dikatakan positif jika terbentuk gelembung udara dan negatif jika tidak ada gelembung (Wadjdjy & Setiadi, 2019). Dari hasil penelitian didapatkan 3 isolat

positif menghasilkan gelembung yaitu isolat Bakteri Endofit 1, Bakteri Endofit 2, dan Bakteri Endofit 3.

Pada uji katalase isolat BE (Bakteri Endofit) 1, BE (Bakteri Endofit) 2, dan BE (Bakteri Endofit) 3 diduga sebagai sebagai *Staphylococcus sp.* pada uji katalase menghasilkan gelembung yang sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa *Staphylococcus sp.* menghasilkan gelembung pada uji katalase (Hayati et al., 2019)

Uji Methyl Red (MR) adalah salah satu metode dalam biokimia mikrobiologi untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemampuan mereka dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Uji ini biasanya dilakukan dengan menggunakan media MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*). Media MRVP mengandung pepton, glukosa, dan buffer fosfat. Isolat bakteri endofit diinokulasikan kedalam media MR-VP lalu diinkubasi pada suhu 37˚C selama 24 jam. Selama masa inkubasi, bakteri akan memfermentasi glukosa dalam media dan bakteri yang menghasilkan asam akan menurunkan pH media. Setelah inkubasi, beberapa tetes indikator *Methyl Red* ditambahkan ke dalam kultur. Hasil positif jika media MR-VP berubah menjadi merah setelah penambahan *Methyl Red*, ini menunjukkan bahwa bakteri telah memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam yang cukup untuk menurunkan pH media di bawah 4,4. Artinya, bakteri tersebut adalah penghasil asam kuat. Hasil negatif (kuning) menunjukkan bakteri tidak menghasilkan asam atau menghasilkan asam dalam jumlah kecil (Nuryanti et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan semua isolat bakteri endofit positif uji MR. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana bakteri *Escherichia sp.* Positif uji *Methyl Red.* Yang artinya bakteri-bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa (Gunawan et al., 2022; Hayati et al., 2019; Masdini & Effendi, 2019).

Uji Voges-Proskauer (VP) adalah salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memproduksi asetil metil karbinol (acetoin) dari fermentasi glukosa. Uji ini sering dilakukan bersamaan dengan uji *Methyl Red* (MR) menggunakan media MR-VP. Media MR-VP adalah media yang mengandung glukosa sebagai sumber karbon utama dimana pada saat inkubasi, bakteri memfermentasi glukosa, dan produk metabolit akan dihasilkan. Setelah inkubasi, ditambahkan reagen VP yaitu 0,6 ml larutan alpha-naphtol dan 0,2 ml 40% KOH kemudian dikocok. Bakteri yang positif VP akan memfermentasi glukosa menjadi asetoin (asetil metil karbinol). Asetoin kemudian dioksidasi menjadi diacetil dalam kondisi basa. Diacetyl bereaksi dengan alpha-naphtol dan kreatin (dari pepton) membentuk kompleks berwarna merah. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mudah delima (ruby) (Nuryanti et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian, pada isolat BE (Bakteri Endofit) 1, BE (Bakteri Endofit) 2, dan BE (Bakteri Endofit) 3 di dapatkan hasil negatif karena terbentuk warna putih. Pada uji isolat BE (Bakteri Endofit) 1, BE (Bakteri Endofit) 2, dan BE (Bakteri Endofit) 3 yang diduga sebagai *Staphylococcus sp.* negatif uji VP.

Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan produk akhir non-asam atau netral seperti asetil metil karbinol (Gunawan et al., 2022; Masdini & Effendi, 2019).

Berdasarkan beberapa uji biokimia yang telah dilakukan, dapat mempertegas uji-uji sebelumnya dimana BE (Bakteri Endofit) 1 diduga merupakan *Staphylococcus sp.*, BE (Bakteri Endofit) 2 diduga merupakan *Eschericia sp.*, BE (Bakteri Endofit) 3 diduga merupakan *Staphylococcus sp.* Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit yang didapatkan dari Daun Awar-awar merupakan bakteri *Staphylococcu sp* dan *Escherichia sp.* Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya pada uji katalase yang menyatakan bahwa *Staphylococcus sp.* menghasilkan gelembung pada uji katalase (Hayati et al., 2019). Selanjutnya uji *Methyl Red* hasil sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana bakteri *Escherichia sp.* Positif uji *Methyl Red.* Yang artinya bakteri-bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa (Gunawan et al, 2022). Kemudian Uji Voges Proskauer menghasilkan warna putih *Staphylococcus sp.* negatif uji VP. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan produk akhir non-asam atau netral seperti asetil metil karbinol (Gunawan et al., 2022; Masdini & Effendi, 2019).

Hasil penelitian ini menunjukkan kesesuaian dengan penelitian-penelitian sebelumnya, terutama terkait aktivitas antibakteri bakteri endofit yang berasal dari daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F). Zona hambat yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit terhadap Escherichia coli berkisar antara 18,7 mm hingga

19,7 mm, yang termasuk dalam kategori kuat. Nilai ini relatif sejalan dengan penelitian Ismiranti et al. (2016) yang melaporkan zona hambat ekstrak daun awar-awar pada *Escherichia coli* sebesar 17 mm hingga 24,8 mm, walaupun menggunakan ekstrak berbeda. Hal ini menegaskan bahwa senyawa metabolit sekunder dalam bakteri endofit mampu menurunkan pertumbuhan bakteri patogen, mendukung potensi bioaktif yang sama seperti pada ekstrak tanaman langsung.

Lebih spesifik, penelitian ini juga mengonfirmasi identifikasi bakteri endofit sebagai *Staphylococcus sp*. dan *Escherichia sp*. Berdasarkan uji biokimia seperti katalase, Methyl Red, dan Voges Proskauer, hasil pengujian konsisten dengan literatur yang menyatakan bahwa *Staphylococcus sp*. menghasilkan gelembung pada uji katalase dan negatif pada uji VP, sedangkan *Escherichia sp*. positif pada uji Methyl Red. Hal ini memperkuat keakuratan identifikasi bakteri dan menegaskan karakteristik mikroba yang terlibat, sesuai dengan hasil penelitian Hayati et al. (2019) dan Gunawan et al. (2022).

