

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ENDOFIT YANG
DIISOLASI DARI DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus* Benth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**HASNA JAUZA
A161070**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ENDOFIT YANG
DIISOLASI DARI DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus* Benth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**HASNA JAUZA
A161070**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ENDOFIT YANG
DIISOLASI DARI DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon aristatus* Benth.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa***

**HASNA JAUZA
A161070**

Oktober 2020

Disetujui Oleh :

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si.

Pembimbing



Dr. Erman Tritama, M.Si.

Kutipan atau saduran, baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini kupersembahkan kepada kedua orang tua, keluarga, serta teman teman yang senantiasa memberikan doa, motivasi, dan dukungan dalam keadaan apapun.

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan bakteri yang dapat hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan bahaya dan memiliki senyawa aktif yang sama seperti tanaman inangnya. Di sini, *Orthosiphon aristatus* atau yang dapat disebut juga dengan nama “Teh Jawa” dilakukan isolasi bakteri endofit dari bagian daun. Untuk mengetahui bakteri apa yang ada pada daun Kumis Kucing dan bagaimana aktivitas antimikrobanya terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri yang telah diisolasi diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan dengan metode analisis 16S rRNA. Bakteri endofit diekstraksi dan kemudian diambil isolatnya untuk diuji aktivitas antimikrobanya. Dari keempat bakteri yang berhasil diisolasi dua diantaranya memiliki aktivitas antimikroba, yaitu isolat bakteri 6 (*Acinetobacter schindleri*) dan isolat bakteri 7 (*Pantoea agglomerans*). Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk pada media yang diletakkan cakram isolat metabolit bakteri endofit.

Kata kunci : bakteri endofit, identifikasi bakteri, *Acinetobacter schindleri*, *Pantoea agglomerans*, aktivitas antimikroba

ABSTRACT

Endophytic bacteria are bacteria that can live in plant tissue without causing harm and have the same active compounds as their host plants. Here, Orthosiphon aristatus or what can be referred to as "Java Tea" is carried out isolation of bacteria from the leaves. To see what bacteria are on the Orthosiphon aristatus and how their antimicrobial activity against pathogenic bacteria Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. Isolated bacteria were identified by gram staining and by the 16S rRNA analysis method. The endophytic bacteria was extracted and then the isolates were taken to be tested for their antimicrobial activity. Of the crude bacteria that were isolated, two of them with antimicrobial activity, bacterial isolate 6 (Acinetobacter schindleri) and bacterial isolate 7 (Pantoea agglomerans). This is indicated by the presence of a clear zone formed on the media which is placed on the disc of endophytic bacterial metabolite isolates.

Key words: endophytic bacteria, bacteria identification, Acinetobacter schindleri, Pantoea agglomerans, antimicrobial activity

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Segala puji serta syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit yang Diisolasi dari Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* Benth.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing ibu Nur Asni Setiani, M.Si. dan bapak Dr. Erman Tritama, M.Si. Atas bimbingan, nasihat, dukungan serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Dr. Apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Apt. Dewi Astriany, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. Apt. Revika Rachmaniar, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
4. Nur Asni Setiani, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Seluruh Koordinator Lab TA dan Laboran, yang telah dengan sabar membantu penulis saat dilaksanakannya penelitian,
7. Keluarga tercinta, Ayahanda Agung Nugraha Purnamasidhi, S.Pd., Ibunda Sity Amanah, kakakku Fifi Fastiani Pandansari, SE., Apt. Tatan Sutandi, S.Farm., Adriastama Nugraha Priajati, S.Si., M.M., dan Pratiwi Lestari S.Si., terima kasih untuk doa, dukungan, motivasi dan kasih sayangnya.

8. Sahabatku yang setia mendampingi, Meli Sri Melani, A.Md.Kep., Dinar Zhafira Komara, S.T.P., dan teman – teman yang tergabung dalam grup pejuang langsing, COA, dan semuanya yang tidak bisa disebutkan satu per satu.
9. Rekan – rekan angkatan 2016 dan kelas Konversi angkatan 2018 yang telah memberikan inspirasi dan motivasi selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Semoga semua bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan yang berlimpah dari Allah SWT. Aamiin.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan Karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i> Benth.) .	4
2.1.1 Taksonomi Tanaman	4
2.1.2 Morfologi dan Kandungan Tanaman	4
2.1.3 Manfaat Kumis Kucing	5
2.1.4 Habitat Tanaman Kumis Kucing.....	5
2.2 Bakteri	6
2.2.1 Bakteri Gram Positif.....	6
2.2.2 Bakteri Gram Negatif	7
2.3 Bakteri Endofit	8
2.4 16S rRNA.....	9
2.5 Fase Pertumbuhan Bakteri	10
2.6 Antimikroba	11
2.7 Metode Pengujian Antimikroba	12

