



**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)**

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh
Nadya Audina Nurkhafiya Sadikin
4411415062

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2019**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 8 November 2019



Nadya Audina Nurkhafiya Sadikin

4411415062

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*)" disusun oleh:

Nama : Nadya Audina Nurkhafiya Sadikin

NIM : 4411415062

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 20 Desember 2019 dan disahkan oleh Panitia Ujian.

Panitia Ujian

Ketua



Dr. Sugranto, M.Si.

NIP. 196102191993031001

Sekretaris

Dr. dr. Nugrahaningsih W.H., M. Kes.

NIP. 196907091998032001

Penguji I,

Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D.

NIP. 198009292005012004

Penguji II,

Dr. Ir. Pramesti Dewi, M.Si.

NIP. 196509081989032001

Penguji III/ Pembimbing

Prof. Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M. S.

NIP. 196008141987102001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

Jangan pergi mengikuti kemana jalan
akan berujung. Buat jalanmu sendiri
dan tinggalkanlah jejak.

(Ralp Waldo Emerson)

PERSEMBAHAN

Bagi orang tua, keluarga, sahabat, dan
Jurusan Biologi FMIPA Universitas
Negeri Semarang.

PRAKATA

Puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya serta kemudahan dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)”. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Negeri Semarang. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah mendapatkan bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, maka dengan rasa hormat penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang memberikan kesempatan untuk menyelesaikan studi strata 1 Jurusan Biologi FMIPA UNNES.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang memberi izin untuk melaksanakan penelitian.
3. Ketua jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang yang memberikan kemudahan administrasi dalam proses penyusunan skripsi.
4. Prof. Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S. selaku dosen pembimbing yang senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan bantuan, arahan, masukan dan motivasi kepada penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku penguji utama yang berkenan menelaah dan memberikan masukan yang sangat berarti dalam penulisan skripsi ini.
6. Dr. Ir. Pramesti Dewi, M.Si. selaku penguji kedua yang telah meluangkan waktu untuk menelaah dan memberikan saran kepada penulis.
7. Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. sebagai dosen wali yang mengarahkan untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Ketua Laboratorium Biologi FMIPA UNNES yang telah memberi izin untuk melaksanakan penelitian serta teknisi Laboratorium Biologi FMIPA UNNES yang telah banyak membantu dan menemani dalam menyelesaikan proses administrasi.

9. Bapak Yudi Hanura, Ibu Lina Herlina dan adik saya M. Aldi Fahrezi selaku keluarga yang telah memberikan doa, dukungan moril maupun materil serta memberikan motivasi bagi penulis dalam penyusunan skripsi.
10. Sahabat-sahabat Biologi rombel 2 angkatan 2015 yang selalu memberikan doa, semangat dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
11. Fitriana Dian Kusuma, S.Si. yang selalu memberi masukan, dukungan, dan menemani dalam melaksanakan penelitian di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.
12. Tsalits Khairul Ibad yang selalu memberi dukungan dan menemani dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
13. Seluruh pihak terkait yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang turut membantu, menyemangati dan mendoakan selama penyusunan skripsi.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, oleh karenanya penulis menerima dengan senang hati apabila terdapat kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat serta menambah wawasan bagi pembaca dan pihak lain yang berkepentingan.

Semarang, 8 November 2019



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR KEASLIAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
ABSTRAK	xi
BAB	
I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Penegasan Istilah	3
2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	5
2.2 Isolasi Bakteri Endofit.....	7
2.3 Bakteri Endofit	8
2.4 Bakteri Patogen	10
2.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	13
2.6 Kerangka Berpikir.....	15
2.7 Hipotesis.....	15
3 METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	16
3.2 Populasi dan Sampel	16
3.3 Variabel Penelitian	16
3.4 Desain Penelitian.....	16

3.5	Alat dan Bahan.....	17
3.6	Alur Penelitian	17
3.7	Prosedur Penelitian.....	19
3.7.1	Isolasi dan Pemurnian Bakteri Endofit Daun Kelor.....	19
3.7.2	Identifikasi Bakteri Endofit Daun Kelor	19
3.7.3	Pembuatan Kurva Tumbuh dan Ekstraksi Senyawa Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor	20
3.7.4	Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Bakteri Endofit terhadap Bakteri uji.....	21
3.7	Metode Pengambilan Data	21
3.8	Metode Analisis Data	22
4	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Hasil	23
4.1.1	Isolat bakteri endofit daun kelor	23
4.1.2	Karakter morfologi koloni dan sel bakteri endofit daun kelor.....	24
4.1.3	Kurva pertumbuhan bakteri endofit daun kelor	27
4.1.4	Aktivitas antibakteri	28
4.2	Pembahasan.....	31
5	PENUTUP	
5.1	Kesimpulan	40
5.2	Saran.....	40
	DAFTAR PUSTAKA	41
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun kelor.....	7
Tabel 4.1 Morfologi koloni isolat bakteri endofit daun kelor.....	25
Tabel 4.2 Identifikasi morfologi dan fisiologi sel bakteri endofit	26
Tabel 4.3 Rata-rata hasil pengukuran zona hambat	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	6
Gambar 2.5 Skema kerangka berpikir	15
Gambar 3.1 Diagram alir penelitian.....	17
Gambar 4.1 Hasil isolasi bakteri endofit dari daun kelor.....	23
Gambar 4.2 Isolat murni bakteri endofit daun kelor bagian tengah.....	24
Gambar 4.3 Koloni bakteri endofit daun kelor	24
Gambar 4.4 Bentuk sel bakteri endofit daun kelor	25
Gambar 4.5 Pewarnaan spora sel bakteri endofit daun kelor.....	25
Gambar 4.6 Hasil uji katalase bakteri endofit daun kelor	26
Gambar 4.7 Kurva pertumbuhan bakteri endofit daun kelor	27
Gambar 4.8 Zona hambat <i>Escherichia coli</i>	29
Gambar 4.9 Zona hambat <i>Bacillus subtilis</i>	30

ABSTRAK

Sadikin, Nadya Audina Nurkhafiya. 2019. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. Prof. Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S.

