

DAFTAR ISI

HALAMANJUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
INTISARI.....	xvi
<i>ABSTRACT</i>	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	6
C. Keaslian Penelitian	6
1. Isolasi	7
2. Seleksi	7
3. Optimasi Produksi	8
4. Identifikasibakteri endofit	9
5. Identifikasi Senyawa Antibiotik	9
D. Urgensi Penelitian	10
E. Tujuan Penelitian	11
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri Endofit.....	13
1. Isolasi Bakteri Endofit	13
2. Seleksi	17
B. Senyawa Antibiotik.....	22
C. Tanaman Taman Nasional.....	26
D. Optimasi Produksi Antibiotik	30
E. Identifikasi Bakteri Endofit.....	31
F. Identifikasi Senyawa Antibiotik.....	36
G. Identifikasi Isolasi Bakteri	38
H. Landasan Teori	38
I. Hipotesis	40
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Strategi Pendekatan Penelitian.....	42
B. Alat dan Bahan.....	42
C. Pengambilan Sampel.....	43

D. Metode Pengambilan sampel	44
E. Proses Penelitian	44
1. Isolasi Bakteri Endofit	44
2. Seleksi Bakteri Endofit	45
a. Seleksi Bakteri Endofit	45
b. Seleksi senyawa antibiotik dengan identifikasi pendahuluan Senyawa antibiotik	46
3. Optimasi Produksi Senyawa Antibiotik	46
a. Pengaruh Konsentrasi inokulum	47
b. Pengaruh pH Medium	47
c. Pengaruh Kecepatan Agitasi	47
d. Pengaruh Suhu	48
e. Pengaruh Sumber C	48
f. Pengaruh Sumber N	48
g. Pengaruh Sumber P	49
h. Pengaruh Sumber K	49
i. Pengaruh Sumber Ca	49
j. Kinetika produksi Senyawa Antibiotik Isolat bakteri Terpilih	49
4. Karakterisasi Bakteri	50
5. Karakterisasi Molekular	54
a. Isolasi DNA Kromosomal Bakteri	54
b. Amplifikasi 16SrRNA	56
c. Sekuencing 16SrRNA	56
d. Konstruksi <i>Phylogeny Tree</i> dan analisis filogenetik	57
6. Identifikasi Senyawa Molekular	58
a. Ekstraksi	58
b. Pemisahan dan pemurnian senyawa antibiotik	59
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Isolasi Bakteri Endofit	63
B. Seleksi	70
C. Optimasi produksi antibiotik	79
1. Pengaruh Kondisi Lingkungan	79
a. Pengaruh pH Terhadap produksi senyawa antibiotik	79
b. Pengaruh Kecepatan Agitasi Terhadap senyawa antibiotik	80
c. Pengaruh Suhu terhadap produksi senyawa	83
2. Pengaruh Sumber Nutrisi	84
a. Pengaruh Konsentrasi (NH ₄) ₂ SO ₄ terhadap daya hambat Senyawa antibiotik	84

b. Pengaruh Konsentrasi Sumber C terhadap senyawa antibiotik	85
3. Pengaruh Sumber Mineral	87
a. Pengaruh Konsentrasi Sumber P terhadap senyawa antibiotik	87
b. Pengaruh Konsentrasi Sumber K terhadap senyawa antibiotik	88
c. Pengaruh Konsentrasi Sumber Ca terhadap senyawa antibiotik	90
4. Pengaruh Konsentrasi Inokulum	92
D. Identifikasi Bakteri Endofit	93
a. Identifikasi Morfologis-Fisiologis-Biokimiawi	93
b. Identifikasi dengan Uji API-20NE	96
E. Identifikasi Senyawa Antibiotik	110
BAB V. PEMBAHASAN UMUM	125
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN.....	132
B. SARAN	133
BAB VII. RINGKASAN	134
BAB VIII. SUMMARY	139
DAFTAR PUSTAKA	144
LAMPIRAN	152

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Kondisi fermentasi produksi antibiotik <i>Streptomyces</i>	29
Gambar 2.	Diagram alir tahapan penelitian.....	41
Gambar 3.	Lokasi Pengambilan sampel di Pulau Jawa	43
Gambar 4.	Lokasi Pengambilan sampel	63
Gambar 5.	Isolasi bakteri endofit dari tanaman inang Santogi dan orok –orok hutan	64
Gambar 6.	Pengaruh pH terhadap daya hambat senyawa antibiotik	80
Gambar 7.	Pengaruh kecepatan agitasi terhadap daya hambat senyawa antibiotik.....	81
Gambar 8.	Pengaruh Suhu terhadap produksi antibiotik	83
Gambar 9.	Pengaruh sumber N (Nitrogen) terhadap daya hambat senyawa antibiotik	85
Gambar 10.	Pengaruh sumber C terhadap produksi antibiotik.....	86
Gambar 11.	Pengaruh sumber P terhadap produksi antibiotik.....	88
Gambar 12.	Pengaruh sumber K Terhadap Produksi antibiotik.....	89
Gambar 13.	Pengaruh sumber Ca Terhadap Produksi antibiotik.....	91
Gambar 14.	Pengaruh Konsentrasi inokulum	93
Gambar 15.	Analisis 20NE V.8 isolat STG-1	103
Gambar 16.	Analisis 20NE V.8 isolat OOH-1	104
Gambar 17.	Dendrogram yang menunjukkan hubungan kemiripan antara strain bakteri endofit.....	108
Gambar 18.	Hasil analisis fitokimia isolat STG-1 spot pada sinar tampak.....	111
Gambar 19.	Spektra masa untuk antibiotik STG-1.....	113
Gambar 20.	Spektra FTIR dari larutan standar.....	115
Gambar 21.	Urutan Spektra ¹ H NMR.....	119
Gambar 22.	Urutan spektra ¹³ CNMR	120
Gambar 23.	Struktur Senyawa Antibiotik Temuan.....	122

