

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Talas (*Colocasia esculenta* L.)



Gambar 1. *Colocasia esculenta* L.

(Sumber: dokumentasi pribadi)

Talas (*Colocasia esculenta* L.) termasuk dalam famili Araceae, *Colocasia esculenta* yang dikelompokkan menjadi dua varietas, yaitu *Colocasia esculenta* varietas *Esculenta* (*Dasheen*) dan *Antiquorum* (*Eddoe*). Talas *Dasheen* memiliki umbi besar, sedangkan talas *Eddoe* atau sering disebut talas *Satoimo* memiliki umbi yang kecil dengan banyak anak umbi di sekitarnya. Beberapa sumber menyebutkan bahwa talas berasal dari Asia Selatan (India) atau Asia Tenggara (Malaysia), lalu menyebar ke Cina, Jepang, daerah Asia Tenggara lainnya, Kepulauan Pasifik, Afrika Barat dan beberapa daerah di kawasan Caribia melalui migrasi penduduk. Di Indonesia tanaman talas tersebar dari daerah dataran rendah sampai daerah dataran tinggi seperti pegunungan, baik yang telah di budidayakan ataupun tumbuh liar (Amirudin 2013).

1. Klasifikasi ilmiah

Talas (*Colocasia esculenta* L.) secara taksonomi mempunyai klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Arales
Famili	: Araceae
Genus	: <i>Colocasia</i>
Spesies	: <i>Colocasia esculenta</i> L.) (Koswara 2013)

Talas ini memiliki berbagai nama umum diseluruh dunia, yaitu Taro (Inggris), Kachalu (Hindia), Alu (Marathi), Alukam (Sanskrit), Sempu (Tamil), Abalong (Philipina), Taioba (Brazil), Keladi (Malaya), Satoimo (Japan), Tayoba (Spanyol) dan Yu-tao (Cina) (Amirudin 2013).

2. Morfologi tanaman

Talas (*Colocasia esculenta* L.) termasuk tumbuhan tegak dengan akar serabut, liar dan pendek. Talas merupakan tanaman monokotil setinggi 90-180 cm, umbi berbentuk bulat dan berwarna cokelat dilengkapi dengan kuncup ketiak yang terdapat di atas, lampang daun tempat munculnya umbi baru (tunas). Daun berbentuk perisai atau hati, lebar daunnya 20-50 cm, dengan tangkai mencapai 1 meter panjangnya, warna pelepah bermacam-macam (Mawarsari 2015). Bunga terbentuk terdiri dari tongkol seludung dan tangkai, dimana bunga jantan dan betina terpisah dengan bijinya yang berbentuk bulat telur, sedangkan diantaranya terdapat bagian yang menyempit. (Matthews 2004).

3. Habitat tanaman

Di Indonesia talas (*Colocasia esculenta* L.) banyak tumbuh didataran tinggi. Ideal tanaman talas dapat tumbuh pada suhu 21-27°C dengan kelembaban udara 50-90 % dan mendapatkan sinar matahari yang cukup dengan daerah beriklim basah. Dengan kondisi yang mendukung tersebut tanaman talas dapat tumbuh dengan subur dengan kualitas tanaman yang baik (Mawarsari 2015).

4. Kandungan kimia tanaman

Penelitian yang dilakukan oleh Subhash *et al.* (2012) dan Pawar *et al.* (2018) kandungan kimia dalam tanaman Talas (*Colocasia esculenta* L.) antara lain alkaloid, steroid, lemak dan minyak lemak, fenol, flavonoid, tanin, saponin, protein dan karbohidrat. Daun talas memiliki kandungan senyawa flavonoid, seperti vicenin-2, iso-vitexin, iso-vitexin 3'-*O*-glukosida, vitexin X " - Oglucoside, iso-orientin, orientin, orientin 7-*O*-glukosida, leteolin 7-*O*glucoside. Umbi tanaman talas mempunyai kandungan senyawa seperti β -sitosterol, stigmasterol, dihidroksistreol, derivat monoester fosfat, senyawa alifatik, dan globulin yaitu sekitar 80% dari total protein umbi. Umbi talas mengandung beberapa asam amino seperti DL Valine, D-2-Aminobutyric acid, L-Cysteine hydroxyl, DL-Alanine, L-Arginine, L-Cysteine hydroxychloride, L-Lysine monochloride dan DL-Threonine.