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman inang tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman tersebut. Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman obat yang mengandung metabolit sekunder dan berkhasiat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri endofit dari daun kelor, serta menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*). Berdasarkan hasil uji katalase, pewarnaan gram dan pengamatan spora, bakteri endofit daun kelor termasuk ke dalam genus *Bacillus*. Uji antibakteri dimulai dengan produksi metabolit sekunder bakteri endofit daun kelor, pengukuran laju pertumbuhan bakteri dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dengan *paper disk*. Data hasil pengamatan dianalisis statistik menggunakan ANOVA dan uji lanjut dengan Duncan ($\text{sig} < 0.05$). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa metabolit sekunder bakteri endofit yang dihasilkan pada fase stasioner berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Metabolit sekunder bakteri endofit yang dihasilkan pada jam ke- 10 menunjukkan diameter zona hambat tertinggi berturut-turut sebesar 7.5 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 1.8 mm terhadap *Bacillus subtilis*. Terbentuknya zona hambat mengindikasikan adanya senyawa metabolit sekunder dari bakteri endofit daun kelor yang memiliki efek antibakteri.

Kata Kunci: antibakteri, bakteri endofit, *Moringa oleifera* (kelor).

BAB 1

PENDAHULUAN

4.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yang masuk dan berkembang biak di dalam tubuh. Fatimah *et al.* (2016) menyampaikan bahwa penyakit infeksi biasanya terdapat di daerah tropis seperti Indonesia. Salah satu cara pengobatan penyakit infeksi yaitu dengan memanfaatkan tanaman obat. Obat tradisional sejak dahulu dimanfaatkan masyarakat Indonesia untuk menjaga kesehatan, mempertahankan stamina dan mengobati penyakit (Mardiana dan Handayani, 2016). Keanekaragaman tanaman obat di Indonesia dapat dimanfaatkan secara optimal sehingga dapat mengurangi ketergantungan bahan baku obat-obatan dari luar negeri dalam memenuhi kebutuhan obat dalam negeri.

Salah satu tanaman obat tradisional yang sering dimanfaatkan masyarakat adalah kelor (*Moringa oleifera*). Kelor memiliki manfaat bagi kesehatan, diantaranya yaitu sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodic, diuretik, antihipertensi, penurun kolesterol, antioksidan, antidiabetik, aktivitas hepatoprotektif, antibakteri dan antijamur (Anwar *et al.*, 2007). Moyo *et al.* (2012) menjelaskan bahwa daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri gram negatif, diantaranya adalah *Escherichia coli*. Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme patogen bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi.

Umumnya, pengambilan senyawa bioaktif dari suatu tanaman obat dapat dilakukan dengan mengekstrak bagian dari tanaman tersebut. Pengambilan senyawa bioaktif dengan ekstraksi dinilai kurang efektif, karena membutuhkan banyak biomassa dan memerlukan waktu yang lama. Cara efisien untuk memperoleh senyawa bioaktif tersebut adalah dengan memanfaatkan bakteri

endofit yang mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan. Penggunaan bakteri endofit dinilai lebih efisien karena waktu yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri endofit lebih singkat apabila dibandingkan dengan cara ekstraksi Purwanto *et al.* (2014).

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman inang tanpa menyebabkan gangguan atau kerusakan pada tanaman tersebut (Purwanto *et al.*, 2014). Keberadaan bakteri endofit didalam jaringan tanaman dapat memacu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Kemampuan bakteri endofit untuk melakukan penetrasi ke jaringan internal tanaman dapat disebabkan oleh adanya enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri endofit (Eliza *et al.*, 2007).

Beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri endofit tertentu dapat memproduksi senyawa kimia yang memiliki efek bagi kesehatan, terutama bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat. Bakteri endofit *Streptomyces* sp yang diisolasi dari daun *Grevillea pteridifolia* diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibiotik (Castillo *et al.*, 2003). Hasil penelitian Purwanto *et al.* (2014) membuktikan adanya aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit sirih hijau. Selain itu, hasil penelitian Kusumawati *et al.* (2014) membuktikan bakteri endofit daun *Coleus scutellariodes* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen.

Pemilihan tanaman kelor (*Moringa oleifera*) oleh peneliti dikarenakan kelor dapat tumbuh di dataran tinggi maupun rendah, sehingga mudah didapatkan. Selain itu, belum adanya penelitian mengenai bakteri endofit pada daun kelor yang digunakan sebagai antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari daun kelor dan menguji aktivitas antibakterinya.

4.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dikemukakan pada penelitian ini adalah :

1. Berapakah banyaknya isolat bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diperoleh dari hasil isolasi?
2. Bagaimana hasil identifikasi bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*)?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*)?

4.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jumlah bakteri endofit pada daun kelor (*Moringa oleifera*).
2. Mengetahui jenis bakteri endofit pada daun kelor (*Moringa oleifera*).
3. Menguji aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*).

4.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan referensi mengenai jumlah dan jenis bakteri endofit yang terdapat di daun kelor, serta mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak bakteri endofit daun kelor.

4.5 Penegasan Istilah

4.5.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Moringa oleifera atau biasa dikenal dengan sebutan kelor merupakan tanaman obat tradisional Indonesia. Tanaman kelor digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit. Daun kelor merupakan daun majemuk bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun berbentuk bulat telur dengan panjang dan lebar 1-2 cm, ujung dan pangkal daun tumpul (*obtusus*), tepi rata susunan pertulangan menyirip (*pinnate*), permukaan atas dan bawah halus (Krisnandi, 2015). Pada penelitian ini, bagian tanaman kelor yang digunakan sebagai sampel adalah daun pada tangkai bagian atas, daun pada tangkai bagian tengah, dan daun pada tangkai bagian bawah.

4.5.2 Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri merupakan proses pengambilan bakteri dari medium atau lingkungan asalnya, dan menumbuhkan pada medium buatan sehingga diperoleh biakan atau kultur murni hasil isolasi tersebut. Populasi bakteri dapat diisolasi menjadi biakan atau kultur murni yang dapat dipelajari morfologi, sifat, dan kemampuan biokimianya (Singleton dan Sainsbury, 2006). Pada penelitian ini, bakteri endofit yang akan diisolasi adalah pada bagian daun tanaman kelor (*Moringa oleifera*).

