

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN
PEPAYA (*Carica papaya* L.) SERTA STUDI LITERATUR POTENSI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN**



Oleh :

**Afirotul Abidha
22164929A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2020**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN
PEPAYA (*Carica papaya* L.) SERTA STUDI LITERATUR POTENSI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

SKRIPSI
Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Famasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Oleh :

Afirotul Abidha
22164929A

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2020

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) SERTA STUDI LITERATUR POTENSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN

Oleh :

Afirotul Abidha

22164929A

Dipertahankan di hadapan Panitia Pengaji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 3 Januari 2020

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Octari, SU., MM., M.Sc.

Pembimbing Utama

A handwritten signature in blue ink.

Dr. apt. Opstaria Saptarini, S.Farm.,M.Si.

Pembimbing Pendamping

A handwritten signature in blue ink.

Desi Purwaningsih, S.Pd.,M.Si."

Pengaji skripsi :

1. Dr. Budhi Prasetyo, Ph.D
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. apt. Ghani Nurfisna Fadma Sari, M.Farm
4. Dr. apt. Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Si.

A handwritten signature in blue ink.

HALAMAN PERSEMBAHAN

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ۝ إِنَّ مَعَ يُسْرًا الْعُسْرٌ ...

Maka sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya beserta kesulitan itu ada kemudahan.

(Q.S. Al-Insyirah 94:4-5)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

Allah SWT yang telah senantiasa memberikan kemudahan untuk menyelesaikan skripsi ini.

Kedua orangtua tercinta, Bapak Azhari dan Ibu Masripah yang selalu mendoakan agar dapat menyelesaikan skripsi dengan baik dan dapat lulus tepat waktu dan untuk Kak Hasyim, Kak Khafid, Kak Rofiq, Mbak Siti, juga Kak Amar terima kasih sudah turut menyemangati.

Mas Friens Bern Hard, terima kasih untuk kalimat-kalimat ajaib yang selalu bisa menenangkan & menyemangati dari awal hingga akhir pengrajaan skripsi ini.

Diah Ayu Purbaningrum, terima kasih telah menjadi sahabat berkeluh kesah yang selalu menjadi partner terbaik mengerjakan skripsi.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skipsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juli 2020

Afirotul Abidha

KATA PENGATAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan kasih-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) SERTA STUDI LITERATUR POTENSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN” , dengan tujuan dapat memberikan tambahan ilmu terhadap kemajuan dunia pendidikan khususnya di bidang farmasi. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Desi Purwaningsih, S.Pd.,M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak Azhari, Ibu Masripah, kakak-kakak dan semua keluarga terima kasih untuk doa, dukungan dan semangat yang diberikan.
7. Teman-teman angkatan 2016 terima kasih banyak atas bantuan dan support selama ini hingga skripsi ini selesai.
8. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.

9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGATAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Pepaya	4
1. Klasifikasi tanaman pepaya	4
2. Morfologi tanaman pepaya	4
3. Kandungan kimia tanaman	5
3.1 Alkaloid	5
3.2 Steroid.....	6
3.3 Flavonoid	6