5. Khasiat tanaman

Menurut Prajapati *et al.* (2011), tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) adalah tanaman yang sejak dahulu digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit di beberapa negara. Secara empiris digunakan masyarakat untuk pengobatan radang kulit bernanah, tumor di rongga perut, berak darah, keseleo, ketombe, bisul dan luka bakar. Bagian lainnya dari tanaman talas seperti tangkai dan daunnya untuk pengobatan urticaria, diare dan pembalut luka, hal ini dikarenakan tanaman talas mengandung senyawa-senyawa polifenol dan saponin (Hibai 2015).

Ekstrak etanol daun talas (*Colocasia esculenta* L.) mempunyai aktivitas farmakologis seperti hipoglikemik, antifungi, antikanker, hipolipidemik dan penguat syaraf. Selain itu Kubde *et al.* (2010) meneliti bahwa semua tanaman umbi talas memberikan aktivitas antibakteri. Hibai (2015) menyatakan skrining antibakteri ekstrak etanol umbi talas (*Colocasia esculenta* L) dengan TLC-bioautografi menggunakan fase gerak *n*-hexane : ethyl acetate (4:1) diperoleh R_f 0,38 yang menunjukkan kandungan kimia alkaloid, dalam uji aktivitas antibakteri menunjukkan hambatan terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus*

aureus, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* dan *Vibrio Cholera*. Hasil GC-MS umbi tanaman talas memiliki kandungan asam dekanoat, 10-fluoro trimetil ester dan asam pentadekanoat yang berpotensi sebagai antibakteri (Rosy & Rosakutty 2012), sedangkan hasil uji antibakteri diketahui ekstrak umbi talas memiliki aktivitas terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia sp*, *Klebsiella sp*; *Shigella sp*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Proteus mirabili* dan *Enterococcus sp* (Chakraborty *et al.* 2015). Penelitian lainnya Widowati *et al.* (2016) diperoleh aktivitas antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* dari isolat fungi endofit umbi talas.

B. Mikroorganisme Endofit

Mikroorganisme endofit merupakan salah satu organisme penghasil senyawa bioaktif. Endofit berasal dari bahasa Yunani, “endo” berarti di dalam dan “fit” (phyte) berarti tumbuhan. Mikroba endofit adalah mikroba (jamur dan bakteri) yang hidup di dalam jaringan tumbuhan dan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Endofit hidup dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar ataupun bagian tanaman lain yang terpapar udara luar seperti bunga dan batang. Pada umumnya mikroba endofit masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata maupun jaringan yang rusak (Zinniel *et al.* 2002).

Mikroba endofit hidup bersimbiosis mutualisme (saling menguntungkan) dengan inangnya (Simarmata *et al.* 2007). Simbiosis mutualisme dengan inangnya yaitu mikroba endofit memproduksi senyawa bioaktif untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme yang bersifat patogen, sedangkan jaringan tumbuhan atau inangnya akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi endofit agar dapat tetap hidup (Nurzakiyah 2016).

Bakteri endofit diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril, banyak isolat endofit berupa bakteri Gram positif dan Gram negatif yang berhasil diisolasi dari jaringan tanaman (Mano *et al.* 2007). Penelitian (Wulandari & Desi 2018) tentang bakteri endofit umbi tanaman talas diperoleh hasil identifikasi 16S

rRNA memiliki genus *Bacillus siamensis*, *Basillus subtilis*, *Bacilus altitudinis* dan *Pseudomonas knackmussii*.

