

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Komposisi Media

#### 1. *Medium Nutrient Agar* (NA) (Laskar dan Harlis, 2013)

- ✓ Beef extract            3 g
- ✓ Bacto pepton            5 g
- ✓ Agar                        15 g
- ✓ Akuadest ad            1000 ml

#### 2. *Sulfida Indol Motility* (SIM) (Laskar dan Harlis, 2013)

- ✓ Peptone                    30 g
- ✓ Meat extract            3 g
- ✓ Amonium sulfat        0,2 g
- ✓ Sodium tiosulfat      0,025 g
- ✓ Agar                        3 g
- ✓ Akuadest ad            1000 ml

#### 3. *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Naibaho, 2019)

- ✓ Powder                    1 g
- ✓ Pepton                    10 g
- ✓ Sodium chloride        75 g
- ✓ Mannitol                  10 g
- ✓ PHenol red              0,025 g
- ✓ Agar                        15 g
- ✓ Akuadest ad            1000 ml

#### 4. *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid, 2016)

- ✓ Infusion solids            12,5 g
- ✓ Beef heart infusion solids 5 g
- ✓ Proteose pepon            10 g
- ✓ Glucose                    2 g
- ✓ Sodium chloride            5
- ✓ Disodium phosphate      2,5 g
- ✓ PH 7,2 ± 0,2

**5. *Mueller Hinton Agar (MHA) (Pratiwi, 2017)***

✓ Beef extract	2 g
✓ Acids Hydrolysate of casein	17,5 g
✓ Starch	1,5 g
✓ Agar	17 g
✓ Akuadest ad	1000 ml

**6. *Kligler Iron Agar (KIA) (Tankeshwar, 2019)***

✓ Beef extract	3 g
✓ Ekstrak ragi	3 g
✓ pepton	15 g
✓ Proteose peptone	5 g
✓ Laktosa	10 g
✓ Glukosa	1 g
✓ Ferrous sulfate	0,2 g
✓ Natrium klorida	5 g
✓ Natrium tiosulfat	0,3 g
✓ Agar	12 g
✓ PHenol red	0,024 g
✓ Akuadest ad	1000 ml
✓ ph	7,4

**7. *Lysine Iron Agar (LIA) (Diana, 2018)***

✓ Pepton	5 g
✓ Ekstrak khamir	3 g
✓ Dekstrosa	1 g
✓ Lysine	10 g
✓ Ferric Ammonium Citrat	0,5 g
✓ Natrium tiosulfat	0,04 g
✓ Brom cresol purple	0,02 g
✓ Agar	15 g
✓ Akuadest ad	1000 ml

### 8. *Simon Citrat Agar (SCA) (Laskar dan Harlis, 2013)*

✓ Ammonium dihydrogen phospat	1 g
✓ di-Potassium hydrogen phospat	1 g
✓ Sodium klorida	5 g
✓ Sodium citrat	2 g
✓ Magnesium sulfat	0,2 g
✓ Bromothymol blue	0,08 g
✓ Agar	15 g
✓ Akuadest ad	1000 ml

### 9. *Media gula-gula*

✓ Ekstrak daging	3 g
✓ Pepton	5 g
✓ Aquades	1 ml
✓ Karbohidrat (gula)	5 g
✓ <i>Phenol red</i> 1%	1 ml
✓ Akuades	1000 ml

## Lampiran 2. Pembuatan Media

### 1. *Media NA*

Media ditimbang sebanyak 20 Gram dan dilarutkan 1 liter akuades pada Erlenmeyer. Medium dipanaskan dengan *hot plate* sambil diaduk hingga mendidih dan bening serta ditutup dengan kapas steril dan aluminium foil. Setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15-20 menit pada suhu 121° C. Kemudian, medium dituang ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml dan tabung reaksi sebanyak 5 ml.

