

**STABILITAS PRODUKSI SENYAWA AKTIF ANTIBIOTIK OLEH
BAKTERI ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) PADA
BEBERAPA FREKUENSI SUBKULTUR**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana



**OLEH:
IFFA SAKINA HAQ
15032066/2015**

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

STABILITAS PRODUKSI SENYAWA AKTIF ANTIBIOTIK OLEH
BAKTERI ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) PADA
BEBERAPA FREKUENSI SUBKULTUR

SKRIPSI

*Diajukan Kepada Tim Penguji Skripsi Jurusan Biologi Sebagai Salah Satu
Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains*



OLEH:
IFFA SAKINA HAQ
15032066/2015

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

PERSETUJUAN SKRIPSI

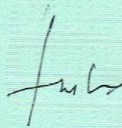
**STABILITAS PRODUKSI SENYAWA AKTIF ANTIBIOTIK OLEH BAKTERI
ENDOFIT ANDALAS (*Morus macroura* Miq.) PADA BEBERAPA FREKUENSI
SUBKULTUR**

Nama : Iffa Sakina Haq
NIM/TM : 15032066/2015
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 16 Mei 2019

Disetujui oleh:

Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.
NIP. 1950817 2006042 001

PENGESAHAN TIM PENGUJI

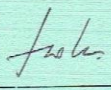
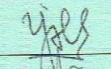
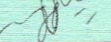
Dinyatakan Lulus Setelah Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Judul : Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik oleh
Bakteri Endofit Andalas (*Morus macrourea* Miq.) pada
Beberapa Frekuensi Subkultur
Nama : Iffa Sakina Haq
NIM/TM : 15032066/ 2015
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 16 Mei 2019

Tim Penguji

1. Ketua : Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
2. Anggota : Dr. Yuni Ahda, M.Si
3. Anggota : dr. Elsa Yuniarti, M.Biomed

1. 
2. 
3. 

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Iffa Sakina Haq

NIM/TM : 15032066/2015

Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik oleh Bakteri Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) pada Beberapa Frekuensi Subkultur” adalah benar hasil karya sendiri dan bukan hasil 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 rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, Mei 2019

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi



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

Saya yang menyatakan,



Iffa Sakina Haq
NIM. 15032066

ABSTRAK

Iffa Sakina Haq, 2019. “Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik oleh Bakteri Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) pada Beberapa Frekuensi Subkultur”

Untuk mempertahankan viabilitas bakteri selama proses pengembangan dan pemanfaatan, perlu dilakukan peremajaan bakteri melalui proses subkultur. Menarik untuk diketahui apakah aktifitas senyawa antibiotik dan stabilitas genetik bakteri endofit Andalas masih akan tetap sama ketika bakteri disubkultur berulang kali pada medium pertumbuhan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik dan stabilitas genetik oleh bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yang dilaksanakan dari bulan Desember 2018 – Maret 2019 di Laboratorium Penelitian dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA UNP. Subkultur bakteri endofit Andalas pada penelitian ini dilakukan pada isolat B.J.T.A.2.1, mulai dari *passage* ke-3 (P.3) sampai *passage* ke-25 (P.25). Subkultur dilakukan pada medium agar miring NA secara triplo. Stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi dengan teknik inokulasi titik. Uji stabilitas genetik bakteri endofit Andalas dilakukan dengan cara membandingkan sekuen 16S rRNA isolat (P.3) dengan (P.25).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik mengalami penurunan setelah dilakukan subkultur secara berulang-ulang pada *passage* ke-7. Hasil penelitian stabilitas genetik oleh bakteri endofit Andalas isolat B.J.T.A.2.1 pada beberapa frekuensi subkultur ditemukan 3 variasi nukleotida gen 16S rRNA antara kedua isolat bakteri endofit Andalas.

