

**STABILITAS SENYAWA AKTIF ANTIMIKROBA PRODUK
FERMENTASI BAKTERI ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.)
PADA BEBERAPA KONDISI SUHU PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**OLEH:
ULFI NOVIDA SARI
16032081/2016**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2020**

PERSETUJUAN SKRIPSI

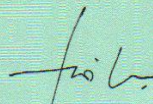
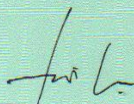
**STABILITAS SENYAWA AKTIF ANTIMIKROBA PRODUK
FERMENTASI BAKTERI ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.)
PADA BEBRAPA KONDISI SUHU PENYIMPANAN**

Nama : Ulfi Novida Sari
NIM/TM : 16032081/2016
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Januari 2020

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi

Disetujui Oleh:
Pembimbing



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

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

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Ulfi Novida Sari
NIM/TM : 16032081/ 2016
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

STABILITAS SENYAWA AKTIF ANTIMIKROBA PRODUK FERMENTASI BAKTERI ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) PADA BEBERAPA KONDISI SUHU PENYIMPANAN

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

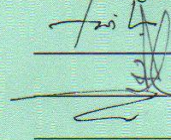
Padang, 5 Februari 2020

Tim Penguji

Nama

1. Ketua : Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
2. Anggota : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed
3. Anggota : Dezi Handayani, S.Si., M.Si

Tanda Tangan



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Ulfi Novida Sari
NIM/TM : 16032081/2016
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Pada Beberapa Kondisi Suhu Penyimpanan” adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya 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 rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, Januari 2020

Saya yang menyatakan,



Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi

A handwritten signature in black ink, likely belonging to Dr. Dwi Hilda Putri.

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

Ulfi Novida Sari
NIM. 16032081

Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (*Morus macrourea* Miq.) Pada Beberapa Kondisi Suhu Penyimpanan

Ulfi Novida Sari

ABSTRAK

Senyawa antimikroba memiliki stabilitas aktivitas yang berbeda-beda. Proses penyimpanan dapat mempengaruhi stabilitas aktivitas suatu komponen aktif. Senyawa aktif yang dihasilkan mikroorganisme dapat mengalami kerusakan jika tidak mendapat kondisi penyimpanan yang sesuai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas (*Morus macrourea* Miq.) pada beberapa kondisi suhu penyimpanan.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilaksanakan pada Mei 2019 sampai Desember 2019 di Laboratorium Penelitian Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang. Stabilitas senyawa aktif produk fermentasi dilakukan pada 4 jenis isolat bakteri Andalas yaitu isolat B.J.T.A.2.1, JDT 1B, ATB A4.1 dan ATB A10⁻⁶. Penyimpanan senyawa aktif dilakukan pada suhu -20°C, 4°C dan suhu ruang. Pengamatan dilakukan selama 5 hari dan setiap harinya dilakukan uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi cakram. Pengaruh suhu pemanasan terhadap stabilitas senyawa aktif dilakukan pada suhu 40°C, 60°C dan 80°C. Pengamatan dilakukan selama 4 jam, 8 jam dan 12 jam dan setiap jam dilakukan uji aktivitas antimikroba.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas terbaik pada penyimpanan suhu ruang dan suhu 4°C selama 4-5 hari penyimpanan. Hasil penelitian pengaruh pemaparan suhu panas terhadap stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A 2.1, JDT 1B, dan ATB A10⁻⁶ stabil pada pemaparan panas suhu 40°C selama 8-12 jam. Pemaparan panas pada suhu lebih tinggi (60°C dan 80°C) menyebabkan penurunan aktivitas senyawa aktif. Bakteri endofit isolat ATB A4.1 sensitif terhadap suhu pemanasan.

Kata Kunci: Stabilitas, Senyawa Aktif Produk Fermentasi, Penyimpanan, Suhu Pemanasan

**Stability of Antimicrobial Active Compounds of Andalas Endophytic
Bacteria Fermentation Products (*Morus macroua* Miq.) at Several Storage
Temperature Conditions**

Ulfi Novida Sari

ABSTRACT

Antimicrobial compounds have different activity stability. The storage process can affect the activity stability of an active component. Active compounds produced by microorganisms can be damaged if they do not get the appropriate storage conditions. The purpose of this study was to determine the stability of the antimicrobial active compound of Andalas endophytic bacterial fermentation products (*Morus macroua* Miq.) at several storage temperature conditions.

This research is a descriptive study carried out in May 2019 to December 2019 in the Research Laboratory of the Department of Biology FMIPA Padang State University. The stability of the active compounds of fermentation products was carried out on 4 types of Andalas bacterial isolates, namely B.J.T.A.2.1, JDT 1B, ATB A4.1 and ATB A10⁻⁶ isolates. Storage of active compounds is carried out at -20°C, 4°C and room temperature. Observations were carried out for 5 days and each day was tested for antimicrobial activity by the disk diffusion method. The effect of heating temperature on the stability of the active compound was carried out at 40°C, 60°C and 80°C. Observations were made for 4 hours, 8 hours and 12 hours and every hour was tested for antimicrobial activity.

The results showed that the stability of the best antimicrobial active compound of Andalas endophytic bacterial fermentation products at room temperature and 4°C storage for 4-5 days of storage. The results of the study of the effect of heat temperature exposure on the stability of antimicrobial active compounds of Andalas endophytic bacterial fermentation product isolates B.J.T.A.2.1, JDT 1B, and ATB A10⁻⁶ are stable at hot temperatures exposure to 40°C for 8-12 hours. Exposure to heat at higher temperatures (60°C and 80°C) causes a decrease in the activity of active compounds. Endophytic bacteria isolate ATB A4.1 is sensitive to heating temperature.