Selain membantu dalam pertumbuhan dan mencegah pembusukan, mikroba endofit khususnya jamur berperan melalui proses biodegradasi tanaman inangnya setelah tanaman inangnya mati serta menghasilkan hormon IAA (*Indole acetic acid*) untuk membantu meningkatkan pertumbuhan dan mencegah pembusukan. Proses biodegradasi ini memiliki peran sentral di dalam siklus nutrisi, hormon IAA merupakan hormon auksin yang dihasilkan mikroorganisme endofit dan akan diserap oleh tanaman untuk mempercepat pertumbuhan (Widowati *et al.* 2016).

Tan & Zou (2001) menjelaskan bahwa mikroba endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya sama dengan inangnya. Beberapa tanaman dapat menurunkan senyawa bioaktif yang dikandungnya kepada mikroba endofit yang tumbuh dalam inangnya. Metabolit sekunder yang dihasilkan akan lebih aktif dan spesifik jika diisolasi dari mikroba yang hidup pada biotop yang spesifik. Mikroba endofit terutama yang hidup pada lingkungan spesifik ataupun lingkungan yang tidak umum sering digunakan sebagai sumber penemuan senyawa bioaktif baru.

1. Bakteri endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Bakteri endofit berupa gram positif dan gram negatif telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dan berhasil dibiakan dalam media kultivasi yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh bakteri endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya (Radji 2005).

Beberapa contoh isolat bakteri endofit dari berbagai tanaman yang diketahui menghasilkan metabolit sekunder dan berpotensi memiliki aktivitas antibakteri yaitu isolat bakteri endofit umbi tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) potensi aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Eschericia coli*, *Pseudomonas sp* dan *Bacillus subtilis* (Sinamarta *et al.* 2007); isolat bakteri endofit batang tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) potensi penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* (Purwanto 2014); isolat bakteri

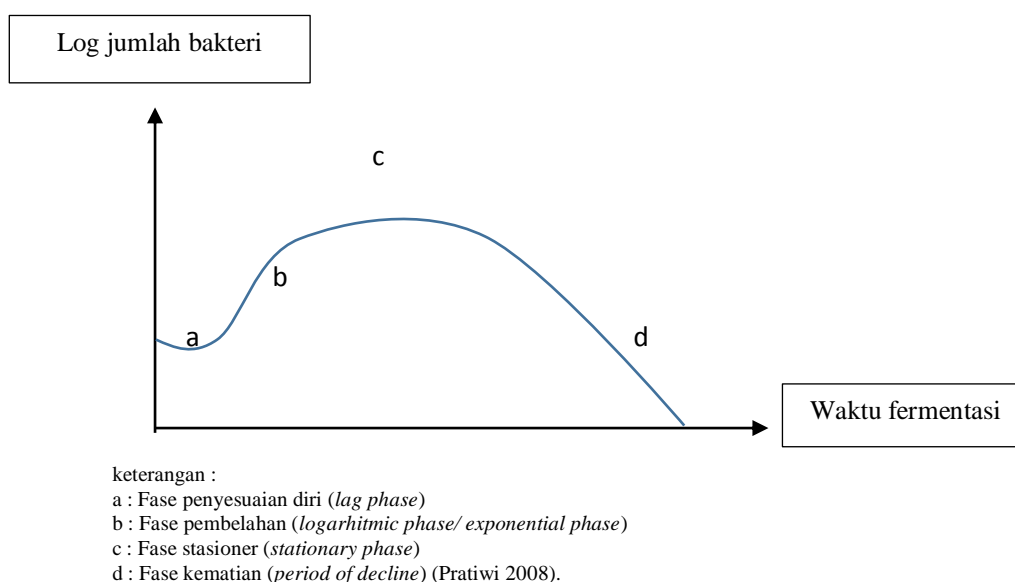
endofit kulit batang tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menunjukkan daya hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus mutan* dan *Staphylococcus aureus* (Sepriana *et al.* 2017); isolat mikroba endofit daun tanaman *Gracinia bethami pierre* yang memiliki aktifitas terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Eschericia coli*, *Shigella dysentriae* dan *Salmonella typhimurium* (Pratiwi 2015); isolat bakteri endofit tanaman Miana (*Coleus scutellariodes* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Kusumawati *et al.* 2014).