3.4 Saponin	6
3.5 Tanin	7
4. Khasiat tanaman.....	7
B. Mikroorganisme Endofit.....	7
1. Bakteri endofit	8
2. Pertumbuhan bakteri.....	8
3. Kaitan bakteri endofit dengan tanaman	9
C. Bakteri Uji.....	11
1. Morfologi dan klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	11
2. Morfologi dan klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	12
3. Morfologi dan klasifikasi <i>Salmonella thypi</i>	13
D. Fermentasi.....	13
E. Metode Uji Aktivitas Antibakteri	15
1. Metode dilusi	15
1.1 Dilusi padat atau <i>solid dilution test</i>	15
1.2 Dilusi cair atau <i>broth dilution test</i>	15
2. Metode difusi	16
2.1 <i>Ditch-plate technique</i>	16
2.2 Metode <i>disc diffusion</i> (tes Kirby Bauer).....	16
2.3 <i>Cup-plate technique</i>	16
2.4 <i>E-test</i>	16
F. Landasan Teori	17
G. Hipotesis	19
 BAB III METODE PENELITIAN.....	20
A. Populasi dan Sampel	20
1. Populasi.....	20
2. Sampel	20
B. Variabel Penelitian.....	20
1. Identifikasi Variabel Utama.....	20
2. Klasifikasi Variabel Utama.....	20
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	21
C. Alat dan Bahan.....	21
1. Alat	21
2. Bahan	22
D. Jalannya Penelitian	22
1. Determinasi Tanaman	22
2. Sterilisasi alat dan bahan	22
3. Penyiapan media pertumbuhan.....	22
4. Isolasi bakteri endofit	23
5. Uji identifikasi bakteri endofit.....	23
5.1 Uji Morfologi.....	23
5.2 Pewarnaan Gram.....	23
5.3 Uji katalase.	24
6. Uji identifikasi <i>Escherichia coli</i>	24

7.1 Uji Morfologi.....	24
7.2 Pewarnaan Gram.....	24
7.3 Uji Biokimia <i>Escherichia coli</i>	25
7. Fermentasi isolat bakteri endofit	25
8. Studi literatur uji aktivitas antibakteri	26
E. Analisis Data.....	26
F. Skema Alur Penelitian.....	27
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Determinasi Tanaman.....	29
B. Isolasi Bakteri Endofit Daun Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>)	29
C. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Daun Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>).....	33
1. Uji morfologi isolat bakteri endofit	33
2. Pewarnaan Gram isolat bakteri endofit.....	33
3. Uji katalase isolat bakteri endofit	34
D. Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	35
1. Uji morfologi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	35
2. Pewarnaan Gram <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	36
3. Uji biokimia <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	37
E. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit Daun Pepaya (<i>Carica papaya L.</i>).....	39
F. Studi literatur uji aktivitas antibakteri	41
 BAB V PENUTUP.....	48
A. Kesimpulan.....	48
B. Saran	48
 DAFTAR PUSTAKA	49
 LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Daun pepaya dan Tanaman Pepaya.....	4
Gambar 2. <i>Escherichia coli</i> (Sumber: Kunkel D. 2009).....	11
Gambar 3. Penanaman daun pepaya steril pada media	30
Gambar 4. Tidak ada pertumbuhan bakteri pada air pembilas.....	31
Gambar 5. Isolat bakteri endofit daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	32
Gambar 6. Koloni-koloni bakteri endofit daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	33
Gambar 7. Pewarnaan Gram bakteri endofit daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	34
Gambar 8. Uji katalase bakteri endofit daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	35
Gambar 9. Tampilan koloni <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 pada media EMB.....	35
Gambar 10. Pewarnaan Gram <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 perbesaran 1000X	36
Gambar 11.Uji biokimia <i>Eschericia coli</i>	37
Gambar 12. Kurva pertumbuhan bakteri endofit	40
Gambar 13. Penentuan KHM dengan metode difusi cakram.....	41

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Karakteristik morfologi Koloni bakteri endofit	33
Tabel 2. Identifikasi uji biokimia <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	37
Tabel 3. Massa metabolit sekunder bakteri endofit EC3 dari daun pepaya.	42
Tabel 4. Diameter zona hambat yang terbentuk dari isolat bakteri endofit terhadap bakteri patogen (Sumber: Eze <i>et al.</i> 2019).....	43
Tabel 5. Aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	43
Tabel 6. Aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) terhadap beberapa bakteri	45
Tabel 7. Kandungan senyawa metabolit sekunder daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	46