### 2. *Media MHA (Muller Hinton Agar)*

Media MHA (Muller Hinton Agar) dibuat dengan menimbang sejumlah 38 g sesuai dengan komposisi pada kemasan, kemudian dilarutkan dalam 1 L akuades, bila perlu dengan bantuan pemanasan. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Media MHA dituangkan pada cawan petri steril,

didiamkan pada suhu kamar hingga memadat. Kemudian disimpan pada suhu 4°C (di dalam lemari es) (Utomo, S. B., *et al* 2018).

### **3. Media MSA (*Manitol Sharpe Agar*)**

Media MSA ditimbang sebanyak 38 g kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15-20 menit (Naibaho, 2019).

### **4. Media BHI (*Brain Heart Infusion*)**

Media BHI ditimbang sebanyak 4,44 Gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 120 ml, kemudian ukur PH dengan indikator PH  $7,4 \pm 0,2$ . Media dipanaskan sampai larut, lalu disterilisasi dengan autoclave dengan suhu 121 selama 15 menit (Yunus *et al.*, 2017).

### **5. Media SIM (*Sulfur Indol Motility*)**

Media SIM digunakan untuk mengetahui pembentukan H<sub>2</sub>S dan indol pada media dengan munculnya cincin merah, dan motility (gerak) keruh dari bakteri. Media SIM ditimbang sebanyak 1,05 Gram lalu dilarutkan ke dalam akuadest sebanyak 35 ml. Sebelumnya, diatur PH akuadest untuk menghindari kesalahan pembuatan media khususnya media SIM. PH akuadest untuk media SIM adalah 7,3. Media dituang kedalam tabung masing-masing 2 ml, kemudian media disterilkan ke dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121° C (Utami, 2017).

### **6. Media KIA**

Media KIA ditimbang 5,5 Gram kemudian dilarutkan dengan akuadest sebanyak 100 ml ke dalam Erlenmeyer, selanjutnya dicampur hingga homogen. Sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121° C selama 15-20 menit. Masukkan ke dalam tabung steril sebanyak 6 ml per tabung. Meletakkan dalam keadaan miring, tunggu sampai beku kemudian disimpan di lemari es (Tankeshwar, 2019).

### **7. Media LIA**

Media LIA ditimbang sebanyak 3,2 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 100 ml akuades pada media dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih. Media disterilkan dengan autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°

C. media sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi miring, kemudian dimasukkan ke dalam lemari es (Anggraini *et al.*, 2016).


#### **8. Media *Simon Citrat Agar* (SCA)**

Sebanyak 22,5 Gram *Simon Citrat Agar* (SCA) dilarutkan dalam 1 L akuadest, dididihkan menggunakan *hotplate*, dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15-20 menit (Kurniawati, 2012).

#### **9. Media gula-gula**

Sebanyak 3 g ekstrak daging, 5 g pepton, 1 ml *phenol red* 1% dicampur secara homogen kemudian ditambahkan 5 g/l masing-masing gula ke dalam media yang telah homogen, Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15-20 menit.

### Lampiran 3. Hasil Determinasi kulit batang kayu manis



**UNIVERSITAS  
SETIA BUDI**

**UPT-LABORATORIUM**

Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp. 0271-852518, Fax. 0271-853275

---

Nomor : 138/DET/UPT-LAB/23.02.2021  
Hal : Hasil determinasi tumbuhan  
Lamp. : -

Nama Pemesan : Nia Aisyah  
NIM : 23175060A  
Program Studi : S1 Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta  
Nama Sampel : *Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl./Kayu manis

**HASIL DETERMINASI TUMBUHAN**

**Klasifikasi**

Kingdom : Plantae  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida/Dicotyledoneae  
Ordo : Polycarpicae  
Famili : Lauraceae  
Genus : *Cinnamomum*  
Species : *Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink Jr. (1963) :  
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b  
– 26b – 27a – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811b – 825b –  
826b – 827c – 828c – 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834a – 835a – 836a – 837c – 851a  
– 852b – 853b – 854a – 855c – 856a – 857a – 858a – 859b. familia 12. Lauraceae. 1b – 2b –  
6b – 8b. *Cinnamomum*. 1a – 2b – 5a – 6b. *Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.

