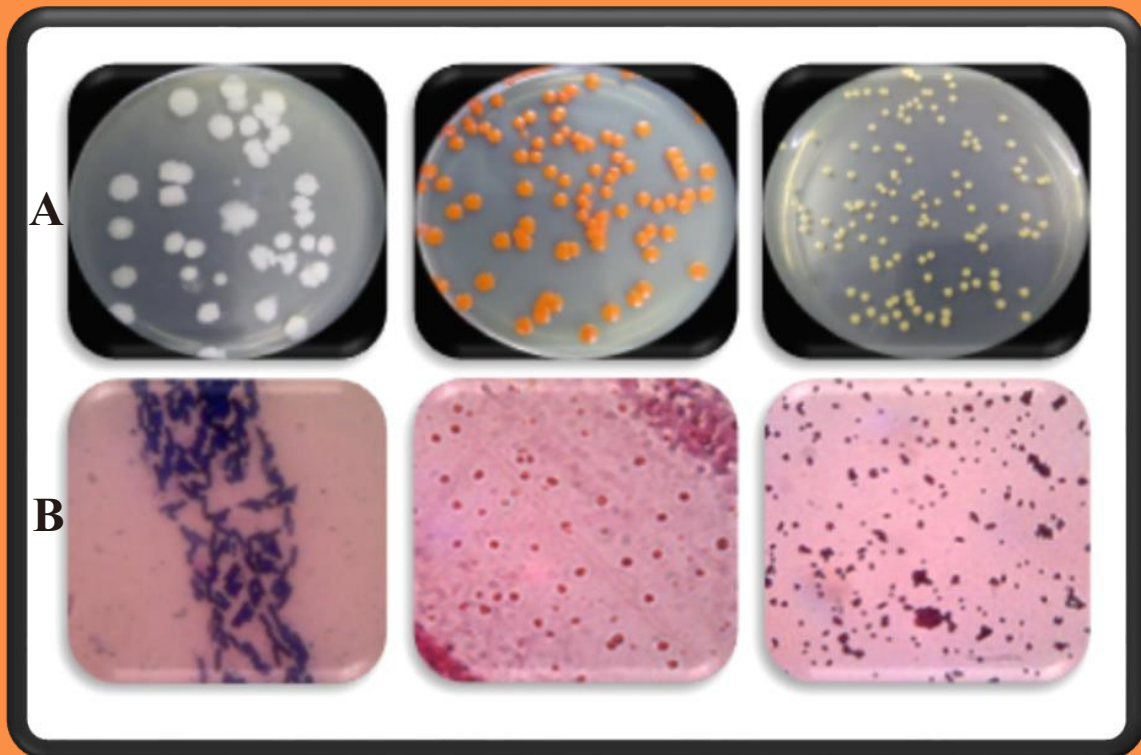


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



BERITA BIOLOGI

Vol. 16 No. 1 April 2017

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
No. 636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015

Tim Redaksi (*Editorial Team*)

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)
Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)
Gono Semiadi
Atit Kanti
Siti Sundari
Evi Triana
Kartika Dewi
Dwi Setyo Rini

Desain dan Layout (*Design and Layout*)

Muhamad Ruslan, Fahmi

Kesekretariatan (*Secretary*)

Nira Ariasari, Enok, Budiarmo

Alamat (*Address*)

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
jurnalberitabiologi@gmail.com

Keterangan foto cover depan (*Notes of cover picture*): Bentuk koloni isolat bakteri Bt, BLSP-4, dan BLSP-3: (A) pada media pertumbuhan NA dan (B) pada pengamatan secara mikroskopis dengan perbesaran 100x (*Bacterial colony shapes of Bt, BLSP-4 and BLSP-3, respectively: (A) bacterial colony in growth medium NA (B) bacterial colony on 100 x microscopic magnification*), sesuai dengan halaman 15.



ISSN 0126-1754
636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015
Volume 16 Nomor 1, April 2017

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

Berita Biologi	Vol. 16	No. 1	Hlm. 1 - 110	Bogor, April 2017	ISSN 0126-1754
----------------	---------	-------	--------------	-------------------	----------------

Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Ucapan terima kasih kepada
Mitra Bebestari nomor ini
16(1) – April 2017

Dr. Heddy Julistiono
Ir. Suciatmih M.Si.
Dr. Nuril Hidayati
Drs. Awit Suwito, M.Si
Dr. Rizkita Rachmi Esyanti
Prof. Dr. Amarila Malik, MSi., Apt.
Ir. I Gusti Bagus Adwita Arsa, MP.
Dra. Shanti Ratnakomala, M.Si.
Dr. Fenny M. Dwivany
Dr. Ir. Barep Sutiyono, M.S.
Dr. I Made Suidiana, M.Sc.
Dr. Tri Muji Ermayanti
Dr. Ika Roostika Tambunan, SP. MSi.
Ucu Yanu Arbi M.Si.
Vani Nur Oktaviany Subagyo SP., Msi

**MIKROBA ENDOFIT DARI TANAMAN SRIKAYA
(*Annona squamosa* L.) SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA
Staphylococcus aureus DAN *Candida albicans*
[Antimicrobial activity of endophytic microbes from sugar-apple (*Annona squamosa* L.)
plant againsts *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*]**

Ruth Melliawati^{1✉} dan Sunifah²

✉¹Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

²Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi, Bogor
email. ruthmell2000@yahoo.com

ABSTRACT

Various studies indicated that endophytic microbes lived in the plant tissues and produced antimicrobial compounds. Sugar-apple plant (*Annona squamosa* L) contained alkaloids, cyanogenic glycosides, and flavonoids. The purpose of this research were (1) to determine the endophytic microbes isolated from sugar-apple plant (2) to study inhibiting capability of endophytic isolate against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, (3) to analyze antimicrobial compounds produced by the potential endophytic isolate. Diffusion agar plate method was used to assessed antimicrobial activity. Antimicrobial compounds were analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), compared with erythromycin, metronidazole and tetracycline. Twelve bacterial isolates and 24 fungus were isolated. Selected bacteria, BMC 1.1, showed the biggest clear zone on *C. albicans* culture on agar medium, meanwhile selected fungi, BTCK 1.1T, formed the biggest colony on *S. aureus* culture on agar medium. TLC and HPLC analysis showed that the Rf value of BMC 1.1 and BTCK 1.1T chloroform phase fractions was similar to metronidazole. Metronidazole concentration in C1, C2, Ck1 and Ck2 fraction were 170.98 ppm, 18.27 ppm, 1.51 ppm and 4.14 ppm respectively.

Key words : Endophytic microbes, sugar-apple (*Annona squamosa*), antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

ABSTRAK

Beberapa penelitian menunjukkan mikroba endofit yang hidup dalam jaringan tanaman, menghasilkan senyawa bioaktif yang berkhasiat sebagai antimikroba. Tanaman srikaya (*Annona squamosa*) diketahui mempunyai kandungan kimia alkaloid, glikosida sianogen, dan flavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah (1) mendapatkan beberapa isolat mikroba endofit dari tanaman srikaya, (2) menguji daya hambat isolat mikroba endofit terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, (3) menganalisis senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh mikroba endofit potensial. Pengujian senyawa antimikroba terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dilakukan dengan metode difusi agar. Analisa senyawa antimikroba dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dibandingkan dengan antibiotik eritromisin, metronidazol dan tetrasiklin. Hasil isolasi diperoleh 12 isolat bakteri dan 24 isolat kapang endofit. Hasil seleksi menunjukkan isolat bakteri BMC 1.1 memperlihatkan zona bening terbesar pada media seleksi berisi *C. albicans*, sementara isolat kapang BTCK 1.1T dapat tumbuh dan membentuk koloni terbesar pada media seleksi berisi *S. aureus*. Hasil KLT dan KCKT, fraksi-fraksi ekstrak fase kloroform bakteri BMC 1.1 dan kapang BTCK 1.1T menunjukkan nilai Rf mendekati senyawa antibiotik metronidazol. Konsentrasi metronidazol pada masing-masing fraksi adalah fraksi C₁ (170,98 ppm), fraksi C₂ (18,27 ppm), fraksi C_{k1} (1,51 ppm) dan fraksi C_{k2} (4,14 ppm).

Kata kunci : Mikroba endofit, srikaya (*Annona squamosa* L.), antimikroba, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

PENDAHULUAN

Srikaya (*Annona squamosa* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki berbagai khasiat, diantaranya untuk mengobati batuk, demam, rematik, diare dan disentri. Secara umum, semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan mulai dari akar, batang, kulit buah, dan daun. Berdasarkan pengalaman empiris, daun srikaya dapat menurunkan kadar glukosa darah (Santoso *et al.*, 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Ferlin *et al.* (2007) menunjukkan bahwa daun srikaya mengandung alkaloid, glikosida sianogen, flavonoid, fenol, saponin, dan terpenoid. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh, seringkali berbentuk senyawa campuran dan jarang sekali dijumpai senyawa tunggal. Flavonoid telah dikenal sebagai antikarsinogenik, antialergi, menghambat

pertumbuhan tumor, antimikroba dan sering digunakan untuk pengobatan tradisional.