kata kunci: bakteri endofit Andalas, subkultur (serial passage), stabilitas

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “**Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik oleh Bakteri Endofit Andalas (*Morus Macrourea* Miq.) pada Beberapa Frekuensi Subkultur**”. 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. sebagai pembimbing, yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Yuni Ahda S.Si., M.Si., dan ibu dr. Elsa Yuniarti., M.Biomed. sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Violita, M.Si sebagai pembimbing akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam proses perkuliahan sampai selesainya perkuliahan.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta, Ibunda Afrida Herniwati dan Ayahanda Abdel Haq untuk doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis.
6. Keluarga yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.
7. Semua teman-teman di grup penelitian Andalas terutama tim kultur, terimakasih untuk semua bantuan dan dukungannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian semua, yang telah mengajarkan banyak hal pada penulis.
8. Keluarga besar Biologi 2015 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 skrikpsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 16 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vvi
DAFTAR LAMPIRAN	vvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A.Latar Belakang	1
B.Rumusan masalah	5
C.Tujuan penelitian	5
D.Manfaat penelitian	5
BAB II. KAJIAN TEORI	
A.Bakteri Endofit Andalas Penghasil Senyawa Antibiotik.....	6
B.Subkultur Bakteri dan Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik	9
C.Uji Aktivitas Antibiotik Bakteri Endofit	11
D.Analisis gen 16S rRNA	12
BAB III. METODE PENELITIAN	
A.Jenis Penelitian	16
B.Waktu dan Tempat.....	16
C.Alat dan Bahan	16
D.Prosedur Penelitian	17
1. Persiapan penelitian	17
2. Pelaksanaan penelitian.....	19
3.Pengamatan.....	20
E.Analisis data.....	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A.Hasil Penelitian.....	24
B.Pembahasan	27
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A.Kesimpulan.....	34
B.Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Cara Mengukur Diameter Zona Bening.	20
2. Stabilitas Bakteri Endofit Andalas pada Subkultur <i>Passage</i> -3 sampai <i>Passage</i> -25	24
3. Hasil Elektroforesis Produk PCR Gen 16S rRNA Bakteri Endofit Andalas: (1) Marker λ <i>Hind</i> III. (2) Isolat B.J.T.A.2.1 <i>Passage</i> ke-3. (3) Isolat B.J.T.A.2.1 <i>Passage</i> ke-25	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diameter Zona Hambat (cm) Aktivitas Antibiotik pada Beberapa Frekuensi Subkultur	40
2. Foto Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibiotik pada Beberapa Frekuensi Subkultur	41
3. Hasil Sekuensing.....	42

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi telah menyebabkan kematian lebih kurang 13 juta orang di dunia setiap tahun, terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Penggunaan antibiotik merupakan upaya dalam penanggulangan penyakit infeksi. Dalam beberapa tahun terakhir terdapat peningkatan angka resistensi terhadap antibiotik (Putra R, 2017). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) (2014), ditemukan *Staphylococcus* sp. yang resisten terhadap antibiotik *meticilin* sekitar 63% pada tahun 2009. Persentase ini meningkat menjadi 80% pada tahun 2013.

Menurut Kuntari (2017), penemuan dan pengembangan senyawa antibiotik baru akan mempengaruhi pengobatan terhadap penyakit infeksi dan memperbaiki kualitas hidup manusia. Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi untuk menemukan sumber antibiotik baru. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit.

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan inang tanpa menyebabkan gejala penyakit. Bakteri ini tidak membahayakan inangnya, bahkan bersimbiosis secara mutualisme untuk mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tumbuhan. Bakteri endofit juga dapat memproteksi tumbuhan dalam melawan serangga dan mikroba patogen (Bhore, 2010). Salah satu tumbuhan obat yang dapat dijadikan sumber bakteri endofit penghasil senyawa antibiotik adalah tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) (Dahlan, 1994). Menurut Soekamto (2003), tumbuhan Andalas mengandung beberapa senyawa fenol

seperti *morasin B*, *morasin P*, *mulberosida C*, *mulberofuran*, turunan *stilben*, *kumarin*, *umbeliferon*, *2-arilbenzofuran*, *morasin M* dan β -*resolsiladehid*. Senyawa-senyawa ini merupakan bahan aktif yang memiliki aktifitas antibiotik.

Penelitian yang dilakukan oleh Afifah (2018) berhasil mengisolasi bakteri endofit yang berasal dari batang tumbuhan Andalas sebanyak 11 isolat, dimana 10 isolat diantaranya mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Putri (2018) berhasil mengisolasi bakteri endofit yang berasal dari daun tumbuhan Andalas. Sebanyak 4 isolat bakteri endofit dari daun Andalas yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba untuk bakteri gram positif (*S. aureus*) dan jamur (*C. albicans*). Bakteri endofit dari akar tumbuhan Andalas diisolasi oleh Yandila (2018), penelitian ini berhasil mengisolasi 4 isolat bakteri endofit tumbuhan Andalas yang berpotensi menghasilkan senyawa antijamur untuk jamur (*C. albicans*).

Pengembangan senyawa aktif antibiotik dari bakteri membutuhkan proses yang panjang agar dapat diproduksi dalam skala industri. Kondisi optimum produksi membutuhkan proses optimasi yang luas dan membutuhkan waktu lama. Untuk mempertahankan viabilitas bakteri selama proses pengembangan dan pemanfaatan, perlu dilakukan peremajaan bakteri melalui proses subkultur. Subkultur merupakan proses pemindahan mikroba dari satu medium pertumbuhan ke medium baru untuk memungkinkan mikroba tumbuh dengan baik. Frekuensi subkultur yang dilakukan sering juga disebut sebagai *serial passage* (Guilfoyle *et al*, 2015).