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Determinasi Tanaman.....	56
Lampiran 2. Daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L.)	57
Lampiran 3. Pembuatan media.....	57
Lampiran 4. Proses isolasi bakteri endofit	58
Lampiran 5. Isolasi Bakteri Endofit.....	59
Lampiran 6. Pewarnaan Gram.....	60
Lampiran 7. Uji Biokimia	61
Lampiran 8. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit.....	62
Lampiran 9. Formulasi dan pembuatan media	63

INTISARI

ABIDHA, A. 2019. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) SERTA STUDI LITERATUR POTENSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN. SKRIPSI. FAKULTAS FARMASI. UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang dapat dijadikan sumber senyawa bioaktif, bakteri ini hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa merugikan dan membahayakan tumbuhan inangnya. Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman serta ditumbuhkan dalam medium fermentasi tertentu. Fermentasi bakteri endofit dilakukan umumnya menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah pepaya (*Carica papaya* L.). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri endofit dari daun pepaya dan mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit daun pepaya dalam menghambat bakteri patogen.

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu isolasi bakteri endofit, identifikasi bakteri uji dan isolat bakteri endofit, fermentasi bakteri endofit dan uji aktivitas antibakteri yang dilakukan berdasarkan studi literatur dan *review* terhadap beberapa jurnal. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah artikel atau jurnal penelitian yang mempunyai tema isolasi bakteri endofit dari daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan uji aktivitas bakterinya dengan Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris. Artikel atau jurnal penelitian akan dieksklusi jika tidak dapat diakses secara penuh. Data dari jurnal tersebut kemudian diekstraksi menjadi beberapa bagian, yakni : peneliti, tahun penelitian, judul jurnal, subjek penelitian, dan temuan utama penelitian dan dianalisa dengan menggunakan analisa deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat diisolasi dari daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan isolat hasil fermentasi bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen sehingga bakteri endofit daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat berpotensi sebagai antibakteri.

Kata Kunci : bakteri endofit, antibakteri, bakteripatogen, daun pepaya.

ABSTRACT

ABIDHA, A. 2019. ISOLATION AND IDENTIFICATION OF THE ENDOPHYTIC BACTERIA OF PAPAYA LEAF (*Carica papaya L.*) AND LITERATURE STUDY OF POTENTIAL ANTIBACTERIAL AGAINST PATHOGENIC BACTERIA. SKRIPSI. FACULTY OF PHARMACY. SETIA BUDI UNIVERSITY OF SURAKARTA.

Endophytic bacteria are microorganisms that can be used as sources of bioactive compounds, these bacteria live in plant tissues without harming and endangering their host plants. Endophytic bacteria can be isolated from plant tissue and grown in certain fermentation media. Endophytic bacterial fermentation is carried out generally to produce the same bioactive compounds as its host plant. Several studies have shown that endophytic bacteria isolated from medicinal plants have antibacterial activity. One of the plants that have antibacterial properties is papaya (*Carica papaya L.*). This study aims to determine the antibacterial activity of papaya leaf endophytic bacterial isolates in inhibiting pathogenic bacteria.

The research was conducted in several stages, namely isolation of endophytic bacteria, testing of bacteria, and isolating of endophytic bacteria, fermentation of endophytic bacteria and antibacterial activity tests which were carried out based on literature studies and reviews of several journals. The inclusion criteria in this study were articles or research journals with the theme of isolating endophytic bacteria from papaya leaves (*Carica papaya L.*) and testing their bacterial activity in Indonesian or English. Research articles or journals will be excluded if they are not fully accessible. The data from the journal is then extracted into several sections, namely: researcher, year of study, journal title, research subject, and main research findings and analysis using descriptive analysis.

The results showed that endophytic bacteria can be isolated from papaya leaves (*Carica papaya L.*) and isolates from fermented endophytic bacteria have antibacterial activity against pathogenic bacteria so that the endophytic bacteria of papaya leaves (*Carica papaya L.*) can be potential as antibacterial.