BAB III	ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN	13
	3.1 Bahan.....	13
	3.2 Alat	13
	3.3 Metode Penelitian.....	13
	3.3.1 Determinasi Tanaman Kumis Kucing	13
	3.3.2 Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Kumis Kucing.....	14
	3.3.3 Pewarnaan Gram.....	14
	3.3.4 Identifikasi Bakteri Endofit	15
	3.3.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit	15
	3.3.6 Produksi dan Ekstraksi Metabolit Antimikroba Bakteri Endofit	15
	3.3.7 Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit	16
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
	4.1 Determinasi Tanaman Kumis Kucing	18
	4.2 Isolasi Bakteri Endofit.....	18
	4.3 Pewarnaan Gram	19
	4.4 Identifikasi Bakteri Endofit dan Hasil Analisis 16S rRNA.....	19
	4.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Endofit	21
	4.6 Produksi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder Bakteri Endofit	22
	4.7 Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit	23
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	25
	5.1 Simpulan.....	25
	5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	25

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Urutan basa primer universal	15
3.2 Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri.....	16
4.1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit.....	19
4.2 Hasil ekstrak kasar metabolit sekunder bakteri endofit	23
4.3 Aktivitas ekstrak isolat bakteri endofit terhadap <i>S.auerus</i>	23
4.4 Aktivitas ekstrak isolat bakteri endofit terhadap <i>P.aeruginosa</i>	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i> Benth.)	4
3.1 Skema peletakan kertas cakram pada media uji	16
3.2 Pengukuran diameter zona bening	17
4.1 Hasil Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat bakteri 6 berdasarkan sekuen 16S rRNA.....	20
4.2 Hasil Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat bakteri 7 berdasarkan sekuen 16S rRNA.....	20
4.3 Hasil Pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat bakteri 8 berdasarkan sekuen 16S rRNA.....	21
4.4 Kurva Pertumbuhan bakteri (a) <i>Acinetobacter chandleri</i> (b) <i>Pantoea agglomerans</i> (c) <i>Pseudomonas lurida</i>	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Determinasi Tanaman Kumis Kucing.....	29
2. Hasil Inokulasi Ekstrak Daun Kumis Kucing.....	30
3. Hasil Isolat Bakteri Endofit	31
4. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit	32
5. Urutan Basa Nukleotida Analisis 16S rRNA.....	33
6. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri 3	36
7. Kurva Baku Bakteri Endofit	37
8. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Isolat Bakteri Endofit	41

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri endofit merupakan kelompok bakteri yang hidup dan bersimbiosis dengan jaringan daun, akar, buah, dan batang tanaman inang. Telah diketahui bahwa bakteri endofit memproduksi protein dan enzim yang penting bagi fungsi biologis sebagai metabolit sekunder dan bermanfaat bagi tanaman inang. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Bakteri endofit memiliki sifat yang sangat unik dimana fisiologi tumbuhan yang berasal dari spesies yang sama namun tumbuh pada lingkungan yang berbeda, maka bakteri endofit yang dihasilkan akan berbeda pula sesuai kondisinya lingkungannya (Putri, 2018).

Secara alami tanaman memiliki asosiasi dengan mikroorganisme dengan berbagai mekanisme. Umumnya tanaman dapat tumbuh pada lingkungan dengan pengaturan yang unik serta memiliki sifat etnobotani khusus sehingga lokasi tempat tumbuhnya bersifat endemik bagi pertumbuhan bakteri endofit. Sifat bakteri endofit yang tidak berdampak negatif pada jaringan tanaman menunjukkan kemungkinan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan inangnya (Leiwakabessy, 2013).

Salah satu tanaman obat tradisional yang paling banyak digunakan di Asia Tenggara adalah Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq, atau *O. stamineus* Benth.). Tanaman ini ditemukan terutama di seluruh Cina Selatan, Asia Selatan, Asia Tenggara dan Australia Tropis. Daun *O. aristatus* telah diperkenalkan ke Eropa dan Jepang sebagai teh sehat, yang biasanya dikenal sebagai "Teh Jawa".

