

**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN ALPUKAT
(*Persea americana* Mill) DAN UJI KEMAMPUANNYA
MEMPRODUKSI SENYAWA ANTIMIKROBA**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**OLEH:
YULASRI WAHYUNI PUTRI
1201361/2012**

**PROGRA STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2016**

PERSETUJUAN SKRIPSI

**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN ALPUKAT
(*Persea americana* Mill) DAN UJI KEMAMPUANNYA MEMPRODUKSI
SENYAWA ANTIMIKROBA**

Nama : Yulasri Wahyuni Putri
NIM/TM : 1201361/2012
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 31 Maret 2016

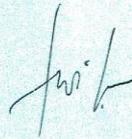
Disetujui Oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II



Drs Mades Fifendy M. Biomed
NIP. 19571130 198802 1 001



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

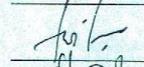
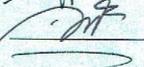
PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

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

**Judul : Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Buah Alpukat
(*Persea americana* Mill) dan Uji Kemampuannya
Memproduksi Senyawa Antimikroba**
Nama : Yulasri Wahyuni Putri
NIM : 1201361
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 12 April 2016

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Drs. Mades Fifendy, M. Biomed.	
Sekretaris	: Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.	
Anggota	: Dra. Heffi Alberida, M. Pd.	
Anggota	: Irdawati, S. Si, M. Si.	
Anggota	: Dezi Handayani, S. Si., M. Si.	

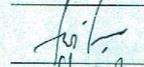
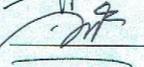
PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

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

**Judul : Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Buah Alpukat
(*Persea americana* Mill) dan Uji Kemampuannya
Memproduksi Senyawa Antimikroba**
Nama : Yulasri Wahyuni Putri
NIM : 1201361
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 12 April 2016

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Drs. Mades Fifendy, M. Biomed.	
Sekretaris	: Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.	
Anggota	: Dra. Heffi Alberida, M. Pd.	
Anggota	: Irdawati, S. Si, M. Si.	
Anggota	: Dezi Handayani, S. Si., M. Si.	



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI RI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI PADANG

Jln. Prof. Dr. Hamka, Kampus Air Tawar Barat 25131 Telp. (0751)7057420



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yulasri Wahyuni Putri
NIM/TM : 1201361/2012
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul: **“Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) dan Uji Kemampuannya Memproduksi Senyawa Antimikroba”** adalah benar merupakan hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan penuh rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, April 2016

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Azwir Anhar, M. Si.
NIP. 19561231 198803 1 009

Saya yang menyatakan,



Yulasri Wahyuni Putri
NIM. 1201361/2012

ABSTRAK

Yulasri Wahyuni Putri: Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) dan Uji Kemampuannya Memproduksi Senyawa Antimikroba.

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi karena memiliki kawasan hutan hujan tropis yang luas. Indonesia memiliki lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat. Namun dari hasil penelitian baru terdapat sekitar 300 jenis tanaman obat yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional. *Persea americana* (alpukat) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Daun Alpukat mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin yang bersifat antiradang, antidiuretika, dan antibakteri. Potensi ekstrak daun alpukat sebagai bahan antimikroba sudah dibuktikan oleh banyak peneliti pada beberapa jenis bakteri. Antimikroba merupakan metabolit sekunder yang diproduksi oleh suatu tanaman. Metabolit sekunder ternyata juga dapat diproduksi oleh mikroba endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman. Masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan jenis bakteri endofit pada daun alpukat, serta menguji potensi bakteri endofit sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *E. coli*.

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Melakukan isolasi bakteri endofit pada daun alpukat (*P. americana*) dan menguji kemampuannya memproduksi senyawa antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Mengamati morfologi koloni bakteri (bentuk makroskopis), pewarnaan Gram (mikroskopis), uji aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit dari daun alpukat.

Penelitian ini menghasilkan lima isolat bakteri endofit. Masing-masing bakteri endofit yang ditemukan dilakukan identifikasi. Hasil pewarnaan Gram dari lima bakteri didapatkan dua bakteri jenis gram positif dan tiga bakteri gram negatif. Dari bentuk sel bakteri, dua bakteri berbentuk basil dan tiga bakteri berbentuk kokus.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi tentang “Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Dan Uji Kemampuannya Memproduksi Senyawa Antimikroba”. Shalawat beriring salam untuk arwah Rasullullah Muhammad SAW junjungan umat seluruh alam.

