

OPTIMALISASI PRODUKSI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI *Pseudomonas sp.* ENDOFIT TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*)

Halim*, Jasril, Saryono

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Riau, Jl. HR. Subrantas, KM. 12,5 Pekanbaru 28293 Riau
email: halim.salawat@gmail.com

Abstrak

Bioteknologi sangat berperan dalam kehidupan manusia. Senyawa metabolit sekunder tidak hanya diperoleh dari tanaman obat tapi juga dapat diproduksi dari mikroba endofit yang terdapat pada tanaman obat tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan potensi senyawa antimikroba dari fermentasi *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). Penelitian ini menggunakan dua media fermentasi yaitu Trypticase Soy Broth (TSB) dan Meller-Hinton Broth (MHB) dengan waktu inkubasi 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Skrining dilakukan dengan menggunakan metoda difusi agar terhadap patogen uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Konsentrasi senyawa uji yang digunakan adalah 50 µL/disc. Tujuh senyawa uji dengan media fermentasi MHB dan waktu inkubasi 120 jam menunjukkan aktivitas anti-mikroba. Senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit memiliki zona hambat terhadap *E.coli* dengan waktu inkubasi 120 jam yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC45: 16,00±1,15 mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46: 14,66±1,15 mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC48: 13,78±0,77 mm, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC49: 14,44±1,02 mm. Senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit memiliki zona hambat terhadap *S.aureus* dengan waktu inkubasi 120 jam yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC52: 7,78±0,84 mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54: 8,44±0,39 mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC55: 7,56±0,96 mm. Sedangkan terhadap *Candida albicans* tidak ada senyawa uji yang menunjukkan aktivitas antimikroba. Hasil fitokimia menunjukkan adanya gugus saponin dan terpenoid. Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia dapat dijadikan sebagai sumber senyawa antimikroba.

Kata kunci: *Antimikroba, Bakteri Endofit, Dahlia variabilis, Escherichia coli, Pseudomonas.*

PENDAHULUAN

Bioteknologi sangat berperan dalam kehidupan manusia seperti dalam budidaya, multiplikasi, rekayasa genetika, rekayasa tanaman transgenik dan skrining mikroba endofit yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba (Radji, 2005). Beberapa penelitian tentang mikroba endofit menunjukkan bahwa mikroba endofit memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba, antikanker, antimalaria, antioksidan dan masih banyak lagi (Strobel & Daisy, 2003).

Produksi senyawa antimikroba dari tanaman dalam jumlah massal membutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak, sehingga diperlukan lahan yang luas serta waktu yang relatif lebih lama menunggu masa pertumbuhan tanaman. Kendala tersebut dapat diatasi dengan mengisolasi senyawa antimikroba dari mikroorganisme endofit yang hidup dalam jaringan tanaman. Kemungkinan besar senyawa yang dihasilkan dari tanaman dahlia juga dihasilkan oleh mikroba endofit (Fitriyah *et al.*, 2013; Elita *et al.*, 2013).

Peneliti Elita *et al.*, (2013) menemukan 2 isolat bakteri endofit dari tanaman dahlia yaitu *Pseudomonas stutzeri* LBKURCC44 dan *Pseudomonas cepacia* LBKURCC47 yang menunjukkan aktivitas anti bakteri. Senyawa uji isolat jamur endofit dari tanaman dahlia juga mengandung senyawa aktif anti bakteri yaitu *Aureobasidium sp.* LBKURCC41 (Fitriyah *et al.*, 2013).

Penelitian ini akan memfokuskan pada optimalisasi produksi senyawa antimikroba 8 isolat bakteri dari tanaman dahlia yang belum dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Variasi waktu fermentasi yang akan diterapkan yaitu 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Elita *et al.*, (2013) menemukan waktu fermentasi yang optimal yaitu 72 dan 96 jam, maka atas dasar itu penambahan waktu fermentasi 120 jam berpotensi ditemukan senyawa aktif.