Daerah penanaman *O. aristatus* di Indonesia sebagian besar ditemukan di Jawa Barat (Bogor dan Sukabumi), Sumatera Timur dan Barat, Aceh, dan Sulawesi Utara (Silalahi, 2019). Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) di Indonesia, dikenal sebagai tanaman obat keluarga, tanaman yang termasuk dari suku Lamiaceae ini banyak digunakan untuk mengobati penyakit seperti edema, hepatitis, penyakit kuning, hipertensi, diabetes mellitus, rematik, influenza dan lain-lain. Mengobati penyakit seperti edema, hepatitis, penyakit kuning,

DAFTAR PUSTAKA

- Almantar, M., Ekal, H., dan Rahmat. 2014. "A Glance on Medical Applications of *Orthosiphon stamineus* and Some of its Oxidative Compounds". *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*.
- Ameer, O.Z., I.M. Salman, M.Z. Asmawi, Z.O. Ibraheem, M.F. Yam. 2012. *Orthosiphon stamineus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology.
- Busi, Siddhardha, Jobina Rajkumari, Subhaswaraj Pattnaik, Paramanandham Parasuraman, Sairengpuii Hnamte. 2016. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science*. No 5 (5) 407-411
- Costa, L. E. O., Queiroz, M. V., Borges, A. C., Moraes, C. A., dan Araújo, E. F. 2012. "Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria Isolated from The Leaves of The Common Bean (*Phaseolus vulgaris*)."
Brazilian Journal of Microbiology : 1562-1575.
- Das, I., Panda, M. K., Rath, C. C., dan Tayung, K. 2017. Bioactivities of bacterial endophytes isolated from leaf tissues of *Hyptis suaveolens* against some clinically significant pathogens. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7 (08) : 132.
- Dewanto, Ricco. 2017. "Uji Potensi Khamir Dalam Menghambat *Alternaria sp.* Penyebab Penyakit Bercak Daun yang Diisolasi Dari Daun Epifit Jeruk Siam (*Citrus nobilis*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Dutkiewicz¹, Jacek., Mackiewicz, B., Lemieszek, K. M., Golec¹, M., Milanowski, J. 2016. "Pantoea agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects". *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. Vol. 23, No. 2:206-222.
- Irianto, K. 2013. *Mikrobiologi Medis (Medical Microbiology)*. Bandung: Penerbit Alfabeta. Hal 136;446;285
- Leiwakabessy, C dan Latupeirissa, Y. 2013. Ekplorasi Bakteri Endofit Sebagai Agens Hayati Pada Tanaman Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Budidaya Pertanian*, 9 (1) : 16.
- Muhsinin, S., Budiarto, R. M., dan Mulyani, L. N. "Isolation of Endophytic Bacteria from Plant Basil (*Ocimum sanctum* L.) as Antibacterial Against *Staphylococcus aureus*." *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3(4): 92-96.
- Nair, A., Kiruthika, D., Dheeba, B., dan Tilton, F. 2014. "Cytotoxic Potential of

Orthosiphon stamineus Leaf Extract Against Pathogenic Bacteria and Colon Cells.” *Asian Journal of Science and Technology*, Vol. 5, Issue 3:221-225.
Pratiwi, T. Sylvia.2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Farmasi. Yogyakarta: Penerbit Erlangga.

Pratiwi, T. Sylvia.2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Farmasi. Yogyakarta: Penerbit Erlangga.

Purwesti, dkk. 2016. “Metabolic Profiling of Endophytic Bacteria from Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molken) Root and Antibacterial Activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.”

Putri, M. F., Fifendy, M., Putri H.D. 2018. Diversitas Bakteri Endofit pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.). *EKSAKTA* .19 (1) : 125.

Radji, M. 2005. “Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal.” *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No. 3: 113-126.

Rinanda, Tristia. 2011. “Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi”. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, Vol. 11, No. 3: 172 – 177.

Silalahi, M. 2019. *Orthosiphon stamineus* Benth. (Uses and Bioactivities). *Indonesian Journal of Science and Education*. 3 (1) : 26.

Surahmaida, S., dkk. 2019. Senyawa Bioaktif Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*). *Jurnal Kimia Riset*. 4(1) : 81-82.

Taiz, L. dan Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Utami, D. P., Mahyarudin, Zakiah, M. 2017. “Isolasi, Identifikasi dan Aktifitas Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*”. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.

Vanneste, J.L. D.A. Cornish, J. Yu, M.D. Voyle. 2002. The Peptide Antibiotic Produced By *Pantoea Agglomerans* EH252 Is A Microcin. *Acta Horticulturae*. 590, IX International Workshop on Fire Blight. ISHS. P.285.

Yam, M.F., Lim, C.P., Ang, L.F., Por, L.Y., Wong, S.T., Asmawi, M.Z., Basir, R., Ahmad, M., 2013, Antioxidant and Toxicity Studies of 50% Methanolic

Extract of *Orthosiphon stamineus* Benth, Biomed Research International, 2013, 1-10.

Yunita, M., Hendrawan, Y., dan Rini, Y. 2015. “Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*”. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem* 3(3): 240-241.