Beberapa jenis mikroba endofit dari berbagai jenis tanaman memiliki potensi yang baik dalam bidang farmasi, biologi dan kesehatan. Akan tetapi, mikroba endofit belum banyak dipelajari secara intensif dan maksimal untuk dimanfaatkan bagi kesejahteraan masyarakat. Bakteri endofit pertama kali dilaporkan oleh Darnel *et al.*, 1904 dalam Tan dan Zou, 2001). Sejak itu definisi mikroba endofit telah disepakati sebagai mikroba yang hidup di dalam jaringan internal tumbuhan hidup tanpa menyebabkan efek negatif langsung yang nyata. Sifat mikroba endofit yang tidak berdampak negatif pada jaringan tumbuhan menunjukkan kemungkinan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara mikroba endofit dan

inangnya. Hubungan antara mikroba endofitik dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba, yang terdiri dari berbagai jenis bioaktif (Strobel *et al.*, 1996; Cacabuono and Pomilio, 1997; Rizzo *et al.*, 1997; Febry *et al.*, 1998). Mikroba endofit yang umum ditemukan adalah bakteri dan kapang (Strobel dan Daisy, 2003). Hampir semua tanaman berpembuluh memiliki mikroba endofit. Mikroba tersebut masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman. Pada situasi ini tanaman merupakan sumber makanan bagi mikroba endofit dalam melengkapi siklusnya (Clay, 1988).

Beberapa penyakit infeksi yang sering terjadi di masyarakat diantaranya yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dan khamir *C. albicans*. Keberadaan *S. aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit, jarang menyebabkan penyakit. Inang yang sehat hanya berperan sebagai pembawa. Infeksi serius akan terjadi ketika resistensi inang melemah karena perubahan hormon, adanya penyakit, luka, atau perlakuan menggunakan obat yang mempengaruhi imunitas sehingga terjadi kelemahan inang. Infeksi *S. aureus* diasosiasikan dengan beberapa kondisi patologi, diantaranya bisul, jerawat, radang paru-paru, peradangan pada selaput otak dan sumsum tulang belakang dan peradangan sendi. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini memproduksi nanah, oleh karena itu bakteri ini disebut piogenik (Madigan *et al.*, 2008).

Candida albicans dapat hidup sebagai saprofit pada selaput lendir mulut, vagina, dan saluran pencernaan tanpa menyebabkan penyakit. Namun demikian, apabila inangnya menjadi lemah karena suatu penyakit misalnya pneumonia atau jika bakteri saingannya tertekan seperti pada pengobatan antibiotik yang berlanjut, *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi, sehingga menimbulkan suatu penyakit yang disebut kandidiasis. Infeksi yang parah dapat menyerang jantung (*endokarditis*), darah (*sepsisemia*), dan otak (*meningitis*) (Pelczar dan Chan, 2006).

Untuk mengatasi penyakit tersebut di atas, dapat dilakukan dengan terapi menggunakan antibiotik. Namun akibat resistensi mikroba terhadap antibiotik yang sudah ada, diperlukan antimikroba baru untuk mengatasinya. Sebagai contoh, banyak isolat *S.*

aureus resisten terhadap penisilin G. Hal ini disebabkan oleh enzim β -laktamase yang dapat merusak struktur β -laktam pada penisilin (Madigan *et al.*, 2008). Dengan adanya mikroba endofit, diharapkan akan diperoleh antimikroba baru untuk mengatasi resistensi terhadap antibiotik.

Menurut Carrol (1988), asal isolat mikroba endofit, jenis mikroba dan kondisi perakaran tanaman inang akan menyebabkan kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Oleh karena itu, dalam penelitian ini sampel tanaman srikaya yang digunakan berasal dari dua tempat tumbuh yang berbeda yaitu dari Kecamatan Mundu, Kabupaten Cirebon dan Kecamatan Tanah Sareal, Bogor. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat endofit potensial yang menghasilkan senyawa anti *S. aureus* dan *C. albicans*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Isolasi dan pemurnian mikroba endofit

Dua sampel tanaman srikaya diambil dari Kecamatan Mundu, Kabupaten Cirebon dan Kecamatan Tanah Sareal, Kota Bogor. Bagian tanaman yang di isolasi berupa ranting muda, ranting tua, daun muda, daun tua dan buah muda. Isolasi mikroba endofit dilakukan menggunakan metode dari Tomita (2003). Mikroba yang tumbuh, diisolasi dan dikultur pada media NA (untuk bakteri) dan PDA (untuk kapang).

Mikroba uji

Mikroba uji yang digunakan adalah *S. aureus* dan *C. albicans*, yang diperoleh dari koleksi mikroba Puslit Bioteknologi LIPI Cibinong.

Seleksi mikroba endofit penghasil senyawa antimikroba

Seleksi dilakukan dengan metode difusi agar (*Diffusion Agar Plate Method*) (Melliawati *et al.*, 2006). Inkubasi dilakukan selama 1 - 2 hari untuk bakteri, sementara untuk kapang 3 - 5 hari pada suhu kamar ($\pm 28-30^{\circ}\text{C}$). Luas koloni/zona bening diukur dengan bantuan kertas timbang, yaitu dengan membuat pola koloni/zona pada kertas timbang, lalu pola dipotong dan ditimbang. Luas zona bening dihitung dengan rumus Sukara *et al.* (1992).

Fermentasi dan ekstraksi

Bakteri endofit terpilih (BMC 1.1) sebanyak 3% diinokulasikan pada 100 ml media NB dan untuk kapang endofit terpilih (BTCK 1.1T) diinokulasi pada 300 ml media PDB, kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 28-30°C. Pemanenan dilakukan setelah mencapai masa stasioner. Untuk bakteri, fase stasioner dicapai 16 jam sedang untuk kapang 6 hari. Penyaringan dilakukan terhadap kapang endofit sebelum diekstraksi. Filtrat hasil fermentasi diekstraksi tiga kali dengan menambahkan kloroform (filtrat : kloroform = 2 : 1). Ekstraksi dilakukan menggunakan labu pemisah kemudian dibiarkan selama 45-60 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (jernih) merupakan ekstrak fase kloroform dan lapisan atas merupakan ekstrak fase air. Masing-masing filtrat yang dihasilkan dikeringkan. Diperoleh ekstrak fase kloroform dan ekstrak fase air, selanjutnya ekstrak diuji dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (Melliawati *et al.*, 2006).

Analisis hasil ekstraksi

Analisis ekstrak dilakukan dengan cara KLT dan KCKT (Melliawati dan Puspita, 2008). Noda yang tampak pada plat baik pada media, ekstrak kloroform dan antibiotik standar hanya dapat terdeteksi di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Senyawa tersebut tampak sebagai bercak/noda gelap pada latar belakang yang berfluoresensi kuning-hijau. Pengamatan dilanjutkan setelah plat sampel disemprot dengan penampak bercak CeSO_4 (*cerium sulfat*). Noda yang terbentuk berwarna coklat kehitaman.

HASIL

Isolasi

Tiga puluh enam isolat yang terdiri dari 24 isolat kapang dan 12 isolat bakteri berhasil diisolasi. Secara morfologi dari 12 isolat bakteri, 11 isolat memiliki sel berbentuk batang dan 1 isolat berbentuk kokus/bulat. Sementara untuk isolat kapang, memiliki hifa pendek, ada yang berwarna putih, hitam dan abu abu (Tabel 1.). Lima isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* (TBB 2.1, DBB 2, BuCB 2.1, BuCB 2.2A dan BuCB 2.2B) dan 1 isolat (BMC 1.1) mampu menghambat

pertumbuhan *C. albicans*, dengan luas zona bening terbesar 0,21 cm². Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa antimikroba. Sementara pada isolat kapang, 4 isolat yaitu TBK 2.1, BTCK 1.1T, BTCK 1.2T dan DTCK 2 dapat tumbuh dan membentuk koloni yang cukup besar pada media yang mengandung *S. aureus* juga pada media yang mengandung *C. albicans*. Luas koloni terbesar diperlihatkan oleh isolat kapang endofit BTCK 1.1T sebesar 23,3 cm². Hal serupa dilaporkan, bahwa 3 isolat kapang endofit yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923 (Melliawati dan Harni, 2009). Hasil isolasi mikroba endofit dari tanaman srikaya diperlihatkan pada Tabel 1.