Penelitian Zulkifli (2018) dan Strobel *et al.* (2004) diketahui bakteri endofit dari genus *Pseudomonas*, *Burkholderia* dan *Bacillus* mampu memproduksi metabolit sekunder seperti taxol sebagai antibiotik dan antikanker, asam cytonic B sebagai antivirus, oocydin sebagai insektisidal dan beberapa immunosupresor. *Bacillus* tersebar luas di alam dan mengkontaminasi setiap komunitas pertanian. *Bacillus* dapat diisolasi dari tanah, debu, tanaman, rambut hewan dan air tawar (Jenson & Moir 2003). *Bacillus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen kemungkinan karena *Bacillus* menghasilkan enterotoksin, *Bacillus* membentuk spora sehingga *Bacillus* mampu bertahan hidup dengan kondisi yang buruk sekalipun. Bakteri endofit genus *Pseudomonas* juga berperan sebagai agen biokontrol pada tanaman dan pemacu pertumbuhan tanaman (Ryan *et al.* 2008).

Miller *et al.* (1998) berhasil mengisolasi bakteri endofit yang berasal dari sejenis rumput asal Amerika dan Eropa yaitu bakteri *Pseudomonas viridiflava* yang bersifat antifungi. Bakteri genus *Pseudomonas* juga berhasil diisolasi dari tanaman mangrove yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dan *Candida albicans* (Jose & Christy 2013). Potensial produk bakteri endofit juga ditemukan pada tanaman Anuma (*Arthemisia annua*) yaitu bakteri endofit *Bacillus polymixa* mampu memproduksi antimalaria artemisinin di dalam media cair sintetik (Simanjuntak *et al.* 2004). *Streptomyces griseus* dari tanaman *Kandelia candel* mampu menghasilkan asam *p-aminoacetophenonic* sebagai antimikroba (Guan *et al.* 2005). Bakteri endofit dari tanaman *Rhyncholacis penicillata* menghasilkan oocydin A sebagai antifungi (Strobel *et al.* 2004).

2. Pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan adalah pertambahan jumlah serta ukuran sel yang dipengaruhi oleh nutrisi dalam lingkungan pertumbuhan serta dipengaruhi oleh faktor waktu dan sifat makhluk hidup (Aziz 2017). Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti pola kurva pertumbuhan sigmoid. Bakteri membelah atau mengalami pertumbuhan bila ditanam pada media yang sesuai dan waktu tertentu, ditinjau dari jumlah bakteri yang hidup dapat dibagi menjadi 4 fase yaitu fase penyesuaian diri (*lag phase*); fase pembelahan (*logarithmic phase / exponential phase*); fase stasioner (*stationer phase*) dan fase kematian (*period of decline*).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri

Fase penyesuaian diri (*lag phase*) yaitu bakteri melakukan penyesuaian yang akan berlangsung selama 2 jam. Bakteri belum berkembang biak dalam fase ini, tetapi aktifitas metabolismenya sangat tinggi. Ciri fase lag adalah tidak adanya peningkatan jumlah sel, yang ada hanya peningkatan ukuran sel.