Adapun variasi media fermentasi akan menggunakan *Mueller-Hinton Broth* (MHB) dan *Trypticase Soy Broth* (TSB). Penggunaan MHB telah berhasil diaplikasikan pada isolat endofit dari tanaman dahlia (Elita *et al.*, 2013). Kariaa *et al.*, (2012) telah menggunakan *Trypticase Soy Broth* (TSB) untuk fermentasi bakteri endofit guna menghasilkan senyawa aktif antimikroba.

Senyawa uji isolat endofit yang menunjukkan aktivitas antimikroba akan dilanjutkan dengan uji fitokimia. Uji ini meliputi uji steroid, terpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, dan saponin.

BAHAN DAN METODA

Persiapan media fermentasi *Trypticase Soy Broth* (TSB)

Media ini digunakan sebagai variasi media fermentasi produksi bakteri endofit untuk mendapatkan senyawa antimikroba. Media MEB sebanyak 54 g dilarutkan ke dalam 1800 mL akuades dan dipanaskan hingga larut, setelah larut media dibagikan ke dalam 12 erlemeyer masing-masing 150 mL, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C (tekanan uap 15 psi atau 1,02 atm) selama 20 menit. Media dibiarkan sehari dan dapat digunakan apabila tidak menunjukkan adanya kontaminasi.

Persiapan media fermentasi *Mueller-Hinton Broth* (MHB)

Media ini digunakan sebagai variasi media fermentasi produksi bakteri endofit untuk mendapatkan senyawa antimikroba. Media MEB sebanyak 37,8 g dilarutkan ke dalam 1800 mL akuades dan dipanaskan hingga larut, setelah larut media dibagikan ke dalam 12 erlemeyer masing-masing 150 mL, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C (tekanan uap 15 psi atau 1,02 atm) selama 20 menit. Media dibiarkan sehari dan dapat digunakan apabila tidak menunjukkan adanya kontaminasi.

Fermentasi bakteri endofit

Sebanyak 1 ml inokulum bakteri endofit (5%) diinokulasikan ke dalam 150 mL media produksi (media TSB dan MHB), kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Tiap selang 1 hari, dilakukan uji antimikroba. Kultur bakteri hasil fermentasi diambil dan disentrifus dengan kecepatan 3800 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Untuk memisahkan supernatan dan massa selnya, kultur hasil fermentasi ini disaring dengan menggunakan *millipore syringe filter* 0,2 µm, sehingga didapatkan senyawa uji bakteri endofit tanaman dahlia. Senyawa uji bakteri endofitik inilah yang akan digunakan untuk uji antimikroba.

Peremajaan bakteri patogen

Bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) dari agar miring dipindahkan ke media Nutrien Agar yang baru secara aseptik dan diinkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diinokulasikan ke media Nutrient Broth dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, absorbansi bakteri diukur. Bakteri siap digunakan untuk uji anti-bakteri apabila OD_{600nm} telah mencapai 0,08–0,1 (setara 10⁷ CFU/mL). Jika OD_{600nm} lebih besar dari 0,1 maka dilakukan pengenceran dengan menggunakan larutan NaCl 0,85%.

Peremajaan khamir patogen

Isolat *Candida albicans* dari agar miring dipindahkan ke media PDA yang baru secara aseptik dan diinkubasi selama 4x24 jam. Selanjutnya diinokulasikan kembali ke media *Sabouroud Dextrose Broth* (SDB) dan diinkubasi selama 48 jam. Khamir siap

digunakan untuk uji antikhmir apabila OD telah mencapai 0,08–0,1 (setara dengan 10^7 CFU/mL). Jika OD lebih besar dari 0,1 maka dilakukan pengenceran dengan menggunakan larutan NaCl 0,85%.

Uji anti bakteri

Inokulum patogen ($OD_{600nm} \sim 0,1$) setara 10^7 CFU/mL (Martins *et al.*, 2011) diinokulasi-kan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi yang mengandung media NA cair sebanyak 15 mL (suhu 50°C) dan diaduk, kemudian agar cair ini dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat.

Masing-masing senyawa uji steril bakteri endofit sebanyak 50 μL diteteskan pada kertas cakram steril (diameter 6 mm) dan dibiarkan mengering. Kontrol positif yang digunakan adalah *Amoxsan* 30 μg dan kontrol negatif yang digunakan adalah media fermentasi steril. Kemudian kertas cakram diletakkan di atas media NA yang mengandung bakteri uji (*Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus*). Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C dengan kondisi cawan petri dibalikkan. Diameter zona bening disekitar kertas cakram diukur setelah inkubasi selama 24 jam.