Keywords : Endophytic bacteria, antibacterial, pathogenic bacteria, papaya leaf

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia adalah negara tropis yang kaya dengan flora dan fauna. Terdapat banyak tanaman menghasilkan metabolit sekunder yang sangat bermanfaat untuk pengobatan. Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh dari proses ekstraksi bagian tanaman, pada proses ekstraksi tersebut membutuhkan tanaman yang sangat banyak, pelarut yang cukup banyak, dan waktu yang relatif lama sehingga kurang efisien. Pengambilan tanaman obat dalam jumlah besar dan terus-menerus juga dapat memicu kepunahan. Oleh karena itu, alternatif yang dapat digunakan untuk mengurangi eksplorasi bahan alam adalah dengan pemanfaatan mikroba endofit (Zinniel *et al.* 2002).

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis dapat berupa bakteri dan jamur (Simarmata *et al.* 2007). Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman dan bersimbiosis saling menguntungkan dengan inangnya (Simarmata *et al.* 2007). Umumnya bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar, jaringan yang rusak maupun ataupun bagian tanaman lain yang terpapar udara seperti daun, bunga, dan batang (Zinniel *et al.* 2002). Bakteri endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit yang memiliki aktivitas biologis yang serupa dengan metabolit sekunder yang diproduksi inangnya (Tan & Zou 2001).

Penelitian yang mempelajari potensi mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif telah banyak dilakukan. Beberapa isolat bakteri endofit dari tanaman tertentu juga diketahui mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder dan potensinya sebagai antibakteri, beberapa diantaranya yaitu isolat bakteri endofit dari kulit batang tanaman srikaya (*Annona squamosa*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* (Zulkifli *et al.* 2018).

Isolasi bakteri endofit dari daun sirih (*Piper Betle L.*) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Sagita *et al.* 2017). Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat menjadi sumber yang menjanjikan untuk agen antimikroba.

Antimikroba dapat diperoleh dari proses fermentasi mikroba. Hal ini dilakukan untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pengendalian dilakukan dengan memperhatikan kondisi medium, komposisi medium, suplai O₂, dan waktu. Medium yang digunakan dalam fermentasi harus memenuhi syarat antara lain mengandung nutrisi untuk pertumbuhan sel bakteri, mengandung nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi bakteri, tidak mengandung zat yang dapat membahayakan pertumbuhan sel dan tidak terdapat kontaminan yang mampu meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat.

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah pepaya (*Carica papaya L.*). Daun pepaya adalah salah satu bagian dari tanaman pepaya (*Carica papaya L.*) yang secara empiris banyak digunakan sebagai obat. Seluruh bagian pepaya dari akar sampai ujung daunnya, termasuk bunga dan buahnya memiliki nilai medis yang tinggi (Tanti 2014). Di dalam daun pepaya terkandung papain (keratolitik, antimikroba) dan karpain (antibakteri), yang diduga dapat berperan sebagai senyawa aktif sediaan antijerawat (Ardina 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bakteri endofit hasil isolasi dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) dan mengetahui aktivitas antibakteri hasil fermentasi bakteri endofit dari daun pepaya tersebut terhadap bakteri patogen. Diharapkan setelah mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun pepaya dapat dikembangkan sebagai dasar obat antibakteri baru melalui penelitian lebih lanjut.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah terdapat bakteri endofit di dalam daun pepaya (*Carica papaya L.*)?

Kedua, apakah hasil fermentasi bakteri endofit dari daun pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan di atas maka tujuan dari penelitian ini yaitu :

Pertama, memperoleh bakteri endofit hasil isolasi dari daun pepaya (*Carica papaya L.*)

Kedua, mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari hasil fermentasi bakteri endofit daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri patogen.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri dari isolat hasil fermentasi bakteri endofit daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri patogen sebagai bentuk pemanfaatan bahan alam dibidang farmasi serta menambah informasi dibidang ilmu kesehatan mengenai potensi isolat bakteri endofit dari daun pepaya sebagai pertimbangan dalam pengembangan obat antibakteri.