Fase pembelahan (*logarithmic phase/ exponential phase*). Bakteri berkembang biak dengan berlipat 2, jumlah bakteri meningkat secara eksponensial. Fase berlangsung selama 18-24 jam, pertumbuhan bakteri sangat ideal, pembelahan terjadi secara teratur, semua bahan dalam sel berada dalam keadaan seimbang (*balanced growth*). Hal yang mampu menghambat laju pertumbuhan

adalah bila satu atau lebih nutrisi dalam kultur habis, sehingga hasil metabolisme yang bersifat racun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan. Organisme aerob nutrisi yang membatasi pertumbuhan biasanya adalah oksigen, bila oksigen dimasukkan secara paksa ke dalam kultur dengan cara pengadukan atau penggojogkan (*shaking*) maka pertumbuhan akan diperlambat secara progresif.

Fase stasioner (*stationary phase*). Jumlah bakteri dan jumlah hasil metabolisme meningkat, jumlah sel yang membelah dan jumlah sel yang mati seimbang (grafik mendatar). Bakteri mulai ada yang mati dan pembelahan melambat. Ukuran sel akan menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun nutrisi sudah habis, karena kekurangan nutrisi dimungkinkan sel mempunyai komposisi yang berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia. Fase kemunduran atau penurunan (*period of decline*). Jumlah bakteri yang hidup berkurang dan menurun. Matinya sel-sel mikroba ini disebabkan habisnya zat makanan atau nutrisi. Fase berlanjut sampai populasi sel menyusut menjadi fraksi kecil atau seluruh populasi mati (Brock & Madigan 1991; Pratiwi 2008; Radji 2005).

Penelitian lainnya Roostan *et al.* (2012) menyatakan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh pada waktu 96 jam (hari ke-4). Penelitian Elita *et al.* (2013) menyatakan pertumbuhan bakteri endofit *Pseudomonas* diperoleh hasil kultur umur 72 jam (hari ke-3) merupakan fase stasioner dan waktu optimum produksi senyawa antibakteri. Penelitian El-Shestawy *et al.* (2014) diketahui kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* adalah pada waktu 72 jam (hari ke-3) dan Roostan *et al.* (2012) diketahui kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah pada waktu 96 jam (hari ke-4).

C. Tinjauan Bakteri

1. Sistematika bakteri *Escherichia coli*

Kedudukan *Escherichia coli* dalam sistematika klasifikasi bakteri sebagai berikut:

Kingdom	: Prokaryota
Filum	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Hardjoeno 2007).

2. Morfologi bakteri

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek (cocobacil), memiliki flagel dan berukuran 1-3 x 0.4-0.7 µm. Merupakan bakteri anaerob fakultatif, tidak memiliki spora, memiliki dinding sel tipis yaitu dengan hanya 1-2 lapis peptidoglikan. Pertumbuhan baik pada hampir semua media pembenihan, terjadi pada rentang temperature 15-45°C (Radji 2011; Parija 2009).

3. Patogenesis bakteri

Escherichia coli sebagai bakteri yang paling sering diisolasi dari pasien infeksi saluran kemih (ISK), peranan pathogenesis bakteri ini terhadap penyakit ISK meliputi peranan perlekatan bakteri pada mukosa dan peranan faktor virulensi lainnya. *Escherichia coli* merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90% wanita muda. *Escherichia coli* memiliki beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan antibodi antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak dikapsul (Juliantina *et al.* 2008).

4. Identifikasi bakteri

Metode yang dapat mengidentifikasi suatu bakteri ialah Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi. Pewarnaan bakteri *Escherichia coli* dengan safranin akan menunjukkan bahwa bakteri berbatang pendek dan berwarna merah karena ketebalan lapisan peptidoglikan. Pada uji indol akan menghasilkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah

pada bagian atas media. Pada uji citrat tidak akan menunjukkan perubahan warna hijau ke warna biru. Pada uji fermentasi gula menunjukkan bahwa *Escherichia coli* dapat memfermentasikan laktosa, glukosa dan sakarosa serta menghasilkan hidrogen sulfida (H₂S). Hal itu ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning, serta adanya gelembung pada media gula. Sedangkan pada media sakarosa ditandai dengan warna tetap menjadi merah (Rahayu & Gumilar 2017).

