BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

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

Kedua, isolat bakteri endofit umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) *Pseudomonas knackmussii* memiliki waktu optimum fermentasi pada hari ke-2 dengan diameter daya hambat 11,83 mm dan *Bacillus siamensis* yang memiliki waktu optimum fermentasi pada hari ke-5 dengan diameter daya hambat 10,89 mm.

Ketiga, isolat bakteri endofit umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) *Pseudomonas knackmussii* memiliki potensi aktivitas antibakteri lebih besar dari *Bacillus siamensis.*

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana kurva pertumbuhan bakteri endofit umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) dan mengetahui senyawa yang terdapat dalam isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis*.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait mekanisme kerja dari senyawa antibakteri dari bakteri endofit umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) dalam menghambat bakteri patogen.

Ketiga, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terkait pengembangan hasil senyawa bioaktif dari isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis* untuk antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Amiruddin. 2013. Perubahan Sifat Fisik Talas *(Colocoasia Esculenta L. Schoot)* selama Pengeringan Lapis Tipis [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin Makassar.

Andrews J.M. 2008. BSAC Standardized Disc Susceptibility Testing Method 7th. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62: 256 – 278.

Aziz M.R.R.S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit dari Buah Tanaman Nangka Muda (*Arthocarpus heterophyllus Lamk*) terhadap *Staphylococcus aureus, Shigella dysentriae* dan *Esherichia coli* [SKRIPSI]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Brock TD dan Madigan MT. 1991. Biology of Microorganism 6th *Ed. New Jersey: Prentice-Hall International.*

Carillo C, Jose AT, Fransisco JA dan Antonio O. 2003. Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1611: 91-97.

Chavan MA dan Riley MA. 2007. Molecular evolution of bacteriocins in Gram-negative bacteria. Di dalam: Riley MA, Chavan MA, editors. *Bacteriocins: ecology and evolution*. Heidelberg (Germany): Springer-Verlag.

Chotiah S. 2013. Potensi Bakteriosin Untuk Kesehatan Hewan dan Keamanan Bahan Pangan. *Wartazoa* 23: 94-101.

Chakraborty Prtitha, Papiya Deb, Sudeshna Chakraborty, Bohnisikha Chatterjee dan Jayanthi Abraham. 2015. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of *Colocasia esculenta*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(12):627-635.

(CLSI) *Clinical and Laboratory Standards Institute.* 2017. *Peformance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Ed* 27th .USA. hal 37.

Cowan, ST. 2004. Manual for the Identification of Medical Fungi. London: Cambridge University Press.

Davis WW dan TR Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology* 22: 659 – 665.

Elita A, Saryono S, Christine J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi bakteri endofit *Pseudomonas sp.* Dari Umbi Tanaman Dahlis (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Ind.Che.Acta*. Vol 3(2): 56-62.

El-Sheshtawy H.S., I. Aiad, M.E. Osman, A.A. Abo-Elnasr, A.S. Kobisy. 2014. Production of biosurfactant from *Bacillus licheniformis* for Microbial Enhanced Oil Recovery and Inhibition the Growth of Sulfate Reducing Bacteria. *Egyptian Journal of Petroleum*.Vol 24 (2) 155-162.

Gillor O, Kirkup BC dan Riley MA. 2004. Colicins and Microcins: The Next Generation Antimicrobials. *Adv Appl Microbiol* 54:129-146.

Guan SH *et al*. 2005. p-Aminoacetophenonic Acid Produced by a Mangrove Endophyte*: Streptomyces griseus Subspecies*. *J Nat Prod*. 68:1198-200.

Guifloile Patrick.G. 2007. *Antibiotic Resistant Bacteria.* New York (US) : Chelsea House.

Hadi Usman, Kuntaman, Mariyatul Qiptiyah, Hari Paraton. 2013. Problem of Antibiotic Use and Antimicrobial Resistance in Indonesia: Are We Really Making Progress?. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease* Vol 4(4): 5-8.

Hardjoeno. 2007. *Kumpulan penyakit infeksi dan tes kultur sensitivitas kuman serta upaya pengendaliannya*. Makassar: Cahya Dinan Rucitra.

Harmita dan Radji M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta : EGC.

Harti AS. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan: Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan*. Yogyakarta: Andi Offset.

Heng NCK, Wescombe PA, Burton JP, Jack RW dan Tagg JR. 2007. The diversity of bacteriocins in Gram-positive bacteria. Di dalam: Riley MA, Chavan MA, editors. *Bacteriocins: ecology and evolution*. Heidelberg (Germany): Springer-Verlag.

Hibai Achmad Rosyadi Yusuf, Herwin dan Rachmat Kosman. 2015. Antibacterial Activity Assay Of Ethanolic Extract Of Bulbs Sticky Taro *(Colocasia esculenta)* Use TLC-Bioautografi. *As-Syifaa* Vol 07 (01): 76-84.

Imaniah B.A. 2015. Peta Kuman dan Resistensinya Terhadap Antibiotika Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014 [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Imron M.F. dan Purwanti I.F. 2016. Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan *Trivalent Chromium* (CR3+) pada Limbah Cair. *Jurnal Teknik ITS* Vol 5(1): 4-10.

Iqlima Dwi, Puji Ardiningsih, Muhamad A. Wibowo. 2017. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B_{2D} dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius (*Poepp.&Endl.) H.Rob) Terhadap Bakteri *Staphylococcus*

aureus dan *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* Vol 7(1): 36-43.

Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 25*. *The McGraw-Hill Education and EGC Medical Publisher*, penerjemah; Widhi A [et al], Adityaputri A, [et al], editor. Jakarta: Kedokteran (EGC). Terjemahan dari: Medical Mikrobiology.

Jawetz E, Melnick., J.L, Adelberg E.A, 2012. *Medical Mirobiology*. 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Jenson I dan Moir Cj. 2003. *Bacillus cereus and other Bacilllus spesies. In: Hocking AD (Ed) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. 6th Edition. NSW Branch: Australian Institute of Food Science and Technology Inc*.

Jutono S.J, Hartadi, S.Kabirun, D.Suhadi dan Soesanto.1980. Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum. [FP UGM] Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 181p.

Khairani G. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA *(Indole Acetic Acid)* dari Akar Tanaman Jagung *(Zea mays* L.*)* [SKRIPSI]. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatra Utara. Medan.

Koswara, Sutrisno. 2013. Teknologi Pengolahan Umbi-umbian. *Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology* (SEAFAST) *Center Research and Community Service Institution*. Bogor: Insititut Pertanian Bogor [IPB].

Kubde Meenal S, S. S. Khadabadi, I. A. Farooqui, S. L. Deore. 2010. In-vitro Anthelmintic Activity of *Colocasia esculenta*. *Der Pharmacia Lettre* 2(2): 103-113.

Kumala S, Fransisca S dan Priyo W. 2006. Uji Aktivitas Antimkroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (*Cassia fistula L.*). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 3(2): 97-102.

Kumala S dan Ainun Apriani Pratiwi. 2014. Efek Antimikroba dari Kapang Endofit Ranting Tanaman Biduri. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol 7(2).