Uji anti khamir

Inokulum khamir patogen ($OD_{600nm} \sim 0,1$) setara 10^7 CFU/mL (Martins *et al.*, 2011) diinokulasikan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi yang mengandung media PDA cair sebanyak 15 mL (suhu 50°C) dan diaduk, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat.

Masing-masing senyawa uji steril isolat endofit sebanyak 50 μL diteteskan pada kertas cakram steril (diameter 6 mm) dan dibiarkan mengering. Kontrol positif yang digunakan adalah *Ketoconazole* konsentrasi 30 μg dan kontrol negatif yang digunakan adalah media fermentasi steril. Kemudian kertas cakram diletakkan di atas media PDA yang mengandung *Candida albicans*. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan membalikkan cawan petri. Diameter zona bening disekitar kertas cakram diukur setelah inkubasi selama 2x24 jam.

Uji fitokimia

Senyawa uji fermentasi steril bakteri endofit yang menunjukkan adanya aktivitas antimikrobaial dilakukan uji fitokimia (Devi *et al.*, 2012) untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan.

Uji terpenoid dan steroid

Senyawa uji fermentasi bakteri endofitik dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan kloroform beramoniak. Kemudian ditambahkan H_2SO_4 2 N ke dalam tabung dan dikocok kuat. Campuran ini dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform (bawah). Lapisan kloroform diletakkan di plat tetes kemudian dibiarkan menguap lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Apabila terbentuk warna hijau-biru menandakan adanya senyawa steroid dan warna merah menandakan adanya senyawa terpenoid.

Uji alkaloid

Lapisan asam diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga setelah penambahan pereaksi Dragendorff dan warna putih setelah penambahan pereaksi Mayer berarti ekstrak positif mengandung alkaloid.

Uji fenolik

Senyawa uji fermentasi diletakkan di atas plat tetes dan ditambahkan larutan besi (III) klorida. Hasil positif dinyatakan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi biru-hitam.

Uji flavonoid

Senyawa uji fermentasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol 70% kemudian dipanaskan. Campuran ini ditambahkan lempeng logam magnesium dan setetes asam klorida pekat. Apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda, hasil dinyatakan positif.

Uji saponin

Senyawa uji ditambahkan akuades kemudian dipanaskan hingga mendidih. Kemudian larutan dikocok kuat dan apabila terbentuk busa yang stabil selama ± 10 menit

maka sampel dinyatakan mengandung saponin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi menggunakan media TSB, terlihat bahwa tidak ada senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E.coli*, *S.aureus* maupun *C.Albicans*.

Media kedua yang digunakan untuk fermentasi *Pseudomonas sp.* endofit adalah *Mueller-Hinton Broth* (MHB). Skrining terhadap kedelapan senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit dengan media MHB ini menunjukkan bahwa ada tujuh senyawa uji *Pseudomonas sp.* yang mempunyai aktivitas anti bakteri, yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC52, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54, *Pseudomonas sp.* LBKURCC55, *Pseudomonas sp.* LBKURCC45, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46, *Pseudomonas sp.*

LBKURCC48, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC49.

Senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit memiliki zona hambat terhadap *E.coli* dengan waktu inkubasi 120 jam yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC45: $16,00 \pm 1,15$ mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46: $14,66 \pm 1,15$ mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC48: $13,78 \pm 0,77$ mm, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC49: $14,44 \pm 1,02$ mm (Tabel 1).

Senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit memiliki zona hambat terhadap *S.aureus* dengan waktu inkubasi 120 jam yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC52: $7,78 \pm 0,84$ mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54: $8,44 \pm 0,39$ mm, *Pseudomonas sp.* LBKURCC55: $7,56 \pm 0,96$ mm (Tabel 2).