5. Mekanisme Resistensi

Menurut Purnomo (2011) dan Robert *et al.* (2010) penyakit ISK terjadi karena infeksi bakteri pada saluran kemih (keberadaan mikroorganisme dalam urin), dalam kondisi normal saluran kemih tidak mengandung bakteri, virus atau mikroorganisme lainnya. Penyakit ISK sangat bervariasi berdasarkan umur dan jenis kelamin pada remaja meningkat 3,3% menjadi 5,8% dan perempuan dewasa 50-60%. Prevalensi penderita ISK lebih banyak menyerang wanita dibandingkan dengan pria karena perbedaan anatomis antara keduanya (Rajabnia *et al.* 2012).

Infeksi saluran kemih memiliki kedudukan kejadian kedua tersering (23,9%) dinegara berkembang. Penelitian di RSUD Dr. Moewardi Surakarta menunjukkan ISK paling banyak disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Imaniah 2015). Menurut Pradani (2016) dan Nakhjavani *et al.* (2007) *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap antibiotik amoksisilin dan penisilin, serta mengalami resisten juga terhadap oflosaksin dan norflosaksin.

Insiden peningkatan resistensi antibiotik terhadap *Escherichia coli* terjadi dalam beberapa tahun terakhir. Hasil penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study)* membuktikan dari 2494 masyarakat, 43% menunjukan *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai antibiotik antara lain: ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%), dan kloramfenikol (25%) (Menteri Kesehatan Republik Indonesia 2011). Menurut penelitian Hadi (2013) di RSUP Dr. Soetomo Surabaya diperoleh persentase terbesar resistensi bakteri *Escherichia coli* yaitu terhadap ampisilin 73%, sulfametoksazol 56% dan kloramfenikol 43%.

Menurut Guilfoile (2007) menyatakan resisten dapat melalui 3 tahap mekanisme yaitu transformasi, konjugasi dan transduksi. Mekanisme transformasi

terjadi apabila bakteri menyerap DNA yang mengandung gen resisten sehingga bakteri yang masih peka akan menjadi resisten. Transfer plasmid terjadi pada bakteri yang masih peka melalui mekanisme konjugasi, proses konjugasi dapat terjadi dengan adanya bantuan bakteriofage untuk memindahkan DNA. Bakteriofage bekerja dengan menghancurkan sel bakteri dan membawa gen resisten untuk dipindahkan ke bakteri lain. Bakteri memproduksi enzim yang mampu memecahkan struktur kimia suatu antibiotik sehingga antibiotik tidak dapat berfungsi, salah satunya enzim β -laktamase yang diproduksi oleh Enterobacteriaceae.

D. Fermentasi

Pratiwi (2015) fermentasi adalah proses memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pengendalian dilakukan dengan memperhatikan kondisi medium, komposisi medium, suplai O_2 , dan waktu. Produk fermentasi dibagi menjadi 3 jenis yaitu: produk biomassa, produk enzim dan produk metabolit.

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. Menurut Kumala (2014) berdasarkan media fermentasi dibedakan menjadi dua yaitu fermentasi media padat dan fermentasi media cair. Fermentasi media padat dilakukan menggunakan substrat tidak larut dan tidak mengandung air bebas tetapi cukup mengandung air untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Fermentasi ini mikroorganisme ditumbuhkan pada media padat (fermentasi permukaan). Fermentasi media cair merupakan fermentasi yang dilakukan dengan substrat larut atau tersuspensi dalam fase cair. Fermentasi ini dinamakan fermentasi media kultur terendam dan yang digunakan sebagai inokulum adalah bakteri, kapang dan khamir.

