

**KARAKTERISTIK MOLEKULAR BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL  
SENYAWA ANTIMIKROBA YANG DIISOLASI DARI TUMBUHAN  
ANDALEH (*Morus macroura* Miq.)**

**SKRIPSI**

*Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Sains*



**OLEH:  
RAHMAT AFIF  
15032006/2015**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

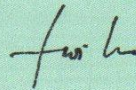
KARAKTERISTIK MOLEKULAR BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL  
SENYAWA ANTIMIKROBA YANG DIISOLASI DARI TUMBUHAN  
ANDALEH (*Morus macroua* Miq.)

Nama : Rahmat Afif  
NIM/ TM : 15032006/ 2015  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 28 Januari 2019

Disetujui oleh:

Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed.  
NIP. 19750815 200604 2 001

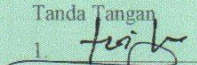

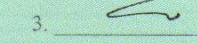
## PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan didepan Tim Penguji Skripsi  
Program Studi Biologi Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Padang

Judul : Karakteristik Molekular Bakteri Endofit Penghasil Senyawa  
Antimikroba yang Diisolasi dari Tumbuhan Andaleh  
(*Morus macroura* Miq.)  
Nama : Rahmat Affif  
NIM/TM : 15032006/2015  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institusi : Universitas Negeri Padang

Padang, 13 Februari 2019

### Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed.	1. 
2. Anggota	: Dr. H. Syamsurizal, M. Biomed	2. 
3. Anggota	: Dezi Handayani, S. Si., M. Si.	3. 

## SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rahmat Afif  
NIM/TM : 15032006/2015  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Karakteristik Molekular Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba yang Diisolasi dari Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.)**" adalah benar merupakan hasil karya sendiri, bukan hasil plagiat dari orang lain.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggungjawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 13 Februari 2019

Diketahui Oleh,  
Sekretaris Jurusan Biologi



Dr. Syamsurizal, M. Biomed.  
NIP. 19670901199203 1 003

Saya yang menyatakan,



Rahmat Afif  
NIM. 15032006

## ABSTRAK

**Rahmat Afif, 2019.** “Karakteristik Molekular Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba yang Diisolasi dari Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.)”

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu masalah serius dalam dunia kesehatan. Eksplorasi untuk mencari sumber antibiotik yang baru perlu dilakukan, salah satunya dengan memanfaatkan bakteri endofit Andaleh. Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi bakteri endofit Andaleh yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba dengan menggunakan teknik molekular.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, dilaksanakan dari bulan November 2017 - Desember 2018 di Laboratorium Penelitian Jurusan Biologi FMIPA UNP. Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode sekuensing pada gen 16S rRNA. Hasil sekuensing dianalisis secara bioinformatika.

Penelitian berhasil mengidentifikasi 11 isolat bakteri endofit Andaleh penghasil senyawa antimikroba. Hasil identifikasi menunjukkan 6 isolat teridentifikasi ke dalam genus *Bacillus* dan 5 isolat teridentifikasi ke dalam genus *Pseudomonas*. Dua dari 11 isolat belum dapat ditentukan jenisnya

***Kata Kunci: Endofit Andaleh, Identifikasi molekular, 16S rRNA.***

## KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Karakteristik Molekular Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba yang Diisolasi dari Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.)”. Shalawat beriring salam untuk arwah Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, S. Si., M. Si. sebagai ketua prodi Biologi.
2. Bapak Dr. Abdul Razak, M. Si. sebagai penasehat akademik.
3. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed. sebagai pembimbing, yang telah memberikan waktu, tenaga dan fikiran untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Syamsurizal, M. Biomed. dan Ibu Dezi Handayani, S. Si., M. Si. Tim penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.

5. Bapak/Ibu staf dosen jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
6. Keluarga yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.
7. Keluarga besar Biologi 2015 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibuk serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 27 Januari 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Bakteri Endofit Tumbuhan Andaleh Penghasil Senyawa Antimikroba .....	7
B. Teknik Identifikasi Bakteri .....	11
C. Identifikasi Molekular Menggunakan Gen 16S rRNA .....	15
D. Analisis Filogenetik .....	17
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian .....	20
B. Waktu dan Tempat .....	20



C. Alat dan Bahan.....	20
D. Prosedur Penelitian .....	21
1. Persiapan Penelitian .....	21
2. Pelaksanaan Penelitian.....	22
E. Analisis Data .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHSAN</b>	
A. Hasil .....	26
B. Pembahasan.....	32
<b>BAB V PENUTUP</b>	
A. Kesimpulan .....	39
B. Saran.....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Isolat bakteri endofit Andaleh yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba.....	12
2. Daftar Isolat Bakteri Endofit yang Digunakan pada Penelitian .....	21
3. Daftar isolat bakteri yang telah disekuensing.....	27
4. Hasil Identifikasi Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Endofit Menggunakan Program BLAST.....	29
5. Kemiripan sekuen antara isolat bakteri .....	30