Keywords: Stability, Fermented Product Active Compounds, Storage, Heating Temperature

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Pada Beberapa Kondisi Suhu Penyimpanan”**. 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. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed, Ketua Jurusan Biologi serta pembimbing, yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed, Penasehat Akademik yang telah membimbing dan memberi nasehat serta dorongan selama proses perkuliahan.
3. Bapak Drs. Mades Fifendy, M. Biomed dan Ibu Dezi Handayani, M.Si, Tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi.
5. Kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Yusrizal BS dan Ibunda Sarni untuk do'a dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.

6. Keluarga yang senantiasa memberikan doa serta dukungan. Kepada Abang dan Kakak yang senantiasa memberikan dukungan dan do'a kepada penulis.
7. Semua teman-teman tim penelitian Andalas, terimakasih untuk semua bantuan dan dukungannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian semua, yang telah mengajarkan banyak hal pada penulis.
8. Ratih, Lauren, Mutia, Reza, Dona, Laras, Nada, Devi dan Sonya, terimakasih sudah menemani penulis dalam menjalani perkuliahan serta doa dan dukungan kepada penulis dalam proses penulisan skripsi.
9. Keluarga besar Biologi Sains 2016 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu 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, Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
SURAT PERNYATAAN	
ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
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. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri Endofit Andalas Sebagai Penghasil Senyawa Aktif.....	6
B. Fermentasi Senyawa Aktif.....	9
C. Stabilitas Senyawa.....	11
D. Uji Aktivitas Antimikroba.....	12
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	14
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
C. Alat dan Bahan.....	14
D. Prosedur Penelitian.....	15
1. Persiapan penelitian.....	15
2. Pelaksanaan Penelitian.....	17
3. Pengamatan	19
E. Analisis Data.....	22
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	23
B. Pembahasan.....	27
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	32
B. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa Antimikroba Yang Dihasilkan oleh Bakteri Endofit yang Diisolasi dari Berbagai Jenis Tumbuhan.....	7
2. Isolat Bakteri Endofit Andalas yang memiliki Potensi Baik dalam menghasilkan Senyawa Antimikroba.....	9
3. Jenis-jenis Parameter Stabilitas yang perlu diperhatikan dari Bahan Aktif Antimikroba.....	11
4. Kondisi Fermentasi Optimum masing-masing Isolat Bakteri Endofit Andalas dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba.....	18
5. Gambaran Uji Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba pada Beberapa Kondisi Suhu Penyimpanan.....	19
6. Gambaran Uji Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba pada Pemaparan Suhu Tinggi.....	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Masuknya Bakteri Endofit ke Dalam Jaringan Inang.....	6
2. Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	21
3. Diameter Zona Hambat pada Uji Presisi.....	23
4. Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas pada Penyimpanan dengan Suhu Berbeda.....	25
5. Stabilitas Senyawa Aktif Antimikroba Produk Fermentasi Bakteri Endofit Andalas pada Pemaparan Terhadap Panas.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Diameter Zona Hambat pada Uji Persisi Aktivitas Antimikroba Isolat B.J.T.A.2.1.....	39
2. Rata- rata Diameter Zona Hambat pada Uji Persisi Aktivitas Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Isolat B.J.T.A.2.1.....	40
3 Foto Diameter Zona Hambat pada Uji Persisi Aktivitas Antimikroba Isolat JDT 1B.....	41
4. Rata- rata Diameter Zona Hambat pada Uji Persisi Aktivitas Antimikroba Isolat JDT 1B.....	42
5. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1 Pada Lama Waktu dan Suhu Penyimpanan.....	43
6. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat B.J.T.A.2.1 pada Beberapa Kondisi Penyimpanan Suhu.....	44
7. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat JDT 1B pada Kondisi Suhu Penyimpanan.....	45
8. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat JDT 1B pada Beberapa Kondisi Penyimpanan Suhu.....	46
9. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat ATB A4.1 pada Lama Waktu dan Suhu Penyimpanan.....	47
10. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat ATB A4.1 pada Beberapa Kondisi Penyimpanan Suhu.....	48
11. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat ATB A10 ⁻⁶ Pada Lama Waktu dan Suhu Penyimpanan.....	49
12. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Isolat ATB A10 ⁶ pada Beberapa Kondisi Penyimpanan Suhu.....	50
13. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat B.J.T.A.2.1 pada Pemaparan Suhu Inkubator (Suhu Panas).....	51

14. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat B.J.T.A.2.1 pada Pemaparan Suhu Panas.....	52
15. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat JDT 1B pada Pemaparan Suhu Inkubator (Suhu Panas).....	53
16. Rata- rata Diameter zona hambatan (cm) aktivitas antimikroba Isolat JDT 1B pada pemaparan suhu inkubator (panas).....	54
17. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat ATB A4.1 pada Pemaparan Suhu Inkubator (Suhu Panas).....	55
18. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat ATB A 4.1 pada Pemaparan Suhu Inkubator (Panas).....	56
19. Foto Diameter Zona Hambat Produk Fermentasi Senyawa Aktif Antimikroba Bakteri Endofit Andalas Isolat ATB A10 ⁻⁶ pada Pemaparan Suhu Inkubator (Suhu Panas).....	57
20. Rata- rata Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antimikroba Isolat ATB A10 ⁻⁶ pada Pemaparan Suhu Inkubator (Panas).....	58

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Data *World Health Organization* (WHO) (2017) menyatakan infeksi merupakan salah satu penyebab kematian terbesar pada manusia. Laporan Sengupta and Chattopadhyay (2012) menyebutkan bahwa 13.300 orang meninggal akibat infeksi bakteri. Selanjutnya, menurut Kalista dkk., (2017), sebanyak 12,3% dari 91 pasien di rumah sakit mengalami prevalensi kandidiasis invasif, dengan tingkat kematian sebesar 64,8%.