Metode fermentasi dibedakan mejadi dua yaitu fermentasi metode goyang dan metode diam. Metode goyang merupakan metode fermentasi yang pada prosesnya menggunakan alat pengocok *rotary* dan *reciprocating*. Alat *rotary* paling sering digunakan dalam proses fermentasi, kultur akan diputar dalam labu pada kecepatan 120 rpm. Sementara *reciprocating* kurang direkomendasikan karena kelemahannya yaitu kultur yang bergerak ulang-alik, ke depan dan ke belakang yang menyebabkan percikan medium. Metode diam merupakan metode fermentasi yang menggunakan labu Erlenmeyer sebagai wadah, metode ini dilakukan perlakuan dengan mendinginkan wadah selama masa inkubasi tanpa ada goncangan.

Menurut Pratiwi (2008) adapun faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu nutrien, temperatur, keasaman (pH) dan oksigen. Pertama yaitu nutrien berupa substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi dimana setiap spesies memiliki kebutuhan nutrien yang bervariasi. Kedua yaitu temperatur untuk menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam proses fermentasi dimana temperatur terlalu tinggi atau terlalu rendah akan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme untuk berkembang atau mati dengan rentang temperatur 20-30⁰C. Ketiga yaitu keasaman (pH) pada fermentasi bakteri dalam rentang 5,5-8,0 dan tidak dapat tumbuh pada pH dibawah 5,5 dan diatas 8,5, sedangkan khamir memiliki pH optimum pada rentang 2,5-8,5 dan pH optimum kapang diantara 5 dan 7 tetapi masih dapat tumbuh pada rentang pH 3-8,5. Keempat yaitu oksigen yang akan mengganggu proses fermentasi karena menghambat proses pertumbuhan.

E. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktifitas dengan menggunakan cakram kertas, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu dalam sumuran. Diameter zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat (Jawetz *et al.* 2012).

Menurut Pratiwi (2008) metode uji aktivitas antibakteri difusi dibagi menjadi:

1.1 Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer). Metode ini untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Cawan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

1.2 *E-test*. Metode digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga kadar tertinggi dan digerakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang menunjukkan kadar agen antimikroba mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

1.3 *Ditch-plate technique*. Sampel uji berupa agen antimikroba diletakkan pada sumuran yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah sumuran yang berisi agen antimikroba.

1.4 *Cup-plate technique*. Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, yaitu dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

2. Metode dilusi

Metode dilusi adalah metode menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau padat, kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Bahan uji pada metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode ini adalah memerlukan waktu relatif lebih lama (Jawetz *et al.* 2012).

Menurut Pratiwi (2008) metode uji aktivitas antibakteri difusi dibagi menjadi:

2.1 Dilusi cair atau *broth dilution test (serial dilution)*. Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau (kadar hambat minimum) KHM dan MBC (*minimum bactericidal concentration*) atau (kadar bunuh minimum) KBM. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada media cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai MIC. Larutan yang ditetapkan sebagai MIC tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai MBC.

2.2 Dilusi padat atau *solid dilution test*. Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antimikroba yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada prinsipnya antimikroba diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi, masing-masing konsentrasi obat ditambahkan dalam media yang kemudian ditanami dengan suspensi bakteri. Sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampurkan dengan media agar, kemudian ditanami bakteri. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba.

F. Landasan Teori

Pencarian sumber senyawa bioaktif terus dilakukan, salah satunya berasal dari mikroba. Bakteri endofit adalah mikroba yang dapat dijadikan sumber senyawa bioaktif, bakteri hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan tanaman menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas seperti antibakteri (Strobel & Daisy 2003). Bakteri endofit berupa Gram positif dan Gram negatif telah banyak

diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau ekstraksi jaringan tanaman bagian dalam. Bakteri endofit masuk kedalam jaringan secara khusus melalui jaringan berkecambah, akar, stomata maupun jaringan yang rusak (Mano *et al.* 2007; Zinniel *et al.* 2002).