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

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Drs. Mades Fifendy, M. Biomed., pembimbing I sekaligus sebagai penasehat akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dengan sangat sabar dalam penyelesaian skripsi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed., pembimbing II, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam penyelesaian skripsi
3. Ibu Dra. Heffi Alberida M.Pd., Ibu Irdawati S.Si, M.Si., Ibu Dezi Handayani M.Si., tim dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
4. Pimpinan Bapak dan Ibu Dosen staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
5. Keluarga yang senantiasa memberikan dukungan dan doa.

6. Serta semua rekan-rekan mahasiswa dan pihak yang telah memberikan sumbangan pikiran dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu dan rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua kalangan yang membaca.

Padang, Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN	
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Pertanyaan Penelitian	4
E. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Alpukat (<i>Persea americana</i>)	6
B. Metabolit Sekunder Tanaman Sebagai Senyawa Antimikroba ..	7
C. Bakteri Endofit	10
D. Mekanisme Antimikroba	12
E. Uji aktivitas Antimikroba	17
F. Identifikasi Bakteri	19
BAB III. METODE PENELITIAN	
A . Jenis Penelitian	21
B. Waktu dan Tempat	21
C. Alat dan Bahan	21
D. Prosedur Penelitian	22
1. Persiapan Penelitian	22
2. Pelaksanaan Penelitian	23
E. Teknik Analisis Data	28
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	29
B. Pembahasan	37
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	44
B. Saran	44

DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tahapan Pewarnaan Gram	20
2. Pengamatan Makroskopis Isolat Bakteri Endofit Daun Alpukat	31
3. Hasil Pewarnaan Gram.....	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	15
2. Uji Antibakteri Metode Difusi Agar	18
3. Uji antibakteri Metode Dilusi Cair dan Padat	18
4. Bentuk Koloni Bakteri	19
5. Pola <i>Streak Plate</i>	24
6. Cara Mengukur Zona Bening.....	28
7. Hasil Isolasi Dan Pemurnian Bakteri Endofit Daun Alpukat	29
8. Pewarnaan Gram Bakteri <i>Eschericia coli</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i>	33
9. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit Daun Alpukat Terhadap Bakteri Uji <i>Escherichia coli</i>	34
10. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit Daun Alpukat Terhadap Bakteri Uji <i>Staphylococcus epidermidis</i>	35
11. Pebandingan Aktivitas Senyawa Antimikroba Terhadap Bakteri Uji Gram Positif Dan Gram Negatif	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Supernatan	51
2. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Pelet	53
3. Diagram Alir Cara Kerja	54

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi karena memiliki kawasan hutan hujan tropis yang luas sehingga merupakan satu kelebihan dalam pencarian sumber-sumber senyawa bioaktif. Indonesia memiliki lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, namun dari hasil penelitian, baru terdata sekitar 300 jenis tumbuhan obat yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional (Hariana, 2013) .

Persea americana (alpukat) salah satu tumbuhan obat banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Buah alpukat dikonsumsi dibagianbanyak dunia dan telah terbukti memiliki sifat obat, seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering, sakit gigi, bengkak karena peradangan, dan kecing manis (Wijayakesuma, 1996). Daging buah alpukat mengandung hingga 33% minyak yang kaya akan asam lemak tak jenuh tunggal. Kandungan karotenoid dari alpukat memiliki peran penting dalam mengurangi risiko kanker. Ekstrak daun juga telah terbukti memiliki analgesik dan anti-inflamasi (Olaniran *et al.*, 2012). Daun Alpukat mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin yang bersifat antiradang, antidiuretik, dan antibakteri.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa produk metabolit sekunder berupa saponin dan flavonoid mempunyai aktivitas antifungi dan antibakteri (Wijayakusuma,2008; Mulyaningsih, 2014; Cowan, 1999).Secara invitro juga sudah dibuktikan kemampuan ekstrak beberapa bagian tanaman alpukat dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Ekstrak biji alpukat sebagai bahan antimikroba sudah dibuktikan oleh Christianto *et al* (2012). Selanjutnya potensi

ekstrak daun alpukat sebagai bahan antimikroba sudah dibuktikan oleh banyak peneliti pada beberapa jenis bakteri seperti *Mycobacterium tuberculosis* dan *Staphylococcus aureus* (Gomez, *et al.* 2008, Ismiyati dan Trilastari, 2014, Rifa, 2010). Ismiyati dan Trilestari (2014) juga menyatakan ekstrak air daun alpukat memiliki aktivitas antibakteri, yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus*.