Penggunaan antimikroba merupakan upaya penanggulangan penyakit infeksi. Namun, penggunaan antimikroba yang tidak rasional dapat menyebabkan mikroba patogen menjadi resisten (Refdanita dkk., 2004). Munculnya mikroba resisten menjadi salah satu penyebab utama kegagalan pengobatan penyakit infeksi (Ibrahim *et al.*, 2011).

Untuk mengatasi masalah infeksi dan resistensi mikroba, dibutuhkan suatu sumber zat antimikroba baru (Gurib-Fakim, 2006). Salah satu sumber antimikroba baru yang dapat dikembangkan adalah senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit. Penelitian yang dilakukan oleh Afifah dkk.,(2018); Putri dkk., (2018); dan Yandila (2018) berhasil mengisolasi 9 bakteri endofit dari tumbuhan Andalas (*Morus Macroura* Miq.) yang memiliki potensi baik dalam menghasilkan senyawa antimikroba (diameter zona hambat >1 cm).

Optimasi produksi senyawa aktif antimikroba dari bakteri endofit Andalas sudah dilakukan terhadap 4 jenis isolat. Penelitian yang dilakukan oleh Nafion (2019) mendapatkan kondisi optimum produksi senyawa aktif antibakteri oleh

isolat B.J.T.A.2.1 adalah pada fase stasioner (jam ke-20) menggunakan medium *Mueller Hinton* (MH) dan konsentrasi *starter* fermentasi 1%. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Rifa (2019), mendapatkan kondisi optimum fermentasi senyawa aktif antibakteri isolat JDT 1B menggunakan medium *Luria Bertani Broth* (LB_B) pada jam ke-24 dengan konsentrasi *starter* fermentasi 10%. Penelitian yang dilakukan oleh Mahjani (2019) menyatakan bahwa untuk mendapatkan senyawa antijamur terbaik dari isolat ATB A4.1 diperlukan proses fermentasi selama 32 jam dengan medium fermentasi *Nutrient Broth* (NB) dan konsentrasi *starter* fermentasi 5%. Sedangkan, menurut Anggiastanti (2019), senyawa antijamur dihasilkan secara optimum oleh isolat ATB A10⁻⁶ pada awal fase stasioner (12 jam fermentasi) menggunakan medium fermentasi *Lactose Broth* (LB) dan konsentrasi *starter* 10%.

Senyawa antimikroba memiliki stabilitas aktivitas yang berbeda-beda. Proses penyimpanan dapat mempengaruhi stabilitas aktivitas suatu komponen aktif. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan cepat mengalami kerusakan jika tidak mendapatkan penyimpanan yang baik (Kusmiati dan Priadi, 2003). Beberapa faktor yang mempengaruhi stabilitas suatu senyawa antimikroba diantaranya adalah faktor suhu, radiasi, cahaya, udara, kelembaban, pH, oksidator dan juga kandungan logam berat (Depkes RI, 1995; Davidson and Doan, 1993).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa senyawa aktif antimikroba (seperti flavonoid) memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap suhu tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Sayuti (2015) menyatakan bahwa gel ekstrak daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) mengalami penurunan stabilitas senyawa aktif dalam penyimpanan pada suhu 40°C selama 8 minggu. Menurut Ginovyan (2017),

aktivitas antimikroba ekstrak metanol tumbuhan *Agrimonia eupatoria* mengalami penurunan jika disimpan pada suhu 60°C selama 30 menit. Sebaliknya, ekstrak metanol tumbuhan *Hypericum alpestre* dapat mempertahankan aktivitas antimikroba pada penyimpanan suhu tinggi yaitu 121°C selama 30 menit. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2017) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera* L.) mengalami penurunan yang tinggi (lebih dari 50%) pada kondisi penyimpanan suhu 35°C dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu ruang dan suhu 4°C.

Pemahaman mengenai stabilitas aktivitas senyawa aktif antimikroba pada beberapa kondisi suhu juga penting dalam pelaksanaan proses ekstraksi senyawa aktif dari medium fermentasi. Salah satu teknik ekstraksi yang umum digunakan adalah metode maserasi. Tahap akhir metode maserasi biasanya diikuti dengan proses pemanasan, untuk menghilangkan pelarut, menggunakan *rotary evaporator*. Faktor suhu merupakan salah satu faktor penting dalam memperoleh ekstrak senyawa aktif yang baik menggunakan metode ini. Semakin tinggi suhu yang digunakan untuk maserasi, maka kemampuan mengekstrak senyawa aktif juga semakin meningkat. Begitu juga dalam hal menghilangkan pelarut dengan *rotary evaporator*, semakin tinggi suhu maka proses penguapan pelarut juga akan semakin cepat (Hamidah dkk., 2015). Namun, penentuan suhu pada proses ekstraksi juga harus mempertimbangkan stabilitas kandungan senyawa aktif yang dimiliki. Penelitian Daryono dkk., (2011) menyebutkan suhu terbaik dalam maserasi untuk memperoleh ekstrak yang baik adalah 40°C dalam waktu 3 jam.