4.5.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan, yang tumbuh bersama dan saling menguntungkan satu sama lain. Bakteri endofit memproduksi senyawa yang berfungsi untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme patogen, sedangkan jaringan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi bakteri endofit agar tetap hidup (Kharwar *et al.*, 2008). Pada penelitian ini, hasil isolat bakteri endofit dari daun kelor akan diidentifikasi dan metabolit sekunder bakteri endofit daun kelor akan diuji aktivitas antibakteri. Identifikasi bakteri endofit meliputi karakterisasi morfologi koloni, pengecatan Gram, pengecatan spora, dan uji katalase.

4.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan (Jawetz *et al.*, 2001). Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteriostatik dan bakteriosida. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteriosida adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas membunuh bakteri. Pada konsentrasi tinggi, bakteriostatik dapat bersifat bakterisida. Metode uji antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi menggunakan *paper disk*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Moringa oleifera atau yang dikenal masyarakat Indonesia dengan sebutan kelor merupakan tanaman yang berumur panjang (*perennial*) yang dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi sampai ketinggian \pm 1000 dpl. Kelor merupakan tanaman yang dapat mentolerir berbagai kondisi lingkungan sehingga dapat bertahan hidup pada musim kering yang panjang dan tumbuh dengan baik di daerah dengan curah hujan tahunan (Mendieta *et al.*, 2013). Kelor memiliki batang berkayu (*lignosus*), tegak, berwarna hijau kecoklatan, kulit tipis, permukaan kasar. Daun kelor merupakan daun majemuk bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun berbentuk bulat telur dengan panjang dan lebar 1-2 cm, ujung dan pangkal daun tumpul (*obtusus*), tepi rata susunan pertulangan menyirip (*pinnate*), permukaan atas dan bawah halus (Krisnandi, 2015). Klasifikasi tanaman kelor adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Klas : Dicotyledoneae
Ordo : Brassicales
Familia : Moringaceae
Genus : Moringa
Spesies : *Moringa oleifera* L.



Gambar 2.1 Daun kelor (*Moringa oleifera*)

Kelor dikenal masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat tradisional dan dapat dimanfaatkan sebagai pewarna, pakan ternak, sayuran, teh, tepung, kapsul, minyak, kosmetik, serta diketahui mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis (Kuntari *et al.*, 2017). Tanaman kelor telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit, termasuk pengobatan penyakit radang, infeksi, gangguan kardiovaskular, gastrointestinal, hematologi dan hati (Ozcan, 2018). Hasil penelitian Sulistyorini *et al.* (2015) membuktikan bahwa senyawa aktif yang terdapat pada daun *Moringa oleifera* mempunyai efek hipoglikemik pada tikus yang diinduksi streptozotosin. Hasil penelitian Sudarwati dan Sumarni (2016) membuktikan bahwa ekstrak daun kelor dengan pelarut etanol terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Hasil berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tannin, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin merupakan senyawa-senyawa yang memiliki potensi sebagai obat. Sifat farmakologis daun kelor terkait dengan keberadaan senyawa bioaktif flavonoid. Flavonoid paling umum ditemukan diseluruh bagian tanaman kelor kecuali di biji dan akar (Saini *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Putra *et al.* (2016) membuktikan pada uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun kelor didapatkan hasil pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kelor

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil
1.	Alkaloid	+
2.	Flavonoid	+
3.	Saponin	-
4.	Fenolat	+
5.	Triterpenoid /Steroid	+
6.	Tanin	+

Sumber: (Putra *et al.*, 2016)

Hasil penelitian Rita (2010) menjelaskan bahwa senyawa golongan triterpenoid yang diisolasi dari tanaman rimpang temu putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Anggraito *et al.* (2018) menyatakan bahwa triterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid yang memiliki sifat antimikroba, antijamur, antivirus, antiparasit, antihiperqlikemik, antialergi, antiradang, antipasmodik, imunomodulator, dan kemoterapetik. Flavonoid dan tanin merupakan senyawa metabolit sekunder turunan fenolik yang berperan sebagai pertahanan tumbuhan terhadap mikroorganisme. Hasil penelitian Kalpana *et al.* (2013) menjelaskan adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol dan akuades daun kelor. Hal yang sama juga terdapat pada hasil penelitian Delelegn *et al.* (2018) yang membuktikan adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak metanol, aseton, dan akuades biji kelor (*Moringa oleifera*).

2.2 Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri merupakan proses pengambilan bakteri dari medium atau lingkungan asalnya, dan menumbuhkan pada medium buatan sehingga diperoleh biakan atau kultur murni hasil isolasi tersebut. Populasi bakteri dapat diisolasi menjadi biakkan atau kultur murni, terdiri dari satu jenis bakteri yang dapat dipelajari morfologi, sifat, dan kemampuan biokimianya (Singleton dan Sainsbury, 2006). Dalam memindahkan bakteri dari suatu tempat ke medium pertumbuhan harus menggunakan prosedur aseptik. Aseptik dalam hal ini yaitu bebas dari kondisi terkontaminasi mikroorganisme lain yang tidak dikehendaki.

Teknik isolasi bakteri endofit dilakukan dengan metode *direct plating* (Kumala *et al.*, 2006; Kusumawati *et al.*, 2014; Purwanto *et al.*, 2014; Sepriana *et al.*, 2017; Yati *et al.*, 2018). *Direct plating* merupakan suatu teknik isolasi dengan meletakkan sampel secara langsung diatas medium agar padat.

2.3 Bakteri Endofit

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa menyebabkan kerusakan pada tanaman yang diinangnya (Kim *et al.*, 2019). Sepriana *et al.* (2017) menyatakan bahwa bakteri endofit termasuk gram positif, memiliki bentuk sel basil, dan dapat membentuk spora. Bakteri yang dapat membentuk spora, lebih tahan terhadap tekanan lingkungan yang ekstrim karena metabolisme selnya berhenti atau dormansi jika berada pada lingkungan yang buruk.