Metode uji difusi agar yang digunakan dalam penelitian ini telah terbukti efektif dan konsisten dengan penelitian lain, seperti Noor et al. (2020), yang menyatakan bahwa metode ini sangat tepat untuk mengukur aktivitas antibakteri dengan cara melihat zona hambat yang terbentuk di sekitar paper disk yang mengandung ekstrak. Penggunaan DMSO sebagai pelarut juga sejalan dengan referensi yang menyebutkan bahwa DMSO efektif melarutkan senyawa polar dan non-polar tanpa memberikan efek antibakteri sendiri.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini sudah sangat sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya dalam hal nilai zona hambat, jenis bakteri yang diperoleh, dan metode uji yang digunakan. Kesamaan hasil ini mendukung validitas temuan bahwa bakteri endofit dari daun Awar-Awar adalah sumber potensial metabolit sekunder antibakteri dan menjadi alternatif pengembangan agen antimikroba yang efektif dan berkelanjutan, mengurangi ketergantungan pada pengambilan langsung dari tanaman yang dapat menyebabkan kelangkaan. Dengan demikian, penelitian ini secara spesifik menguatkan temuan-temuan sebelumnya dan memberikan kontribusi penting dalam pengembangan ilmu mikrobiologi dan farmasi antimikroba natural.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Bersadarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) mengandung 3 isolat bakteri endofit yaitu BE (Bakteri Endofit) 1, BE 2, dan BE 3.
2. Berdasarkan identifikasi uji pewarnaan gram dan uji biokimia isolat BE (Bakteri Endofit) 1 diduga merupakan bakteri gram negatif dan positif yaitu bakteri *Escherichia coli dan Staphylococcus sp.*, BE 2 diduga merupakan bakteri gram positif dan negatif yaitu bakteri *Staphylococcus sp* dan *Escherichia coli*, dan BE 3 diduga merupakan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus sp.*
3. Ketiga Isolat bakteri endofit yang didapatkan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Escherichia coli.* Dimana rata-rata diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli* pada isolat bakteri endofit 1 yaitu 19,7 mm, isolat bakteri endofit 2 yaitu 18,8 mm, dan isolat bakteri endofit 3 yaitu 18,7 mm.

B. Saran

Diharapkan bagi para peneliti selanjutnya untuk melakukan uji biokimia yang lengkap terhadap isolat bakteri endofit yang dihasilkan oleh Daun Awar-Awar. Serta melakukan skrining fitokimia pada metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit Daun Awar-Awar (*(Ficus septica* Burm.F*)*

DAFTAR PUSTAKA

Abraham,M., Dulanlebit, H, Yeanchon., Y. F. 2020. *Awar-awar(Ficus septica Burm F) Heavy Metal Mercury Accumulation Study Using Awar-awar (Ficus septica* Burm.F *) Plants. Indo.* J. Chem. Res, 2020, 7(2), 159-169 STUDI, 7(2), 159–169.

Adityawarman, Mahyarudin & Effiana. (2019). *Isolasi, Identifikasi dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Pegagan* (*Centella asiatica* L.) *terhadap Escherichia coli. Jurnal Cerebellum*, 5(4B), 1569-1582

Allung, C. M. 2019. *Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Penghasil Extended Spectrum Beta – Lactamase (Esbl) Di Ruang Nicu Rumah Sakit Umum Naibonat Tahun 2019* Karya', Karya Tulis Ilmiah, pp. 1–48.

Ardiaria, M. 2019. *Epidemiologi, Manifestasi, dan Penatalaksanaan Demam Tifoid*. Journal of Nutrition and Health.7(2) : 32-38.

Atiqoh, A. dkk. 2022. *Jurnal Edukasi Biologi.* 8(1), pp. 46–56

Atmanto, Y. A., Asri, L. A., & Kadir, N. A. 2022. *Media pertumbuhan kuman. Jurnal medika hutama*, (04), 3069-3075.

Aritonang, N. S., Chiuman, L., Studi, P., Klinis, F., Kedokeran, F., Gigi, K., Indonesia, U. P., dan Utara, S. 2022. *Uji identifikasi senyawa steroid fraksi ekstrak metanol Andaliman (Zanthoxylum acthopodium DC) secara Kromatografi Lapis Tipis*. Journal health and science, 6(1), 90–98

A'lana, Lu'lu', Sari, R.,& Pratiwi, A. (2017). *Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (Aloe vera(L) Burm.f) dan Gentamisin Sulfat Terhadap Bakteri Escherichia coli*,"Pharmaceutical Sciences and Research, 4(3),3.

Akhnah, A. M., Widyastuti, D. A., & Rachmawati, R. C. (2022). Identifikasi Genera Bakteri Coliform Pada Air Sungai Desa Datar Kabupaten Jepara. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi,* 14(2), 124–131.

Atmojo, A. . (2019). Media EMB Agar. *In Indonesian Medical Laboratory*.

Bintang, S. R., Manalu, K., & Nasution, R. A. (2024). Isolasi dan Identifikasi Escherichia coli pada Sumber Air Minum Di Desa Banjar Toba Kecamatan Berampu. Spizaetus: *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi,* 5(3), 481-486.

Breed RS, Bergey DH. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. American. Baltimore Williams and Wilkins Co. Hlm 562-566

Cahya, dkk. 2019. *Uji Cemaran Mikroba Es Batu pada Penjual Minuman di Lingkungan Pasar Kecamatan Jagakarsa* , Jakarta Selatan, Jurnal Saintech Farma, 12(2), pp. 78–84.

CAHYANI, F. W. N. 2020. *Klasifikasi Penyebab Diare Pada Balita* (Doctoral dissertation, STIKes BTH Tasikmalaya).

Chen, Xu et al. 2021. *Depression, Anxiety and Associated Factors among Chinese Adolescents during the COVID-19 Outbreak*: A Comparison of Two Cross-Sectional Studies. Translational Psychiatry 11(1).

Dewi, Niluh Puspita. 2020. "*Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (Ficus septica* Burm.F*) Dengan Metode Spektrofotometer UV-VIS*." Acta Holistica Pharmaciana2(1):16–24.

Deviazka, Z. A., & Setiyabudi, R. 2021. *Hubungan Antara Pengetahuan, Pendidikan Ibu Dengan Penanganan Balita Usia 6 – 12 Bulan Yang Menderita Diare*. Jurnal Sipakalebbi, 5(2), 197–206.

Gunawan, Kholik, & Dwi Agustin, A. L. (2022). Profil Uji Biokima Hasil Isolasi Escherichia coli pada Feses,Air Minum Dan Air Saluran Buangan Kandang Sapi BaliDi Kelompok Tani Ternak Menemeng (KT2M)Kabupaten Lombok Tengah. *Mendelika Veterinary Journal*, 2(18), 35–48.

Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolation and Identification of Staphylococcus aureus in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat with Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner,* 2(2), 76– 82.

Hutasoit, D. P. 2020. *Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri Escherichia coli Terhadap Penyakit Diare*. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 12(2), 779–786.

Heriansyah, Pebra. (2020). *Rahasia Mudah Menguasai Kultar Jaringan Tanaman*. Bogor. Penerbit Lendan Bestari & Anggota IKAPI.

Irawati, W., Ambarita, P. P., Sihombing, D. L., Ruth Advenita, V. E. S., & Marvella, E. B. (2022). Isolation and characterization of indigenous copper resistant bacteria from Yogyakarta tannery factory waste. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(3), 795–802.

Jamilantun, Makhabbah & Shufiyani. (2019). I*solasi dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Alang-Alang (Imperata cylindrical L) Beauv. Media Informasi Kesehatan. 6(1).27-36.*

Kim, H., Rim S.O., & Bae H. (2019). Antimicrobial Potential of Metabolites Extracted From Ginseng Bacterial *Endophyte Burkholderia* Stabilis Against Ginseng Pathogrns. *Biological Control. 128: 24-30.*

Lestari, Iva Dita & Oktari Roka. (2020). Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (AIA). *Jurnal Biologi 13(2).179-191.*

Lestari, Puji,. Nur Prihatiningsih & Heru Adi Djatmiko. (2020). Mekanisme Bakteri Endofit Akar Padi Sebagai Pengendali Patogen Hawar Daun Bakteri padi. *Pengembngan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan X.30-37*

Maya Maimuna, Wahyu Margi Sidoretno, & Isna Wardianati. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa (Pommetia Pinnata J.r & g . Forst) Terhadap Escherichia Coli. JFARM - *Jurnal Farmasi*, 1(1), 7– 11.

Maulida Aqlinia, Sri, P., & Wijanarka. 2020. *Isolasi Bakteri Endofit Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.) dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap Staphylococcus aureus. Jurnal Akademika Biologi,* 9(Vol. 9 No. 1 Januari 2020), 23–31.

Melvani, R. P., Zulkifli, H., & Faizal, M. 2019. *Analisis Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diare Balita Di Kelurahan Karyajaya Kota Palembang. Jumantik (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, 4(1), 57.

Moleong, L. J. 2020. *Metode Penelitian Kualitatif.* Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.

Monggoot, S., Pichaitam T., Tanapichatsakul C., Pripdeevech P. (2018). Antibacterial Potential of Secondary Metabolites Produced by *Aspergillus sp.,* an Endophyte of *Mitrephora wangii. Archives of Microbiology.*

Murdiyah, S. (2017). Edophytic fungi of various medicinal plants collected from evergreen forest Baluran national park and its potential as laboratory manual for mycology course. *JPBI (Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia)*, *3*(1), 64-71.

Nolitriani, N., Jurnalis, Y. D., & Sayoeti, Y. 2020. *Literatur review: Peran selenium pada diare akut anak*. Action: Aceh Nutrition Journal, 5(2), 140.

Noor, A. S., Triatmoko, B., & Nuri, N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth) terhadap Salmonella typhi. *Pustaka Kesehatan*, 8(3), 177.

Nuryanti, S., Fitriana, F., & Pratiwi, A. R. (2021). KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH NAGA MERAH (Hylocereus polyrhizus). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 13(1), 71-79.

Pratiwi, R. H. 2019. *Peranan Mikroorganisme Endofit Dalam Dunia Kesehatan: Kajian Pustaka. Sainmatika*:Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, 16(1), 21.

Prayoga, P., Muhsinin, S., & Marliani, L. 2021. R*eview : Karakterisasi Dan Pemanfaatan Bakteri Endofit Yang Berasal Dari Familia Zingiberaceae Di Bidang Farmasi*. JOPS (Journal Of Pharmacy and Science), 4(2), 51–60.

Pasappa, N., Pelealu, J. J., & Tangapo, A. M. 2022. *Isolasi Dan Uji Antibakteri Jamur Endofit Dari Tumbuhan Mangrove Soneratia alba Di Pesisir Kota Manado*. Jurnal Pharmacon, 11(2), 1430–1437.

Pakadang, S. R,. Marsus, I., & Ihsanawati, I. 2021. *Antibacterial Activity of Endophytic Fungus Isolates of Mangrove Fruit (Sonneratia alba) Against Staphylococcus aureus and Esherichia coli. Jurnal Info Kesehatan, 19(1) 55-63*

Purnamasari, F. 2021. *Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata L.)* dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. Window of Health :Jurnal Kesehatan, 04(03), 231–237.

Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli*: Patogenitas,Analisis, dan Kajian Risiko. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 5.

Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Diterbitkan CV Seribu Bintang. Malang.

Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. In *Majalah Ilmu Kefarmasian* (3rd ed., pp. 113–126).

Ruslan, R., Ismed, F., & Nabila, G. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Bakteri Endofit Yang Diisolasi Dari Kulit Jeruk Nipis. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(1), 42.

Sari, D. P., Rahmawati, & Wardoyo, E. R. P. (2019). Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya. *Jurnal Labora Medika*, 3(1).

Sari, N. K. Y., Kawuri, R., & Parwanayoni, N. M. S. 2020. *Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit dari Rimpang Jahe Gajah (Zingiber officinale var. Roscoe) terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA).* Metamorfosa: Journal of Biological Sciences, 7(2), 77.

Seko, M., Sabuna, A. C., & Ngginak, J. (2021). AJERAN LEAVES ETHANOL EXTRACT (Bidens Pilosa L) AS AN ANTIBACTERIAL Staphylococcus aureus. *Jurnal Biosains,* 7(1), I.

Sepriana, C., Dwi S.D.J., & Lalu Z. (2017). Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Kemampuannya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA). 3(2):33-41*

Suwastika, Nengah,. Noviani & Meryana Ananda. (2019). Karakterisasi Bakteri Dan Jamur Yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit Asal Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi 2. *Jurnal of Science and Technologi. 8(3). 186-190*

Tuang, A. 2021. *Analisis Analisis Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diare pada Anak. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 534–542.

Tuna, I. D., Wowor, P. M., & Awaloei, H. (2016). Uji daya hambat ekstrak daun awar-awar (*ficus septica* Burm.F) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli. eBiomedik*, *4*(2).