Seleksi mikroba endofit penghasil senyawa anti-mikroba

Mikroba endofit yang tumbuh dan berkembang pada media seleksi dengan membentuk zona bening disekitar koloni dinyatakan positif menghasilkan senyawa anti mikroba (Tabel 2 dan 3). Hasil pengamatan terhadap ke-12 bakteri endofit yang diseleksi, 6 isolat bakteri endofit dapat tumbuh dan membentuk zona bening disekitar koloni. Lima isolat diantaranya mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* (TBB 2.1, DBB 1, BuCB 2.1, BuCB 2.2A, dan BuCB 2.2B) dan satu isolat mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* (BMC 1.1). Sedangkan kedua puluh dua isolat kapang yang tumbuh tidak membentuk *clear zone*. Sebanyak 22 isolat kapang mampu tumbuh pada media seleksi yang ditumbuhi *S. aureus* dan 12 isolat diantaranya juga dapat tumbuh pada media seleksi yang ditumbuhi *C. albicans*. Kemampuan isolat kapang endofit berbeda, diantaranya ada yang mampu tumbuh pada kedua media seleksi baik pada media yang mengandung *S. aureus* atau *C. albicans*, ada yang hanya mampu tumbuh pada salah satu media seleksi saja dan ada juga yang tidak mampu tumbuh pada keduanya.

Pengamatan makroskopis dan mikroskopis terhadap mikroba endofit terpilih

a. Bakteri endofit terpilih (BMC 1.1)

Berdasarkan zona bening yang terluas, isolat bakteri endofit terpilih adalah BMC 1.1, dengan luas

Tabel 1. Daftar isolat mikroba endofit hasil isolasi dari tanaman srikaya (*List of endophytic microbial isolated from sugar-apple plant*)

No.	Kode Isolat (<i>Isolates code</i>)	Sampel tanaman (<i>Plant amples</i>)	Asal Daerah (<i>Origin</i>)	Jenis (<i>species</i>)	Morfologi (<i>Morphology</i>)
1.	TBB 1.1	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Bogor	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna kuning, sel berbentuk batang (<i>The colony is yellow, rod-shaped cells</i>)
2.	TBB 1.2	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Bogor	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna kuning, sel berbentuk batang (<i>The colony is yellow, rod-shaped cells</i>)
3.	TBB 2.1	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Bogor	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang panjang (<i>Colonies are white, shaped long stem cells</i>)
4.	DBB 1	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang (<i>The colony is white, rod-shaped cells</i>)
5.	DBB 2	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang (<i>The colony is white, red-shaped cells</i>)
6.	BuCB 1.1	Buah muda (<i>Young fruit</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang panjang (<i>Colonies are white, shaped long stem cells</i>)
7.	BuCB 1.2	Buah muda (<i>Young fruit</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna kuning-oranye, sel berbentuk bulat (<i>Colonies of yellow-orange, coccus-shaped cells</i>)
8.	BMC 1.1	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna kuning, sel berbentuk batang (<i>The colony is yellow, red-shaped cells</i>)
9.	BMC 1.2	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna kuning, sel berbentuk batang (<i>The colony is yellow, red-shaped cells</i>)
10.	BuCB 2.1	Buah muda (<i>Young fruit</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang panjang (<i>Colonies are white, shaped long stem cells</i>)
11.	BuCB 2.2A	Buah muda (<i>Young fruit</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih, sel berbentuk batang panjang (<i>Colonies are white, shaped long stem cells</i>)
12.	BuCB 2.2B	Buah muda (<i>Young fruit</i>)	Cirebon	Bakteri (<i>Bacteria</i>)	Koloni berwarna putih bening, sel berbentuk batang panjang (<i>Clear white colonies, long rod-shaped cells</i>)
13.	DBK 1.1	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
14.	DBK 2.2	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
15.	DBK 1.3	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna putih, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white, the media does not change</i>)
16.	DBK 1.4	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)

Tabel 1. Daftar isolat mikroba endofit hasil isolasi dari tanaman srikaya (*List of endophytic microbial isolated from sugar-apple plant*) (lanjutan/ *continued*)

No.	Kode Isolat (<i>Isolates code</i>)	Sampel tanaman (<i>Plant amples</i>)	Asal Daerah (<i>Origin</i>)	Jenis (<i>species</i>)	Morfologi (<i>Morphology</i>)
17.	DBK 2.1	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
18.	DBK 2.2	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna putih bintik orange, media tidak berubah (<i>Short white Hypha orange spots, the media does not change</i>)
19.	DBK 2.3	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Kapang (<i>Mold</i>)	Hifa pendek berwarna abu-abu lama kelamaan merah, media berubah berwarna merah (<i>A short Hypha gray gradually turns red, medium red</i>)
20.	DBK 2.4	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Bogor	Hifa pendek berwarna abu-abu lama kelamaan merah, media berubah berwarna merah (<i>A short Hypha gray gradually turns red, medium red</i>)
21.	TBK 2.1	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Bogor	Hifa pendek berwarna putih, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white, the media does not change</i>)
22.	TBK 2.2	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Ranting muda (<i>Young twigs</i>)	Bogor	Hifa panjang berwarna putih, media tidak berubah (<i>Long white hypha, the media does not change</i>)
23.	BTCK 1.1	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
24.	BTCK 1.1 T	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with black spots in the Center, the media does not change</i>)
25.	BTCK 1.2	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
26.	BTCK 1.2 T	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with black spots in the Center, the media does not change</i>)
27.	BTCK 1.3	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with black spots in the Center, the media does not change</i>)
28.	BTCK 2	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Ranting tua (<i>Old twig</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with black spots in the Center, the media does not change</i>)
29.	DTCK 1.1	Daun tua (<i>Leaf old</i>)	Daun tua (<i>Leaf old</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
30.	DTCK 1.2	Daun tua (<i>Leaf old</i>)	Daun tua (<i>Leaf old</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik orange di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with orange spots in the Center, the media does not change</i>)

Tabel 1. Daftar isolat mikroba endofit hasil isolasi dari tanaman srikaya (*List of endophytic microbial isolated from sugar-apple plant*) (lanjutan/ *continued*)

No.	Kode Isolat (<i>Isolates code</i>)	Sampel tanaman (<i>Plant amples</i>)	Asal Daerah (<i>Origin</i>)	Jenis (<i>species</i>)	Morfologi (<i>Morphology</i>)
31.	DTCK 1.3	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik orange di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with orange spots in the Center, the media does not change</i>)
32.	DTCK 2.1	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih dengan bintik orange di tengah, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white with orange spots in the Center, the media does not change</i>)
33.	DTCK 2.2	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
34.	DTCK 2.3	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Daun tua (<i>Leafold</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna putih, media tidak berubah (<i>A short Hypha is white, the media does not change</i>)
35.	DMCK 2.1	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)
36.	DMCK 2.2	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Daun muda (<i>Young leaves</i>)	Cirebon	Hifa pendek berwarna hitam, media tidak berubah (<i>A short Hypha is black, the media does not change</i>)

Tabel 2. Luas zona bening bakteri endofit dalam media seleksi *S. aureus* dan *C. albicans* (*Clear zone of endophytic bacteria in selective media cultured with S. aureus and C. albicans*)

No.	Kode Isolat (<i>code of isolates</i>)	Luas zona bening bakteri endofit dalam media seleksi (<i>Clear zone of endophytic bacteria in selective medium growth with</i>)	
		<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1.	TBB 1.1	-	-
2.	TBB 1.2	-	-
3.	TBB 2.1	++	-
4.	DBB 1	-	-
5.	DBB 2	++	-
6.	BuCB 1.1	-	-
7.	BuCB 1.2	-	-
8.	BMC 1.1	-	+++
9.	BMC 1.2	-	-
10.	BuCB 2.1	+++	-
11.	BuCB 2.2A	++	-
12.	BuCB 2.2B	++	-

Keterangan (*Note*):

- (-) : tidak terbentuk zona bening (*no clear zone*)
 (+) : luas zona bening (*clear zone*) 0,01 – 0,07 cm²
 (++) : luas zona bening (*clear zone*) 0,07 – 0,15 cm²
 (+++) : luas zona bening (*clear zone*) > 0,15 cm²

Tabel 3. Luas koloni kapang endofit pada media seleksi *S. aureus* dan *C. albicans* (*Colony size of endophytic mold in selective media cultured with S. aureus and C. albicans*)

No.	Kode Isolat (code of isolates)	Luas koloni kapang endofit dalam medium seleksi mikroba (<i>Clear zone of endophytic mold in selective media growth with</i>)	
		<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1.	DBK 1.1	-	-
2.	DBK 1.2	-	-
3.	DBK 1.3	+	-
4.	DBK 1.4	+	-
5.	DBK 2.1	+	-
6.	DBK 2.2	+	+
7.	DBK 2.3	+	+
8.	DBK 2.4	+	+
9.	TBK 2.1	++	+
10.	TBK 2.2	+	+
11.	BTCK 1.1	+	+
12.	BTCK 1.1T	+++	+
13.	BTCK 1.2	+	+
14.	BTCK 1.2T	++	+
15.	BTCK 1.3	+	-
16.	BTCK 2	+	+
17.	DTCK 1.1	+	+
18.	DTCK 1.2	+	+
19.	DTCK 1.3	+	-
20.	DTCK 2.1	+	-
21.	DTCK 2.2	+	+
22.	DTCK 2.3	++	+
23.	DMCK 2.1	+	-
24.	DMCK 2.2	+	-

