

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



**Oleh:
Amin Dwi Astuti
23175050A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



Oleh:
Amin Dwi Astuti
23175050A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Oleh :

**Amin Dwi Astuti
23175050A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 23 Juli 2021

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. apt. RA Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing,

Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

Desi Purwaningsih, M.Si.

Penguji

1. Dr. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.
2. apt. Dra. Pudiastuti RSP, M.M.
3. apt. Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm.
4. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si.

HALAMAN PERSEMBAHAN

”Jika seseorang bepergian dengan tujuan mencari ilmu, maka Allah akan menjadikan perjalannya seperti perjalanan menuju surga”

(Nabi Muhammad SAW)

“Bila engkau tidak tahan dengan lelahnya belajar, maka engkau harus tahan menanggung perihnya kebodohan”

(Imam Syafi’i)

“Membaktikan diri kepada kedua orang tua, karena kesuksesan terbesar dalam hidup adalah mampu membahagiakan orang tua”

Dengan segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada:

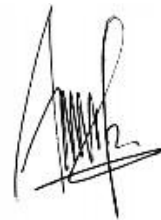
1. Allah SWT atas segala rahmat dan berkahNya.
2. Mama dan Bapak saya yang selalu mendukung saya dalam semua keadaan.
3. Seluruh keluarga besar saya yang tanpa putus selalu mendoakan dan memotivasi saya.
4. Ibu Dr. Apt. Ismi Rahmawati, M.Si. dan Ibu Desi Purwaningsih, M.Si. yang telah membantu serta memberikan masukan kepada saya sehingga tercapailah hasil karya ini.
5. Saudara sekaligus sahabat “dirumahaja” mbak nisa, tanteta, Dimas, Vicky. Tidak lupa juga dengan “seterong Girls” Mahani, Danik dan Diah terimakasih untuk waktu, semangat, dan dukungan yang kalian berikan selama mengerjakan skripsweet ini.
6. Teman setim per-mikroban saya Nia dan Martha.
7. Seluruh sahabat saya “ukhti dagelan” Dinda, Febri, Nia, Kiki, Rina, Eka, dan Faradila.
8. Seluruh teman Teori 1 2017 dan kos muslimah.
9. Untuk calon pasangan saya, semoga kita dalam keadaan sama-sama berjuang demi masa depan sampai pada akhirnya akan dipertemukan dan disatukan.

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 atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Amin Dwi Astuti', with a stylized, somewhat abstract form.

Amin Dwi Astuti

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayahNya Penulis dapat menyelesaikan Skripsi untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana Farmasi (S. Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang berjudul **“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi.

Penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat, serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, arahan, dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
5. Desi Purwaningsih., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, arahan, dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Segenap dosen dan laboran yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
7. Orang tua, seluruh saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharapkan segala saran dan kritik yang membangun dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Surakarta,

Amin Dwi Astuti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Jeruk Purut	4
1. Sistematika tanaman jeruk purut	4
2. Nama daerah jeruk purut	4
3. Morfologi jeruk purut	5
4. Kandungan kimia.....	5
5. Kegunaan tanaman jeruk purut.....	6
B. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1. Sistematika Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2. Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	7
3. Patogenesis Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	7

C. Isolasi Bakteri	7
D. Bakteri Endofit	8
E. Antibakteri	8
F. Fermentasi	9
G. Uji Aktivitas Antibakteri	10
1. Metode Uji Aktivitas Antibakteri	10
H. Antibiotik Klindamisin	11
I. Landasan Teori	11
J. Hipotesis	13
BAB III	14
METODE PENELITIAN	14
A. Populasi dan Sampel	14
1. Populasi	14
2. Sampel	14
B. Variabel Penelitian	14
1. Identifikasi Variabel Utama	14
2. Klasifikasi Variabel Utama	15
3. Definisi Operasional Variabel Utama	15
C. Alat dan Bahan	16
1. Alat	16
2. Bahan	16
D. Jalannya Penelitian	17
1. Determinasi Tanaman	17
2. Sterilisasi Alat dan Bahan	17
3. Sterilisasi Daun Jeruk Purut	17
4. Pembuatan Medium	18
5. Peremajaan Biakan Bakteri Uji	18
6. Konfirmasi Bakteri Uji	18
7. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	19
8. Isolasi Bakteri Endofit	19
9. Uji Identifikasi Bakteri Endofit	19
10. Uji Biokimia	20

11. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	22
12. Uji Aktivitas Antibakteri	22
E. Analisis Hasil	23
F. Skema Alur Penelitian	24
G. Isolasi Bakteri Endofit	25
H. Pewarnaan Gram	26
I. Uji Biokimia	27
J. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	27
K. Uji Aktivitas Antibakteri	28
BAB IV	29
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
A. Determinasi Tanaman	29
B. Isolasi Bakteri Endofit Daun Jeruk Purut	29
C. Uji Identifikasi Bakteri Endofit	31
1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopis	31
2. Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopis	31
3. Uji Biokimia pada Isolat Daun Jeruk Purut	32
4. Genus Isolat Bakteri Endofit Daun Jeruk Purut	36
D. Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	43
E. Hasil Konfirmasi Bakteri Uji <i>S. aureus</i> ATCC 25923	44
E. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	46
BAB V.....	51
KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Kesimpulan	51
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Morfologi Secara Makroskopis	31
Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopis	32
Tabel 3. Hasil Uji Biokimia pada Isolat Daun Jeruk Purut	32
Tabel 4. Hasil Karakterisasi Isolat B1.1	37
Tabel 5. Hasil Karakteristik Isolat L1.2	38
Tabel 6. Hasil Karakteristik Isolat B1(2)3	40
Tabel 7. Hasil Karakteristik Isolat B2(2)2	41
Tabel 8. Hasil Karakteristik Isolat L1(2)1	43
Tabel 9. Hasil rata-rata diameter zona hambat uji aktivitas bakteri endofit daun jeruk purut sebagai antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Citrus hystrix</i> DC.	4
Gambar 2. Bentuk koloni <i>Staphylococcus aureus</i>	6
Gambar 3. Skema Alur Penelitian.....	24
Gambar 4. Skema Isolasi Bakteri Endofit.....	25
Gambar 5. Pewarnaan Gram	26
Gambar 6. Uji Biokimia.....	27
Gambar 7. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	27
Gambar 8. Uji Aktivitas Antibakteri.....	28
Gambar 9. Bilasan Akuades Steril pada Media NA.....	30
Gambar 10. Hasil Penanaman Bakteri <i>S. aureus</i> pada Media MSA.....	44
Gambar 11. Hasil Uji Katalase Bakteri <i>S. aureus</i>	45
Gambar 12. Hasil Uji Katalase Bakteri <i>S. aureus</i>	45
Gambar 13. Hasil Pewarnaan Gram.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium	60
Lampiran 2. Pembuatan Medium	62
Lampiran 3. Hasil Determinasi	66
Lampiran 4. Pemurnian Bakteri Endofit	66
Lampiran 5. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit	67
Lampiran 6. Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit	68
Lampiran 7. Supernatan Bakteri Endofit	81
Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	81
Lampiran 9. Data SPSS	81

DAFTAR SINGKATAN

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC	<i>The American Type Culture Collection</i>
NaCl	<i>Natrium Chlorida</i>
NaClO	<i>Natrium Hipoklorit</i>
Na Citrat	<i>Natrium Citrate</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
SIM	<i>Sulfide Indol Motility</i>
KIA	<i>Kliger's Iron Agar</i>
LIA	<i>Lysine Iron Agar</i>
SCA	<i>Simons Citrate Agar</i>
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
BHI	<i>Brain Heart Infussion</i>
MSA	<i>Mannitol Salt Agar</i>
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyebab utama terjadinya angka kesakitan dan kematian di dunia adalah penyakit infeksi. Jenis penyakit yang disebabkan oleh penyakit infeksi banyak diderita oleh masyarakat di negara berkembang termasuk Indonesia. Bakteri merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi. Bakteri adalah mikroorganisme yang tidak dapat dilihat tanpa bantuan alat, tetapi hanya dapat dilihat menggunakan bantuan dari mikroskop (Radji, 2011). Salah satu bakteri yang menjadi penyebab utama penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus*.