Wahyuni, D. 2019. *Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Tanaman Suruhan (Peperomia pellucida L. Kunth)* Pendididkan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember. Volume 3, Issue 1 (2019) : page 8-26

Wahyuni, D, Baderan, & U., & R. 2021. *Biodiversitas Flora Dan Fauna Pantai Biluhu Timur (Suatu Tinjauan EkologiLingkungan Pantai).* Deepublish.

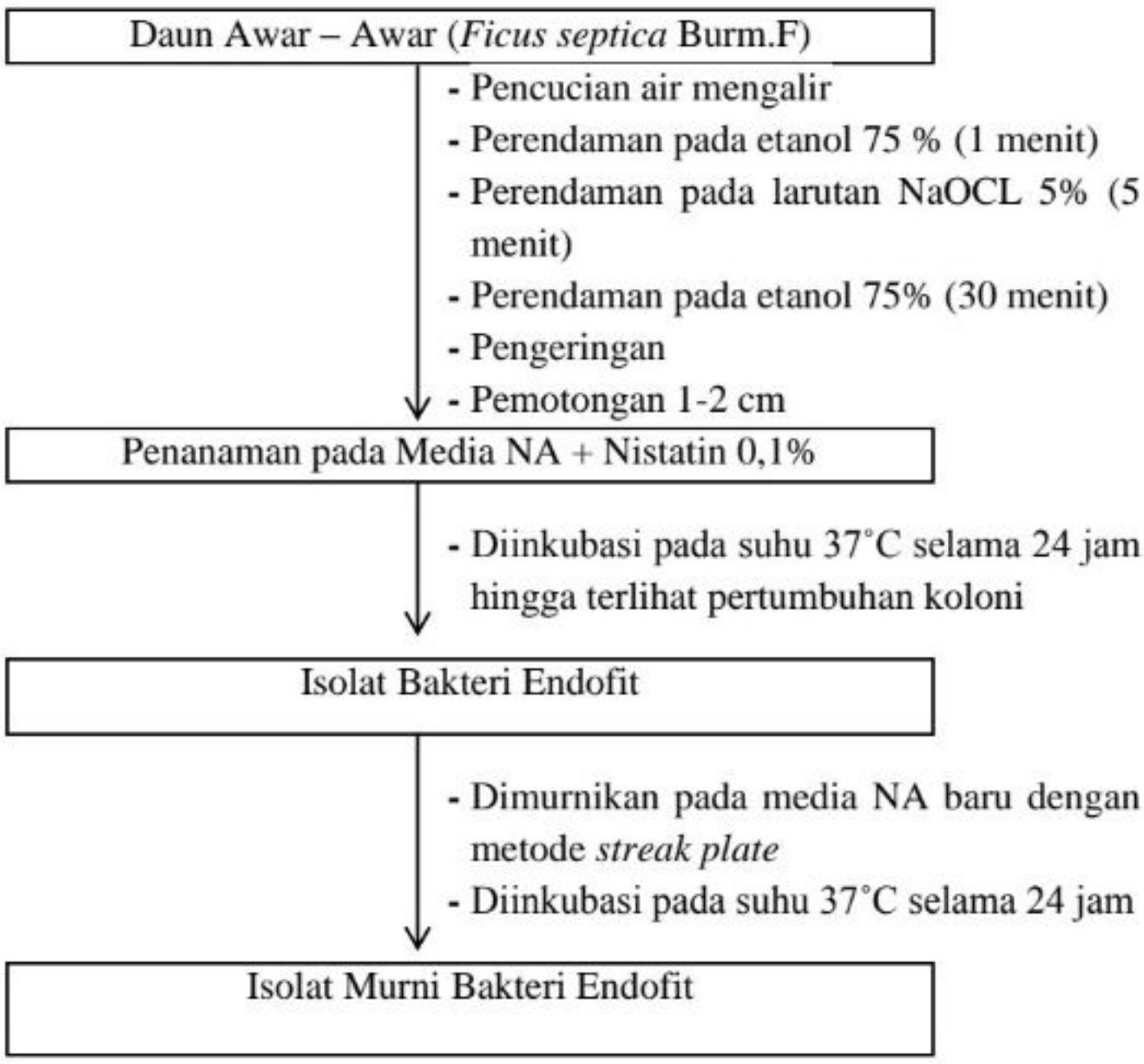
Widyatmoko, D. 2019. *Strategi dan Inovasi Konservasi Tumbuhan Indonesia untuk Pemanfaatan secara Berkelanjutan. Annals of the Missouri Botanical* Garden,102(2),377–385.

Wadjdjy, E. F., & Setiadi. (2019). PADA IKAN TOMAN (Channa micropeltes). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), 155–159.