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder pada suatu ekstrak tertentu. Uji fitokimia terhadap senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia yang menunjukkan aktivitas antimikroba maka ditemukan positif mengandung saponin dan terpenoid (Tabel 3)

Tabel 1. Aktivitas anti mikrob *Pseudomonas sp.* endofit yang difermentasi pada media MHB terhadap *E.coli*

Ekstrak	Rata-rata diameter hambat (mm)				
	Jam ke-24	Jam ke-48	Jam ke-72	Jam ke-96	Jam ke-120
Amoxan	(9,89 ± 2,04)	(9,33 ± 1,00)	(8,89 ± 2,41)	(11,94 ± 0,20)	(13,22 ± 0,96)
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
LBKURCC51	-	-	-	-	-
LBKURCC52	-	-	-	-	-
LBKURCC54	-	-	-	-	-
LBKURCC55	-	-	-	-	-
Amoxan	(13,44 ± 1,02)	(11,61 ± 1,14)	(13,44 ± 1,02)	(12,44 ± 0,84)	(13,56 ± 1,35) ^d
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
LBKURCC45	-	-	-	-	(16,00 ± 1,15) ^a
LBKURCC46	-	-	-	-	(14,66 ± 1,15) ^b
LBKURCC48	-	-	-	-	(13,78 ± 0,77)
LBKURCC49	-	-	-	-	(14,44 ± 1,02) ^c

- Catatan : harga rata-rata diameter hambat senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit sebanyak tiga kali pengulangan. Pangkat huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% ($p > 0,05$) berdasarkan uji Duncan jarak berganda.
- Keterangan : (-) = tidak adanya aktivitas anti mikrob.

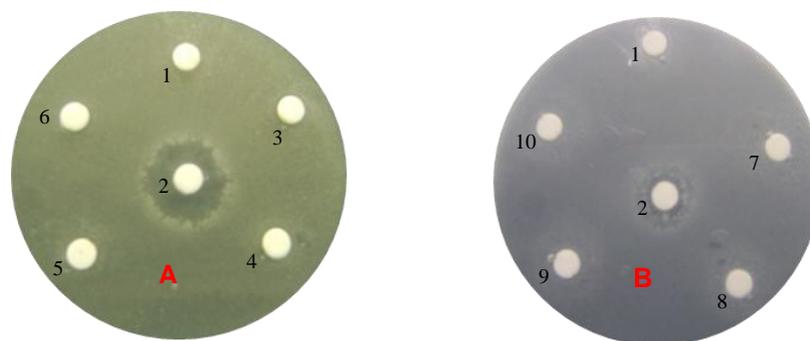
Tabel 2. Aktivitas anti mikrob *Pseudomonas sp* endofit yang difermentasi pada media MHB terhadap *Staphylococcus aureus*

Senyawa Uji	Rata-rata diameter hambat (mm)				
	Jam ke-24	Jam ke-48	Jam ke-72	Jam ke-96	Jam ke-120
Amoxan	(13,56 ± 2,01)	(12,33 ± 1,00)	(18,33 ± 1,53)	(19,28 ± 2,09)	(18,33 ± 2,40) ^a
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
LBKURCC51	-	-	-	-	-
LBKURCC52	-	-	-	-	(7,78 ± 0,84) ^c
LBKURCC54	-	-	-	-	(8,44 ± 0,39) ^b
LBKURCC55	-	-	-	-	(7,56 ± 0,96) ^d
Amoxan	(13,00 ± 1,52)	(13,33 ± 2,08)	(13,00 ± 1,53)	(11,89 ± 0,70)	(17,56 ± 2,17)
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
LBKURCC45	-	-	-	-	-
LBKURCC46	-	-	-	-	-
LBKURCC48	-	-	-	-	-
LBKURCC49	-	-	-	-	-

- Catatan : harga rata-rata diameter hambat senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit sebanyak tiga kali pengulangan. Pangkat huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% ($p > 0.05$) berdasarkan uji Duncan jarak berganda.
- Keterangan : (-) = tidak adanya aktivitas anti mikrob.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia pada media produksi MHB

Senyawa Uji	Favonoid	Fenolik	Saponin	Terpenoid	Steroid	Alkaloid
LBKURCC45	-	-	+	+	-	-
LBKURCC46	-	-	+	+	-	-
LBKURCC48	-	-	+	+	-	-
LBKURCC49	-	-	+	+	-	-
LBKURCC52	-	-	+	+	-	-
LBKURCC54	-	-	+	+	-	-
LBKURCC55	-	-	+	+	-	-



Gambar 1. Zona hambat senyawa uji *Pseudomonas sp.* terhadap *E.coli* (A) dan *S.aureus* (B) pada media MHB dengan waktu iinkubasi 120 jam.