Bakteri endofit dapat memproduksi senyawa yang berfungsi untuk melindungi jaringan tumbuhan dari serangan mikroorganisme yang bersifat patogen, sedangkan jaringan tumbuhan akan menyediakan kebutuhan nutrisi bagi mikroba endofit agar tetap hidup (Kharwar *et al.*, 2008). Endofit dapat mendorong pertumbuhan tanaman melalui pembentukan hormon pengatur tanaman dengan memodifikasi produksi hormon endogen dan meningkatkan ketersediaan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor (Rho *et al.*, 2017). Bakteri endofit masuk ke jaringan tanaman melalui biji atau menembus jaringan di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka (Ferrando dan Fernandez, 2013). Metabolit yang dapat diproduksi endofit meliputi alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, kuinon, turunan isocoumarin, fenol, asam fenolat, peptide, dan lainnya yang berfungsi untuk membantu aktivitas biologis (Basha *et al.*, 2012).

Pada masing-masing tanaman terdapat satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri atas bakteri dan fungi. Bakteri atau fungi tersebut dapat menghasilkan senyawa metabolit yang dapat berfungsi sebagai antibiotik, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antioksidan, antiserangga, zat pengatur tumbuh dan penghasil enzim. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Senyawa metabolit dapat disintesis dengan cara

membiakan endofit dalam media optimal untuk jangka waktu tertentu (Monggoot *et al.*, 2017). Bakteri endofit di dalam medium inkubasi akan menghasilkan senyawa sejenis yang terkandung pada tanaman inang dengan bantuan aktivitas enzim.

Baru-baru ini, penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara tanaman dan endofit memiliki kemampuan untuk mengurangi tekanan ekologis pada tanaman seperti kekeringan, kekurangan nutrisi dan adanya polutan. Zhang *et al.* (2019) menjelaskan bahwa bakteri endofit dapat menghasilkan fitohormon, nitrogen, zat antagonis dan enzim yang memainkan peran penting dalam tanaman untuk merespon lingkungan sekitar. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman inang dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah. Umumnya, terdapat bakteri endofit yang spesifik dan khas yang menghuni suatu tanaman (Bhore dan Sathisha, 2010).

Hardoim *et al.* (2008) mengelompokkan bakteri endofit berdasarkan gaya hidupnya sebagai berikut: (1) Bakteri endofit fakultatif, organisme yang secara opsional dapat hidup didalam tanaman yang diinangnya dan di habitat lain. (2) Bakteri endofit obligate, organisme yang seumur hidupnya terikat erat di dalam tanaman yang diinangnya. (3) Bakteri endofit oportunistik, organisme yang kadang-kadang memasuki tanaman untuk kebutuhan mereka sendiri. (4) Bakteri endofit penumpang, organisme yang memasuki tanaman secara kebetulan.

Mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Hal ini karena mikroba endofit merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi. Beberapa tumbuhan dapat menurunkan senyawa bioaktif yang dikandungnya kepada mikroba endofit yang tumbuh dalam jaringannya, sehingga mikroba endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa yang sama dengan inangnya (Wang dan Dai, 2011). Usaha penemuan mikroba endofit yang spesifik sebagai penghasil antibiotik tidak dapat dilakukan secara random. Tumbuhan sebagai inang mikroba endofit harus memiliki proses seleksi tertentu berdasarkan pengaruh lingkungannya, umur dan sejarah

tumbuhan inang, serta berdasarkan penggunaan tumbuhan inang secara etnobotani (Strobel, 2012).

Maraknya peningkatan mikroba yang resisten terhadap obat menyebabkan mikroorganisme endofit semakin banyak dieksplorasi untuk produk alami bioaktif dengan potensi antimikroba (Arora *et al.*, 2016). Mikroba endofit yang menghasilkan agen antimikroba baru, misalnya 7-amino-4-methylcoumarin dari *Xylaria sp* (Arora dan Kaur, 2018). Bakteri endofit *Bacillus amyloliquefaciens* dari kulit batang tanaman cengkeh mempunyai daya hambat terhadap bakteri patogen *S.aureus* dan *S. mutans* (Sepriana *et al.*, 2017). Hasil penelitian Purwanto *et al.* (2014) membuktikan adanya aktivitas antibakteri dari isolat bakteri endofit sirih hijau potensial terhadap bakteri *S.aureus*. Manfaat dari endofit lainnya juga dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh IAA (Indol Acetic Acid) dari bakteri endofit kultivar pisang (Karthik *et al.*, 2017). Penelitian Yati *et al.* (2018) membuktikan adanya aktivitas antioksidan yang rendah dari bakteri endofit daun kelor.

2.4 Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit. Bakteri patogen memiliki kemampuan untuk menginfeksi makhluk hidup dan menimbulkan penyakit yang berkisar dari infeksi ringan hingga dapat menyebabkan kematian. Mikroorganisme juga dapat mencemari makanan dan menimbulkan perubahan-perubahan kimiawi di dalamnya, sehingga membuat makanan beracun. Identifikasi bakteri patogen pada suatu tempat merupakan hal yang sulit karena banyak jenis-jenis bakteri patogen yang mempunyai ciri-ciri morfologi yang hampir sama.

Bakteri patogen dapat menyebar melalui populasi manusia dengan berbagai cara. Pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri patogen melibatkan penggunaan antibiotik, obat yang telah diformulasikan untuk membunuh bakteri. Kemampuan mikroorganisme patogen untuk menyebabkan penyakit tidak hanya dipengaruhi oleh komponen yang ada pada mikroorganisme, tetapi juga kemampuan inang untuk melawan infeksi (Jawetz *et al.*, 2001).

Salah satu bakteri patogen yaitu, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Kedua jenis bakteri patogen tersebut memiliki perbedaan sifat gram. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan kandungan peptidoglikan lebih tebal dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipopolisakarida, sedangkan pada bakteri Gram positif tidak (Lay, 1994).

2.3.1 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif yang dapat membentuk endospora yang berbentuk oval di bagian sentral sel. Hasil uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif (Aini *et al.*, 2013). Sel *Bacillus* sp. berbentuk batang, berukuran 0,3-2,2 x 1,2-7,0 μm dan mempunyai flagel peritrikus, memproduksi spora bentuk silinder, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, katalase positif. Apabila kondisi tidak sesuai bagi pertumbuhannya, misalnya karena kurangnya nutrisi, suhu tinggi, tekanan fisik dan kimia, *Bacillus* akan membentuk endospora. Endospora yang dihasilkan oleh *Bacillus* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia, fisika, dan suhu ekstrim (Buchana dan Gibbons, 1975).