Deskripsi:

- Habitus : Pohon, menahun, tinggi 10 – 15 meter.
- Batang : Percabangan monopodial, tegak, berkayu, hijau kecoklatan.
- Daun : Daun tunggal, bangun lanset, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, tulang daun melengkung, permukaan atas halus, berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, berambut, bila diremas bau khas kayu manis.
- Bunga : Bunga majemuk, malai, tumbuh di ketiak daun, berwarna kuning.
- Buah : Buah buni, panjang lk 1 cm, waktu masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna hitam.
- Akar : Sistem akar tunggang.

Kepala UPT-LAB  
Universitas Setia Budi

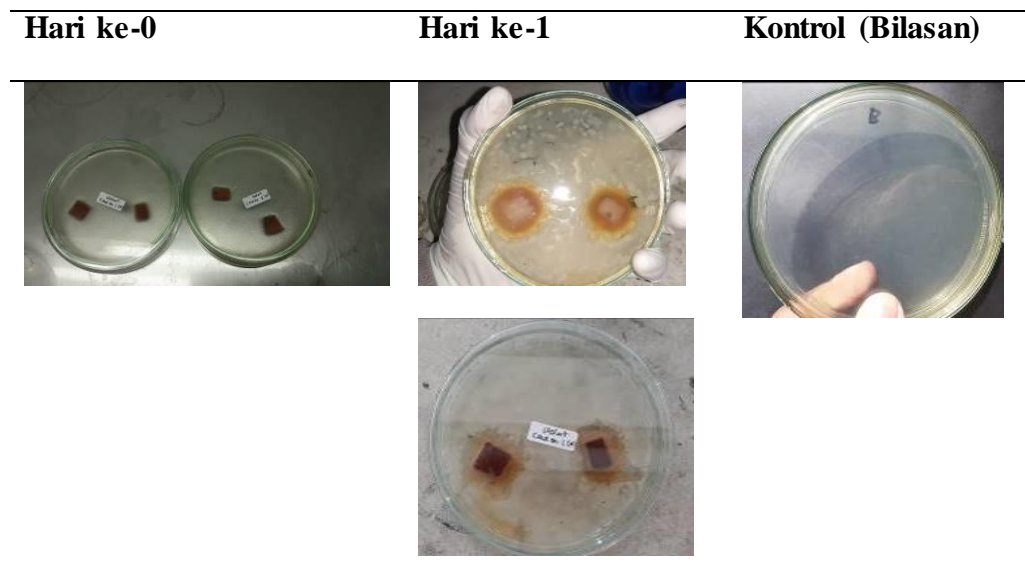
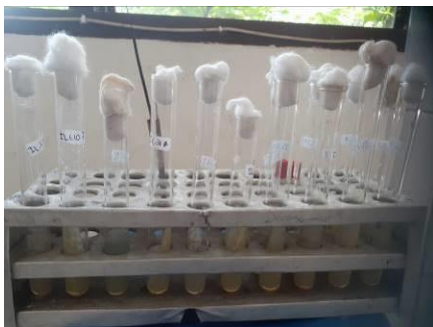