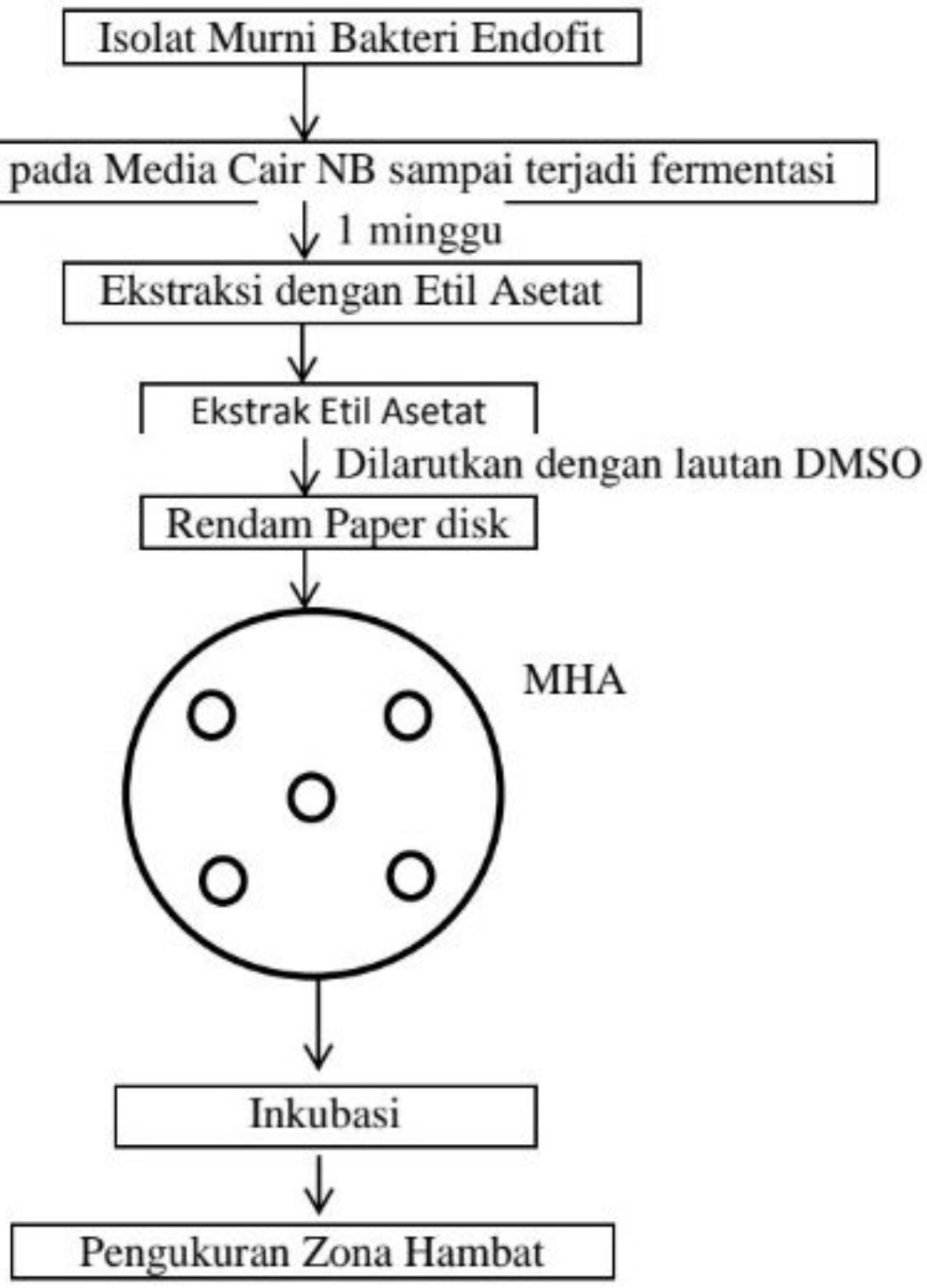
Zaelani, M. R. 2021. *Pengaplikasian Madu Sebagai Terapi Komplementer Mengatasi Diare pada an. H usia 4 tahun 9 bulan di wilayah cibeuruem kota sukabumi* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Sukabumi.

LAMPIRAN

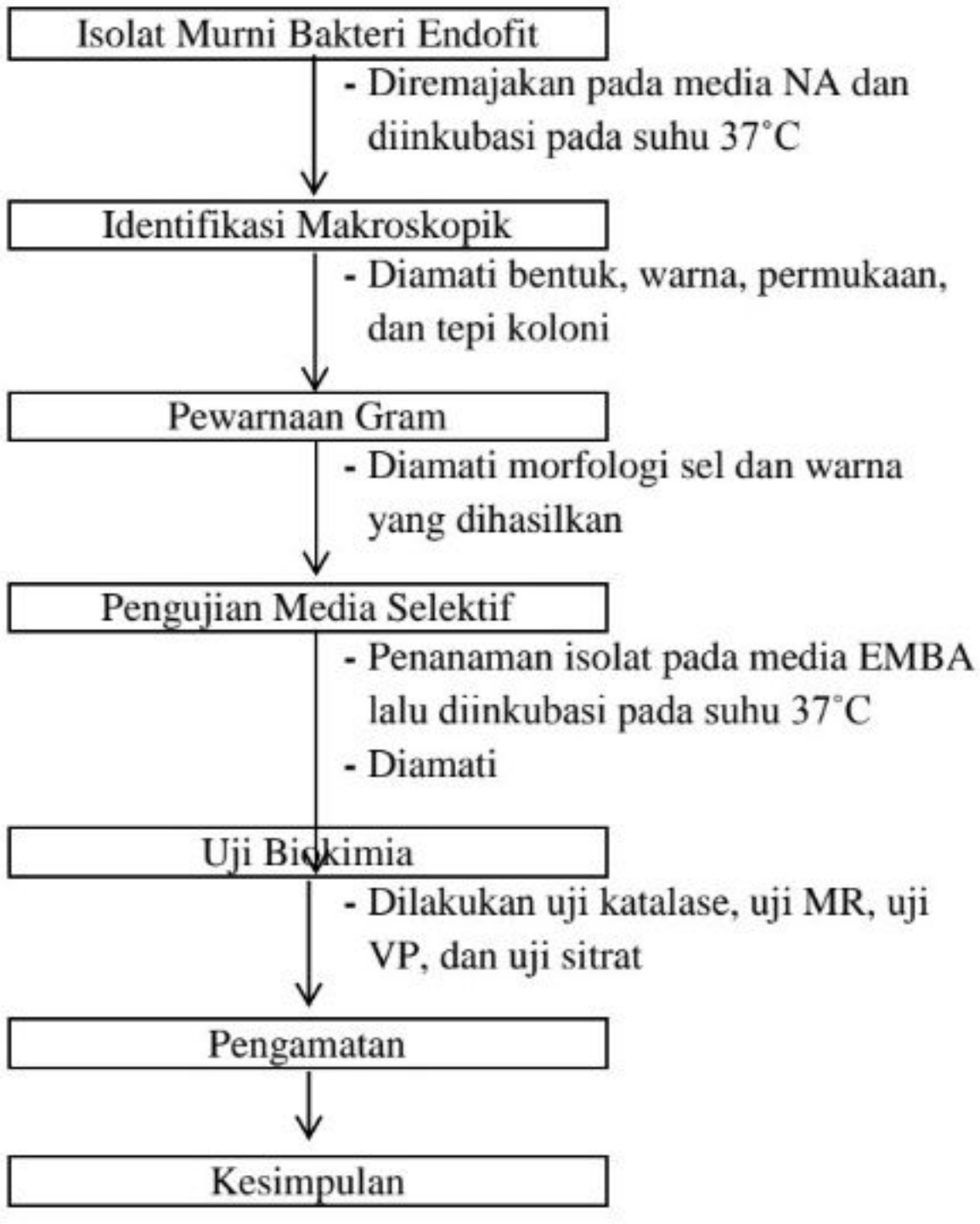
Lampiran 1. Skema Kerja Isolasi Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm.F)



Lampiran 2. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri Bakteri Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm.F) Terhadap *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Agar Menggunakan *Paper Disk*



Lampiran 3. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm.F)



Lampiran 4. Perhitungan Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Daun Awar – Awar (*Ficus septica* Burm F.)