Bacillus subtilis dapat menghasilkan antibiotika yang bersifat racun terhadap mikroba lain. Antibiotik yang dihasilkannya antara lain streptovidin, basitrasin, surfaktin, fengisin, iturin A, polimiksin, difisidin, subtilin, subtilosin, protein. Subtilin merupakan senyawa peptida, sedangkan surfaktin, fengisin, dan iturin A merupakan lipoprotein. Basitrasin merupakan polipeptida yang efektif terhadap bakteri gram positif dan bekerja menghambat pembentukan dinding sel (Buchana dan Gibbons, 1975).

Rajkovic *et al.* (2013) menjelaskan bahwa *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* dapat ditemukan pada berbagai jenis pangan, seperti beras, kentang, pasta, susu, dan kacang-kacangan. Makanan yang terkontaminasi *Bacillus subtilis* dalam jumlah yang banyak dapat menyebabkan penyakit diare yang ditandai oleh kram perut dan diare

berair (Rahmaningsih *et al.*, 2012). Selain itu *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan penyakit emetik yang ditandai dengan mual, muntah, dan kram perut. Racun yang dihasilkan *Bacillus* sp dapat merusak integritas membran sel epitel ileum sehingga dapat menyebabkan diare.

2.3.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, tidak dapat membentuk spora, berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif (Melliawati, 2009). *Escherichia coli* banyak dimanfaatkan diberbagai bidang, baik pertanian, peternakan, kedokteran, maupun industri. *Escherichia coli* telah banyak dipelajari baik sifat morfologi, fisiologi, maupun pemetaan DNA nya, sehingga bakteri ini dipakai untuk menyimpan untai DNA yang dianggap potensial baik dari tanaman, hewan, maupun mikroorganisme.

Disamping membantu pengembangan ilmu pengetahuan, bakteri *Escherichia coli* juga dapat membahayakan kesehatan. Penyakit sistitis adalah penyakit peradangan pada selaput lendir saluran kandung kemih yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi lingkungan yang kurang bersih (Fhitryani *et al.*, 2017).

Infeksi bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan demam dan diare berkepanjangan. Heng *et al.* (2011) menjelaskan bahwa *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit *hemorrhagic colitis* yang ditandai dengan diare berdarah dan sindrom uremik hemolitik yaitu infeksi saluran kencing akibat infeksi bakteri *Escherichia coli*. Infeksi bakteri *Escherichia coli* dapat disebabkan akibat kontak langsung dengan hewan atau akibat mengonsumsi makanan yang kurang bersih dan terkontaminasi bakteri, serta konsumsi susu yang belum di pasteurisasi (Bakri *et al.*, 2015).

2.5 Uji aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme patogen bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk mengetahui dan menentukan potensi suatu zat yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2001).

Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba menurut Choma dan Edyta (2011), antara lain :

1. Metode Difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji, sehingga agen antimikroba akan berdifusi pada medium agar tersebut. Area jernih pada permukaan medium agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba. Kekurangan dari metode difusi yaitu tidak dapat menentukan nilai kadar hambat minimum (KHM) agen antimikroba terhadap mikroorganisme uji. Metode difusi dibagi menjadi dua, yaitu :

a) Cara Kirby Bauer

Metode Kirby Bauer juga sering disebut dengan metode *disc diffusion*. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji, sehingga agen antimikroba akan berdifusi pada medium agar tersebut. Keunggulan metode ini yaitu lebih fleksibel dalam penuangan agen antimikroba ke dalam medium.

b) Cara sumuran

Pada metode ini medium agar yang telah ditanami mikroorganisme uji dibuat sumuran dengan silinder poselen berukuran 8mm-10mm, kemudian pada sumuran tersebut dimasukkan agen antimikroba. Agen

antimikroba akan berdifusi ke dalam medium agar sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme.

2. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode kuantitatif. Prinsip metode ini adalah sejumlah senyawa antimikroba dibuat beberapa seri konsentrasi, kemudian di teteskan pada medium yang telah ditanam mikroorganisme uji. Metode dilusi dibagi menjadi dua, yaitu :

a) Dilusi cair

Keuntungan menggunakan metode ini yaitu dapat mengukur kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair, kemudian diteteskan ke dalam medium padat yang telah ditanam mikroorganisme uji.