Keterangan: (1)=Kontrol Negatif, (2)=Kontrol positif, (3)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC45,(4)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC46,(5)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC48, (6)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC49, (7)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC51, (8)=*Pseudomonas sp.* LBKURCC52, (9)=*Pseudomonas*

Dari hasil penelitian menggunakan media TSB, tidak menunjukkan adanya aktivitas hingga jam ke-120. Hal ini mungkin

disebabkan media ini tidak sesuai untuk fermentasi *Pseudomonas sp.* Kemungkinan lainnya adalah diperlukan waktu fermentasi

yang lebih lama agar *Pseudomonas sp.* endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder

Penggunaan media MHB menunjukkan adanya aktivitas yang positif terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Aktivitas positif yang ditunjukkan oleh *Pseudomonas sp.* endofit karena bakteri ini telah memproduksi senyawa aktif pada jam ke-120. *Pseudomonas sp.* LBKURCC45, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46, *Pseudomonas sp.* LBKURCC48, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC49 menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap patogen *E.coli*. Diameter hambatnya lebih besar dari kontrol positif namun masih dijumpai pertumbuhan bakteri di daerah penghambatan tersebut. Hal ini disebabkan karena konsentrasi senyawa metabolit sekunder pada senyawa uji terlalu rendah. Atau beberapa bakteri sejenis telah resisten terhadap senyawa aktif yang dihasilkan oleh *Pseudomonas sp.* endofit tanaman dahlia.

Sedangkan senyawa uji lainnya yaitu *Pseudomonas sp.* LBKURCC52, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC55 menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap patogen *S.aureus*. Senyawa uji menunjukkan daya hambat yang cukup baik tapi masih lebih kecil diameternya bila dibandingkan dengan kontrol positif *Amoxan*. Konsentrasi senyawa aktif yang rendah dalam senyawa uji *Pseudomonas sp.* ini menjadi penyebab kecilnya diameter hambat terhadap patogen *S.aureus*.

Uji fitokimia terhadap senyawa uji *Pseudomonas sp.* endofit yang menunjukkan aktivitas antimikroba membuktikan bahwa senyawa uji dari *Pseudomonas sp.* positif mengandung saponin dan terpenoid, tetapi negatif mengandung flavonoid dan fenolik. Hal ini berbeda dengan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Suryadi (2007) bahwa umbi tanaman dahlia mengandung fenolik, flavonoid dan saponin. Kemungkinan disebabkan oleh prekursor fenolik dan flavonoid yang ada pada tanaman telah mengalami biotrans-formasi lebih lanjut pada *Pseudomonas sp.* endofit sehingga akan diubah menjadi struktur yang lain.

Saponin merupakan senyawa glikosilat yang terdapat dalam sel tanaman sebagai prekursor tidak aktif tetapi siap diubah menjadi senyawa bioaktif antibiotik oleh enzim apabila diserang oleh patogen (Turk, 2006). Senyawa saponin memiliki peran

alami dalam tanaman sebagai pelindung terhadap patogen dan hama (Turk, 2006). Lebih dari 90%, dinding sel bakteri pada bagian membran luar dilindungi oleh lipopolisakarida (LPS). Saponin akan bereaksi dengan lipopolisakarida sehingga menurunkan tegangan permukaan membran, yang akhirnya akan menyebabkan kehancuran sel (Arabski *et al.*, 2012). Inilah alasan saponin dapat berperan sebagai senyawa antimikrobia.

Jalur biosintesis saponin hampir sama baik saponin dengan steroid maupun triterpen. Semua senyawa ini melalui jalur asam meva-lonat yang diperoleh dari asetil CoA yang merupakan sumber atom karbon dalam sintesis saponin (Herbert, 1995).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan yaitu senyawa uji *Pseudomonas sp.* LBKURCC45, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46, *Pseudomonas sp.* LBKURCC48, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC49 dengan media MHB dan waktu inkubasi 120 jam menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap patogen *Escherichia coli*.