Asik Gunawan, Amdk

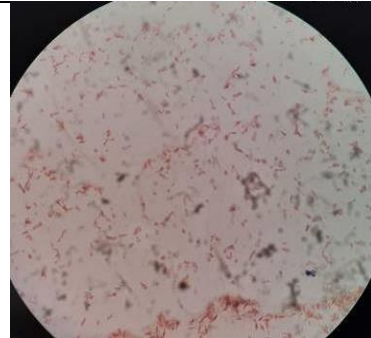
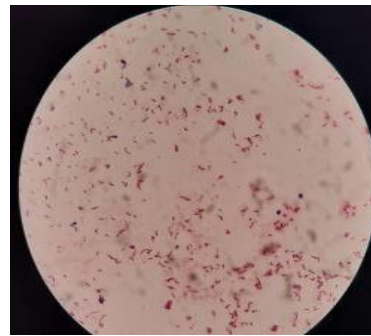
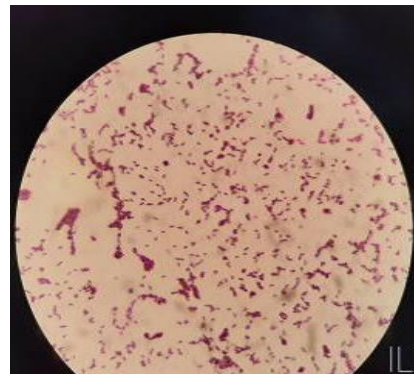
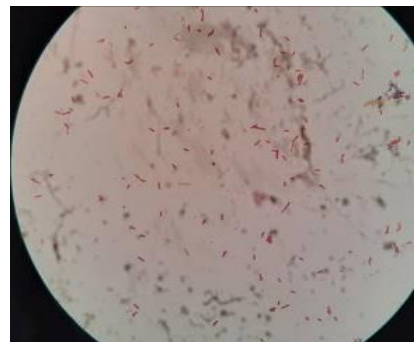
Surakarta, 23 Februari 2021  
Penanggung jawab  
Determinasi Tumbuhan

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke.

Dra. Dewi Sulistyawati. M.Sc.

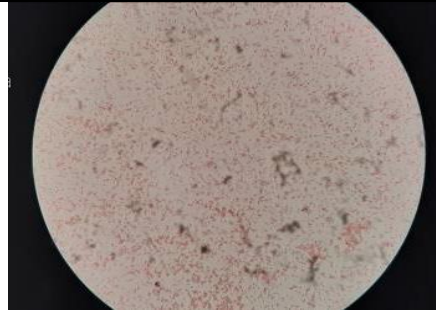
**Lampiran 4. Isolasi bakteri Endofit****Lampiran 5. Pemurnian bakteri endofit****Lampiran 6. Peremajaan Bakteri Endofit**



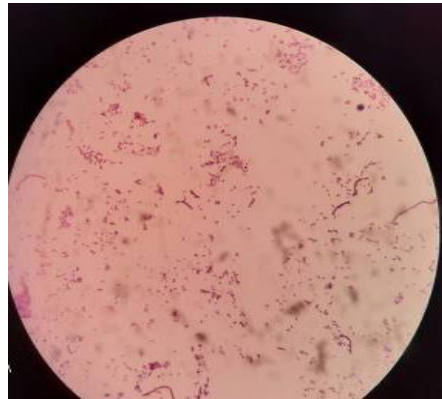
**Lampiran 7. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit****Isolat IL2.1 (Genus Serratia)****Isolat IL1.1A (Genus Bacillus)****Isolat IL1.2A (Genus Bacillus)****Isolat IL1.8 (Genus Pseudomonas)**

---

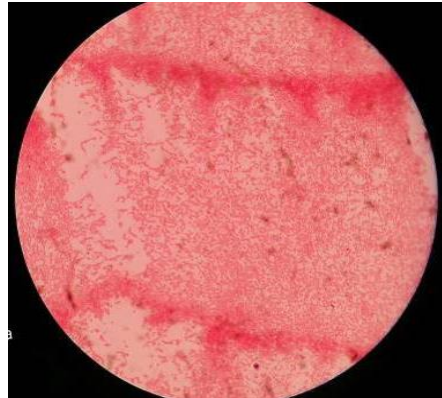
**Isolat IL2.2 (Genus Enterobacter)**



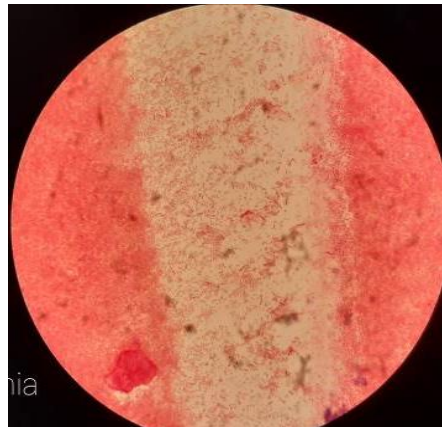
**Isolat IL3.1A (Genus Staphylococcus)**