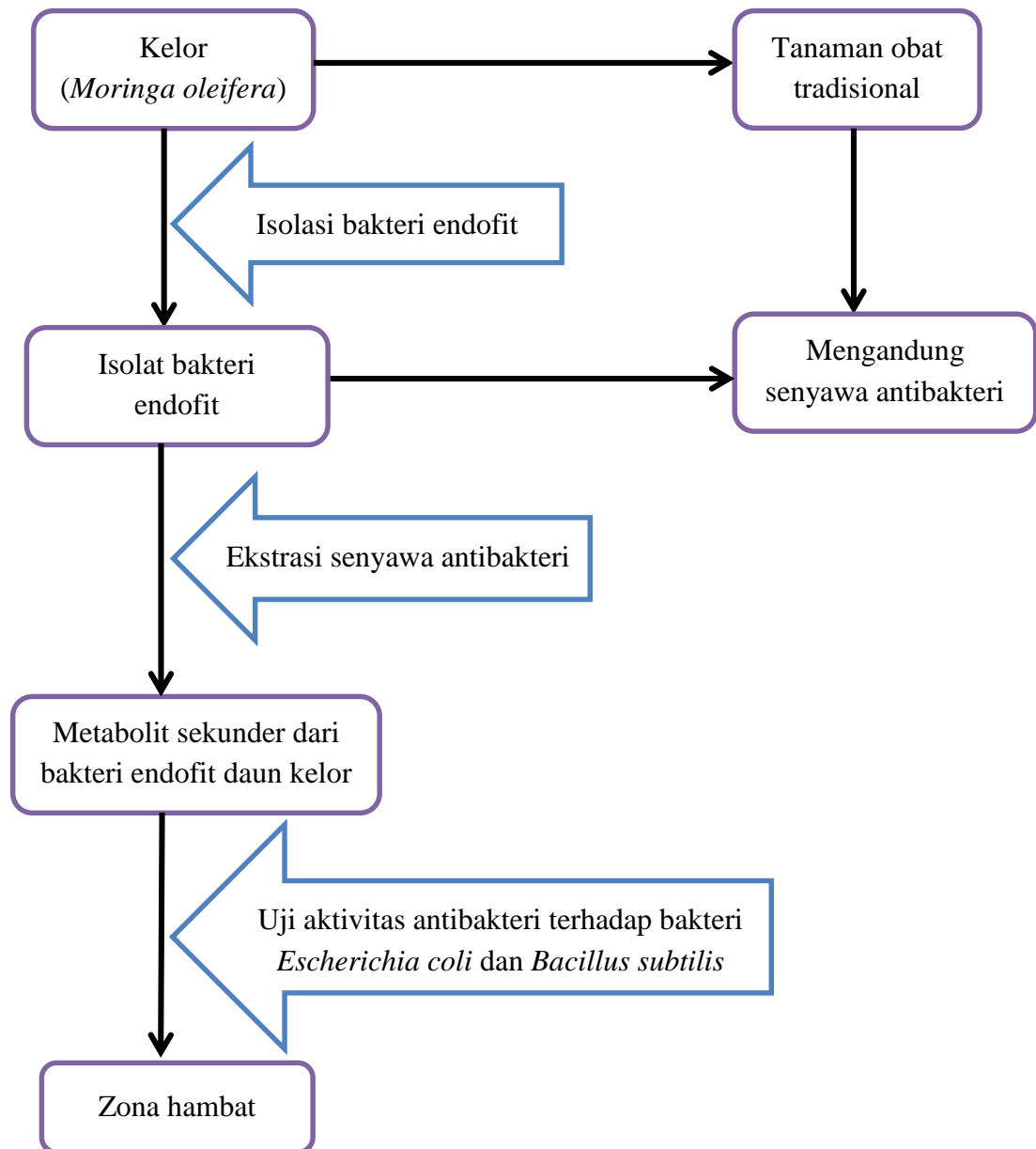
b) Dilusi padat

Metode ini sama dengan metode dilusi cair, namun menggunakan medium padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji lainnya (Pratiwi, 2008).

3. Metode Bioautografi

Prosedur dalam metode bioautografi mirip dengan metode difusi agar. Perbedaannya adalah pada metode bioautografi senyawa uji berdifusi dari kertas kromatografi ke medium agar yang diinokulasi mikroorganisme uji. Metode bioautografi dibagi lagi menjadi bioautografi kontak, imersi, dan langsung (Choma dan Edyta, 2011).

2.6 Kerangka Berpikir



Gambar 2.5 Skema kerangka berpikir

2.7 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Terdapat isolat bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*).
2. Bakteri endofit daun kelor memiliki kesamaan dengan genus *Bacillus*.
3. Metabolit sekunder dari ekstrak bakteri endofit daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki aktivitas antibakteri.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat satu jenis isolat bakteri endofit pada daun kelor (*Moringa oleifera*).
2. Identifikasi bakteri endofit daun kelor termasuk ke dalam genus *Bacillus*.
3. Bakteri endofit daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Pada hasil penelitian ini, diameter zona hambat terbesar terdapat pada waktu produksi metabolit sekunder bakteri endofit daun kelor selama 10 jam. Zona hambat yang terbentuk pada *Escherichia coli* sebesar 7.5mm dan terhadap *Bacillus subtilis* 1.8mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini peneliti memberikan saran yaitu, sebaiknya dilakukan penambaha senyawa pelarut untuk ekstrasi metabolit sekunder bakteri endofit secara kimia agar memberikan efek antibakteri yang lebih berpengaruh. Selain itu, perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis senyawa antibakteri yang terkandung dalam metabolit sekunder bakteri endofit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, F.N., S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G. Suhesti, Q. Ayyunin. 2013. Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Pelita Perkebunan*. 29(1): 44-52.
- Anggraito, U.Y., R. Susanti, Retno S.I., Ari Y., Lisdiana, Nugrahaningsih W.H., Noor A.H., Siti H.B. 2018. *Metabolit Sekunder dari Tanaman. Aplikasi dan Produksi*. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Anwar, F., Sajid L., M. Ashraf., Anwarul H.G. 2007. *Moringa oleifera: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses*. *Phytother. Res.* 21: 17-25.
- Ariani, H. 2000. Pengenalan *Bacillus Spp. Oseana*. 25(1): 31-41.
- Arora, D.S., and Kaur N. 2018. Antimicrobial Potential of Fungal Endophytes from *Moringa oleifera*. *Appl Biochem Biotechnol*.
- Arora, P., Wani Z.A., Nalli Y., Ali A., Hassan S.R. 2016. Antimicrobial Potential of Thiodiketopiperazine Derivatives Produced by *Phoma sp.*, an Endophyte of *Glycyrrhiza glabra* Linn. *Microbial Ecology*.
- Arunachalam, C., and Gayathri P. 2010. Studies on Bioprospecting of Endophytic Bacteria from the Medicinal Plant of *Andrographis Paniculata* for Their Antimicrobial Activity and Antibiotic Susceptibility Pattern. *Int J Curr Pharm Res*. 2(4).
- Bacon, C.W., and Hinton D. M. 2006. Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche, its Occupants, and its Utility. *Plant-Associated Bacteria*. 155-194.
- Bakri, Z., M. Hatta, and Muh N.M. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157 : H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR. *JST Kesehatan*. 5(2) : 184-192.
- Barac, T., Taghavi S., Borremans B., Provoost A., Oeyen L., Colpaert, J. V., Vangronsveld J., Van D. L. D. 2004. Engineered Endophytic Bacteria Improve Phytoremediation of Water-Soluble, Volatile, Organic Pollutants. *Nature Biotechnology*. 22(5): 583-588.

- Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. 1993. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Basha, N.S., Ogbaghebriel A., Yemane K., Zanebe M. 2012. Isolation and Screening of Endophytic Fungi from Eritrean Traditional Medicinal Plant *Terminalia brownii* Leaves for Antimicrobial Activity. *International Journal of Green Pharmacy*. 6(5).
- Bhore, S.J. and Sathisha G. 2010. Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-Like Compounds : Crude Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6(4): 345-352.
- Buchanan K.E. and Gibbons N.E. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (8th ed). The Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Castillo, U., J.K. Harper, Strobel G.A., Sears J., Alesi K., Ford E., Lin J., Hunter M., Maranta M., Ge H., Yaver D., Jensen J.B., Porter H., Robinsons R., Miller D., Hess W.M., Condron M., Teplow D. 2003. Kakadumycins, Novel Antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, An Endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiology Letter*. 224: 183-190.
- Choma I.M. and Edyta M.G. 2011. Bioautography detection in thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1218(2011): 2684-2691.
- Delelegn, A., Sahile, S., and Husen, A. 2018. Water Purification and Antibacterial Efficacy of *Moringa oleifera* Lam. *Agriculture and Food Security*. 7(1): 1-10.
- Desriani, Dwi E.K., Akhmad R., Neneng H., Wiwit A., Lita T., Ade. 2013. Potential Endophytic Bacteria for Increasing Paddy Var Rojolele Productivity. *International Journal On Advanced Sciene Engineering Information Technology*. 3(1):76-78.
- Eliza, Munif A., Djabatnika I., Widodo. 2007. Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae Terhadap Fusarium dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang. *J Hort*. 17:150-160.

- Faizah, L.N., Anto B., and Endang K. 2017. Optimasi Pertumbuhan dan Potensi Antagonistik *Bacillus Pumilus* terhadap Patogen *Xanthomonas Campestris* serta Identifikasi Molekuler Gen Penyandi Pks dan Nrps. *Jurnal Biologi*. 6(1): 38-48.
- Fatimah, S., Fitri N., Islamati B. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Biogenesis*. 4(2): 102-106.
- Feng, P.C.H., Councill T., Keys C., Monday S.R. 2011. Virulence Characterization of Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* Isolates from Wholesale Produce. *Applied and Environmental Microbiology*. 77(1): 343-345.
- Ferrando, L., and Scavino A. F. 2013. *Functional Diversity of Endophytic Bacteria*. Dalam R. Aroca (Ed.), *Symbiotic Endophytes*. Soil Biology 37. Springer Heidelberg New York Dordrecht London.
- Fhitryani, S., Suryanto, D., and Karim, A. 2017. Pemeriksaan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* pada Jamu Gendong yang Dijajakan di Kota Medan. *BioLink Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*. 3(2): 142-151.
- Ghosh, K., Ray A. K., Sen, S. K. 2002. Characterization of Bacilli Isolated from the Gut of Rohu, Labeo Rohita, Fingerlings and Its Significance in Digestion. *Journal of Applied Aquaculture*. 12(3): 33-42.
- Hardoim, P.R., Overbeek L.S.V., and Elsas J.D.V. 2008. Properties of Bacterial Endophytes and Their Proposed Role in Plant Growth. *Trends in Microbiology*. 16(10).
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus spp. Oseana*. 25 (1).
- Himeoka, Y., and Kaneko K. 2017. Theory for Transitions Between Exponential and Stationary Phases: Universal Laws For Lag Time. *Physical Review X*. 7: 1-16.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Stanley, S.T Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th Ed). Lippincott Williams & Wilkins. USA.

- Ilmi N., Soelistya D., Jekti D., Zulkifli L. 2018. Molecular Identification of Endophytic Bacteria from The Stem ' s Bark of Moringa Plant and Their Antibacterial Activities . *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 4(4): 21-30.
- Iqlima, D., Ardiningsih P., Wibowo M.A. 2017. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2d dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *JKK*. 7(1): 36-43.
- Irianto, K. 2012. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung: Yurma Widya.
- Irma, A., Anja M., and Bedah R. 2018. Biofungicide Producing Bacteria: an In Vitro Inhibitor of *Ganoderma boninense*. *Hayati Journal of Biosciene*. 25(4): 151-159.
- Jawetz, E., Melnick J.L., Adelberg E.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. (Edisi XXII). diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jumrah, E. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Potensial Lengkuas Merah (*Alpinia Purpuruta*) dan Analisis Senyawa Antibakterinya. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Kalpna, S., S. Moorthi, and S. Kumari. 2013. Antimicrobial Activity of Different Extracts of Leaf of *Moringa oleifera* (Lam) Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 2(12): 514-518.
- Karthik, M., Pushpakanth P., Krishnamoorthy R., Senthilkumar, M. 2017. Endophytic Bacteria Associated with Banana Cultivars and Their Inoculation Effect on Plant Growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 92(6): 568-576.
- Kawas, G., Marouf M., Mansour O., Sakur A.A. 2018. Analytical Methods of Ciprofloxacin and Its Combinations Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 11(5): 2139-2148.
- Kenneth, T. 2012. *The Genus Bacillus*. Online Textbook of Bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>. (Diakses pada 19 Oktober 2019).

- Kharwar, R.N., Verma V.C., Strobel G., Ezra D. 2008. The Endophytic Fungal Complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Current Science*. 95(2).
- Khoiriyah, H., and Ardiningsih P. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus sp.* RED₄. *JKK*. 3(4): 52-56.
- Kim, H., Rim S.O., and Bae H. 2019. Antimicrobial Potential of Metabolites Extracted from Ginseng Bacterial Endophyte *Burkholderia stabilis* Against Ginseng Pathogens. *Biological Control*. 128: 24-30.
- Krisnandi, D.A. 2015. *Kelor Super Nutrisi*. Blora: Pusat Informasi dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia.
- Kumala, S., Fransisca S., and Priyo W. 2006. Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik *Cassia fistula* L. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 3(2): 97-102.
- Kuntari, Z., Sumpono, Nurha M. 2017. Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Akar Tanaman *Moringa oleifera* L. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*.1(2): 80-84.
- Kusumawati, D. E., Pasaribu F. H., Bintang M. 2014. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*. 1(1): 37-44.
- Latifah, A. 2017. Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Lokio (*Allium Chinense* G. Don.). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Lay, W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. Jakarta : PT.Raja Grafindo Persada
- Mardiana, R.N., and Handayani N. 2017. Antibacterial Activity of The Sambiloto Leaf Extracts (*Andrographis paniculata*) to *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*. 14(1): 19-24.
- Melliawati, R. 2009. *Escherichia coli* Dalam Kehidupan Manusia. *Bio Trends*. 4(1).