Kumala S dan Endro BS. 2007. Isolation and Screening of Endophytic Microbes from Morinda citrifolia and their Ability to Produce Anti-Microbial Substances. *Microbiology Indonesia.* 1(3): 145-148.

Kusumawati D.E, Fachriyan H.P, dan Maria Bintang. 2014. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* [L.]

kumBenth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry* :volume 1 (1): 45-50.

Lay BW. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

Leboffe M.J dan Burton E.P. 2011. A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory Edisi 4th. USA: hlm 57-82.

Lewis A, Rachael F dan Mark H. 2007. A Nuclear envelope Protein Linking Nuclear Pore Basket Assembly, SUMO Protease Regulation and mRNA Surveillance. *The Journal of Cell Biology* 178: 813-827.

Mawarsari T. 2015. Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Bakar Ekstrak Etanol Umbi Talas Jepang (*Colocasia esculenta (*L.) Schoot var. *Antiquorum*) pada Tikus Putih *(Rattus norvegius)* Jantan Galur *Sprague Dawley* [SKRIPSI]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Mannanov R.N. dan R.K Sattarova. 2001. Antibitotics Produced by *Bacillus* Bacteria. *Chemistry of Natural Coumpounds* Vol 37 (2).

Mano H, Fumiko T, Chizuru N, Hiroko K, Hisao M. 2007. Culturable Endophytic Bacterial Flora of the Maturing Leaves and Roots of Rice Plants *(Oryza sativa)* Cultivated in a Paddy Field. *Microbes Environ* 22: 175-185.

Matthews PJ. 2004. Genetic diversity in taro and the preservation of culinary knowledge. *Ethonobotany Journal* 2: 55-77.

Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/Per/XII/2011. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

Michel G, Maget-Dana R dan Peypoux F. 1985. Pore-forming properties of iturin A, a lipopeptide antibiotic. *Biochimica et Biophysica Acta* 815: 405-409.

Miller C.M, Miller R.V, Garton-Kenny D, Redgrave B, Sears J. Condron M.M, Teplow D.B, Strobel G.A. 1998. Ecomycins unique antimycotics from *Pseudomonas virdiflava*. *Journal of App. Microbiol*. 84:937-944.

Mukamto *et al.* 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus sp.* Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *Sains & Matematika* 3: 62-68.

Nakhjavani F.A., A. Mirsalehian, M. Hamidian, B. Kazemi, M. Mirafshar, F. Jabalameli. 2007. Antimicrobial Susceptibility Testing for *Escherichia coli* Strains to Fluoroquinolones in Urinary Tract Infections. *Iranian J. Publ Health* Vol 36(1): 89-92.

Nurzakiyah. 2016. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Caulerpa Racemosa serta Akrivitas Antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus dan Methicilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* [Skripsi]. Makassar: UIN Alauddin Makassar.

Parija, S.C. 2009. *Textbook of Microbiology and Immunology*. India: Elsevier India Pvt. Ltd.

Pawar HA, Pritam DC dan Swati RK. 2018. *An Overview of Traditionally Used Herb, Colocasia esculenta, as a Phytomedicine*. *Medicinal & Aromatic Plants* 7: 1-7.

Pelczar Jr, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI-Press, Jakarta.

Pokhrel CP dan S Ohga. 2007. *Submerged Culture Conditions for Mycelial Yield and Polysaccharides Production by Lyophyllum decastes*. *Food Chemistry* 105: 641-646.

Pradani Sofia Adhitya. 2016. Pola Kuman dan Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Surakarta Periode Februari-Maret Tahun 2016 [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Prajapati Rakesh. 2011. *Colocasia esculenta: A Potent Indigenous Plant. International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases* 2(1) : 90-96.

Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.

Pratiwi, A.E. 2015. Isolasi, Seleksi dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit dari Daun Tanaman *Gracinia bethami Pierre* terhadap *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Eschericia coli, Shigella dysentriae, dan Salmonella typhimurium* [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif HidayatullahJakarta.

Purnomo B. 2011. *Dasar-Dasar Urologi*. Malang: Sagung Setyo.

Purwanto Ukhradiya M S. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Bakteri Endofit Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* .L) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor (IPB).

Radji Maksum. 2005. Peranan Biotenologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3) :113-126.

Radji Maksum. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Rajabnia C.M., Shahram Gooran, Faramarz Fazeli, Alireza Dashipour. 2012. *Antibiotic Resistance Pattern In Urinary Tract Infection In Imam-Ali Hospital, Zahedan (2010-2011)*. Zahedan J. Res. Med. Sci.

Rahayu, Susi A., Gumilar, M. H. 2017. Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 4:50-56.

Rante H, Burnahudin T, Soendaria I. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annuum L. var chinensis*) dan Profil KLT Bioatuografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 17(2):97-101.

Robert M dan Ross S. 2010. *Recurrent Urinary Tract Infection. SOGC Clin. Pract. Guidel.* SOGC.

Roostan Zohreh, Alireza Safatieh, Fatemah Mojadi, Hossein Zolgharnein, Kamat Ghanemi, dan Hajar Abiar. 2012. Phenanthrene biodegradation by Pseudomonas aeruginosa and Bacillus subtilis Isolated from Persian Gulf Sediments. *African Juornal of Microbiology Research.* Vol 6 (21).

Rosy A Bojaxa, P J Rosakutty. 2012. GC-MS Analysis of Methanol Wild Plant and Callus Extracts from Three Cissus Species, Family Vitaceae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 4 (7): 3420-3426.

Ryan RP, Kieran G, Franks A, David JR dan David ND. 2008. Bacterial Endophytes: Recent Development and Applications. *FEMS Microbial* 1-9.

Sardiani *et al.* 2015. Potensi Tunikata *Rhopalaea Sp* Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri. *Jurnal Alam dan Lingkungan* 6 (11).

Sari Nelma, Erina, Mahdi Abrar, Elia Wardani, Fakhrurrazi, Razali Daud. 2018. *Isolation and Identification of Salmonella sp and Shigella sp on Feces of Bendi's Horse in Bukittinggi West Sumatera* 2(3):402-410.

Sepriana Citra, Dwi Soelistya Dyah Jekti, Lalu Zulkifli. 2017. Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L) dan kemampuan sebagai antibakteri. *JPPIPA* : 3(2).

Simanjuntak P, Bustanussalam, Otovina D.M, Rahayuningsih M, Said E.G. 2004. Isolasi dan Identifikasi Artemisin Dari Hasil Kultivasi Mikroba Endofit Dari Tanaman *Artemisia annuna*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 15(2): 68-74.

Simarmata Rumella, Sylvia Lekatompessy, dan Harmastini Sukiman. 2007. Isolasi Mikroba Endofit Dari Tanaman Obat Sambung Nyawa *(Gynura*

procumbens) dan Analisis Potensinya Sebagai Antimikroba. *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*. 13: (85-90).

Strobel G.A. 2002. Microbial Gifts from Rain Forests. Can. *J. Plant Pathol* 24: 14-20.

Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. *Microbiology and Molecular Biology* Riview : 67(4), halaman 491-502.

Strobel G, Bryn D, Uvidelio C dan James H. 2004. Natural Product From Endophytic Microorganisms. *Journal of Natural Products* 67: 257-268.