**Isolat IL1.10 (Genus Klebsiella)**



**Isolat IL2.4 (Genus Klebsiella)**



**Lampiran 8. Hasil Uji SIM (*Sulfide Indol Motility*)****Isolat IL1.8****Isolat IL1.10****Isolat IL2.1**

---

**Isolat IL2.2**



**Isolat IL2.4**



**Isolat IL1.1A**



---

**Isolat IL1.2A**



**Isolat IL3.1A**



---

**Lampiran 9. Hasil Uji KIA (*Kliger's Iron Agar*)**

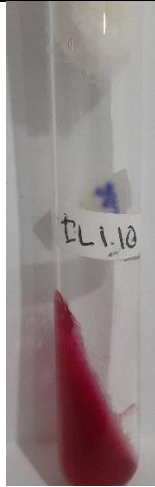
---

**Isolat IL1.8**



---

**Isolat IL1.10**



**Isolat IL2.1**



**Isolat IL2.2**



---

---

**Isolat IL2.4**



**Isolat IL1.1A**



**Isolat IL1.2A**



---

---

**Isolat IL3.1A**



---

**Lampiran 10. Hasil Uji LIA (*Lysin Iron Agar*)**

---

**Isolat IL1.8**



**Isolat IL1.10**





---

**Isolat IL2.1****Isolat IL2.2****Isolat IL2.4**

---

**Isolat IL1.1A**



**Isolat IL1.2A**



**Isolat IL3.1A**



---

**Lampiran 11. Hasil Uji Citrat****Isolat IL1.8****Isolat IL1.10****Isolat IL2.1**

---

**Isolat IL2.2**



**Isolat IL2.4**



**Isolat IL1.1A**



---

---