Keterangan (*Note*):

- (-) : tidak dapat tumbuh (*no growth*)
 (+) : luas koloni (*colonies size*) 0 - 8 cm²
 (++) : luas koloni (*colonies size*) 8 - 17 cm²
 (+++) : luas koloni (*colonies size*) > 17 cm²

zona bening 0,21 cm². Pada pengamatan secara makroskopis, bakteri endofit BMC 1.1 mempunyai bentuk koloni bulat dan berwarna kuning. Pengamatan menggunakan mikroskop menunjukkan bahwa bakteri endofit BMC 1.1 memiliki sel berbentuk batang (*basil*) dan termasuk gram positif, yang ditunjukkan dengan sel berwarna ungu dengan pewarnaan gram.

b. Kapang endofit terpilih (BTCK 1.1T)

Isolat kapang endofit BTCK 1.1T terpilih berdasarkan ukuran koloni terbesar. Isolat BTCK 1.1T mampu tumbuh dan membentuk koloni pada media seleksi yang berisi *S. aureus* dengan ukuran 23,3 cm². Kapang endofit BTCK 1.1T menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Berdasarkan pengamatan morfologi, BTCK 1.1T memiliki hifa pendek

berwarna putih pada waktu masih muda, tumbuh cepat dan setelah tua berwarna putih kekuningan dengan dasar hitam dan warna media tidak berubah. Hifa BTCK 1.1T bercabang, dan tidak bersekat.

Pengukuran laju pertumbuhan mikroba endofit terpilih

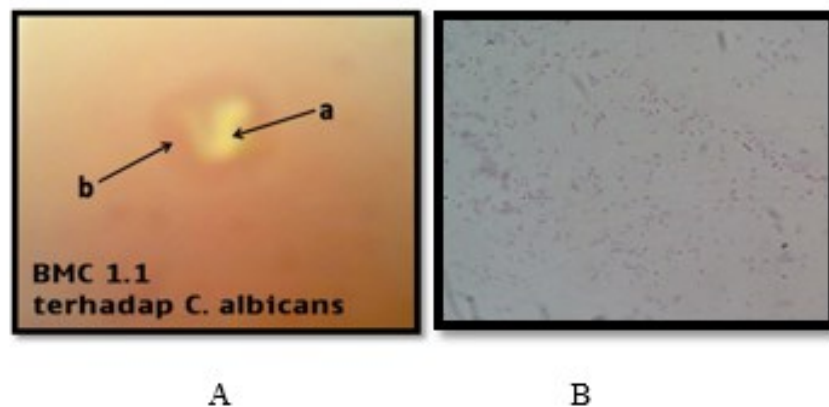
Pengukuran laju pertumbuhan mikroba endofit terpilih bertujuan untuk mendapatkan waktu yang tepat saat pemanenan senyawa antimikroba (awal fase stasioner), yang berupa metabolit sekunder pada proses fermentasi (Gambar 4). Beberapa mikroba menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibiotik dan polimer (Volk dan Wheeler, 1990).

Pada awal pertumbuhan, yaitu 4 jam setelah inokulasi, penghitungan jumlah bakteri tidak dapat dilakukan karena faktor pengenceran yang terlalu

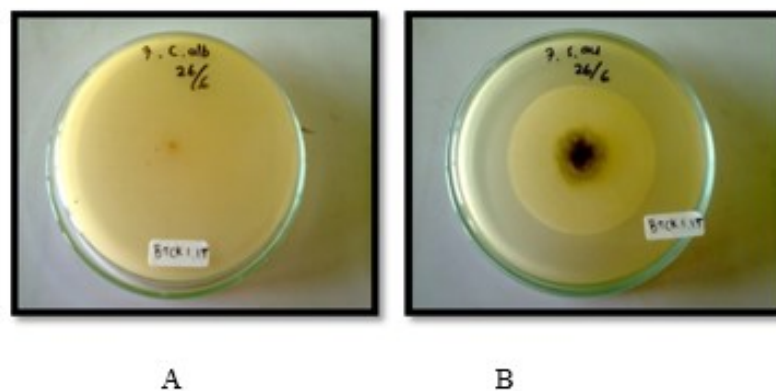
rendah sehingga bakteri yang tumbuh sangat banyak dan saling bertumpuk sehingga menyulitkan penghitungan. Antara jam ke-6 hingga 12 mulai terjadi pertumbuhan bakteri namun pertumbuhannya lambat. Fase pembiakan cepat terjadi pada jam ke-14 hingga 16. Fase ini disebut fase logaritmik/ fase eksponensial. Akhir fase logaritmik atau memasuki fase stasioner terjadi pada jam ke-16 yang merupakan titik pertumbuhan sel tertinggi (yaitu 313×10^{11} CFU/ml). Pada fase ini diperkirakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan maksimal. Setelah fase stasioner berakhir,

diikuti fase kemunduran atau fase kematian.

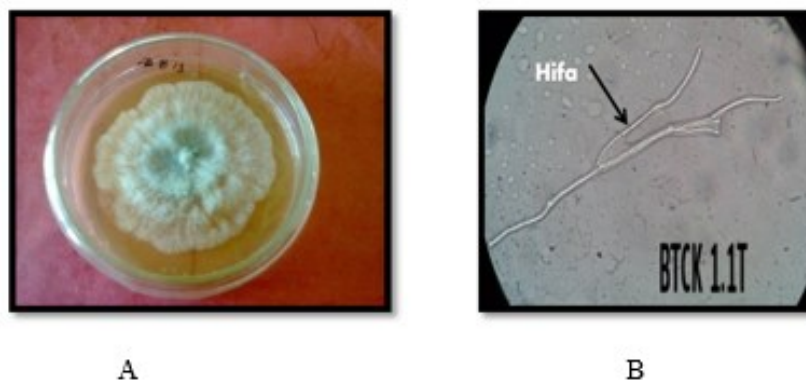
Pada kapang endofit BTCK 1.1T, fase adaptasi dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-1. Pada fase ini terjadi penyesuaian diri pada lingkungan baru. Selanjutnya masuk fase permulaan pembiakan pada hari ke-2 sampai hari ke-4. Fase berikutnya adalah fase pembiakan cepat atau disebut dengan fase eksponensial yaitu pada hari ke-5 sampai hari ke-6. Selama fase ini pembiakan mikroba berlangsung cepat, jumlahnya meningkat secara logaritma sesuai dengan pertambahan waktu. Akhir fase logaritmik atau memasuki fase stasioner, terjadi keadaan



Gambar 1. A. Zona bening bakteri endofit BMC 1.1 pada media seleksi *C. albicans*; B. Sel bakteri endofit BMC 1.1 dilihat dengan perbesaran 100 x 10, sel berbentuk basil (*Clear Zone of endophytic bacterial BMC 1.1 in selective media growth with C. albicans*; B. *Bacterial cells BMC 1.1 observed on 100x10 magnification, basil-shaped cells*)



Gambar 2. Koloni kapang endofit BTCK 1.1T pada media selektif. A. Pada media seleksi kultur *Candida albicans*, masa inkubasi 5 hari. B. Pada media seleksi kultur *Staphylococcus aureus*, masa inkubasi 5 hari (*Endophytic mold colonies BTCK 1.1 T in selective media. A. In selective media growth with Candida albicans, 5 days incubation. B. In selective media growth with Staphylococcus aureus, 5 days incubation.*)



Gambar 3. Kapang endofit BTCK 1.1T. A. Pada media PDA umur 5 hari. B. Perbesaran 100x10 (*Mold endophyte BTCK 1.1 T. A. In PDA media. B. at 100x10 magnification*)

seimbang antara laju pertumbuhan dengan laju kematian, sehingga jumlah keseluruhan kapang yang hidup akan relatif tetap. Fase ini terjadi pada hari ke-6 yang merupakan saat senyawa metabolit sekunder mulai dihasilkan dengan titik pertumbuhan kapang tertinggi (55×10^4 CFU/ml). Setelah fase stasioner berakhir, diikuti fase kematian. Fase ini dimulai setelah hari ke-6. Pada fase ini jumlah kapang yang mati lebih besar daripada jumlah kapang yang hidup. Hal ini disebabkan jumlah makanan dan nutrisi dalam media semakin berkurang sehingga pembiakan kapang terhenti.