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Larutan reaksi PCR untuk amplikasi gen 16S-rRNA strain bakteri endofit penghasil senyawa anti mikrobia.....	56
Tabel 2.	Program Reaksi PCR untuk Senyawa Gen 16S-rRNA.....	57
Tabel 3.	Langkah identifikasi senyawa dengan pereaksi khusus.....	59
Tabel 4.	Jenis tanaman Taman Nasional di Pulau Jawa dan isolat bakteri endofit	65
Tabel 5.	Jumlah isolat penghasil senyawa antibiotik dalam medium Nutrien cair, GY dan Antibiotik 3 dengan indikator <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i> dan <i>Fusarium oxysporum</i>	71
Tabel 6.	Jumlah isolat penghasil senyawa antibiotik dalam medium Nutrien cair, GY dan Antibiotik 3 dengan indikator <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i> dan <i>Fusarium oxysporum</i>	73
Tabel 7.	Nilai RF antibiotik yang dielusi dengan eluen ABCD dan mikrobia indikator B. subillis, C. albicans dan F. Oxysporum	77
Tabel 8	Rangkuman kondisi optimum senyawa antimikrobia isolat Bakteri endofit terpilih dengan mikrobia indikator <i>Fusarium oxysporum</i>	90
Tabel 9.	Identifikasi genus, isolat bakteri endofit penghasil antibiotik dengan acuan genus <i>Pseudomonas</i> menurut determinasi <i>Bergey's Manual of Determinative Bacteria</i>	95
Tabel 10.	Hasil Karakteristik Pengecatan gram bentuk sel dan morfologi koloni	99
Tabel 11.	Karakter fenotip isolat bakteri endofit penghasil senyawa Antibiotik.....	100
Tabel 12.	Informasi isolat dengan bakteri pembanding terdekat.....	109
Tabel 13.	Hasil analisis fregmentasi GC-MS senyawa antimikrobia STG-1 dan kromatogram standar.....	114
Tabel 14.	Identifikasi berbagai gugus fungsi dalam spektrum infra red (IR) Isolat STG-1 dengan stigmasterol standar	118
Tabel 15.	Hasil ¹ H NMR dan ¹³ C NMR (500MH _z , CDCl ₃ -TMS, 8PPM) senyawa antibiotik temuan	119
Tabel 16.	Penentuan <i>Lethal concentration</i> (LC-50) antibiotik STG-1...	123

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Tabel Pengaruh Konsentrasi inokulum terhadap produksi senyawa antibiotik	152
Lampiran 2.	Tabel Pengaruh pH terhadap produksi senyawa antibiotik	154
Lampiran 3.	Tabel Pengaruh agitasi terhadap produksi senyawa antibiotik	156
Lampiran 4.	Tabel pengaruh KH_2PO_4 terhadap produksi senyawa antibiotik	158
Lampiran 5.	Tabel pengaruh $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$ terhadap produksi senyawa antibiotik	159
Lampiran 6.	Tabel pengaruh KCl terhadap produksi senyawa antibiotik	161
Lampiran 7.	Tabel pengaruh CaCl_2 terhadap produksi senyawa antibiotik	163
Lampiran 8.	Tabel Perhitungan μ_{max} dan KS.....	164
Lampiran 9.	Tabel seleksi senyawa antimikrobia dengan indikator <i>Bacillus subtilis</i>	166
Lampiran 10.	Tabel seleksi senyawa antimikrobia dengan indikator <i>Bacillus subtilis</i> dengan medium GY.....	168
Lampiran 11.	Tabel seleksi senyawa antimikrobia dengan indikator <i>Candida Albicans</i> dengan medium NA.....	170
Lampiran 12.	Tabel seleksi senyawa antimikrobia dengan indikator <i>Fusarium oxysporum</i> dengan medium NA.....	171
Lampiran 13.	Tabel seleksi senyawa antimikrobia dengan indikator <i>Bacillus subtilis</i> dengan medium A3.....	172
Lampiran 14.	Komposisi dan cara pembuatan medium.....	173
Lampiran 15.	Pembuatan Biakan Indikator dengan teknik <i>surface plate</i>	175
Lampiran 16.	Kurva Pertumbuhan isolat STG-1.....	176
Lampiran 17.	Kurva Glukosa.....	177
Lampiran 18.	Hasil KLT Preparatif.....	178
Lampiran 19.	Hasil Sequencing	179