Ekstrak = (Cawan + Isi) - (Cawan Kosong)

1. BE 1 : (40,74 g) – (40,70) = 0,04 g
2. BE 2 : (65,48 g) – (65,58) = 1 g
3. BE 3 : (60,31 g) – (60,23 g) = 0,08 g

Lampiran 4. Perhitungan Bahan

1. Isolasi Bakteri Endofit

   Untuk 400 ml Medium NA

   $\frac{400}{1000}$ ml x 20 g = 8 g

2. Pengujian Aktivitas

   a. Untuk 1.500 ml Medium NB

   $\frac{1.500}{1000}$ ml x 8 g = 12 g

   b. Untuk 300 ml Medium MHA

   $\frac{100}{1000}$ ml x 34 g = 3,4 g

4. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

   a. Media selektif (masing-masing 100 ml)

      1) Media EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*)

      $\frac{100}{1000}$ ml x 36 g = 3,6 g

   b. Uji Biokimia

      1. Uji Sitrat

      $\frac{100}{1000}$ ml x 22,5 g = 2,25 g

      2. Uji MR-VP

      $\frac{50}{1000}$ ml x 17 g = 0,85 g

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

1. Isolasi Bakteri Endofit

<table>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Gambar 1. Pengambilan Sampel Daun Awar- Awar Segar</td><td>Gambar 2. Pencucian Sampel dengan Air Mengalir</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Gambar 3. Pemotongan Sampel</td><td>Gambar 4. Streilisasi Permukaan Daun</td></tr>
</table>



Gambar 5. Penanaman Sampel Pada Media NA



Gambar 6. Bakteri endofit yang tumbuh setelah inkubasi 1x24 jam

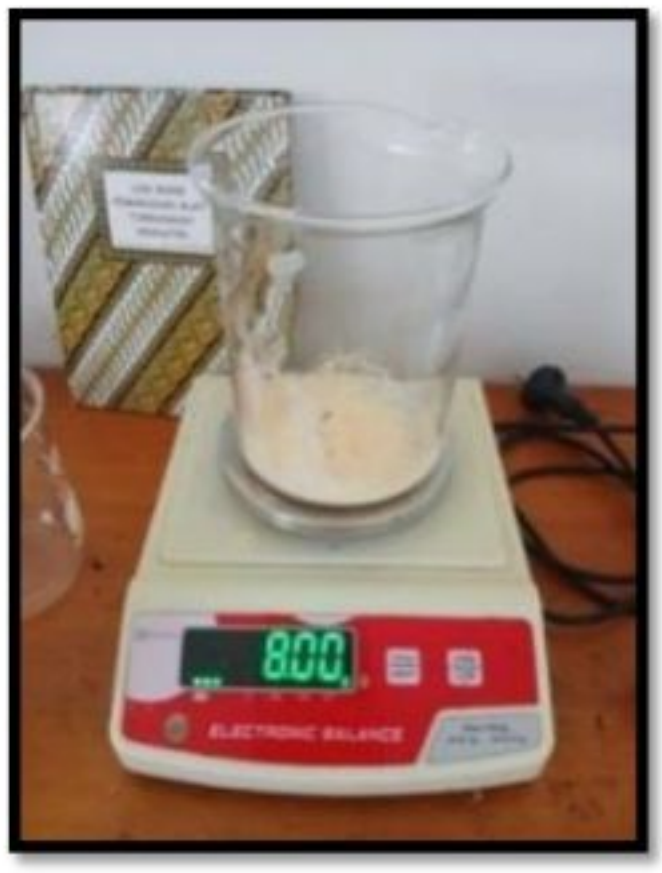


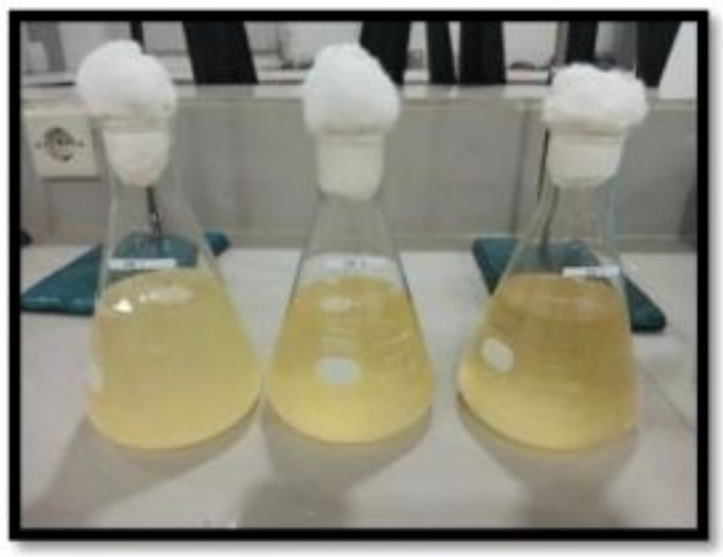
Gambar 7. Pemurnian Isolat Bakteri Endofit



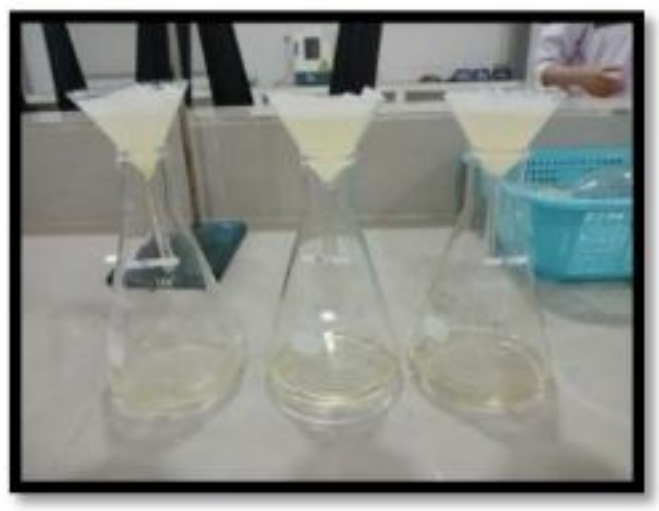
Gambar 8. Inkubasi pada suhu 37oC selama 1x24 jam

2. Fermentasi Bakteri Endofit

<table>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Gambar 1. Penimbangan Media NB</td><td>Gambar 2. Pembuatan Media NB</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Gambar 3. Pemindahan Isolat kedalam Media NB</td><td>Gambar 4. Fermentasi hari ke-1 (hari pertama)</td></tr>
</table>