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang menyebabkan peradangan dan memiliki sifat piogenik. Piogenik merupakan sifat bakteri dalam menghasilkan nanah pada luka dan menyebabkan infeksi. Sebagian besar bakteri *S. aureus* ditemukan di kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan pada manusia. Infeksi kulit yang disebabkan oleh *S. aureus* yaitu jerawat, bisul, selulit, radang kulit, dan impetigo (Palupi, 2016).

Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) merupakan salah satu tanaman yang paling mudah tumbuh di Indonesia. Tanaman genus *citrus* seperti jeruk purut merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri serta memiliki khasiat obat yang berpotensi sebagai antibakteri (Chutia *et al.*, 2009). Menurut Yuliani *et al.*, (2011) minyak atsiri dari daun jeruk purut memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1 dan 2%. Penelitian lain dilakukan oleh Maimunah *et al.*, (2020) ekstrak dari daun jeruk purut berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan konsentrasi ekstrak 20% merupakan konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat bakteri *S. aureus* dan memiliki zona hambat sebesar 8,3 mm. Menurut Pan *et al.*, (2009) kategori kekuatan penghambatan antibakteri diklasifikasikan menjadi 3 (tiga) kategori yaitu diameter 0-3 mm kategori respon hambatan lemah, diameter 3-6 mm kategori respon hambatan sedang, dan diameter > 6 mm kategori respon hambatan kuat.

Salah satu cara dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yaitu memanfaatkan mikroba endofit yang hidup dalam jaringan tanaman (Zakiyah *et al.*, 2015). Keunggulan dari pemanfaatan mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa aktif, antara lain kecepatan produksi yang cepat, kualitas yang konsisten, produksi dalam jumlah yang besar, dan kemungkinan diperoleh bahan aktif biologis baru dengan memberikan kondisi yang berbeda (Intan, 2013). Bakteri endofit merupakan salah satu sumber bahan baku obat yang dikenal mampu menghasilkan senyawa bioaktif (metabolit sekunder) dalam menghasilkan efek antibiotik atau antibakteri (Putri *et al.*, 2016).

Hubungan antara senyawa metabolit sekunder bakteri endofit dan metabolit sekunder dari tanaman inang bukan merupakan hubungan patogenesis melainkan hubungan yang saling menguntungkan karena bakteri endofit mempunyai potensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya karena diduga adanya transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit (Dwiyana, 2016). Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Yuniarti, 2017) berdasarkan hasil uji fitokimia, bahwa golongan senyawa metabolit sekunder dalam isolat fungi endofit daun sirsak adalah alkaloid dan saponin. Hal ini juga dibuktikan oleh (Rahman, 2017) bahwa ekstrak etanol dari daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan alkaloid. Penelitian lain yang dilakukan oleh Masfufah dan Jayuska (2019), hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa supernatan hasil fermentasi isolat bakteri endofit daun tanaman sukun positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid dan saponin. Hal ini dibuktikan oleh (Maharani *et al.*, 2014) bahwa hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun sukun kering mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, fenol dan saponin. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan memiliki senyawa yang sama dengan senyawa metabolit sekunder dari tanaman inang.

Beberapa penelitian telah melakukan pengujian isolat bakteri endofit yang diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri, diantaranya yaitu isolat bakteri endofit

daun sirih memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *S. aureus* (Sagita *et al.*, 2017), isolasi, identifikasi dan aktivitas bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *S. aureus* (Utami, 2017). Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa bakteri endofit yang dihasilkan dapat menjadi obat alternatif non kimiawi pengganti antibiotik yang menjanjikan.

Berdasarkan latar belakang dan penelitian tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya bakteri endofit hasil isolasi dari tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dan mengetahui adanya aktivitas antibakteri hasil isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 sehingga diharapkan dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut sebagai dasar obat antibakteri.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apa genus isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)?

Kedua, apakah isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, manakah isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang paling berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui genus isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.).

Kedua, mengetahui adanya aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui adanya aktivitas antibakteri yang paling berpotensi yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang diharapkan yaitu dapat dijadikan acuan dalam penelitian dimasa mendatang dan memberikan wawasan, manfaat dan informasi kepada industri, mahasiswa dan peneliti khususnya di bidang mikrobiologi, bahan alam dan ilmu kesehatan mengenai potensi isolat bakteri endofit dari daun jeruk purut dalam pengembangan obat sebagai antibakteri.