Subhash Chandra, Saklani Sarla, Singh Jaybardhan. 2012. Phytochemical Screening of Garhwal Himalaya Wild Edible Tuber *Colocasia esculenta*. *Internasional Research Journal of Pharmacy*. 3(3): 181-186.

Sudana, IM. 2004. Identifikasi Patogen Penyebab Layu Pisang dan Tingkat Patogenitasnya pada beberapa Jenis Pisang Lokal Bali. *Agritop* 23: 82-87.

Sulviana AW, Nony Puspawati dan Rizal MR. 2017. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr. Moewardi. *Biomedika* 10: 18-24.

Sumampouw Michele, Robert B, Henoch A, Jimmy P. 2010. Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Akar Bakau *Rhizophora stylosa* terhadap *Bakteri Staphylococcus aureus* dan *Esherichia coli*. *Journal of e-Biomedik* Vol 2(1).

Sumampouw Oksfriani Jufri. 2018. Uji Sensitifitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences* Vol 2(1).

Tan.R.X and W.X.Zou. 2001. Endhophyte : A rich source of fungtional metabolite. *Nat. Prod*. Halaman 448-459.

Volk W dan M.F. Wheeler. 1988. *Basic Microbiology* (Mikrobiologi dasar diterjemahkan oleh Markhan). Erlangga. Jakarta: 301-303.

Wahyuninsih P.E.R. 2006. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Dalam Akar *Talinum triangulare* (Jacq) Wild yang Mempunyai Potensi Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* [SKRIPSI]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Widowati Tiwit, Nuriyanah, Indah BA dan Harmastini S. 2016. The Potency of Endophytic Fungi Isolated From Taro *(Colocasia esculenta (L.) Schott)* as Plant Growth Promoting Agent. *Proceeding of International Symposium for Sustainable Humanosphere* 250-255.

Wulandari Destik dan Desi Puraningsih. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit yang Mempunyai Aktivitas Aminolitik pada Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L.). Di dalam: Agna S, Desy F, Rully A, Dr.V. Irene M, Dr. Elizabeth B, Drs. Sucahyo, Risya P, Slamet B dan Ruth G, editor. *Inovasi dalam Penelitian dan Pembelajaran Biologi*. Salatiga, 26 Jan 2019. Salatiga: Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana. Hlm 93-96.

Wu S. *et al*. 2005. Purification and characterization of tow novel antimicrobial peptides Subpeptin JM4-A and Subpeptin JM4-B produced by *Bacillus subtilis JM4. Curr Microbiol* 51: 292-296.

Xu Ben-Hong, Ya-Qin Lu, Zhi-Wei Ye, Qia-Wang Zheng, Tao Wei, Jun-Fang Lin, Li-Qiong Guo. 2018. Genomics-Guided Discovery and Structure Identification of Cyclic Lipopeptides from The Bacillus siamensis. *JFL15*. PloS ONE 13(8): e0202893.

Zinniel, D.K., P. Lambrech, N.B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmarski, P. Higley, C. A.Ishimaru, A. Arunakumari, R. G. Barletta & A. K. Vidaver. 2002. Isolation and Characterization of Endophtic Colonizing Bacteria from Agronomic Crpos and Prairie Plants. *Applied and Enviromental Microbiology*, 68; halaman 2198-2208.

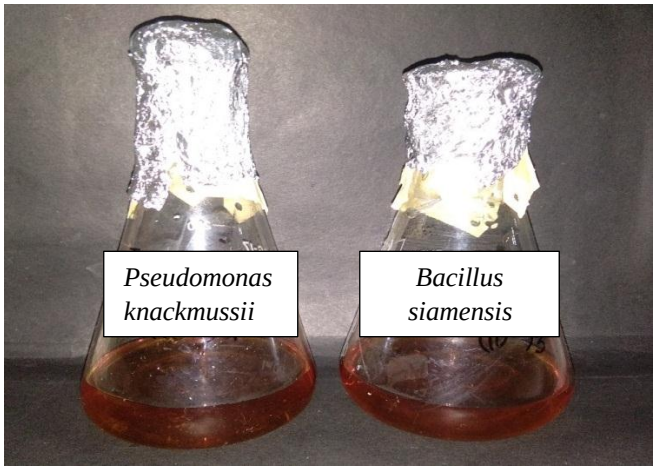
Zulkifli L, Dwi SDJ, Samzul B. 2018. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Kulit Batang Srikaya (*Anonna squamosa*) dan Potensinya sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*: Univeristas Mataram 4: 21-29.

LAMPIRAN

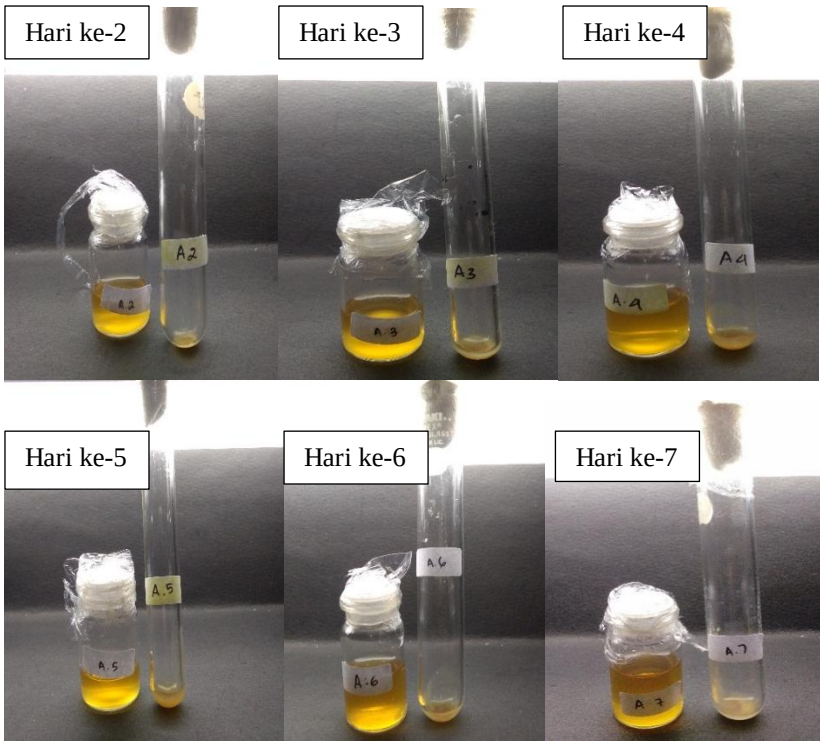
Lampiran 1. Suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri *Escherichia coli*