Gambar 5. Fermentasi hari ke-7 (hari terakhir)



Gambar 6. Penyaringan Hasil Fermentasi



Gambar 7. Ekstraksi Etil-Asetat Hasil Fermentasi



Gambar 8. Penguapan Hasil Ekstraksi

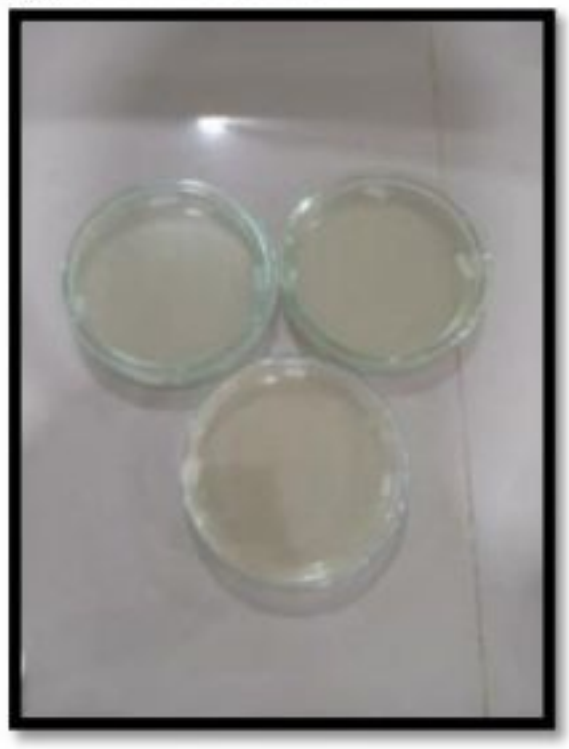


Gambar 9. Ekstrak Kental Hasil Fermentasi Isolat



Gambar 10. Ekstrak Kering Hasil Fermentasi Isolat

3. Pengujian Antibakteri



Gambar 1. Penyiapan Media MHA



Gambar 2. Peremajaan Bakteri *E. coli*



Gambar 3. Pelarutan ekstrak dengan DMSO



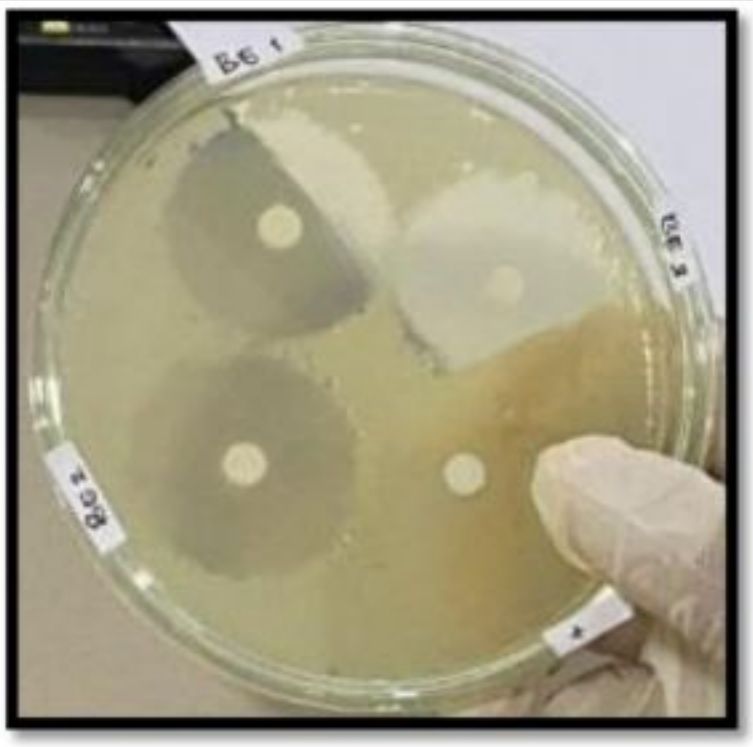
Gambar 4. Perendaman dan penirisan Paper disk



Gambar 5. Penggoresan bakteri *E. coli* pada media MHA



Gambar 6. Penanaman paper disk pada media MHA

	
Gambar 7. Pengamatan zona hambat	Gambar 8. Pengukuran diameter zona hambat

4. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Daun Awar – Awar

a. Pewarnaan Gram

	
Gambar 1. Sterilisasi kaca objek menggunakan etanol	Gambar 2. Menghomogenkan isolat bakteri diatas kaca objek