**Isolat IL1.2A**



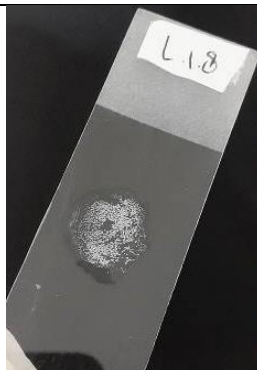
**Isolat IL3.1A**



---

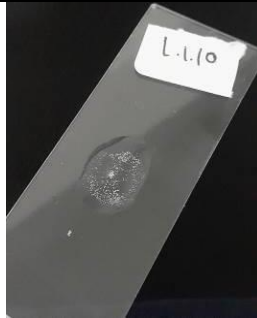
**Lampiran 12. Hasil Uji Katalase**

**Isolat IL1.8**



---

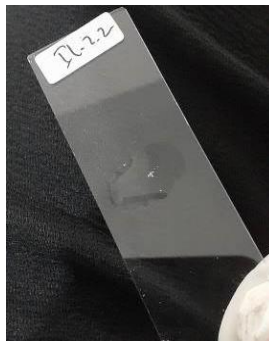
**Isolat IL1.10**



**Isolat IL2.1**



**Isolat IL2.2**

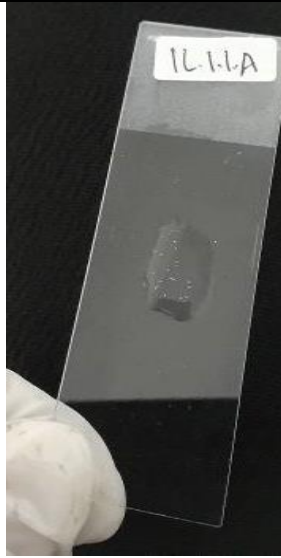


**Isolat IL2.4**

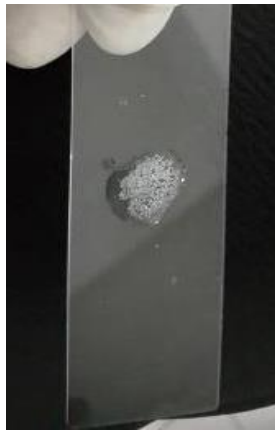


---

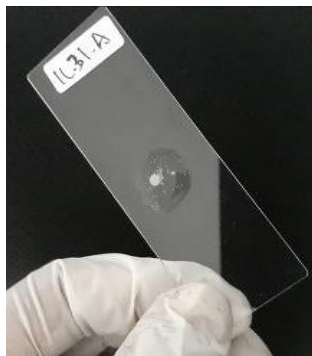
**Isolat IL1.1A**



**Isolat IL1.2A**



**Isolat IL3.1A**



**Lampiran 13. Hasil Uji Koagulase****Isolat IL1.8****Isolat IL1.10****Isolat IL2.1****Isolat IL2.2**



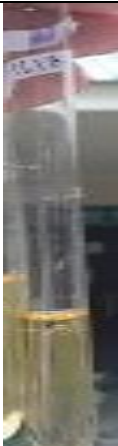



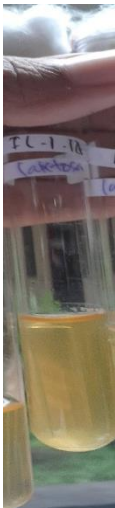
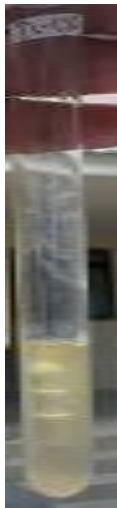




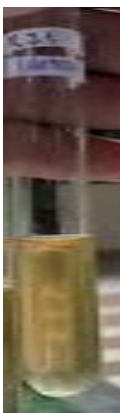







---

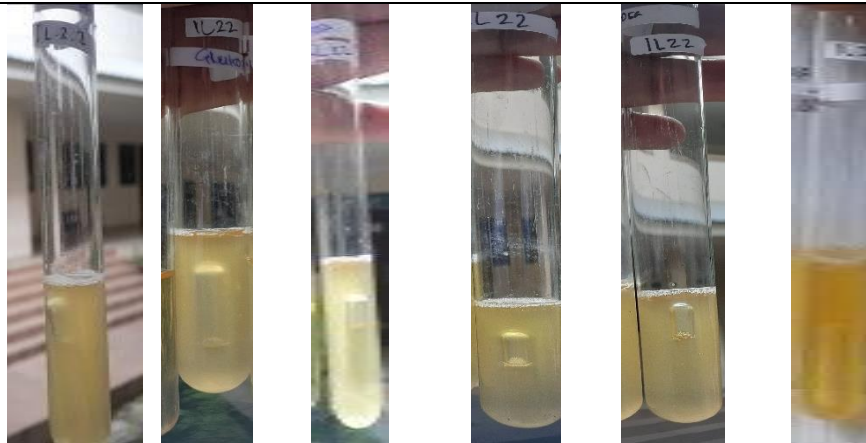
**Isolat IL2.4****Isolat IL1.1A****Isolat IL1.2A****Isolat IL3.1A**

---

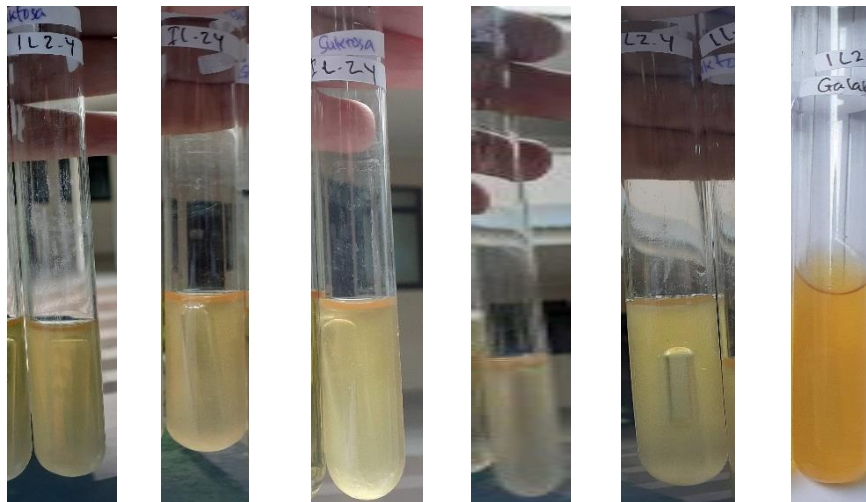
**Lampiran 14. Hasil Uji Fermentasi Gula**