Senyawa uji *Pseudomonas sp.* LBKURCC52, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54, dan *Pseudomonas sp.* LBKURCC55 dengan media MHB dan waktu inkubasi 120 jam menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap patogen *Staphylococcus aureus*.

Uji fitokimia terhadap Senyawa uji *Pseudomonas sp.* LBKURCC45, *Pseudomonas sp.* LBKURCC46, *Pseudomonas sp.* LBKURCC48, *Pseudomonas sp.* LBKURCC49, *Pseudomonas sp.* LBKURCC52, *Pseudomonas sp.* LBKURCC54, *Pseudomonas sp.* LBKURCC55 dengan media MHB dan waktu inkubasi 120 jam menunjukkan positif mengandung saponin dan terpenoid.

KESIMPULAN

Suhu *annealing* yang tepat pada proses PCR sangat menentukan suatu isolat DNA untuk berhasil diamplifikasi. Suhu 47°C merupakan suhu yang tepat untuk amplifikasi PCR isolat DNA *Penicillium sp.* LBKURCC29 dan LBKUR-CC30 yang ditunjukkan dari pita

yang diperoleh setelah proses elektroforesis menggunakan gel agarosa 1,2%. Berat molekul DNA kromosomal *Penicillium sp.* LBKURCC29 dan LBKURCC30 masing-masing 14432 pb dan 13247 pb dan berat molekul untuk pasangan primer ITS5 dan ITS4 produk PCR diperoleh masing-masing 540 pb dan 652 pb. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah pasangan basa pada rDNA

Penicillium sp. mendekati target amplifikasi pada daerah ITS-1 dan ITS-2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Pasca DIKTI 2011 atas nama Prof. Dr. Saryono, M.Si., dengan nomor kontrak penelitian 381/UN19.2/PL/2012

DAFTAR PUSTAKA

- Arabski, M., Aneta, W., Kaca, W., 2012, Effect of saponin againts clinical E.coli stains and eukaryotic cell lines, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*
- Devi, N.N., Prabakaran, J.J., & Wahab, F., 2012, Phytochemical analysis and enzyme analysis of endophytic fungi from *Centella asiatica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1-5.
- Elita, A., Saryono, S., & Christine, J., 2013, Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Senyawa uji fermentasi bakteri endofit pseudomonas Sp. dari umbi tanaman Dahlia (*dahlia variabilis*), *Journal Ind. Che. Acta* Vol 3 (2) 56 – 62.
- Fitriyah, D., Saryono, S., & Christine J., 2013, Skrining aktivitas antimikroba dan uji fitokimia dari kapang endofitik tanaman dahlia (*dahlia variabilis*), *Journal Ind. Che. Acta* Vol 3 (2) 50-55
- Herbert, R.B., 1995, *Biosintesis Metabolit Sekunder* diterjemahkan oleh Bambang Srigandono, IKIP Semarang Press, Semarang
- Kaaria, P., Vivienne, M., & Mary, N., 2012, Antimicrobial activities of secondary metabolites produced by endophytic bacteria from selected indigenous kenyan plants, *African Journal of Microbiology Research*, Vol 6 (45):7253 - 7258.
- Martins, I.M., Cortes, J.C.G., Munoz, J. Moreno, B., Ramos, M., Clemente, J.A., Duran, A., & Ribas, J.C., 2011, Differential activities of three families of specific β (1,3) glucan synthase inhibitors in wild-type and resistant strain of fission yeast, *The Journal of Biological Chemistry*, 286 : 5 : 3484-3496.
- Radji, M., 2005, Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3):113-126.
- Strobel, G., & Daisy, B., 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67:491-502.
- Suryadi, A.E., 2007, Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antimikrobaial Ekstrak Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis*), *Skripsi FMIPA Universitas Riau*. Pekanbaru.
- Turk, F.M., 2006, Saponins versus plant fungal pathogens, *Journal of Cell and Molecular Biology* 5:13-17.