Kemudian berdasarkan penelitian Fathinatullabibah dkk., (2014) menyimpulkan ekstrak daun jati stabil pada suhu 75°C.

Berdasarkan uraian tersebut, maka sudah dilakukan penelitian tentang stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas pada beberapa kondisi suhu penyimpanan.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq) pada lama waktu dan kondisi suhu penyimpanan.
2. Bagaimana pengaruh pemaparan suhu panas terhadap stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq).

C. Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah :

1. Mengetahui stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq) pada lama waktu dan suhu penyimpanan.
2. Mengetahui pengaruh pemaparan suhu panas terhadap stabilitas senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq).

D. Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah:

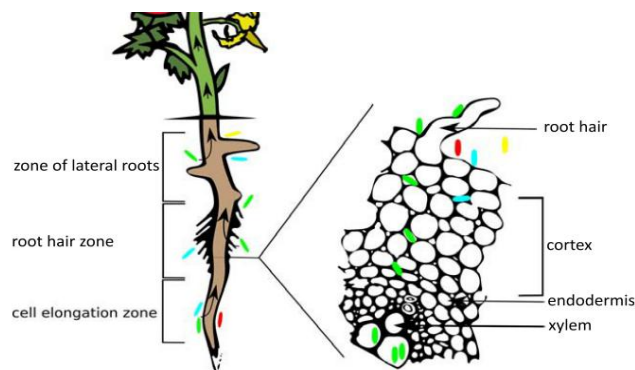
1. Menambah informasi dalam bidang mikrobiologi dan pemanfaatan tumbuhan obat.
2. Memahami proses penyimpanan yang baik untuk senyawa aktif antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.)
3. Sebagai informasi dan bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Endofit Andalas Sebagai Penghasil Senyawa Aktif Antimikroba

Bakteri endofit hidup pada jaringan tumbuhan. Bakteri endofit masuk ke jaringan melalui akar yang berkecambah, stomata, maupun jaringan yang rusak. Bakteri endofit di dalam tumbuhan dapat berkelompok pada satu titik atau tersebar keseluruh tubuh. Bakteri ini dapat berada di dalam sel, ruang antar sel, atau dalam sistem vaskular (Zinneal *et al.*, 2002).

Bakteri endofit yang sudah masuk ke dalam jaringan tumbuhan akan menembus penghalang endodermal dan menginvasi pembuluh *xylem*. Mekanisme masuknya Bakteri endofit ke dalam ruang antar sel dan korteks dapat dilihat pada Gambar 1. Bakteri endofit yang terdapat pada organ akar akan berpindah ke organ batang dan daun. Bakteri dapat bertahan dalam jaringan tumbuhan karena tersedianya nutrisi, selain itu kompetisi dengan mikroba lain juga rendah (Blanco and Ben, 2014).



Gambar 1. Mekanisme Masuknya Bakteri Endofit ke Dalam Jaringan Inang (Blanco, 2014)

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan inangnya. Potensi ini, merupakan efek dari terjadinya pertukaran materi genetik serta hubungan evolusi yang panjang. Salah satu metabolit sekunder yang dapat dihasilkan oleh bakteri endofit adalah senyawa antimikroba (Tan and Zou, 2001; Radji, 2005).

Senyawa antimikroba adalah senyawa biologis atau senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Mekanisme kerja senyawa antimikroba ada beberapa macam, yaitu merusak dinding sel mikroorganisme hingga terjadi lisis, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran nutrisi dari dalam sel, menyebabkan terjadinya denaturasi protein sel, menghambat kerja enzim, merusak molekul protein dan asam nukleat, bersifat sebagai antimetabolit, dan menghambat sintesis asam nukleat (Fardiaz, 1988). Metabolit sekunder bakteri endofit yang berpotensi sebagai antimikroba dapat digolongkan menjadi 3 kelompok besar yaitu Alkaloid, Terpenoid, dan Fenol (Tabel 1).

Tabel 1. Senyawa Antimikroba Yang Dihasilkan oleh Bakteri Endofit yang Diisolasi dari Berbagai Jenis Tumbuhan (Yu *et al.*, 2010)

No	Jenis Senyawa Antimikroba	Tumbuhan	Endofit	Mikroba Uji
1	Alkaloid	<i>Garcinia dulcis</i>	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
		<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Mucor miehei</i>
2	Fenol	<i>Cerbera manghas</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i>
		<i>Saurauia caberrinae</i>	<i>Phoma species</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	Terpenoid	<i>Casia spectabilis</i>	<i>Phomopsis Cassiae</i>	<i>Cladosporium sphaeraspermum</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>

Tanaman yang juga berpotensi sebagai sumber senyawa aktif antimikroba adalah Andalas. Kemampuan Andalas dalam menghasilkan senyawa kimia alami, menjadikan tumbuhan ini memiliki potensi sebagai obat-obatan. Beberapa jenis senyawa fenol telah ditemukan pada tumbuhan ini, seperti *morasin* B, *morasin* P, *mulberosida* C, dan *mulberofuran* (Soekamto dkk., 2003). Pada Andalas juga ditemukan beberapa jenis senyawa-senyawa turunan stilbet, seperti *oksiresveratrol*, *andalasin* A, turunan *2-arilbenzofuran*, *morasin* M, turunan kumarin, umbeliferon dan β -*resolsilaldehid* (Syah *et al.*, 2000). Hasil penelitian Hakim (2008) diketahui bahwa senyawa-senyawa *oksiresveratrol*, *andalasin* A dan *andalasin* B merupakan komponen utama dari Andalas dan senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai bahan antioksidan.