Kode Isolat	Laktosa	Glukosa	Sukrosa	Manitol	Fruktosa	Galaktosa
<b>IL1.8</b>						
<b>IL1.10</b>						
<b>IL2.1</b>						

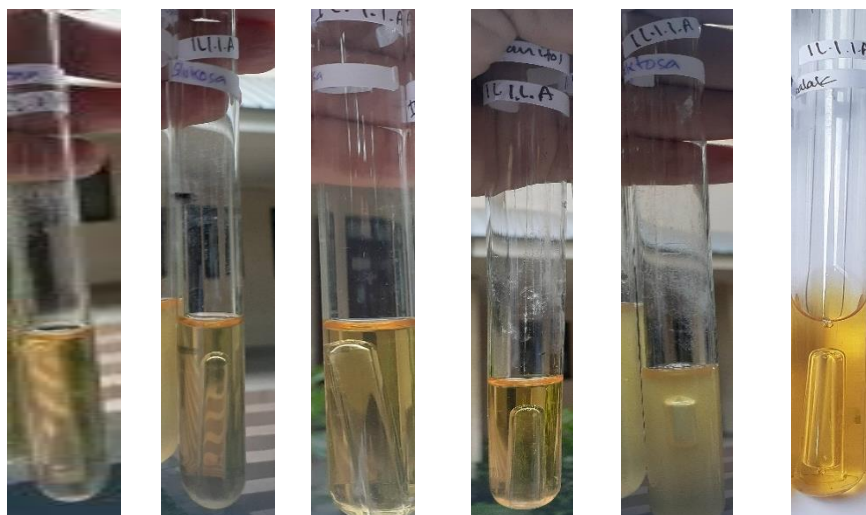
**IL2.2**



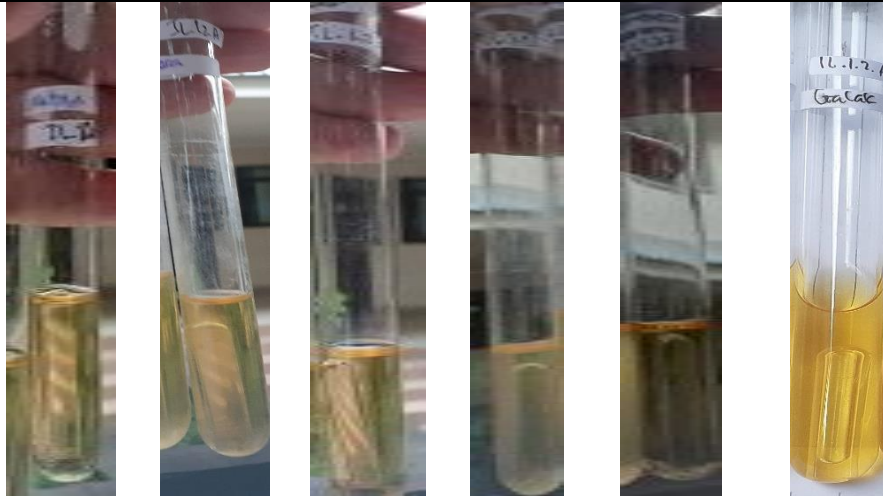
**IL2.4**



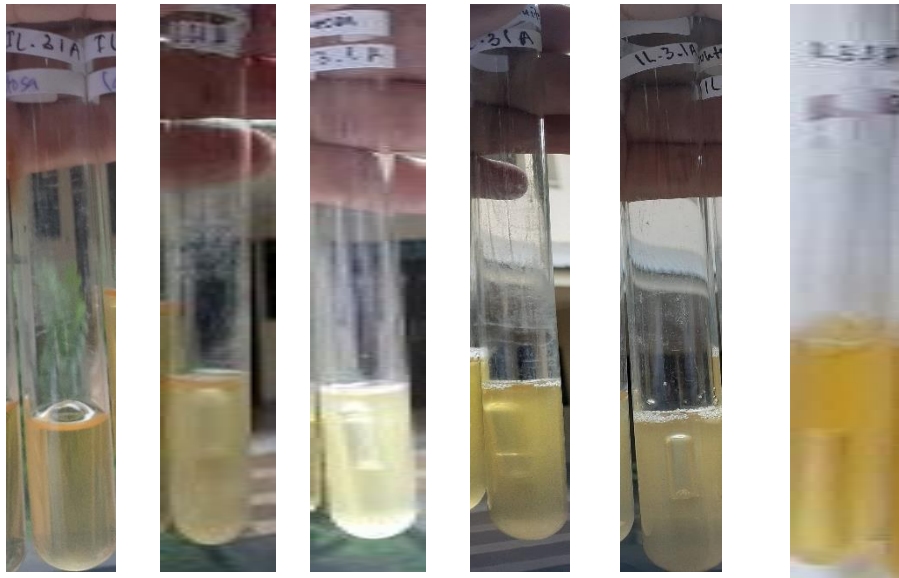
**IL1.1  
A**



**IL1.2**  
**A**



**IL3.1**  
**A**



### Lampiran 15. Supernatan Bakteri Endofit



## Lampiran 16. Uji Potensi Antibakteri



## Lampiran 17. Hasil Statistik rata-rata diameter zona hambat bakteri endofit

✓ Normalitas

### Tests of Normality

	kelompok_isolate_bakteri	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter_zona_hambat	kontrol positif	.268	4	.	.891	4	.390
	kontrol negatif	.214	4	.	.963	4	.798
	Pseudomonas	.200	4	.	.970	4	.844
	Serratia	.205	4	.	.969	4	.836
	Enterobacter	.296	4	.	.928	4	.580
	Klebsiella	.259	4	.	.824	4	.153
	Bacillus	.201	4	.	.970	4	.844
	Staphylococcus	.260	4	.	.841	4	.199

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal

## ✓ Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
diameter_zona_hambat	Based on Mean	9.752	7	24	.000
	Based on Median	8.079	7	24	.000
	Based on Median and with adjusted df	8.079	7	13.280	.001
	Based on trimmed mean	9.609	7	24	.000

Nilai sig <0,05 data tidak terdistribusi homogen, pengujian dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal wallis*.