Bakteri dapat mengalami perubahan kemampuan dalam menghasilkan senyawa antibiotik karena proses pengolahan atau penyimpanan, termasuk proses subkultur yang dilakukan. Eksperimen serial *passage* dan kaitannya dengan kestabilan sifat bakteri sudah dilakukan oleh beberapa peneliti. Menurut Torres (2010), frekuensi subkultur *M. tuberculosis* yang diamati setiap minggu selama 6 bulan di dalam media cair dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap obat yang dimodifikasi sidik jari. Efek dari frekuensi subkultur ini akan menghasilkan mutasi yang mempengaruhi karakteristik genetik dan virulensinya. Menurut Aranaz (2004), frekuensi subkultur yang dilakukan sebanyak delapan kali dapat mengurangi kemampuan bakteri untuk mensintesis dinding sel lipid *Phthiocerol Dimycocerosate* (PDIM) yang merupakan faktor virulensi *M. tuberculosis*. Hal ini tidak dapat dipulihkan karena terjadinya perubahan genetik, khususnya penghapusan pps dan operon *drr* (Domenech dan Reed, 2009).

Pengaruh frekuensi subkultur juga dapat diamati secara fisiologi. Menurut Somerville (2002), melakukan penelitian dengan mensubkultur *S. aureus* strains SA564 selama 6 minggu dan melihat aktifitas *aconitase* yang dihasilkan. Hasilnya menunjukkan bahwa aktifitas *aconitase* memiliki nilai yang bervariasi selama frekuensi subkultur, tetapi setelah satu minggu pertama nilainya berkurang secara konsisten dari strain induk. Penelitian yang dilakukan Leeds (2013), menunjukkan bahwa frekuensi subkultur (yang dilakukan sebanyak 10 kali) dapat mengubah genetik klon *C. difficile* yang selanjutnya mempengaruhi ekspresi klon tersebut. Perubahan genetik ini terjadi karena adanya akumulasi mutasi setiap proses subkultur yang dilakukan.

Belum ditemukan referensi yang menganalisis stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik oleh bakteri endofit. Namun menurut Mercado (2014), salah satu mekanisme yang digunakan untuk menjelaskan kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa aktif yang mirip dengan inangnya adalah adanya rekombinasi DNA. DNA Rekombinasi dilakukan oleh bakteri sebagai salah satu bentuk adaptasi untuk dapat bertahan hidup di dalam jaringan inang. Selanjutnya, menurut Das (2017), produksi senyawa aktif antibiotik oleh bakteri endofit dapat dipengaruhi oleh penambahan ekstrak tumbuhan asal ke dalam medium fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktifitas produksi senyawa aktif pada medium yang ditambahkan ekstrak tumbuhan dibandingkan dengan bakteri yang hanya ditumbuhkan pada medium sintetis *Nutrient Broth* (NB). Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat komponen tertentu pada ekstrak tumbuhan asal yang menginduksi kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa aktif antibiotik.

Menarik untuk diketahui apakah aktifitas senyawa antibiotik dan stabilitas genetik bakteri endofit Andalas masih akan tetap sama ketika bakteri disubkultur berulang kali pada medium pertumbuhan. Aktifitas senyawa antibiotik dapat diukur dengan metode difusi cakram. Prinsip dari metode ini adalah berdasarkan kemampuan senyawa aktif yang diuji untuk berdifusi di dalam medium agar dan menghambat pertumbuhan mikroba uji (Cos, 2006). Selanjutnya, stabilitas genetik bakteri endofit dapat diamati dari gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA adalah salah satu gen yang telah dikarakterisasi dengan baik sehingga sering digunakan sebagai dasar identifikasi mikroorganisme. Gen 16S rRNA memiliki nukleotida

sebesar 1500 bp yang terdiri dari daerah yang konservatif dan variatif. Urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menentukan terbentuknya strain baru dalam satu spesies (Clarridge, 2004).

Berdasarkan uraian di atas, sudah dilakukan penelitian dengan judul “Stabilitas Produksi Senyawa Aktif Antibiotik oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) pada Beberapa Frekuensi Subkultur”.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik oleh bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur?
2. Bagaimana stabilitas genetik bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui stabilitas produksi senyawa aktif antibiotik oleh bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur.
2. Mengetahui stabilitas genetik bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang produksi senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri endofit Andalas pada beberapa frekuensi subkultur.
2. Menambah ilmu dalam bidang mikrobiologi dan pemanfaatan tumbuhan untuk obat.
3. Sebagai informasi dan bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.