Penelitian yang dilakukan oleh Afifah (2018) berhasil mengisolasi 10 jenis bakteri dari jaringan batang Andalas yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Putri (2018) pada daun Andalas, berhasil mengisolasi 8 jenis bakteri. Selanjutnya, Yandila (2018) berhasil mengisolasi 4 jenis bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba dari akar. Walaupun ketiga peneliti ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit dari tumbuhan Andalas, namun aktivitas antimikroba yang dihasilkan berbeda. Penelitian Afifah (2018) dan Putri, (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 oleh (Yandila, 2018), dimana bakteri endofit dari jaringan akar memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik untuk (*C. albicans*). Data mengenai isolat bakteri endofit Andalas yang memiliki aktivitas yang baik dalam

menghasilkan senyawa antimikroba dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Isolat Bakteri Endofit Andalas yang memiliki Potensi Baik dalam menghasilkan Senyawa Antimikroba

Jenis Jaringan	Kode isolat bakteri endofit	Diameter zona hambat (cm) terhadap mikroba uji			Referensi
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	
Akar	ATB A4.1	0,35	-	3,85	(Yandila, 2018)
	ATB A10 ⁻⁶	0,50	-	3,50	
	B.J.T.A.2.1	0,2	1,52	-	(Afifah, 2018)
Batang	B.J.T.A.3	0,2	1,025	-	
	B.J.T.A-6	0,85	1,1	-	
	B.J.M.A.1.1	0,2	1,52	-	
Daun	D 1.1	-	0,5	1,85	(Putri, 2018)
	JD 2B	0,1	1,5	-	
	JDT 1B	0,1	1,5	-	

B. Fermentasi Senyawa Aktif

Proses fermentasi diperlukan untuk memperoleh senyawa aktif yang bakteri. Senyawa aktif tersebut dapat diperoleh dengan memperhatikan faktor-faktor penting yang mempengaruhi proses fermentasi. Adapun faktor-faktor penting yang mempengaruhi produktivitas bakteri dalam menghasilkan senyawa aktif adalah faktor nutrisi seperti sumber karbon, sumber nitrogen, garam anorganik serta faktor lingkungan seperti suhu, pH, dan waktu fermentasi (Rachman, 1989).

Secara umum, medium fermentasi menyediakan semua nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme, baik sumber karbon, sumber nitrogen, sumber garam anorganik yang nantinya sangat berperan aktif dalam proses pertumbuhan suatu mikroorganisme. Sebagian besar mikroba dapat menggunakan senyawa organik maupun senyawa anorganik sebagai sumber nitrogen (Rachman, 1989).

Berhasil tidaknya suatu fermentasi sangat ditentukan oleh kesesuaian medium dengan mikroorganisme dalam fermentasi (Wingnyanto, 2017). Banyak jenis medium yang berperan sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme seperti jenis medium sederhana dan medium kompleks. Alternatif medium lain untuk produksi senyawa aktif antimikroba adalah medium *Mueller Hinton* (MH).

Menurut penelitian yang dilakukan Nafion (2019) menyimpulkan optimasi medium terbaik untuk pertumbuhan bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 yaitu dengan medium MH.

Selain medium, konsentrasi *starter* juga berpengaruh terhadap proses fermentasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wijanarka (2010), konsentrasi *starter* terbaik yang didapatkan adalah 10%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nafion (2019), konsentrasi *starter* terbaik bakteri endofit isolat B.J.T.A.2.1 dalam menghasilkan senyawa aktif antibakteri yaitu 1% dan menurut Mahjani (2019), konsentrasi *starter* fermentasi optimum bakteri endofit Andalas isolat ATB A4.1 untuk menghasilkan senyawa antijamur adalah konsentrasi 5%.

Waktu fermentasi menjadi salah satu hal yang harus ditetapkan untuk mendapatkan produk metabolit sekunder berupa antimikroba (Sulistyani dan Narwanti, 2015). Waktu fermentasi memiliki keterkaitan dengan laju pertumbuhan mikroorganisme atau kurva pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme terbagi menjadi 4 macam fase yaitu fase lag, log (exponensial), stasioner, dan kematian (Pratiwi, 2008). Pada fase stasioner bakteri mampu menghasilkan metabolit sekunder untuk bertahan hidup pada kondisi nutrisi yang mulai berkurang. Penelitian yang dilakukan Anggiastanti (2019) menyebutkan metabolit sekunder dalam bentuk senyawa antijamur dihasilkan secara optimum pada isolat ATB A10⁻⁶ yaitu awal fase stasioner (12 jam fermentasi).