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Mekanisme masuknya bakteri endofit ke dalam jaringan inang .....	8
2. Tumbuhan Andaleh .....	10
3. Konstruksi Pohon Filogenetik Metode Neighbor-Joining.....	19
4. Hasil elektroforesis produk amplifikasi Gen 16S rRNA.....	26
5. Pohon Filogenetik Bakteri yang Diisolasi dari Tumbuhan Andaleh.....	31

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram alir kerja penelitian .....	44
2. Sekuean utuh gen 16S rRNA bakteri endofit Andaleh.....	45
3. Hasil Sekuensing isolat JDM 1.1.10 <sup>-4</sup> dengan primer <i>reverse</i> .....	53
4. Hasil BLAST isolat B.J.T.A_3 dan JDT 2.1.10-6.....	55

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Peningkatan kasus infeksi mengakibatkan meningkatnya penggunaan antibiotik. Sebagian besar antibiotik yang beredar merupakan antibiotik sintetik yang rentan memicu resistensi patogen, khususnya bakteri (Sasongko, 2014). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) (2018), angka kematian manusia akibat infeksi semakin meningkat. Perkiraan yang dilakukan WHO menunjukkan bahwa lebih dari 200.000 bayi baru lahir di dunia meninggal setiap tahunnya akibat infeksi yang tidak merespon obat-obatan yang tersedia. Eksplorasi untuk mencari sumber antibiotik yang baru perlu dilakukan, salah satunya dengan memanfaatkan endofit.

Endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tumbuhan, tetapi tidak menimbulkan penyakit pada tumbuhan tersebut. Endofit umumnya berasal dari golongan bakteri dan jamur. Mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya, beberapa diantaranya mampu menghasilkan senyawa antimikroba. Kemampuan mikroba endofit menghasilkan senyawa aktif antimikroba merupakan potensi yang dapat dikembangkan, mengingat ekstraksi senyawa aktif dari tumbuhan langsung tidak efisien. Proses ekstraksi dari tumbuhan biasanya memerlukan waktu dan proses yang lebih rumit jika dibandingkan mengekstraksi dari mikroba endofit (Zulkifli, 2016, Yulianti, 2012 dan Castillo, 2003).

Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sumber bakteri endofit adalah Andaleh (*Morus macroura* Miq.). Andaleh merupakan kelompok Moraceae yang memiliki potensi sebagai tanaman obat (Yang, 2014). Penelitian mengenai Andaleh menunjukkan tumbuhan ini mengandung senyawa turunan *stilben*, yaitu *lunularin*, *oksiresveratrol*, dan *andalisin A*, bersama sama dengan satu turunan *2-arilbenzofuran*, *morasin M*, satu turunan *kumarin*, *umbelliferon*, dan  $\beta$ -*rerosilaldehid*. Beberapa senyawa aktif tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antiphlogistik, antiinflamasi, dan antibakteri (Soekamto dkk, 2003 dan Syah dkk, 2000).

Penelitian yang dilakukan Afifah (2018) berhasil mengisolasi 10 jenis bakteri dari jaringan batang Andaleh yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian lain (Putri, 2018 dan Yandila, 2018) juga berhasil mengisolasi 4 dan 8 jenis bakteri yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba (masing-masing dari jaringan daun dan akar Andaleh). Walaupun ketiga peneliti ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit dari tumbuhan Andaleh, namun aktivitas antimikroba yang dihasilkan berbeda. Penelitian Afifah (2018) menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari batang memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*S. aureus*). Hasil berbeda disampaikan (Yandila, 2018), dimana bakteri dari jaringan akar memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik untuk (*C. albican*). Sedangkan bakteri yang diisolasi dari jaringan daun (Putri, 2018), memiliki aktivitas antimikroba untuk bakteri gram positif dan jamur.

Penelitian yang dilakukan Afifah (2018), Putri (2018), dan Yandila (2018) belum dapat menentukan jenis bakteri endofit yang telah diisolasi, karena identifikasi

yang dilakukan hanya berupa pengamatan mikroskopis dan makroskopis. Menurut Bakrei (2015) dan Sakhno (2016), identifikasi jenis bakteri dapat dilakukan dengan metode konvensional dan molekular. Metode konvensional dilakukan dengan pemeriksaan karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri. Metode ini memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan tingkat sensitivitas pemeriksaan yang rendah. Mikroorganisme mampu mengubah karakteristik fisiologi dan jalur reaksi biokimia secara tiba-tiba karena perubahan lingkungan atau mutasi genetik. Identifikasi bakteri yang baik berguna untuk memudahkan dalam komunikasi ilmiah dan mempelajari karakter bakteri lebih spesifik, sehingga dapat dikembangkan menjadi penelitian yang lebih maju.