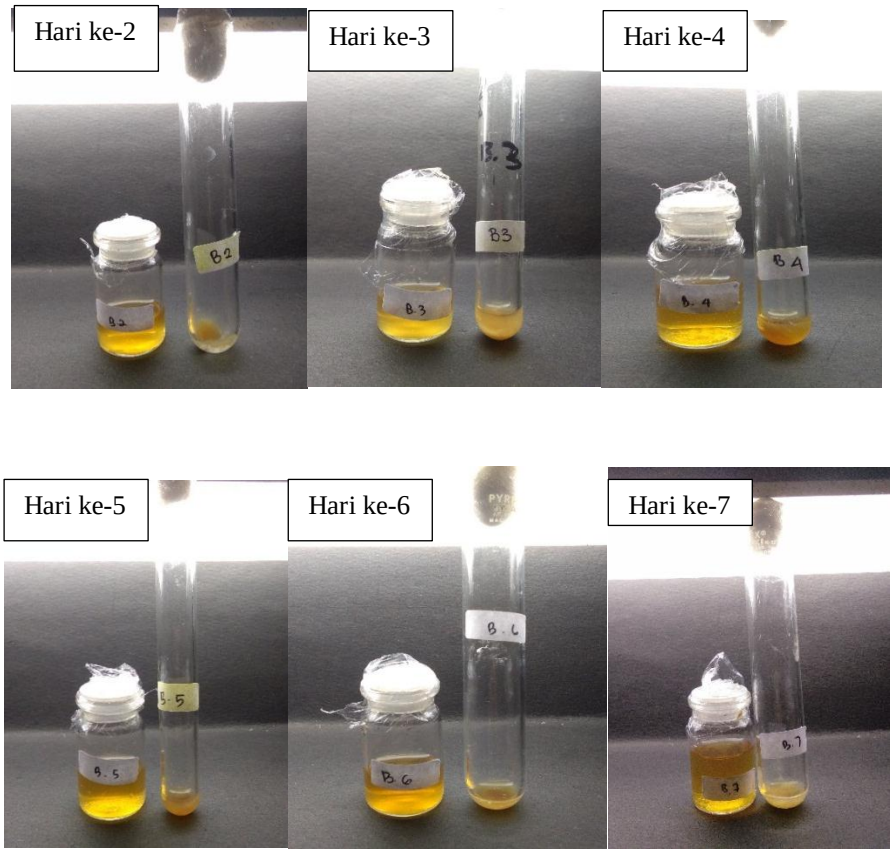
Lampiran 2. Fermentasi isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis*



Fermentasi isolat bakteri *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis*



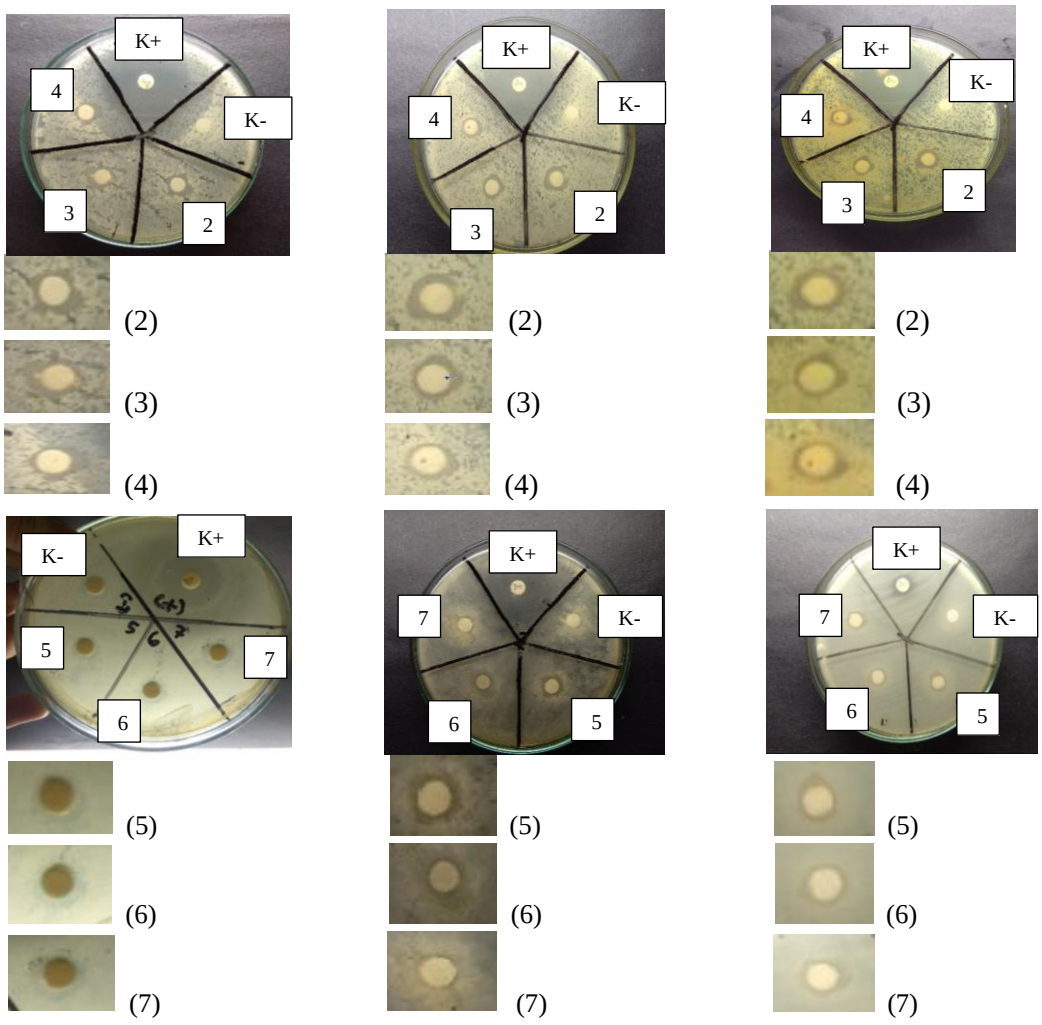
Supernatan isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii*



Supernatan isolat bakteri endofit *Bacillus siamensis*

Lampiran 3. Uji Aktivitas antibakteri hasil isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacllus siamensis* dari umbi talas (*Colocasia esculenta L.*) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Replikasi 1 Replikasi 2 Replikasi 3

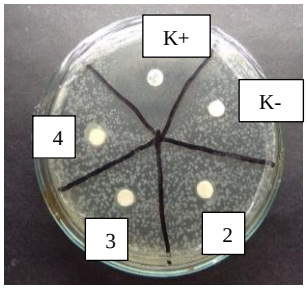


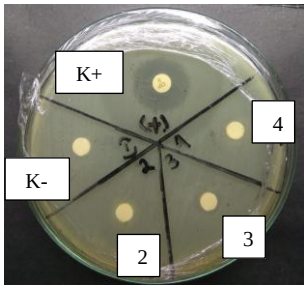
Keterangan :

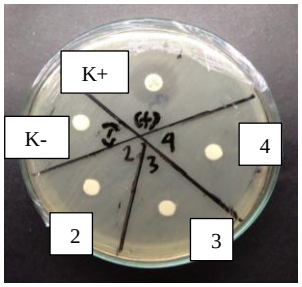
+ : Kontrol positif (Antibiotik ciprofloxacin)
-: Kontrol negatif
2 : Fermentasi hari ke 2
3 : Fermentasi hari ke 3
4 : Fermentasi hari ke 4
5 : Fermentasi hari ke 5
6 : Fermentasi hari ke 6
7 : Fermentasi hari ke 7

Uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* terhadap *Escherichia coli*

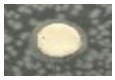
Replikasi 1 Replikasi 2 Replikasi 3







 (2)

 (3)

 (4)

 (2)

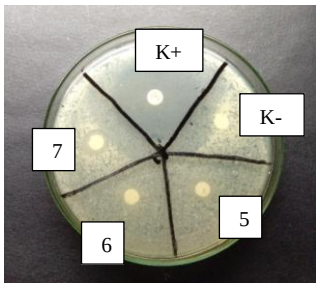
 (3)

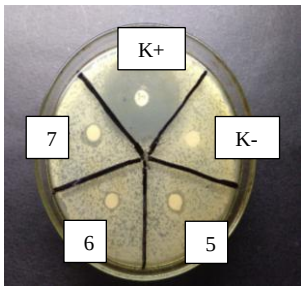
 (4)

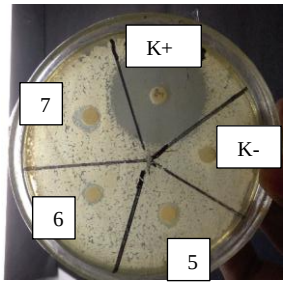
 (2)

 (3)

 (4)







 (5)

 (6)

 (7)

 (5)

 (6)

 (7)

 (5)

 (6)

 (7)

Keterangan :

+ : Kontrol positif (Antibiotik ciprofloxacin)