C. Stabilitas Senyawa Aktif

Stabilitas secara umum didefinisikan sebagai patokan atau tolak ukur dimana suatu produk dapat bertahan dalam batas waktu yang ditetapkan dan selama periode penyimpanan serta saat penggunaan. Stabilitas berarti suatu

kondisi dimana sifat, dan karakteristik suatu bahan sama dengan yang dimiliki pada saat produk dibuat (Depkes RI, 1995). Jenis-jenis stabilitas senyawa aktif berdasarkan kondisi yang dipertahankan sepanjang periode penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jenis-jenis Parameter Stabilitas yang perlu diperhatikan dari Bahan Aktif Antimikroba (Depkes RI,1995)

Jenis Stabilitas	Kondisi yang Dipertahankan Sepanjang Periode Penyimpanan Senyawa Aktif Antimikroba
Kimia	Tiap zat aktif mempertahankan keutuhan kimiawi dan potensi yang tertera pada etiker dalam batas yang dinyatakan
Fisika	Mempertahankan sifat fisika awal, termasuk penampilan, kesesuaian, keseragaman, disolusi dan kemampuan untuk sisuspensikan
Mikrobiologi	Zat antimikroba yang ada mempertahankan efektivitas dalam, batas yang ditetapkan
Terapi	Efek terapi tidak berubah
Toksikologi	Tidak terjadi peningkatan bermakna dalam toksisitas

Faktor yang mempengaruhi stabilitas suatu produk antimikroba adalah kondisi lingkungan seperti suhu, radiasi, cahaya, udara dan kelembaban. Selain itu faktor lain seperti pH, oksidator dan juga logam berat juga dapat mempengaruhi stabilitas aktivitas suatu senyawa (Depkes RI, 1995,. dan Davidson and Doan,1993). Faktor-faktor ini dapat bereaksi dalam meningkatkan atau menurunkan aktivitas antimikroba.

Faktor suhu sangat mempengaruhi ketahanan dari senyawa antimikroba. Ketahanan senyawa antimikroba sangat bervariasi mulai dari yang kurang peka hingga yang sangat peka terhadap suhu panas. Menurut Rahayu (1999), aktivitas antimikroba ekstrak bawang putih tetap stabil selama 48 jam jika disimpan pada suhu 37°C dan hanya stabil selama 36 jam jika suhu dinaikkan menjadi 58°C.

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa beberapa senyawa aktif antimikroba (seperti flavonoid) memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap suhu tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Sayuti (2015) menyatakan bahwa gel ekstrak daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) mengalami penurunan stabilitas senyawa aktif dalam penyimpanan pada suhu 40°C selama 8 minggu. Menurut Ginovyan (2017), aktivitas antimikroba ekstrak metanol tumbuhan *A. eupatoria* mengalami penurunan jika disimpan pada suhu 60°C selama 30 menit. Sebaliknya, ekstrak metanol tumbuhan *H. alpestre* dapat mempertahankan aktivitas antimikroba pada penyimpanan suhu 121°C selama 30 menit. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2017) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) mengalami penurunan yang tinggi (lebih dari 50%) pada kondisi penyimpanan suhu 35°C dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu ruang dan suhu 4°C.

D. Uji Aktivitas Antimikroba

Dilakukannya uji aktivitas antimikroba ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas senyawa aktif suatu mikroba dalam menghambat suatu mikroorganisme lainnya seperti jamur dan bakteri. Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi lempeng agar (*Tube Difission Test*) dan metode pengenceran (*Tube Dillution Test*). Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode difusi terbagi menjadi *disc diffusion*, *e-test*, *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*, *gradient-plate technique*. Metode *disc diffusion* digunakan dengan cara, *disc* yang berisis agen antimikroba diletakan pada media agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. *Disc diffusion*

dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) atau zona hambat yang menjadi penanda ada atau tidaknya respon penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba (Kusmayati dkk., 2007; Cavalieri *et al.*, 2005; Pratiwi, 2008).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A 2.1, JDT 1B, ATB A4.1 dan ATB A10⁻⁶ stabil selama penyimpanan pada suhu 4°C dan suhu ruang (4-5 hari penyimpanan). Penyimpanan pada suhu -20°C menyebabkan aktivitas senyawa aktif menjadi turun.
2. Senyawa aktif antimikroba produk fermentasi bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A 2.1, JDT 1B, dan ATB A10⁻⁶ stabil pada pemaparan panas sampai dengan suhu 40°C selama 8-12 jam. Pemaparan panas pada suhu lebih tinggi (60°C dan 80°C) menyebabkan penurunan aktivitas senyawa aktif. Bakteri endofit Andalas isolat ATB A4.1 tidak tahan terhadap pemaparan panas.