Identifikasi bakteri secara molekular dapat memberikan hasil yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Analisis gen *16S ribosomal ribonucleic acid* (rRNA) banyak digunakan untuk proses identifikasi. Gen ini sangat lestari dalam satu spesies dan antar spesies dalam satu genus yang sama (Rinanda, 2011 dan Lau *et al*, 2002). Hasil Penelitian Aobo *et al* (1995), menunjukkan sensitivitas identifikasi bakteri dengan metode molekular sebesar 92%, sedangkan dengan metode konvensional hanya 50%.

Beberapa peneliti telah melakukan indentifikasi bakteri secara molekular. Penelitian yang dilakukan oleh Nursyam (2018), berhasil mengidentifikasi bakteri endofit *Enterobacter* sp. yang di isolasi dari tanaman *Rizhopora mucronate* dari Pantai Sendangbiru, Malang, Jawa timur. Penelitian yang dilakukan oleh Sihombing (2018) juga berhasil mengidentifikasi isolat bakteri endofit *Bacillus cereus* yang di

isolasi dari sampel alga *Padiana* sp. dari Pantai Malalayang. Penelitian yang dilakukan oleh Andrila (2017) juga berhasil mengidentifikasi bakteri endofit *Acinetobacter* sp. dan *Bacillus cereus* yang diisolasi dari daun alpukat (*Persea americana*).

Analisis gen 16S rRNA dapat dilakukan dengan teknik sekuensing yang memungkinkan untuk mengidentifikasi bakteri endofit dengan cepat dan dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Sekuensing merupakan suatu metode yang bertujuan untuk mengurutkan susunan basa nitrogen suatu sampel DNA (Tasma, 2015). Data yang diperoleh dapat digunakan untuk identifikasi spesies. Saat ini telah tersedia beberapa program untuk menganalisis data hasil sekuensing diantaranya *Basic Local Alignmet Searh Tool* (BLAST) yang merupakan program untuk penjajaran dan membandingkan sekuen informasi biologi (Donkor, 2014). Dengan keberadaan program ini dapat dilakukan karakterisasi molekular, seperti mengidentifikasi spesies dan mengkontruksi pohon filogenetik, dengan mudah.

Organisme prokariotik memiliki tiga jenis rRNA, yaitu 5S, 16S, dan 23S rRNA. Molekul 5S rRNA memiliki urutan basa terlalu pendek, sehingga tidak cocok digunakan untuk analisi statistika. Sementara molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang, sehingga menyulitkan dalam proses analisisnya. Oleh karena itu, molekul 16S rRNA yang paling tepat di gunakan untuk identifikasi bakteri (Pangastuti, 2006). Urutan molekul 16S rRNA memiliki panjang sekitar 1.550 bp dan terdiri dari daerah yang memiliki urutan basa yang konservatif dan variatif (Clarridge, 2004). Daerah dengan urutan basa variatif dapat digunakan



untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies. Daerah dengan urutan basa konservatif memiliki porsi sekuen rRNA yang sama dari organisme yang memiliki jarak kekerabatan tertentu, sehingga berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik universal (Stackebrandt dan Goebel, 1994).

Analisis filogenetik merupakan salah satu karakteristik molekular yang dapat digunakan untuk melihat sejarah evolusi populasi, sebagai alat untuk memahami proses biologis atau menggambarkan hipotesis hubungan antar taksa (genus, spesies, individu) yang diilustrasikan sebagai pohon (Stackebrandt dan Goebel, 1994). Bakteri endofit dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar, batang atau daun. Selanjutnya, bakteri yang sudah berada dalam satu jaringan tanaman dapat menyebar ke jaringan dan organ lain melalui pembuluh xylem (Blanco, 2014). Dengan analisis filogenetik dapat dilihat bagaimana hubungan kekerabatan antar bakteri pada suatu tumbuhan.

Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan penelitian dengan judul “Karakteristik molekular bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.)”.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apa saja jenis bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh?

**C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui jenis bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh.
2. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang diisolasi dari tumbuhan Andaleh.

**D. Manfaat Penelitian**

1. Manfaat bagi peneliti yaitu untuk mengaplikasikan ilmu yang diperoleh selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi.
2. Menambah wawasan dan pengalaman khususnya di bidang bioteknologi.
3. Memberikan informasi jenis bakteri endofit penghasil senyawa antimikroba yang terdapat pada tumbuhan Andaleh.
4. Mengetahui bakteri yang mampu menghasilkan senyawa aktif yang bermanfaat dalam dunia pengobatan.
5. Sebagai informasi dan bahan acuan awal untuk penelitian selanjutnya.