- Mendieta-Araica, B., Spornly, E., Reyes-Sanchez, N., Salmeron-Miranda, F., Halling, M. 2013. Biomass Production and Chemical Composition of *Moringa oleifera* Under Different Planting Densities and Levels of Nitrogen Fertilization. *Agroforestry Systems*. 87(1): 81-92.
- Monggoot, S., Pichaitam T., Tanapichatsakul C., Pripdeevech P. 2018. Antibacterial Potential of Secondary Metabolites Produced by *Aspergillus sp.*, an Endophyte of *Mitrephora wangii*. *Archives of Microbiology*.
- Moyo, B., Masika P.J., Muchenje V. 2012. Antimicrobial Activities of *Moringa oleifera* Lam leaf extracts. *African Journal of Biotechnology*. 11(11): 2797-2802.
- Nawangsih, A.A. and Wardani F.F. 2014. Interaksi antara Bakteri Endofit dan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(5).
- Ogunbanwo, S. T., Sanni A. I., Onilude A. A. 2003. Influence of Cultural Conditions on the Production of Bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*. 2(7): 182-192.
- Ozcan, M.M. 2018. *Moringa spp*: Composition and Bioactive Properties. *South African Journal of Botany*.
- Pelczar MJ, Chan E.S.C. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga: Jakarta.
- Purwanto, Ukhradiya M.S., Pasaribu F.H., and Bintang M. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Curr. Biochem*. 1(1): 51-57.
- Puspita, F., Ali M., Pratama R. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus sp.* Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) *J. Agrotek. Trop*. 6 (2): 44-49.
- Putra, W.D.P., Anak A.G.O.D., and Luh M.S. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(5): 464-473.

- Raden, I., Purwoko B.S., Ghulamahdi M. 2008. Karakteristik Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) dan Hubungannya dengan Fotosintesis. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 36(2): 168-175.
- Rahmaningsih, S., Willis S., Mulyana A. 2012. Bakteri Patogen dari Perairan Pantai dan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia*. 12(1): 1-5.
- Rajkovic, A., Kljajic M., Smigic N., Devlieghere F., Uyttendaele M. 2013. Toxin Producing *Bacillus cereus* Persist in Ready-to-Reheat Spaghetti Bolognese Mainly in Vegetative State. *International Journal of Food Microbiology*. 167: 236-243.
- Rees, C.E.D., Dodd C.E.R., Gibson P.T., Booth I. R., Stewart G. S.A.B. 1995. The Significance of Bacteria in Stationary Phase to Food Microbiology. *International Journal of Food Microbiology*. 28(2): 263-275.
- Rho, H., Hsieh M., Kandel S.L., Cantillo J., Doty S.L., Kim S. 2017. Do Endophytes Promote Growth of Host Plants Under Stress? A Meta-Analysis on Plant Stress Mitigation by Endophytes. *Microb Ecol*.
- Rita, W.S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria*(Berg.) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 4(1).
- Roy, S. and Banerjee D. 2010. Isolation of Antimicrobial Compound by Endophytic Bacteria from *Vinca rosea*. *International Journal of Current Research*. 5: 047-051.
- Saini, R.K., Sivanesan I., and Keum Y.S. 2016. Phytochemicals of *Moringa oleifera*: A Review of Their Nutritional, Therapeutic and Industrial Significance. *3 Biotech*. 6(203).
- Seo, W.T., Lim W.J., Kim E.J., Yun H.D., Lee Y.H., Cho K.M. 2010. Endophytic Bacterial Diversity in The Young Radish and Their Antimicrobial Activity Against Pathogens. *Journal Korean Soc. Applied. Biological Chemistry*. 53(4): 493-503.
- Sepriana, C., Dwi S.D.J., and Lalu Z. 2017. Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium Aromaticum L.*) dan Kemampuannya sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*. 3(2): 33-41.

- Simarmata, R., Lekatompessy S., Sukiman H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Journal of Biological Researches*. 13(1): 85-90.
- Singleton and Sainsbury. 2006. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. 3rd ed. England: John Wiley and Sons.
- Somu, M.P and White J.F. 2017. Endophytes of *Moringa oleifera*: Evaluation of Growth Promotional Features. *MS Student Research Paper*.
- Strobel, G. 2012. *Genetic Diversity of Microbial Endophytes and Their Biotechnical Applications*. Dalam K.E. Nelson and B. Jones Nelson (Ed.), *Genomics Applications for the Developing World*. Advances in Microbial Ecology. Springer Heidelberg New York Dordrecht London.
- Sudarwati, D., and Sumarni W. 2016. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Kelor dan Bunga Rosella. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5(1).
- Sulistyorini, R., Sarjadi, Andrew J., Kis D. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) pada Ekspresi Insulin dan Insulitis Tikus Diabetes Melitus. *MKB*. 47(2): 69-76.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhamadiyah Malang press.
- Wang, Y., and D. Chuan-Chao. 2011. Endophytes : A Potential Resource for Biosynthesis, Biotransformation, and Biodegradation. *Ann Microbiol*. 61: 207-215.
- Yati, S.J., Sumpono, Candra I.N. 2018. Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit pada Daun *Moringa oleifera* L. *ALOTROP, Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2(1):82-87.
- Yusra, Fauzan A., Novelina, Periadnadi. 2014. Isolasi dan Identifikasi Mikroflora Indigenous dalam Budu. *Agritech*. 34(3): 316-321.
- Zhang, Y., Xiaxia Y., Wenjin Z., Duoyong L., Xiaojia Z., Gaochang C., Xinhui Z. 2019. Interactions Between Endophytes and Plants: Beneficial Effect of Endophytes to Ameliorate Biotic and Abiotic Stresses in Plants. *Journal of Plant Biology*. 62(1): 1-13.

- Zheng, Y., Ye Z.L., Fang X.L., Li Y.H., Cai W.M. 2008. Production and Characteristics of a Bioflocculant Produced by *Bacillus Sp.* F19. *Bioresource Technology*. 99(16): 7686-7691.
- Zinniel, D.K., Lincoln N., Lambrecht P.A., Harris N.B., Lambrecht P., Feng, Z., Kuczmarski D., Higley P., Ishimaru C.A., Arunakumari A., Barletta R.G., Vidaver A.K. 2002. Papers in Veterinary and Biomedical Science Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5): 2198-2208.