Gambar 3. Fiksasi diatas api bunsen



Gambar 4. Pewarnaan menggunakan kristal violet



Gambar 5. Pewarnaan safranin



Gambar 6. Pengamatan

b. Pengujian Media Selektif



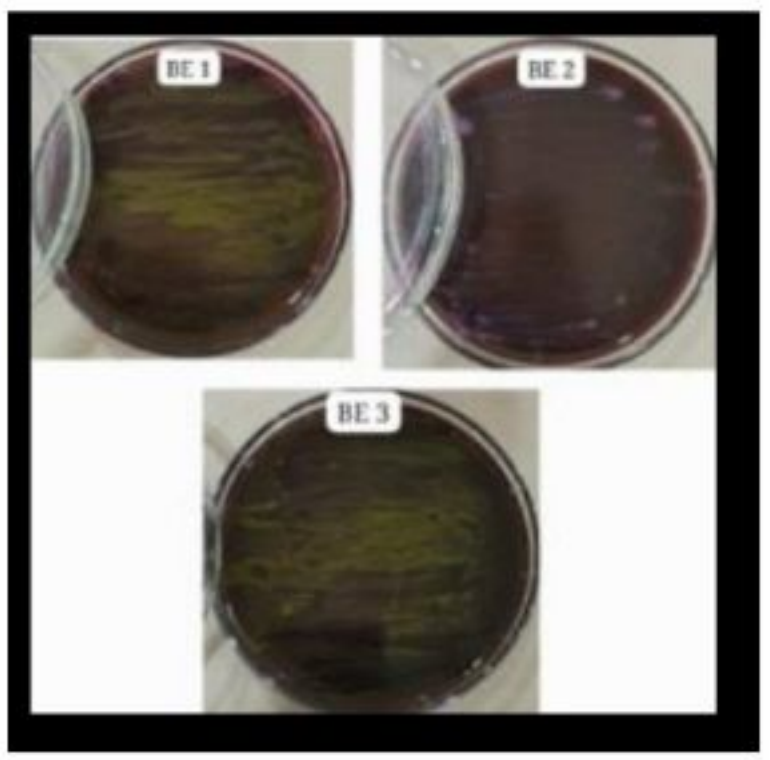
Gambar 1. Penyiapan media selektif



Gambar 2. Pembuatan media EMBA yang telah disterilka

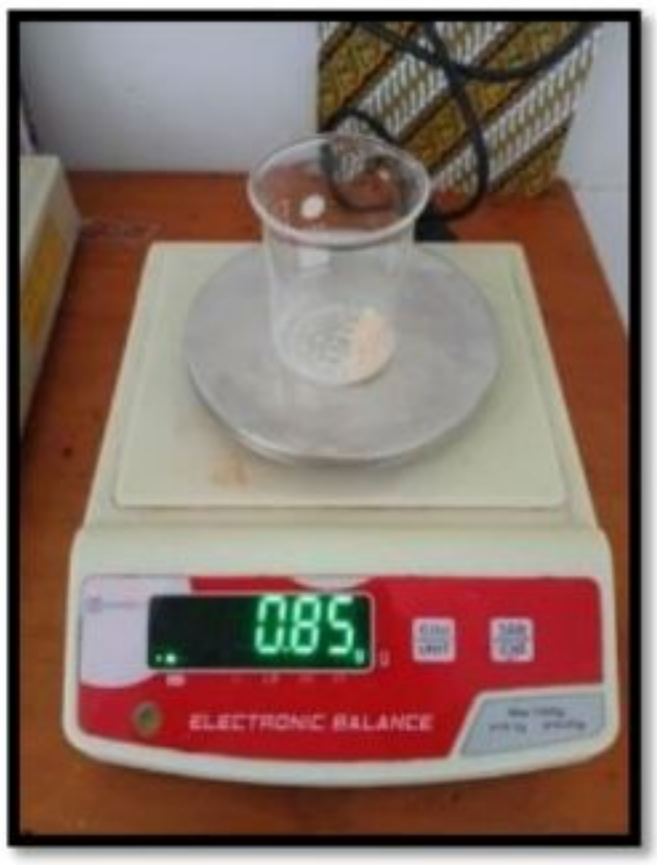


Gambar 3. Proses inkubasi pada suhu 37°C



Gambar 4. Hasil Pengamatan media EMBA

c. Uji Biokimia



Gambar 1. Penimbangan media MRVP



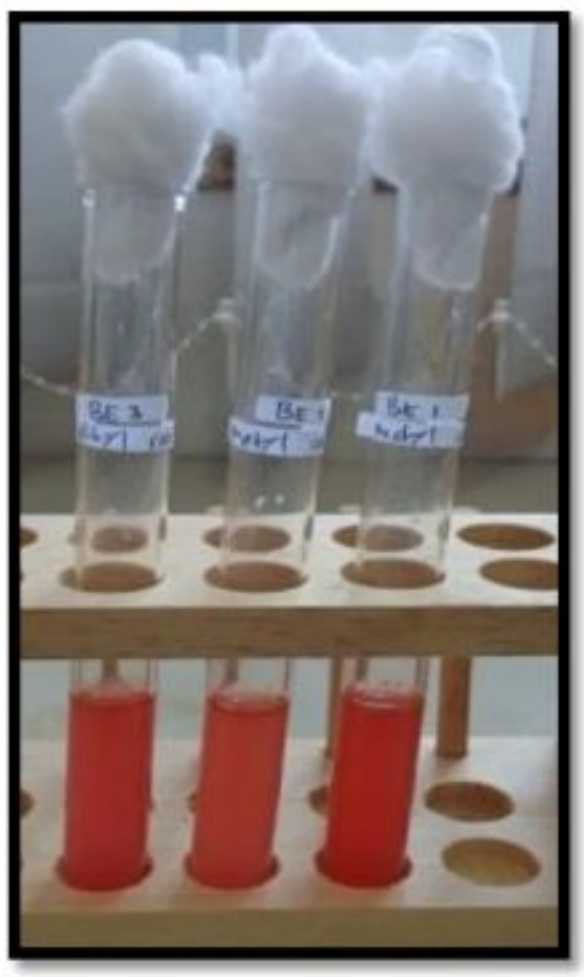
Gambar 2. Proses Uji Katalase



Gambar 3. Proses Uji MR *(Methyl Red)*



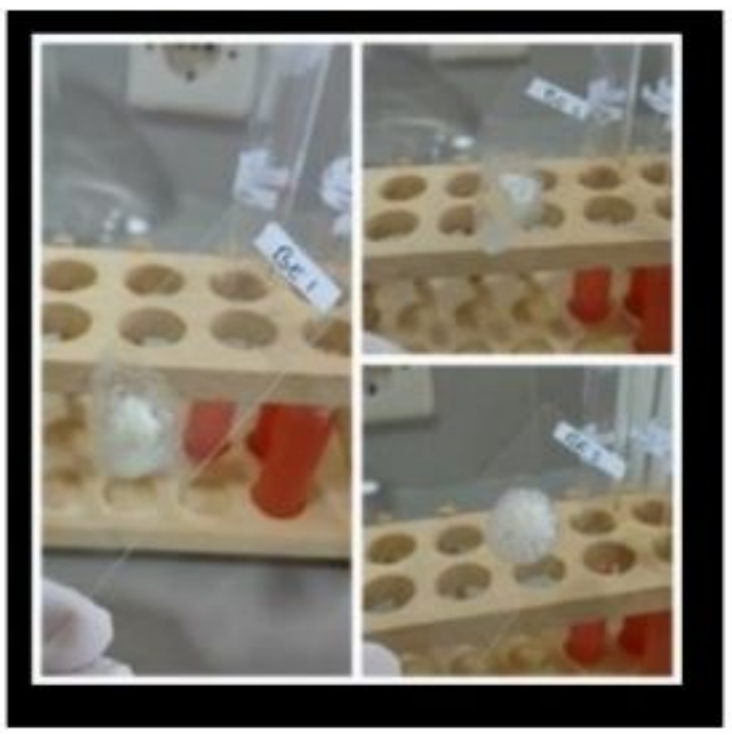
Gambar 4. Proses Uji VP *(Voges Proskauer)*



Gambar 5. Hasil Uji MR (*Methyl Red*)



Gambar 6. Hasil Uji VP (*Voges Proskauer*)



Gambar 7. Hasil Uji Katalase