-: Kontrol negatif

2 : Fermentasi hari ke 2

3 : Fermentasi hari ke 3

4 : Fermentasi hari ke 4

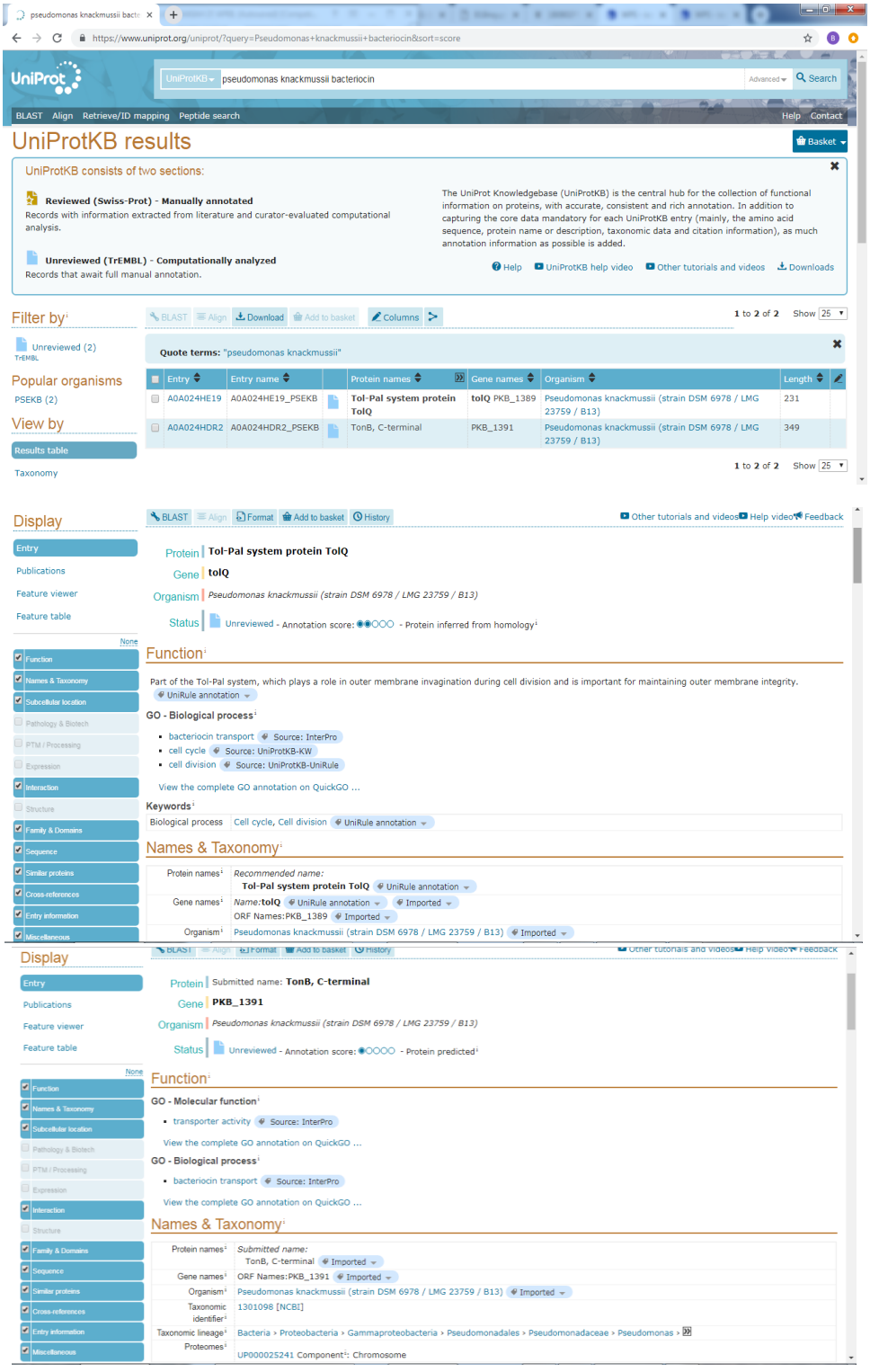
5 : Fermentasi hari ke 5

6 : Fermentasi hari ke 6

7 : Fermentasi hari ke 7

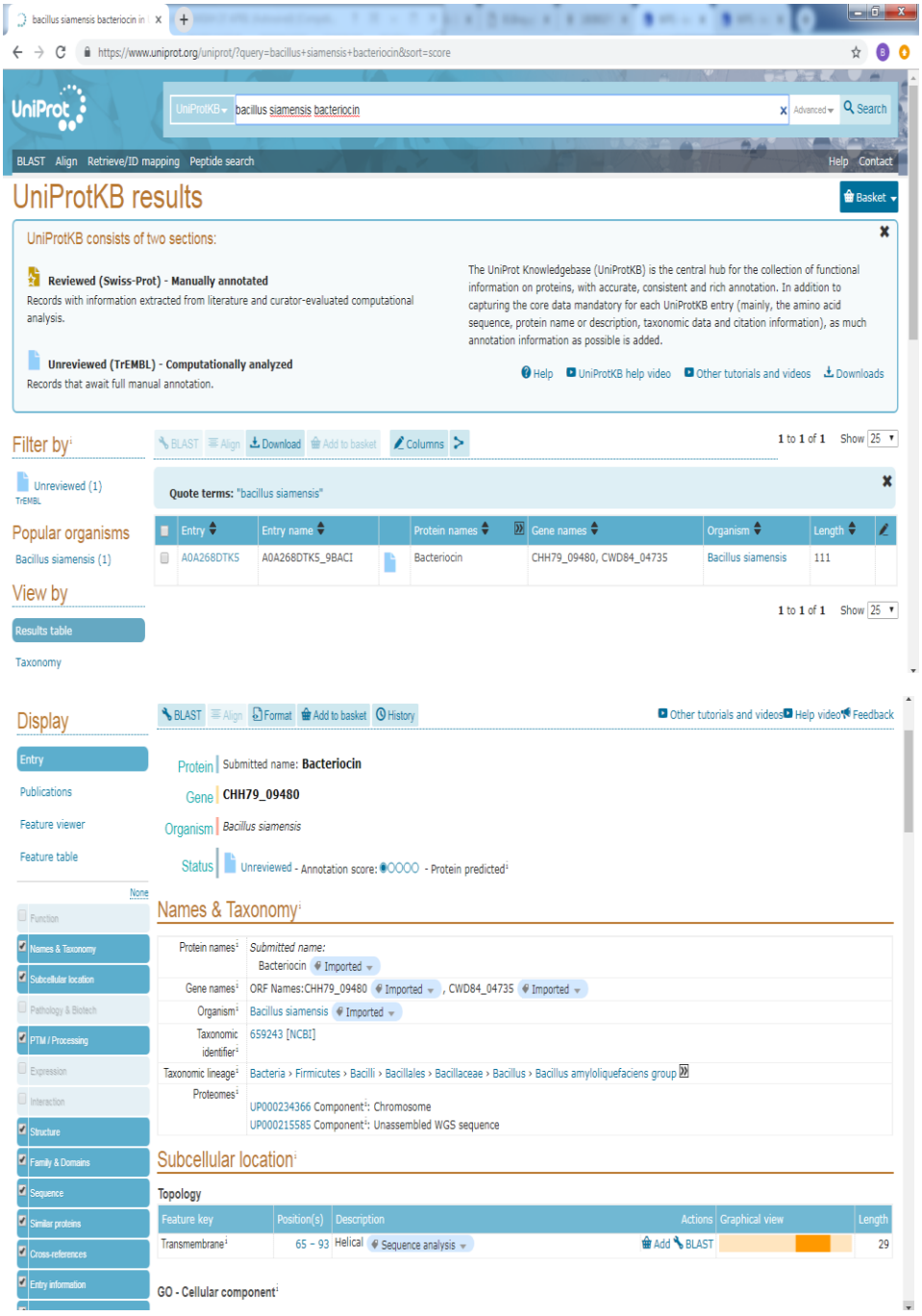
Uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit ECE-4 terhadap *Escherichia coli*

Lampiran 4. Hasil pencarian dugaan protein antibakteri yang disintesis oleh bakteri endofit *Pseudomonas knackmusii* pada laman *Universal Protein Resourse* (UniProt)