B. Saran

Perlu dilakukan analisis stabilitas stok kultur bakteri endofit Andalas isolat ATB A4.1 dan ATB A10⁻⁶ dalam menghasilkan senyawa aktif antimikroba pada penyimpanan jangka waktu tertentu. Selanjutnya, juga perlu dipelajari faktor-faktor lain (selain suhu) yang mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yang dihasilkan bakteri endofit Andalas.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N. (2018). *Isolasi Bakteri Endofit dari Batang Tumbuhan Andalas (Morus macroura Miq.) dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. Padang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Afifah, N., Putri, D. H., Irawati, I. (2018). Isolation and identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*, 2(1), 72-75.
- Afriyanti, E. (2019). *Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antimikroba oleh Bakteri Endofit Andalas (Morus macroura Miq.) pada Beberapa Kondisi Penyimpanan Stok Kultur*. Padang. Universitas Negeri Padang
- Anggiastanti, F. (2019). *Optimasi Kondisi Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (Morus macroura Miq.) Isolat ATB A10⁻⁶ Untuk Menghasilkan Senyawa Antijamur*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Anggreini, F. S., I. A. Okarini., N. M. S, Sukmawati. (2019). Evaluasi Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang Ditinjau dari Sifat Fisikokimia dan Mikrobiologi Susu Kambing Perahan Etawah. *Jurnal Peternakan Tropika*. 7(1), 346-355.
- Bachruddin, Z. (2014). *Teknologi Fermentasi Pada Industri Peternakan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Badjoeri, M. (2010). Preservasi Mikroba untuk Pelestarian dan Stabilitas Plasma Nutfah. *Warta Limnologi Tahun XXIII* No. 45: 19.
- Blanco, J. M. And Ben J. J. Ludtenberg. 2014. Biotechnological Applications of Bacterial Endophytes. *Current Biotechnology*, 3, 60-75.
- British Pharmacopoeia. (2009). *British Pharmacopoeia*. Volume 1 & 2. London: The British Pharmacopoeia Commission. Hal. 2091-2095, 8702-8704.
- Cavalieri, S.J., Rankin, I.D., Haebeck, R.J., Sautter, R.S., Carter, Y.S., Sharp, S.E., Ortez, J.H., Spiegel. C.A. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: American Society for Microbiology.
- Clinical and Laboratory Atandars Institute. (2009). *Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standarf. 10th ed*. Pennsylvania.
- Dahlan. (1994). Mengenal *Morus macroura* Miq. Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas* 4(15),4.

- Davidson, P.M and C.H. Doan. (1993). *Antimicrobials in Foods*. Neq York: Mercel Dekker.
- Daryono, Elvianto Dwi. (2011). *Oleosin dari Jahe Menggunakan Proses Ekstraksi dengan Pelarut Etanol*. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri. ITN, Malang.
- Depkes, RI. (1995). *Material Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fardiaz, S. (1988). *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Fathinatullabibah, Kawiji., Khasanah, Lia Umi. (2014). Stabilitas Antosianin Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis*) terhadap Perlakuan pH dan suhu. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 3(2). Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Ginovyan, M. M. (2017) Effect Of Heat Treatment On Antimicrobial Activity Of Crude Extracts Of Some Armenian Herbs. *Chair of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology YSU, ARMENIA*. 51(2),o. 113-117
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal Plants: Traditions of Yesterday and Drugs of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*, 27. 1-93.
- Hakim, E. H. (2008). Aktivitas Antioksidan dan Inhibitor Tirosinase Beberapa Stilbenoid dari Tumbuhan Moraceae dan Dipterocarpeceae yang Berpotensi untuk Bhan Kosmetik. *Jurnal Matematika dan Sains*, 13, 10.
- Hamidah, Titin, Sri Kumalaningsih, Ika Atsaru Dewi. (2015). *Pembuatan Ekstrak Oleoresin Daun Sirih (Puple betle L.) sebagai Pengawet Alami (Kajian Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi)*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Harjanti, R.S., E. Purwanti, dan Sarto. (2003). Zat Warna Kunyit (*Kurkumin*) Sebagai Indikator Titrasi Asam Basa. Prossiding Semnas Teknik Kimia Indonesia.
- Hester, L. L., Saevary, M. A., Ptak, C. J. (2014). Mutation and Selection: An Exploration of Antibiotic Resistance in *Serratian marcescens*. *Tesred Stuies for Laboratory Teaching. Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education*, 35, 140-183
- Hidayat, N., Irene Meiriniarti, Yuliana, N. (2018). *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya*. Malang: UB Press.

- Ibrahi, T.A., B. O. Opawale and J. M. A. Oyinlove. (2011). Antibacterial activity of Herbal Extracts Against Multi Drug Resistent Strains of Bacteria from Clinical Original. *Life Science Leaflets* 15: 490-498.
- Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R, F. (2010). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Certain Morus Species. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 11(12), 973-980.
- Kalista, K. F., Chen, K., Wahyuningsih, R., & Rumende, C. M. (2017). Karakteristik Klinis dan Prevalensi Pasien Kandidiasis Invasif di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo. *Journal Penyakit Dalam Indonesia*, 4(2), 56-61.
- Kumar, V and Seema, C. (2008). Mulberry: Life Enhancwe. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(10), 271-278.
- Kusmayati., Agustini, N. W. R. (2007). Uji Aktivitas Senyawa Antimikroba dari Mikroalga (*Porphyridium cruentinum*). *Biodiversitas*, 8I(1), 48-53.
- Kusmiati, K dan Priadi,D. (2003). Kriopreservasi Bakteri Selulolitik *Bacillus pumilus* dengan Krioprotektan Berbeda. *BioSMART. Journal of Biological Science*, 5(1).
- Luawo. E.F, Citraningtyas, G., Kojong, N. (2012). Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Sebagai Produk Tablet Nifedipin. *Pharmacon* 2(1): 112-118
- Machmud, M. (2001). Teknik Penyimpanan dn Pemeliharaan Mikroba. *Buletin AgroBio* 4(1), 24-32.
- Mahjani. (2019). *Optimasi Kondisi Fermentasi Bakteri Endofit Andalas (Morus macroura Miq.) Isolat ATB A4.1 untuk Produksi Senyawa Antijamur*. Padang. Universitas Negeri Padang.
- Nafion, N. (2019). *Optimasi Fermentasi Untuk Produksi Senyawa Antimikroba oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas(Morus macroura Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Najmiyati, E., Akhadi, D. H. (2012). Viabilitas dan Kinerja Konsorium Mikroba Pendegradasi Hidrokarbon Setelah Penyimpanan dalam Pendingim dan Penyimpanan Beku. *Jurnal Ecolab*, 6(2), 81-89.
- Parinussa, T. M. S. dan F. S. Rondonueu. (2009). Analisis Kandungan Karatenoid Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) pada Suhu Pemanasan yang Berbeda. Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia. 473-486.