Ekstraksi dan analisis senyawa antimikroba menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)

Pemanenan dilakukan setelah proses fermentasi mencapai akhir fase logaritmik dari isolat bakteri BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T, dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan kloroform. Kedua ekstrak dikeringkan untuk mendapatkan ekstrak kering. Ekstrak kering bakteri endofit BMC 1.1 diperoleh sebanyak 0,5 g (dari ekstrak fase kloroform) dan 2,3 g dari ekstrak fase air. Sedangkan untuk kapang endofit BTCK 1.1T didapat 0,0041 g dari ekstrak kering fase kloroform dan 0,2 g dari ekstrak fase air.

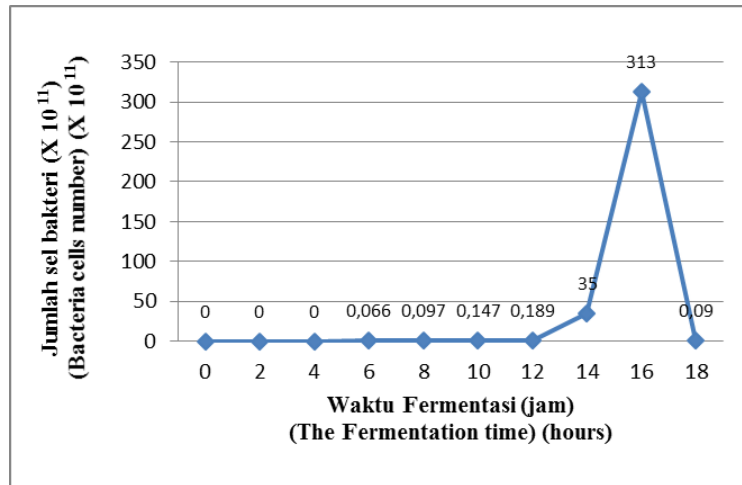
Ekstrak fase kloroform dan ekstrak fase air yang telah didapat dari proses ekstraksi kemudian dianalisis menggunakan KLT. Analisis menggunakan KLT dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh

mikroba endofit, sekaligus untuk memisahkan komponen-komponen senyawa berdasarkan perbedaan kelarutannya. Tahap pertama, dipakai beberapa jenis pelarut dengan beberapa perbandingan untuk mendapatkan perbandingan yang tepat, sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam kedua ekstrak mikroba endofit secara maksimal. Analisis KLT dari kedua mikroba endofit terpilih dilakukan dengan beberapa perbandingan dan campuran pelarut (Gambar 6 dan 7).

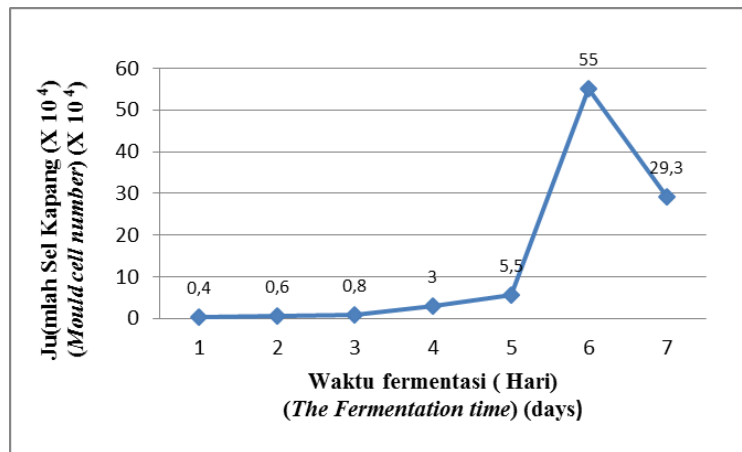
Noda yang tampak pada plat, baik pada media ekstrak kloroform dan antibiotik standar hanya dapat terdeteksi di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Senyawa tersebut tampak sebagai bercak/noda gelap pada latar belakang yang berfluoresensi kuning-hijau. Pengamatan dilanjutkan setelah plat sampel disemprot dengan penampak bercak CeSO_4 (*cerium sulfat*), warna noda yang terbentuk terlihat coklat kehitaman.

Kromatografi kolom

Kromatografi kolom bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang ada di dalam ekstrak kloroform bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T. Hasil dari kromatografi kolom berupa fraksi-fraksi yang setiap fraksi diharapkan berisi satu jenis senyawa murni saja. Kromatografi kolom ekstrak fase kloroform bakteri endofit BMC 1.1 mendeteksi 28 fraksi, sedangkan untuk ekstrak fase kloroform kapang endofit BTCK



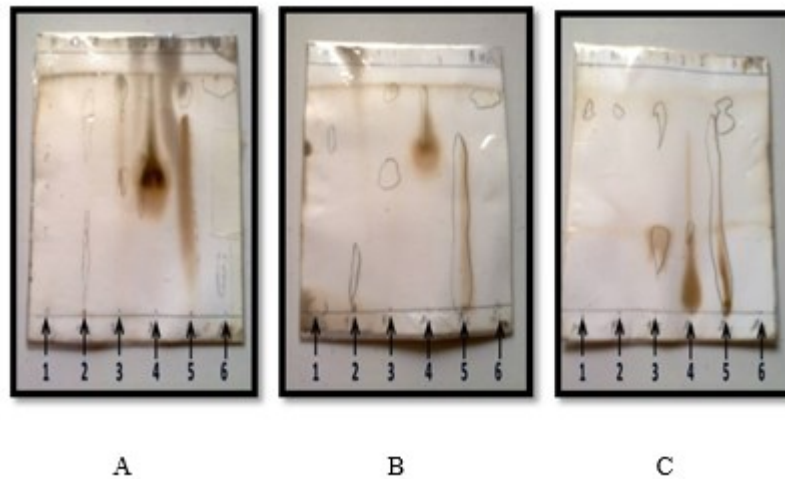
Gambar 4. Grafik laju pertumbuhan bakteri endofit BMC 1.1 (*Graphic of the endophytic bacteria BMC 1.1 growth rate*)



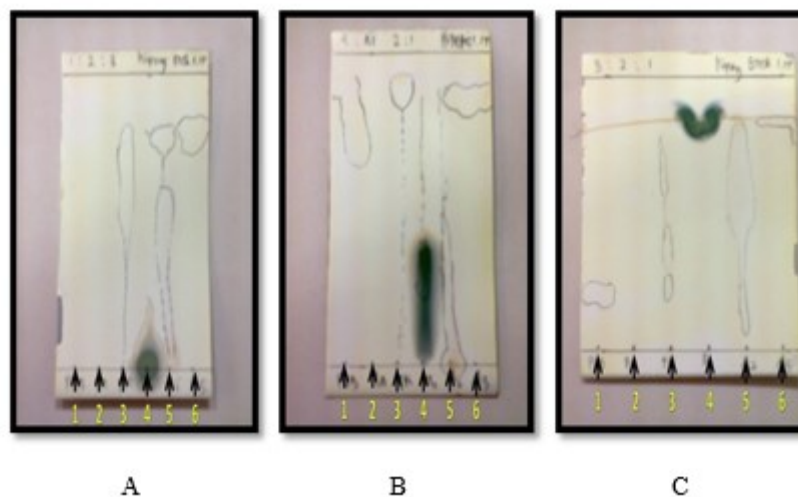
Gambar 5. Grafik laju pertumbuhan kapang endofit BTCK 1.1T (*Graphic growth rate of endophytic mold BTCK 1.1T*)

(1 : 2 : 3) noda yang tampak hanya pada ekstrak fase kloroform dan ketiga antibiotik standar saja, namun pada media PDB dan ekstrak fase air, tidak tampak noda. Sedangkan pada campuran pelarut asetonitril : metanol (2 : 1) noda yang tampak pada media PDB tidak sama dengan noda yang tampak pada ekstrak fase kloroform dan ketiga antibiotik standar, tetapi hal tersebut terlihat juga pada campuran pelarut kloroform : metanol : air (3 : 2 : 1). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam fase kloroform berbeda dengan senyawa yang terkandung dalam media PDB, artinya positif terdapat senyawa aktif pada ekstrak fase kloroform.