Bakteri endofit diisolasi dari jaringan tanaman dan ditumbuhkan pada medium fermentasi tertentu. Proses fermentasi bakteri endofit akan lebih efektif dalam menghasilkan biomassa dan senyawa bioaktif dengan menggunakan media cair dibandingkan dengan media padat (Pokhrel & Ohga 2007). Fermentasi bakteri endofit umumnya akan menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya, waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi senyawa bioaktif dari bakteri dapat dilihat dari kurva pertumbuhan bakteri. Penelitian Elita *et al.* (2013) menyatakan pertumbuhan bakteri endofit *Pseudomonas* diperoleh hasil kultur umur 72 jam (hari ke-3). Penelitian lainnya Roostan *et al.* (2012) menyatakan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh pada waktu 96 jam (hari ke-4). Begitu pula dengan penelitian El-Shestawy *et al.* (2014) menunjukkan kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* adalah pada waktu 72 jam (hari ke-3) dan Roostan *et al.* (2012) diketahui kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah pada waktu 96 jam (hari ke-4).

Menurut Strobel *et al.* (2004) bakteri endofit dari genus *Pseudomonas*, *Burkholderia* dan *Bacillus* memproduksi metabolit sekunder seperti taxol sebagai antibiotik dan antikanker, asam cytonic B sebagai antivirus, oocydin sebagai insektisidal dan beberapa immunosupresor. *Bacillus* tersebar luas di alam dan dapat diisolasi dari tanah, debu, tanaman, rambut hewan dan air tawar (Jenson & Moir 2003). Banyaknya *Bacillus* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen kemungkinan karena *Bacillus* menghasilkan enterotoksin. *Bacillus* membentuk spora sehingga *Bacillus* mampu bertahan hidup ditempat dengan kondisi yang buruk sekalipun. Miller *et al.* (1998) berhasil mengisolasi bakteri endofit yang berasal dari sejenis rumput asal Amerika dan Eropa yaitu bakteri *Pseudomonas viridiflava* yang bersifat antifungi. Bakteri genus *Pseudomonas* juga berhasil diisolasi dari tanaman mangrove yang memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi (Jose & Christy 2013).

Penelitian Widowati *et al.* (2016) menyatakan bahwa mikroorganisme endofit dapat diisolasi dari umbi talas dan terbukti memiliki aktivitas antifungi terhadap *F. Oxysporum* hal ini terjadi interaksi antara mikroba dan tanaman inang yang melibatkan transfer materi genetik. Zat-zat bioaktif senyawa antibakteri yang dihasilkan tanaman tertentu dihasilkan pula oleh mikroba-mikroba endofit yang hidup didalamnya (Strobel 2002).

Subhash *et al.* (2012) diketahui umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) memiliki kandungan antara lain seperti alkaloid, terpenoid, steroid, lemak dan minyak lemak, fenol, flavonoid, tanin, protein dan karbohidrat. Penelitian oleh Hibai *et al.* (2015) menyatakan bahwa kandungan kimia alkaloid pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Hasil uji antibakteri diketahui ekstrak umbi talas memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* (Chakraborty *et al.* 2015).

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK). Penelitian di RSUD Dr. Moewardi Surakarta menunjukkan ISK paling banyak disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Imaniah 2015). Menurut Pradani (2016) dan Nakhjavani *et al.* (2007) *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap antibiotik amoksisilin dan penisilin, serta mengalami resisten juga terhadap oflosaksin dan norflosaksin. Penelitian lainnya oleh Hadi (2013) di RSUP Dr. Soetomo Surabaya diperoleh persentase terbesar resistensi bakteri *Escherichia coli* yaitu terhadap ampisilin 73%, sulfametoksazol 56% dan kloramfenikol 43%.

G. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

Pertama, isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis* umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, waktu optimum fermentasi isolat bakteri endofit umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) *Pseudomonas knackmussii* pada hari ke-2 dan *Bacillus siamensis* pada hari ke-5.

Ketiga, isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* memiliki aktivitas antibakteri terbesar dari isolat bakteri endofit *Bacillus siamensis*.