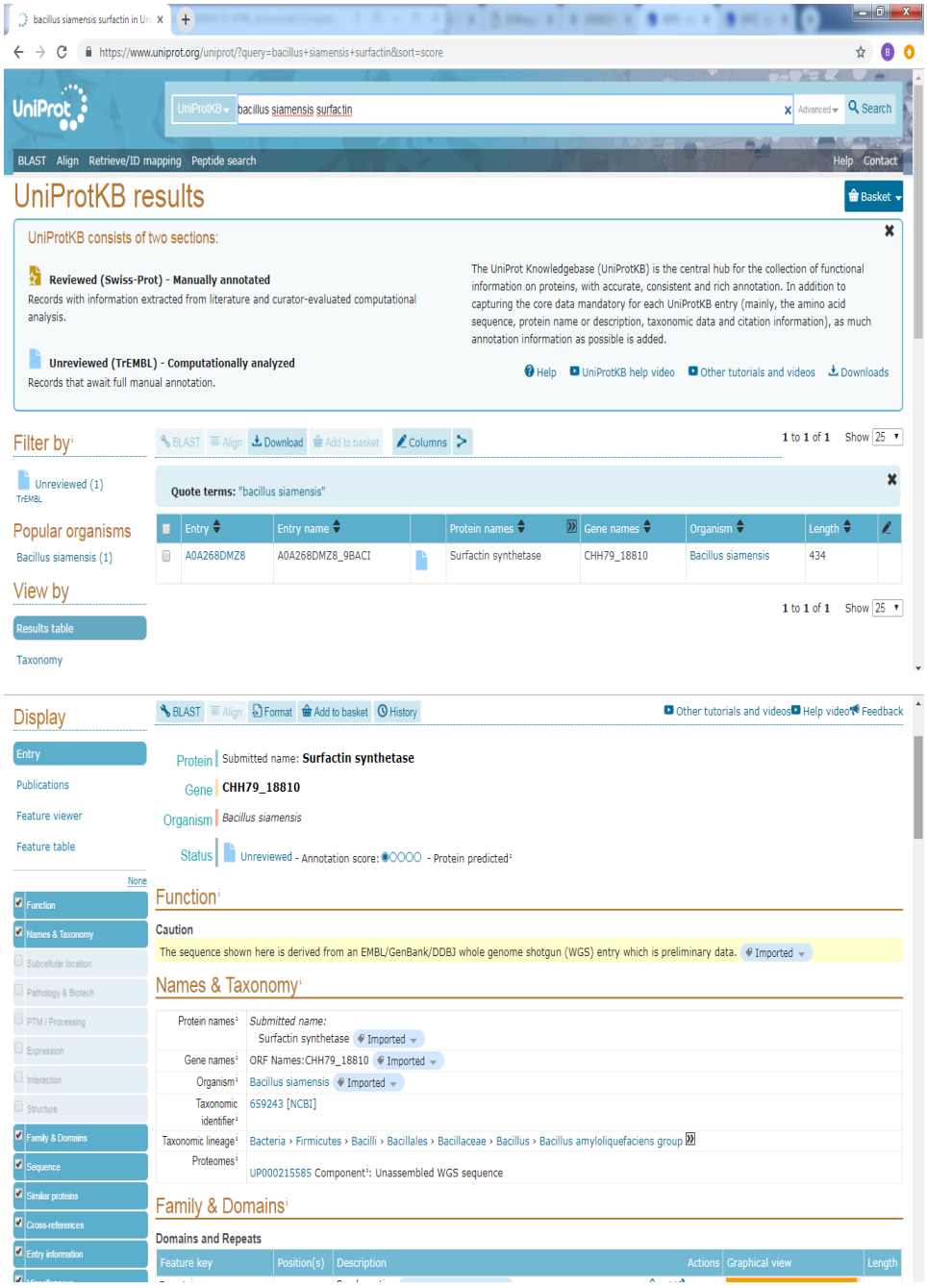


Protein Tol-Pal system protein TolQ dan TonB, C-terminal

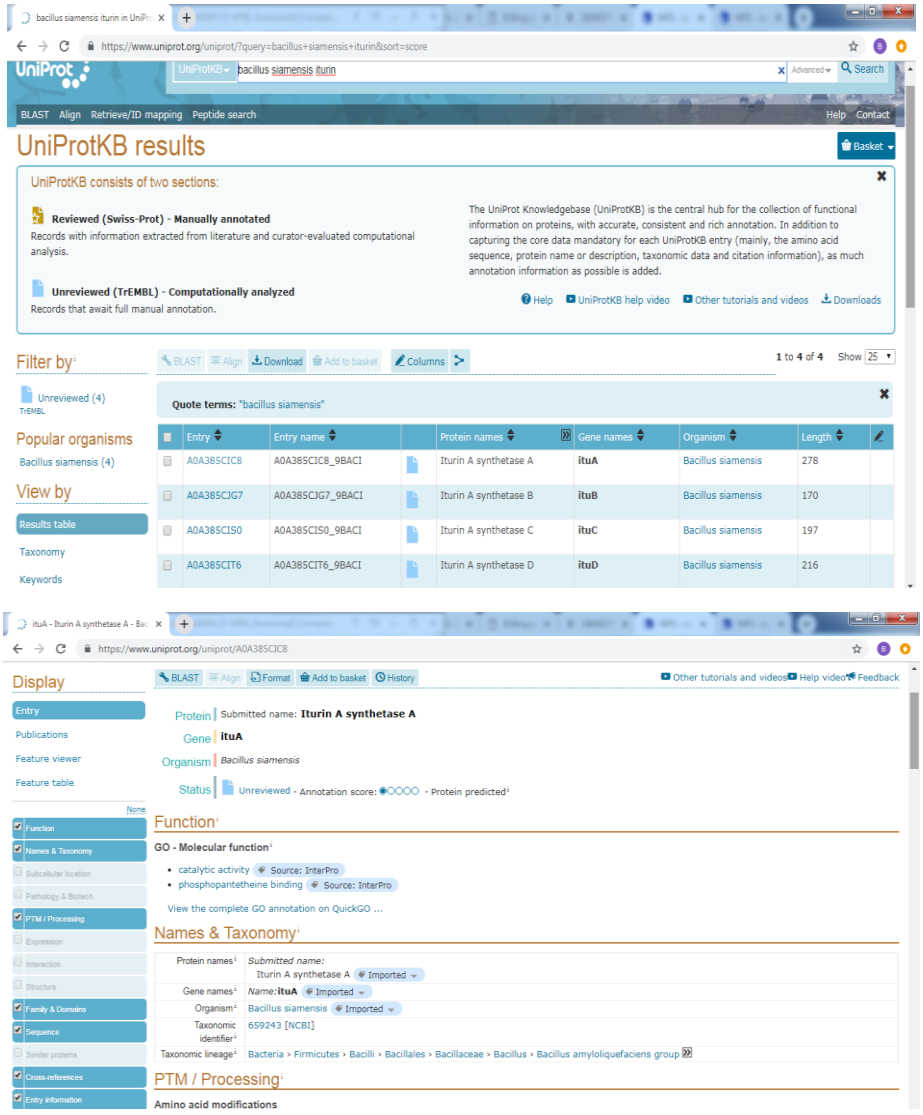
Lampiran 5. Hasil pencarian dugaan protein antibakteri yang disintesis oleh bakteri endofit *Bacillus siamensis* pada laman *Universal Protein Resourse* (UniProt)



Protein bacteriocin



Prtotein Surfactin



Protein Iturin A

Lampiran 6. Formulasi dan pembuatan media

1. Media *Endo Agar*

Peptone 10 g

Di-photasium hydrogen phosphate 2,5 g

Lactose 10 g

Sodium sulfit anhidrate 3,3 g

Fuchsin 0,3 g

Agar-agar 12,5 g

pH 7.4 ± 0,2 g

Dilarutkan 39 g bahan diatas dalam 1 liter aqua destilata kemudian disterilisasi dengan autoclave 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

2. *Pseudomonas Selektive Agar* (PSA)

Pepton from casein 10,0 g

Pepton from meat 3,5 g

Laktosa 10,0 g

Sodium sulfit 2,5 g

Agar-agar 12,5 g

pH 7,4

Dilarutkan 45,3 g bahan diatas dalam 1 liter aqua destilata ditambah dengan 10 mL gliserin, kemudian disterilkan dengan autoclave 121^{0}C selama 15 menit.

3. *Nutrien Agar* (NA)

Pepton 10 g

Ekstrak daging sapi / ekstrak ragi 10 g

Agar 15 g

NaCl 5 g

pH 7,4

Dilarutkan 23 g bahan diatas dalam 1 liter aqua destilata kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit.

4. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ekstrak daging 2.0 g

Casein hydrolisate 17,5 g

Tepung kanji 1,5 g

Agar-agar 17,0 g

pH 7.3 ± 0,2 g

Dilarutkan 38 g bahan diatas dalam 1 liter aqua destilata dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

5. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Ekstrak otak, ekstrak hati, dan pepton 27,5 g

Dekstrosa 2 g

Sodium chloride 5 g

Dy-sodium hydrogen phosphate 2,5 g

Agar-agar 15 g

pH 7.4 ± 0,2

Dilarutkan 52 g bahan diatas dalam 1 liter aqua destilata dan disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit.

6. *Sulfide Indol Motility* (SIM)

Peptone from casein 20.0 g

Peptone from meat 6. g

Ammonium iron(II)sitrate 0.2 g

Sodium thiosulfate 0.2 g

Agar-agar 3.0 g

pH: 7.3 ± 0.2

Bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter aqua destilata dan dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

7. *Kligler's Iron Agar* (KIA)

Peptone from casein 15.0 g

Peptone from meat 5.0 g

Meat extract 3.0 g

Yeast extract 3.0 g

Sodium chloride 5. g 0

Lactose 10.0 g

D(+)glucose 1.0 g

Ammonium iron(III) sitrate 0.5 g

Sodium thiosulfate 0.5 g

Phenol red 0.024 g

Agar-agar 12.0. g

pH 7.4 ± 0.2

Bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter aqua destilata dan dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

8. *Lisyne Iron Agar* (LIA)

Peptone from meat 5.0 g

Yeast extract 3.0 g

D(+)glucose 1.0 g

L-lysine monohydrochloride 10.0 g

Sodium thiosulfate 0.04 g

Ammonium iron(III) sitrate 0.5 g

Bromocresol purple 0.02 g

Agar-agar 12.5 g

pH: 6.7 ± 0.2 g

Bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter aqua destilata dan dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

9. Simmon Sitrat Agar

Ammonium dihydrogen phosphate 1.0 g

Di-potassium hydrogen phosphate 1.0 g

Sodium chloride 5.0 g

Sodium sitrate 2.0 g

Magnesium sulfate 0.2 g

Bromothymol blue 0.08 g

Agar-agar 13.0. G

pH: 6.6 ± 0.2

Bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter aqua destilata dan dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121^{O}C selama 15 menit (Merck 2005).