- Pelczar, M. J and Chan, E. C. S, (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: UI Press.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Putri, M. F., Mades, F., Dwi, H. P. (2018). Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda dan Daun Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq). *EKSAKTA* 19(1), 126-130.
- Putri, M., F. (2018). *Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Tumbuhan Andaleh (Morus macroura Miq.) dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. (Skripsi), Universitas Negeri Padang, Padang.
- Rachman, A. (1989). *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Bogor: Departemen Pendidikan Kebudayaan Dirjen Dikti Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 360-368.
- Rahayu, W.P. (1999). Pengaruh Penyimpanan Bumbu Gulai terhadap Aktivitas Antimikroba pada *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 4(2):10-17.
- Rahmawati, Dwi Putri. (2017). *Pengaruh Waktu dan Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sembung (Blumea balsamifera L.)*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Refdanita, R. Maksum, A. Nurgani dan P. Endang. (2004). Pola Kepekaan Kumar terhadap Antibiotik di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati. Jakarta. *Makara Kesehatan*. 8(2): 41-48.
- Rifa, Fauzia Fitri Rezeky. (2019). *Optimsasi Kondisi Fermentasi Bakteri Endofit Andalus (Morus macroura Miq.) isolat B.J.T.A-4 dan JDT IB dalam Memhasilkan Senyawa Antibakteri*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Rismana, Eriawan. Kusumaningrum, Susi. Rodidah, Idah., dan Yulianti, Erna. (2013). Pengujian Stabilitas Sediaan Antiacne Berbahan Baku Aktif Nanopartikel Kitosan/Ekstrak Manggis-Pegagan. *Penelit Kesehatan*. 41(4): 207-216
- Seidel, V. (2006). Initial and Bulk Extraction. Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey). *Humana Press Inc*, 31-35

- Sayuti, Nutrisia Aquariushints. (2015). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2).
- Sengupta, S and Chattopadhyay, M. K. (2012). Antibiotic Resistance of Bacteria: A Global Challenge. *Resonance*, 17(2), 177-191.
- Setiaji, J., Iskandar, J., Meliya. W. 2015. Pengaruh Glisorel Pada Media Tryptic Soy Broth (TSB) terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. XXX(1), 83-91.
- Simanjuntak R., S., Baddu, T., S. Ekawati, M., Widantari, M. M., As'adi. (2008). Preservasi Beku *Aeromonas salmonicida* dengan Gliserol Dalam TSB Selama 6 Bulan. Prosiding Hasil Uji Coba Preservasi. *Pusat Karantina Ikan*, 3.
- Soekamto, N. H., Achmad. S. A., Hakim, E. H., Juliawaty, L. D., Syah, Y. M. (2003). Beberapa Senyawa Fenol dari Tumbuhan *Morus macroura* Miq. *JMS*, 8(1).
- Suhartatik, N., Karyantina, M., Mustofa, A., dkk. (2013). Stabilitas Ekstrak Antosianin Beras Ketan (*Oryza sativa* var. glutinosa) Hitan Selama Proses Pemanasan dan Penyimpanan. *Jurnal Agritech*. 33(4), 384-390.
- Sulistiyani, N dan Narwanti, I. (2015). Aktivitas Cairan Bakteri Penghasil Antibiotik (Isolat P302) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Optimasi Waktu Produksi Metabolit Sekunder. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 181-186.
- Syah, Y. M., Achmad, S. A., Ghisalberti, E. L., Iman, M. Z. N., Makmur, L., & Mujahidin, D. (2000). Andalasin A, A New Stilbene Dimer From *Morus macroura*. *Fitoterapia*, 71. 630.
- Syamsuardi, Jmsari., Jawati, S. (2005). *Diversitas Morpologis & Genetik Pohon Andalus (Morus macroura* Miq.), *Flora Identitas Sumatera Barat, dan Pemanfaatannya Secara Berkelanjutan*. Paper presented at the Improving Appre Prosiding Workshoop Ciation and Awareness On Conservation Of High Value Indigenous Wood Species of Sumatera, Pekanbaru.
- Tan. R. X and W. X. Zou. (2001). Endophyte : A rich Source of Fungsional Metabolite. *Nat. Prod, Rep.*, 18 :448-459
- Tranggono, S., Sutardi, Haryadi, A. Suparno, S. Murdiyati, K. Sudarmadji, S. Rahayu, M. Naruki, dan Astuti. (1990). Bahan Tambahan akanan (*Food Additive*). Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Wingnyanto, Nur, H. (2017). *Bioindustri*. Malang: UB Press.
- Wijanarka, W., Kusdiyantini, E., Hermin, H. (2010). Optimasi Starter dalam Memptoduksi Inulinase dan Identifikasi Khamir Inulinolitik BAN-1 dari Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* WILLD). *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 27(3), 147-152.
- Yandila, S. (2018) *Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Tumbuhan Andalus (Morus macroura Miq.) dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. Padang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Zinniel, D. K., *et al.* (2002). Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bactreria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Appliesd and Environmental Microbiology*. 2198-2208.