## ✓ Uji Kruskal Wallis

**Ranks**

	kelompok_isolate_bakteri	N	Mean Rank
diameter_zona_hambat	kontrol positif	4	30.50
	kontrol negatif	4	2.50
	<i>Pseudomonas</i>	4	14.25
	<i>Serratia</i>	4	16.88
	<i>Enterobacter</i>	4	15.75
	<i>Klebsiella</i>	4	14.75
	<i>Bacillus</i>	4	22.38
	<i>Staphylococcus</i>	4	15.00
	Total	32	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

diameter_zona_hambat	
Kruskal-Wallis H	19.898
Df	7
Asymp. Sig.	.006

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok\_isolate\_bakteri

Nilai sig <0,05 terdapat perbedaan yang signifikan antara isolat bakteri endofit dengan kontrol positif dan negatif.

✓ *Post Hoc Duncan***diameter\_zona\_hambat**Duncan<sup>a</sup>

kelompok_isolate_bakteri	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negative	4	.0000		
Pseudo	4		8.4825	
Klebsiola	4		8.7325	
Serra	4		8.7750	
Staphylo	4		8.7900	
Entero	4		8.8875	
Bacillus	4		9.6825	
kontrol positif	4			18.5750
Sig.		1.000	.245	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Isolat bakteri endofit mempunyai potensi antibakteri, karena mampu menghasilkan diameter zona hambat yang lebih tinggi atau berbeda signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif dan terdapat juga perbedaan signifikan terhadap kontrol positif.