Lampiran 7. Hasil ANOVA *One Way* isolat *Pseudomonas knackmussii*

Tests of Normality[a]

Isolat	Waktu Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	Kolmogorov-Smirnov[b]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter daya hambat	Kontrol positif	0,338	3	.	0,853	3	0,247
	Fermentasi hari ke 2	0,351	3	.	0,827	3	0,181
	Fermentasi hari ke 3	0,338	3	.	0,853	3	0,247
	Fermentasi hari ke 4	0,240	3	.	0,975	3	0,694
	Fermentasi hari ke 5	0,276	3	.	0,942	3	0,537
	Fermentasi hari ke 6	0,278	3	.	0,940	3	0,529
	Fermentasi hari ke 7	0,191	3	.	0,997	3	0,900

Test of Homogeneity of Variances

Diameter daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8,792	7	16	0,000

ANOVA

Diameter daya hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2008,444	7	286,921	544,652	0,000
Within Groups	8,429	16	0,527		
Total	2016,873	23			

Diameter Daya Hambat

Duncan[a]

Waktu Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol Negatif	3	,0000		
Fermentasi Hari ke 2	3		11,8333	
Fermentasi Hari ke 3	3		12,2133	
Fermentasi Hari ke 5	3		12,2600	
Fermentasi Hari ke 7	3		12,2600	
Fermentasi Hari ke 6	3		12,2733	
Fermentasi Hari ke 4	3		12,3133	
Kontrol Positif	3			35,3367
Sig.		1,000	,479	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 8. Hasil ANOVA *One Way* isolat *Bacillus siamensis*

Tests of Normality[a]

Isolat	Waktu Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	Kolmogorov-Smirnov[b]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter daya hambat	Kontrol positif	0,311	3	.	0,898	3	0,378
	Fermentasi hari ke 2	0,264	3	.	0,955	3	0,590
	Fermentasi hari ke 3	0,307	3	.	0,903	3	0,394
	Fermentasi hari ke 4	0,381	3	.	0,759	3	0,020
	Fermentasi hari ke 5	0,177	3	.	1,000	3	0,968
	Fermentasi hari ke 6	0,344	3	.	0,841	3	0,217
	Fermentasi hari ke 7	0,312	3	.	0,896	3	0,372

Test of Homogeneity of Variances

Diameter daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,731	7	16	0,014

ANOVA

Diameterdayahambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2063,487	7	294,784	1556,717	0,000
Within Groups	3,030	16	,189		
Total	2066,517	23			

Diameter Daya Hambat

Duncan[a]

Waktu Fernentasi Isolat Bakteri Endofit	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3	,0000				
Fermentasi Hari ke 2	3		9,4033			
Fermentasi Hari ke 3	3			10,1700		
Fermentasi Hari ke 6	3			10,5933		
Fermentasi Hari ke 4	3			10,7767		
Fermentasi Hari ke 5	3			10,8867	10,8867	
Fermentasi Hari ke 7	3				11,6033	
Kontrol Positif	3					35,0133
Sig.		1,000	1,000	,081	,061	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 9. Hasil ANOVA *Two Way* isolat bakteri endofit *Pseudomonas knackmussii* dan *Bacillus siamensis*

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for hasil	,180	48	,041	,914	48	,052

a. Lilliefors Significance Correction

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
isolat bakteri endofit	1,00	pseudomonas knackmussii	18
	2,00	bacillus siamensis	18
	3,00	kontrol positif	6
	4,00	kontrol negatif	6
waktu fermentasi	1,00	Fermentasi hari ke-2	6
	2,00	Fermentasi hari ke-3	6
	3,00	Fermentasi hari ke-4	6
	4,00	Fermentasi hari ke-5	6
	5,00	Fermentasi hari ke-6	6
	6,00	Fermentasi hari ke-7	6
	7,00	kontrol positif	6
	8,00	kontrol negatif	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: diameter daya hambat

isolat bakteri endofit	waktu fermentasi	Mean	Std. Deviation	N
pseudomonas knackmussii	Fermentasi hari ke-2	11,8333	1,00620	3
	Fermentasi hari ke-3	12,2133	1,58658	3
	Fermentasi hari ke-4	12,3133	,12662	3
	Fermentasi hari ke-5	12,2600	,03606	3
	Fermentasi hari ke-6	12,2733	,20108	3
	Fermentasi hari ke-7	12,2600	,16523	3
	Total	12,1922	,67338	18
bacillus siamensis	Fermentasi hari ke-2	9,4033	,23029	3
	Fermentasi hari ke-3	10,1700	,80517	3
	Fermentasi hari ke-4	10,7767	,48789	3
	Fermentasi hari ke-5	10,8867	,34005	3
	Fermentasi hari ke-6	10,5933	,57239	3
	Fermentasi hari ke-7	11,6033	,23245	3
	Total	10,5722	,80697	18
kontrol positif	kontrol positif	35,1750	,55001	6
	Total	35,1750	,55001	6
kontrol negatif	kontrol negatif	,0000	,00000	6
	Total	,0000	,00000	6
Total	Fermentasi hari ke-2	10,6183	1,48245	6
	Fermentasi hari ke-3	11,1917	1,58707	6
	Fermentasi hari ke-4	11,5450	,90002	6
	Fermentasi hari ke-5	11,5733	,78268	6
	Fermentasi hari ke-6	11,4333	,99697	6
	Fermentasi hari ke-7	11,9317	,40236	6
	kontrol positif	35,1750	,55001	6
	kontrol negatif	,0000	,00000	6
	Total	12,9335	9,34254	48

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: diameter daya hambat

F	df1	df2	Sig.
7,747	13	34	,058

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + isolat + fermentasi + isolat * fermentasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: diameter daya hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4090,687[a]	13	314,668	921,085	,000
Intercept	8374,008	1	8374,008	24512,071	,000
Isolat	23,620	1	23,620	69,138	,000
Fermentasi	5,924	5	1,185	3,468	,012
isolat * fermentasi	2,752	5	,550	1,611	,184
Error	11,615	34	,342		
Total	12131,574	48			
Corrected Total	4102,302	47			

a. R Squared = ,997 (Adjusted R Squared = ,996)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter daya hambat

	(I) isolat bakteri endofit	(J) isolat bakteri endofit	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
LSD	pseudomonas knackmussii	bacillus siamensis	1,6200*	,19483	,139	1,2241	2,0159
		kontrol positif	-22,9828*	,27553	,087	-23,5427	-22,4228
		kontrol negatif	12,1922*	,27553	,040	11,6323	12,7522
	bacillus siamensis	pseudomonas knackmussii	-1,6200*	,19483	,355	-2,0159	-1,2241
		kontrol positif	-24,6028*	,27553	,076	-25,1627	-24,0428
		kontrol negatif	10,5722*	,27553	,037	10,0123	11,1322
	kontrol positif	pseudomonas knackmussii	22,9828*	,27553	,525	22,4228	23,5427
		bacillus siamensis	24,6028*	,27553	,312	24,0428	25,1627
		kontrol negatif	35,1750*	,33746	,021	34,4892	35,8608
	kontrol negatif	pseudomonas knackmussii	-12,1922*	,27553	,940	-12,7522	-11,6323
		bacillus siamensis	-10,5722*	,27553	,348	-11,1322	-10,0123
		kontrol positif	-35,1750*	,33746	,021	-35,8608	-34,4892

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,342.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

diameter daya hambat

	isolat bakteri endofit	N	Subset 1	2	3	4
Duncan[a,b,c]	kontrol negatif	6	,0000			
	bacillus siamensis	18		10,5722		
	pseudomonas knackmussii	18			12,1922	
	kontrol positif	6				35,1750
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,342.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.
b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
c. Alpha = ,05.