Kisaran nilai Rf dari noda yang tampak pada ekstrak fase kloroform terlihat mendekati nilai Rf antibiotik eritromisin, tetrasiklin dan metronidazol. Noda pada plat hasil KLT pada Tabel 5, menunjukkan bahwa nilai Rt pada setiap fraksi tidak ada yang menunjukkan kesamaan tetapi mendekati dengan nilai Rt dari antibiotik standar metronidazol. Untuk fraksi C₁ dan fraksi Ck₁ mempunyai nilai Rt 6,350 menit, sehingga diduga senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fraksi C₁ dari bakteri endofit BMC 1.1 dan fraksi Ck₁ dari kapang endofit BTCK 1.1T adalah senyawa metronidazol atau turunannya. Seperti



Gambar 6. Hasil KLT ekstrak fase kloroform dan fase air bakteri endofit BMC 1.1 dalam berbagai perbandingan komposisi pelarut. A. kloroform : metanol : air (5 : 5 : 1); B. asetonitril : metanol (1 : 1); C. kloroform : metanol : air (3 : 3 : 2); 1. Media NB; 2. Ekstrak fase air bakteri endofit BMC 1.1; 3. Ekstrak fase kloroform bakteri endofit BMC 1.1; 4. eritromisin; 5. tetrasiklin; 6. metronidazol. (TLC results of chloroform and water phase extracts of endophytic bacteria BMC 1.1 in a variety of solvent composition ratio. A. chloroform : methanol : water (5 : 5 : 1); B. acetonitrile : methanol (1 : 1); C. chloroform : methanol : water (3 : 3 : 2); 1. Media NB; 2. Water phase extract of endophytic bacteria BMC 1.1; 3. Chloroform phase extract of endophytic bacteria BMC 1.1; 4. erythromycin; 5. tetracyclin; 6. methronidazol)



Gambar 7. Hasil KLT ekstrak fase kloroform dan fase air kapang endofit BTCK 1.1T dalam berbagai perbandingan komposisi pelarut. A. kloroform : metanol : air (1 : 2 : 3); B. asetonitril : metanol (2 : 1); C. kloroform : metanol : air (3 : 2 : 1); 1. Media PDB; 2. Ekstrak fase air kapang endofit BTCK 1.1T; 3. Ekstrak fase kloroform kapang endofit BTCK 1.1T; 4. eritromisin; 5. tetrasiklin; 6. metronidazol. (TLC results of chloroform and water phase extracts of endophytic mold BTCK 1.1T in a variety of solvent composition ratio. A. chloroform : methanol : water (1 : 2 : 3); B. acetonitrile : methanol (2 : 1); C. chloroform : methanol : water (3 : 2 : 1); 1. Media PDB; 2. Water phase extract of endophytic mold BTCK 1.1T; 3. Chloroform phase extract of endophytic mold BTCK 1.1T; 4. erythromycin; 5. tetracyclin; 6. methronidazol)

1.1T terdeteksi 30 fraksi. Masing-masing fraksi selanjutnya dianalisis kembali menggunakan KLT dan dibandingkan dengan antibiotik standar berupa eritromisin, metronidazol dan tetrasiklin. Fraksi-fraksi yang memiliki noda/spot yang sama di gabung, selanjutnya dilakukan analisis KLT kembali hingga diperoleh masing-masing 2 fraksi yang merupakan hasil penggabungan beberapa fraksi.

Menurut hasil KLT sebelum kromatografi kolom, perbandingan fase gerak yang digunakan untuk ekstrak fase kloroform bakteri BMC 1.1 adalah kloroform : metanol : air (5 : 5 : 1) sedangkan untuk kapang endofit BTCK 1.1T adalah kloroform : metanol : air (3 : 2 : 1). Akan tetapi fase gerak tersebut tidak dapat digunakan dalam analisis KCKT karena kloroform dapat merusak kolom sehingga diperlukan fase gerak yang lebih aman. Asetonitril digunakan untuk menggantikan kloroform. Campuran asetonitril : metanol (1 : 2) dapat dijadikan pelarut yang cukup baik bagi kedua fraksi bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T serta antibiotik standar metronidazol, namun antibiotik standar eritromisin dan tetrasiklin tidak dapat larut secara sempurna.

Berdasarkan hasil KLT diketahui bahwa nilai Rf dari keempat fraksi ekstrak fase kloroform bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T mempunyai kisaran yang lebih tinggi daripada ketiga antibiotik standar eritromisin (0,614) tetrasiklin (0,482) dan metronidazol (0,859) (Tabel 4).

Analisa senyawa antimikroba menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)

Metode KCKT tepat digunakan untuk menganalisis senyawa yang tidak berwarna dengan konsentrasi kecil (Gritter *et al.*, 1991). Analisis KCKT ini memiliki tingkat ketepatan yang tinggi. Setiap senyawa yang terdeteksi berupa *peak* yang berbeda-beda sesuai waktu retensinya. Dasar pemisahan kromatografi ini adalah kesetimbangan komponen-komponen campuran di antara fase gerak dan fase diam. Hasil analisis berupa kromatogram yang dapat berfungsi sebagai analisis kualitatif dan kuantitatif.

Posisi puncak (*peak*) pada sumbu waktu berfungsi untuk mengidentifikasi komponen cuplikan, sedangkan luas area (% area) atau tinggi *peak* merupakan ukuran kuantitatif tiap komponen. Waktu retensi (*retention time/Rt*) merupakan petunjuk kualitatif suatu senyawa. Waktu retensi adalah waktu yang dibutuhkan oleh suatu senyawa untuk mencapai detektor. Jumlah *peak* yang terdapat pada kromatogram menunjukkan jumlah komponen yang terdapat dalam cuplikan.

Hasil analisis KCKT menunjukkan bahwa jumlah *peak* yang terbentuk pada kromatogram antibiotik standar metronidazol adalah 1 *peak* dengan nilai Rt 6,350 menit dan luas area 100,000 %, begitu pula dengan fraksi C₁ dan C₂ memiliki 1 *peak* dan luas area 100,000% dengan nilai Rt yang berbeda yaitu fraksi C₁ 6,392 menit dan fraksi C₁ 6,408

Tabel 4. Nilai Rf hasil fraksinasi ekstrak fase kloroform bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T serta senyawa antibiotik standar. (*Rf value of chloroform phase extract of endophytic bacteria BMC 1.1, BTCK 1.1 T endophytic mold and antibiotic standard*)

No.	Sampel (<i>samples</i>)	Nilai Rf (<i>Rf Value</i>)	Keterangan (<i>Notes</i>)
1.	Fraksi C ₁	0,946	Fraksi kloroform bakteri (<i>bacterial chloroform fraction</i>)
2.	Fraksi C ₂	0,910	Fraksi kloroform bakteri (<i>bacterial chloroform fraction</i>)
3.	Fraksi Ck ₁	0,877	Fraksi kloroform kapang (<i>mold chloroform fraction</i>)
4.	Fraksi Ck ₂	0,929	Fraksi kloroform kapang (<i>mold chloroform fraction</i>)
5.	Eritromisin	0,614	Antibiotik standar (<i>standard antibiotic</i>)
6.	Tetrasiklin	0,482	Antibiotik standar (<i>standard antibiotic</i>)
7.	Metronidazol	0,859	Antibiotik standar (<i>standard antibiotic</i>)

Tabel 5. Nilai *Rt* dan *peak area* hasil fraksinasi ekstrak fase kloroform bakteri BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T serta antibiotik standar metronidazol. (*Rt value and peak of chloroform phase extract of endophytic bacteria BMC 1.1, mold BTCK 1.1 T and antibiotic standard metronidazole*)

No.	Sampel (<i>Samples</i>)	Waktu retensi (<i>Rt</i>) (<i>minute</i>)	Area (<i>Area</i>)	<i>Peak Area</i> (%)	Konsentrasi metronidazol (ppm) (<i>concentration of metronidazole</i>)
1.	Fraksi C ₁	6,392	11384170	100,000	170,98
2.	Fraksi C ₂	6,408	1216677	100,000	18, 27
3.	Fraksi Ck ₁	6,375	100394	72,123	1,51
4.	Fraksi Ck ₂	6,600	275375	76,311	4,14
5.	Metronidazol	6,350	6657902	100,000	100

menit. Lain halnya dengan fraksi Ck₁, mempunyai 3 *peak* dengan nilai *Rt* 6,375 menit dan luas area 72,123%. Begitu pula dengan fraksi Ck₂ mempunyai 3 *peak* dengan nilai *Rt* 6,600 menit dan luas area 76,311%. Sampel yang mempunyai 1 *peak* dan luas area sebesar 100% menunjukkan bahwa senyawa yang ada di dalam sampel tersebut sudah murni. Sedangkan sampel yang mempunyai lebih dari 1 *peak* dan luas area kecil dapat diduga merupakan senyawa campuran yang juga bersifat antimikroba akan tetapi kadarnya sangat kecil.

PEMBAHASAN

Mikroba endofit yang mampu hidup, tumbuh dan berkembang membentuk koloni pada media yang mengandung mikroba patogen menunjukkan bahwa mikroba tersebut menghasilkan suatu senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Senyawa aktif yang disekresikan akan terlihat sebagai zona bening disekitar koloni mikroba. Bila senyawa aktif tidak disekresikan secara berlebih, maka disekitar koloni tidak tampak adanya zona bening, kemungkinan senyawa antimikroba yang dihasilkan dalam jumlah yang terbatas, sesuai dengan pertumbuhan koloni tersebut.

Senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit BMC 1.1 termasuk ke dalam senyawa antimikroba spektrum sempit (*narrow-spectrum antimicrobial substance*), dilihat dari aktivitas penghambatannya, karena senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan satu mikroba uji saja yaitu *C. albicans* yang merupakan jenis khamir gram negatif. Sementara untuk kapang endofit

BTCK 1.1T termasuk kapang yang menghasilkan senyawa antimikroba spektrum luas (*broad spectrum antimicrobial substance*) karena mampu tumbuh pada media yang berisi mikroba uji yakni *S. aureus* (gram positif) dan *C. albicans* (gram negatif).

Hasil analisis KLT ekstrak bakteri endofit BMC 1.1 dengan tiga perbandingan pelarut (Gambar 6), menunjukkan hasil positif yaitu contoh uji mempunyai noda/*spot* dengan kisaran nilai *Rf* mendekati *Rf* antibiotik standar tetrasiklin dan metronidazol. Satu noda tipis tampak pada ekstrak air dengan 2 perbandingan komposisi pelarut, sedangkan pada perbandingan 5 : 5 : 1, tampak dua noda pada ekstrak air. Lain halnya dengan noda pada fase kloroform, tampak lebih jelas. Dari ketiga perbandingan komposisi pelarut, tampak dua noda pada ekstrak kloroform dalam plat.

Perbandingan komposisi pelarut kloroform : metanol : air (5 : 5 : 1) memberikan kemampuan yang baik dalam mengelusi noda ekstrak kloroform dan air pada plat KLT. Noda yang tampak pada ekstrak fase kloroform dan fase air tidak sama dengan noda yang tampak pada media NB. Artinya bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak fase kloroform dan fase air adalah senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit BMC 1.1.

Hasil analisa KLT dari kapang BTCK 1.1T dengan ketiga perbandingan pelarut (Gambar 7) menunjukkan pemisahan yang kurang sempurna karena noda ekstrak fase air tidak tampak pada plat dari ketiga campuran pelarut tersebut. Kemungkinan karena ekstrak fase air tercampur dengan senyawa metabolit lain yang terdapat dalam kultur fermentasi sehingga noda tidak dapat terangkat sempurna.

Pada campuran pelarut kloroform: metanol : air

halnya dilaporkan Melliawati dan Harni (2009), bahwa 2 isolat kapang endofit menghasilkan bioaktif yang mendekati antibiotik kloramfenikol dan ampicillin. Sementara itu, fraksi C₂ dan fraksi Ck₂ mempunyai kisaran nilai Rt yang jauh berbeda dengan nilai Rt antibiotik standar metronidazol sehingga kemungkinan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fraksi C₂ dari bakteri endofit BMC 1.1 dan fraksi Ck₂ dari kapang endofit BTCK 1.1T tersebut merupakan senyawa turunan antibiotik lain yang juga bersifat antimikroba.

Dalam analisis KCKT, fase gerak yang digunakan adalah asetonitril sebagai pengganti kloroform karena kloroform dapat merusak kolom. Campuran asetonitril : metanol (1 : 2) dapat dijadikan pelarut yang cukup baik bagi kedua fraksi bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T serta antibiotik standar metronidazol, namun pada antibiotik standar eritromisin dan tetrasiklin tidak dapat melarutkan secara sempurna. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh antibiotik eritromisin dan tetrasiklin yang digunakan adalah dalam bentuk garamnya yaitu eritromisin stearat dan tetrasiklin hidroklorida. Sehingga noda/spot dari antibiotik tersebut tidak dapat terangkat sempurna seperti noda/spot pada metronidazol.

Hasil kromatogram terhadap ekstrak bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T, menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda, yang kemungkinan besar bersifat antimikroba. Hasil perhitungan konsentrasi metronidazol pada masing-masing sampel menunjukkan bahwa konsentrasi fraksi C₁ adalah 170,98 ppm, fraksi C₂ yaitu 18,27 ppm, fraksi Ck₂ yaitu 4,14 ppm dan konsentrasi terkecil adalah fraksi Ck₁ yakni 1,51 ppm. Dapat disampaikan bahwa mikroba endofit dari srikaya menghasilkan senyawa aktif antimikroba, seperti halnya yang dilaporkan Fathoni *et al.* (2013, *unpublished*), Melliawati *et al.* (2004, *unpublished*) Melliawati *et al.* (2006, 2007), Melliawati dan Wulandari (2008), Melliawati dan Harni (2009) dan Melliawati (2013) bahwa mikroba endofit dari tumbuhan menghasilkan senyawa aktif antimikroba.

KESIMPULAN

Tiga puluh enam (36) isolat endofit telah diperoleh

dari tanaman srikaya, yaitu 24 isolat kapang dan 12 isolat bakteri endofit. Lima (5) isolat bakteri endofit diantaranya mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* (TBB 2.1, DBB 2, BuCB 2.1, BuCB 2.2A dan BuCB 2.2B) dan 1 isolat (BMC 1.1) mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Empat isolat kapang (TBK 2.1, BTCK 1.1T, BTCK 1.2T dan DTCK) mampu tumbuh dalam medium yang mengandung bakteri *S. aureus* dan *C. albicans*, dua (2) diantaranya dapat tumbuh dan membentuk koloni yang besar pada media yang mengandung bakteri uji tersebut. Analisis KLT dari fraksi-fraksi ekstrak fase kloroform (bakteri endofit BMC 1.1 dan kapang endofit BTCK 1.1T) menunjukkan nilai Rf mendekati antibiotik standar metronidazol. Analisis KCKT memperlihatkan, senyawa aktif dari ekstrak fase kloroform bakteri BMC 1.1 yaitu fraksi C₁ dan fraksi Ck₁ serta dari ekstrak fase kloroform kapang endofit BTCK 1.1T memiliki nilai Rt yang mendekati antibiotik standar metronidazol. Konsentrasi metronidazol pada masing-masing fraksi C₁ (170,98 ppm), fraksi C₂ (18,27 ppm), fraksi Ck₁ (1,51 ppm) dan fraksi Ck₂ (4,14 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Cacabuono AC and AB Pomilio. 1997. Alkaloids from endophyte-infected *Festua argentina*. *Journal of Ethnopharmacology* 57, 1-9.
- Carrol GC. 1988. Fungal Endophytes In Stem and Leaves from Latent Atgogens to Mutualistic Symbiont. *Ecology* 69, 2-9.
- Clay K. 1988. Fungal Endophytes of Grasses: A Defensive Mutualism Between Plant and Fungi. *Ecology* 69(1), 10-16.
- Fabry W, PO Okemo and R Ansorg. 1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 60, 79-84
- Fathoni A, M Ilyas, Praptiwi, AH Cahyana dan A Agusta. 2013. Skrining dan isolasi metabolit aktif antibakteri kultur jamur endofit dari tumbuhan *Albertisia papuana* Becc. *Berita Biologi* 12(3), 307-323.
- Ferlin W, K Ruslan dan K Siti. 2007. Telaah Fitokimia Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) yang berasal dari Dua Lokasi Tumbuh. Fakultas Farmasi ITB, Bandung. [Skripsi]
- Gritter RJ, M Bobbitt and AE Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*, 266 hal. Penerbit ITB, Bandung
- Madigan MT, JM Martinko, PV Dunlap, DP Clark. 2008. *Biology of Microorganism*, 1032 hal 12th Ed. Pearson, San Fransisco.
- Melliawati R, DN Widyaningrum, AC Djohan dan H Sukiman. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas* 7(3), 221-224.
- Melliawati R, E Ismawati, F Octavina. 2007. Kapang Endofitik Potensial Sebagai Penghasil Anti Mikroba Patogen. *Jurnal Berkala Ilmiah Biologi* 6(1), 9-17.
- Melliawati R dan PS Wulandari. 2008. Kapang Endofit dari Taman Nasional Gunung Halimun sebagai

- Pelczar MJ Dan ECS Chan. 2006.** *Dasar-dasar Mikrobiologi*, 481-593 Edisi ke-2. UI Press, Jakarta.
- Rizzo I, E Varsavky, M Haiduhoski and H Frade. 1997.** Macrocyclic trichothecene in *Baccharis coridifolia* plants and endophytes and *Baccharis artemisioides* plants. *Toxicon* **35**, 753-757.
- Santoso S, S Supardiyah dan M Yulfira. 2003.** Obat Tradisional untuk Penyembuhan Penyakit DM dari Pengobatan Tradisional (BATRA) di DKI Jakarta, Yogyakarta dan Surabaya. *Jurnal Ekologi Kesehatan* **2(2)**, 239-248
- Strobel G And B Daisy. 2003.** Bioprospecting for Microbial Endophyte and Their Natural Product. *Mikrobiology and Molecular Biology Review*. **67(4)**, 491-502.
- Sukara E, R Melliawati and S Saono. 1992.** Amylases Production From Cassava by An Indigenous Yeast. *Journal Science Technology Development* **9(1)**, 157-168.
- Strobel GA, WM Hess, EJ Ford, RS Sidhu and X Yang. 1996.** Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *Journal of Industry Microbiology* **17**, 417-423.
- Tan RX and WX Zou. 2001.** Endophytes : A Rich source of functional metabolites. *Natural product reports*. **18(4)**, 448-459.
- Tomita F. 2003.** Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential application. *Fungal Diversity*. **14**, 187-204.
- Volk dan Wheeler. 1990.** *Mikrobiologi Dasar*, 396 Jilid 2 Edisi ke-5. Diterjemahkan oleh Sumarto Adi Sumartono. Erlangga, Jakarta.

Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

Berita Biologi adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput, diharuskan menampilkan aspek atau informasi baru.

Tipe naskah

- 1. Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)**

Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up-to-date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
- 2. Komunikasi pendek (*short communication*)**

Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil teremuan yang menarik, spesifik dan baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Hasil dan pembahasan boleh digabung.
- 3. Tinjauan kembali (*review*)**

Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

Struktur naskah

- 1. Bahasa**

Bahasa yang digunakan adalah bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.
- 2. Judul**

Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah diikuti oleh nama dan alamat surat menyurat penulis. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*).
- 3. Abstrak**

Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam bahasa Inggris merupakan terjemahan dari bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.
- 4. Pendahuluan**

Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Sebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan.
- 5. Bahan dan cara kerja**

Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasi dan apabila ada modifikasi harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan apa yang dimodifikasi.
- 6. Hasil**

Sebutkan hasil-hasil utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada tabel/grafik/diagram atau gambar uraikan hasil yang terpenting dan jangan menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata harus menyebutkan standar deviasi.
- 7. Pembahasan**

Jangan mengulang isi hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan apa arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, bandingkan hasil penelitian ini dengan membuat perbandingan dengan studi terdahulu (bila ada).
- 8. Kesimpulan**

Menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, dan penelitian berikut yang bisa dilakukan.
- 9. Ucapan terima kasih**
- 10. Daftar pustaka**

Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses peer review. Apabila harus menyitir dari "Laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan '*unpublished*' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers*. Penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

Format naskah

- Naskah diketik dengan menggunakan program Word Processor, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.
- Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan bahasa Indonesia, angka desimal menggunakan koma (,) dan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.
- Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.
- Nama takson dan kategori taksonomi merujuk kepada aturan standar termasuk yang diakui. Untuk tumbuhan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICFAFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Sedangkan penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.
- Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.
- Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).
- Tabel
Tabel diberi judul yang singkat dan jelas, spasi tunggal dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horisontal yang memisahkan judul dan batas bawah. Paragraf pada isi tabel dibuat satu spasi.
- Gambar
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul ditulis secara singkat dan jelas, spasi tunggal. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi.
- Daftar Pustaka
Sitasi dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata 'dan' atau *et al*. Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis

maka digunakan kata 'and'. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995).

- a. Jurnal
Nama jurnal ditulis lengkap.
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.
- b. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Edisi ke-(bila ada). Academic, New York.
- c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
- d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurllock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
- e. Thesis dan skripsi.
Keim AP. 2011. Monograph of the genus *Orania* Zipp. (Arecaceae; Oraniinae). University of Reading, Reading. [PhD. Thesis].
- f. Artikel online.
Artikel yang diunduh secara online mengikuti format yang berlaku misalnya untuk jurnal, buku atau thesis, serta dituliskan alamat situs sumber dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses *peer review* atau artikel dari laman web yang tidak bisa dipertanggung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.
Forest Watch Indonesia[FWI]. 2009. Potret keadaan hutan Indonesia periode 2000-2009. <http://www.fwi.or.id>. (Diunduh 7 Desember 2012).

Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah, yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan sedang diterbitkan di tempat lain.

Penelitian yang melibatkan hewan

Untuk setiap penelitian yang melibatkan hewan sebagai obyek penelitian, maka setiap naskah yang diajukan wajib disertai dengan 'ethical clearance approval' terkait *animal welfare* yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

Lembar ilustrasi sampul

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah. Oleh karena itu setiap naskah yang ada ilustrasi harap mengirimkan ilustrasi dengan kualitas gambar yang baik disertai keterangan singkat ilustrasi dan nama pembuat ilustrasi.

Proofs

Naskah *proofs* akan dikirim ke author dan diwajibkan membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah *proofs* harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

Naskah cetak

Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan reprint. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*.

Pengiriman naskah

Naskah dikirim dalam bentuk .doc atau .docx.

Alamat kontak: Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911

Telp: +61-21-8765067

Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066

Email: jurnalberitabiologi@yahoo.co.id

berita.biologi@mail.lipi.go.id

BERITA BIOLOGI

Vol. 16 (1)

Isi (*Content*)

April 2017

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

INDUKSI BIAK KALUS DAN BIAK SUSPENSI SEL *Aquilaria malaccensis* Lam. [Induction of Callus Culture and Cell Suspension Culture of *Aquilaria malaccensis* Lam.]

Aryani Leksonowati, Witjaksono dan Diah Ratnadewi 1 - 11

BAKTERI ENTOMOPATOGEN SEBAGAI AGEN BOKONTROL TERHADAP LARVA *Spodoptera litura* (F.) [Entomopathogenic Bacteria as Biocontrol Agent Against *Spodoptera litura* (F.) Larvae]

Ni Putu Ratna Ayu Krishanti, Bramantyo Wikantyo, Aprivi Zulfitri dan Deni Zulfiana 13 - 21

PENINGKATAN PERTUMBUHAN PADI VAR. CIHERANG SETELAH DIINOKULASI DENGAN *Azospirillum* MUTAN MULTIFUNGSI PENAMBAT N₂, PELARUT P DAN PENGHASIL FITOHORMON INDOLE ACETIC ACID (IAA) [The growth enhancement of rice var. Ciherang after inoculated with *Azospirillum* mutants multifunction capable of N₂-fixation, P solubilization, and producing phytohormone indole acetic acid (IAA)]

Eny Ida Riyanti dan Edy Listanto 23 - 30

KUALITAS SEMEN BEKU DOMBA GARUT (*Ovis aries*) PADA PENAMBAHAN SUKROSA DALAM PENGECER SEMEN TRIS KUNING TELUR [The Quality of Garut Ram (*Ovis aries*) Frozen Semen In Tris Egg Yolk Extender to The Sucrose Supplementation]

Herdis Suharman 31 - 38

PENGELOLAAN AIR, BAHAN ORGANIK DAN VARIETAS ADAPTIF UNTUK MENINGKATKAN HASIL PADI DI LAHAN RAWA PASANG SURUT [Water Management, Organic Matter Application and Using Adaptable Variety to Increase Rice (*Oryza sativa* L.) Productivity on Tidal Swamp Land]

Koesrini dan Khairil Anwar 39 - 46

POTENSI SERAPAN CO₂ PADA BEBERAPA JENIS KANTONG SEMAR (*Nepenthes* spp.) DATARAN RENDAH [Potency of CO₂ Absorption of Lowland Pitcher Plants (*Nepenthes* spp.)]

Muhammad Mansur 47 - 57

CLONING, EXPRESSION, AND PARTIAL PURIFICATION OF PLANTARICIN W LOCUS PRODUCED BY *Lactobacillus plantarum* S34 [Kloning, Ekspresi, dan Purifikasi Parsial Lokus Plantarisin W Diproduksi oleh *Lactobacillus plantarum* S34]

Rifqiyah Nur Umami, Apon Zaenal Mustopa, Linda Sukmarini, Hasim Danuri, Andini Setyanti Putri, and Krisna Dwi Aria Wibowo 59 - 67

MIKROBA ENDOFIT DARI TANAMAN SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) SEBAGAI PENGHASIL ANTI-MIKROBA *Staphylococcus aureus* DAN *Candida albicans* [Antimicrobial activity of endophytic microbes from sugar-apple (*Annona squamosa* L.) plant against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*]

Ruth Melliawati dan Sunifah 69 - 83

KARAKTERISASI PISANG REJANG TETRAPLOID HASIL INDUKSI DENGAN ORYZALIN [Characterization of tetraploid Pisang Rejang induced by oryzalin]

Yuyu S. Poerba, T Handayani dan Witjaksono 85 - 93

KOMUNIKASI PENDEK

CATATAN KEKAYAAN JENIS GASTROPODA DI PESISIR PULAU LETI, KAWASAN BANDA SELATAN [Note on Species Richness of Gastropoda in Coastal Area of Leti Island, Southern Banda]

Muhammad Masrur Islami 95 - 99

KEANEKARAGAMAN KEONG DI PULAU ENGGANO, BENGKULU UTARA [The snails diversity in Enggano Island, Northern Bengkulu]

Heryanto 101 - 110