Antimikroba merupakan metabolit sekunder yang diproduksi oleh suatu tanaman. Metabolit sekunder ternyata juga dapat diproduksi oleh mikroba endofit yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman. Masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi (Strobel and Bryn, 2003). Mikroba endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman diantaranya biji, ovula, buah, batang, akar, dan daun (Vega dkk, 2005). Keberadaan mikroba endofit tidak menyebabkan penyakit bagi tanaman (Zinnieal *et al.*, 2002).

Menurut Tan dan Zau (2005) mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan senyawa yang diproduksi oleh inangnya. Senyawa bioaktif mikroba endofit dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, anti kanker, antidiabetes, antimalaria, dan antiimunopresif. Bakteri endofit menimbulkan banyak pengaruh menguntungkan terhadap tanaman inangnya, antara lain memfiksasi nitrogen (Bashan and de-Bashan, 2005), menstimulasi pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen tanaman (Chandrashekhara *et al.*, 2007).

Eksplorasi bakteri endofit telah banyak dikaji antara lain oleh Pebriani (2015) yang memperoleh lima isolat bakteri endofit dari daun sirsak (*Annona muricata*

L), empat isolat bakteri memiliki potensi sebagai antimikroba. Sunkar (2013) memperoleh bakteri endofit *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari tanaman *Brassica oleracea* yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Klebsilla pneumonia*.

Karakterisasi bakteri endofit biasanya dilakukan terhadap identifikasi bakteri dan aktivitas antimikrobanya. Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara sederhana berdasarkan pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram dan bentuk sel. Jenis bakteri dapat diketahui dengan jelas jika dilakukan uji lanjut berupa uji biokimia dan uji molekuler (Bibiana, 1994). Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya difusi agar, *pour plate* dan metode dilusi agar (Jawetz, 2013).

Hal penting yang juga harus diperhatikan dalam ujiantibakteri adalah mekanisme kerja bahan aktif antimikroba. Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba adalah jenis dan struktur sel bakteri (termasuk jenis dinding sel bakteri). Berdasarkan dinding sel, bakteri dibedakan menjadi gram positif dan gram negatif. Penelitian yang dilakukan oleh Sunkar (2013) bahwa zat aktif yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari tanaman kubis memiliki kemampuan antibakteri lebih baik dalam menghambat bakteri gram positif dibandingkan gram negatif.

Berdasarkan studi literatur, yang dilakukan belum ditemukan penelitian tentang identifikasi bakteri endofit dari daun alpukat serta uji aktivitas antimikrobanya, maka sudah dilakukan penelitian tentang **“Isolasi Bakteri Endofit dari Daun**

Alpukat (*Persea americana* Mill) dan Uji Kemampuannya Memproduksi Senyawa Antimikroba”.

B. Rumusan Masalah

1. Belum diketahui isolat bakteri endofit yang ada pada daun alpukat (*Persea americana*).
2. Belum diketahui kemampuan aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit pada daun alpukat (*Persea americana*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *E.coli*.

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan isolat bakteri endofit dari daun alpukat.
2. Menguji potensi bakteri endofit sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *E.coli*.

D. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah terdapat bakteri endofit pada daun alpukat?
2. Apakah bakteri endofit pada daun alpukat berpotensi sebagai antimikroba untuk bakteri *S. epidermidis* dan *E.coli*?

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai berikut.

1. Memberikan informasi kepada masyarakat umum bahwa antimikroba dapat berasal dari tanaman yang terdapat di sekitar lingkungan kita.
2. Menambah khasanah ilmu dalam bidang mikrobiologi dan pemanfaatan tanaman untuk obat.

3. Sebagai informasi dan bahan acuan awal untuk penelitian selanjutnya.