

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA DARI
ISOLAT FUNGI ENDOFIT RANTING MANGGIS (*GARCINIA
MANGOSTANA L.*) YANG MEMPUNYAI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***



**AGNESTASIA WIDIA KURNIAWATI
2443013287**

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

2017

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA DARI ISOLAT
FUNGSI ENDOFIT RANTING MANGGIS
(*GARCINIA MANGOSTANA L.*) YANG MEMPUYAI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

**AGNESTASIA WIDIA KURNIAWATI
2443013287**

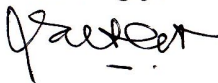
Telah disetujui pada tanggal 18 November 2016 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing,



Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

Mengetahui,
Ketua Penguji,



Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.98.0351

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa dari Isolat Fungi Endofit Ranting Manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 18 November 2016



Agnestasia Widia Kurniawati

2443013287

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
Adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 18 November 2016



Agnestasia Widia Kurniawati

2443013287

ABSTRAK

FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT RANTING MANGGIS (*GARCINIA MANGOSTANA* L.) YANG MEMPUNYAI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Agnestasia Widia Kurniawati
2443013287

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan serta dapat menghasilkan metabolit sekunder seperti inangnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antibakteri dalam fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari hasil fermentasi isolat fungi endofit ranting manggis yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan mengidentifikasi golongan senyawa (metabolit sekunder) terhadap fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar. Skrining aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode inokulasi langsung dan didapatkan aktivitas antibakteri terbesar pada isolat kode ER3 dengan rasio daerah hambatan pertumbuhan (DHP) sebesar $1,85 \pm 0,01$. Fraksinasi dilakukan pada hasil fermentasi isolat fungi endofit kode ER3 dan didapatkan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air. Uji aktivitas antibakteri fraksi dilakukan dengan metode difusi cakram. Penentuan golongan senyawa antibakteri dilakukan dengan metode KLT dan bioautografi. Plat KLT yang digunakan yaitu silica gel 60 F₂₅₄ yang telah dieluasi dengan etil asetat : eter : *n*-heksana (2:1:1). Identifikasi golongan senyawa menggunakan penampak bercak *Dragendorff*, *Liebermann-Burchard*, FeCl₃, dan AlCl₃. Dari hasil pengujian, fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata DHP sebesar 7,94. Hasil bioautografi dan identifikasi menunjukkan bahwa golongan senyawa yang aktif sebagai aktivitas antibakteri adalah alkaloid dengan harga *R_f* 0,125 ; 0,225 ; 0,375 ; 0,525 ; 0,625 ; 0,675 ; 0,738 ; 0,800 dan terpenoid dengan harga *R_f* 0,938.

Kata kunci : fungi endofit, antibakteri, *Garcinia mangostana* L., *Staphylococcus aureus*, metabolit sekunder

ABSTRACT

FRACTIONATION AND IDENTIFICATION OF COMPOUNDS FROM THE ISOLATES OF ENDOPHYTIC FUNGI OF MANGOSTEEN (*GARCINIA MANGOSTANA L.*) BRANCHES SHOWING ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Agnestasia Widia Kurniawati
2443013287

Endophytic is a microorganism that live inside the tissue and can produce secondary metabolites such as its host. The aim of this study was to test the antibacterial activity in the fraction of *n*-hexane, the fraction of ethyl acetate and the fraction of water of fermentation product endophytic fungi isolates from mangosteen branches which has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and to identify the compound (secondary metabolites) of the fraction represented the largest antibacterial activity. Screening of antibacterial activity was done by direct inoculation method and the result showed that the biggest antibacterial activity was found in isolates code ER3 with zone inhibition (ZI) ratio of $1,85 \pm 0,01$. Fractionation was done on endophyte fungi isolates fermented code ER3 and obtained the fraction of *n*-hexane, the fraction of ethyl acetate and the fractions of water. Antibacterial activity assay of the fraction was done with disc diffusion method. Determination of the antibacterial compound is carried out by methods of TLC and bioautografi. The TLC used silica gel 60 F254 which have been eluated with ethyl acetate : eter : *n*-hexane (2:1:1). The identification of the compound using *Dragendorff* reagent, *Liebermann-Burchard* reagent, FeCl_3 reagent, and AlCl_3 reagent. From the assay results, the fraction of ethyl acetate has the largest antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with average of zone inhibition 7,94. The results of bioautografi and identification showed that the active compounds as antibacterial activity was alkaloid with Rf 0,125 ; 0,225 ; 0,375 ; 0,525 ; 0,625 ; 0,675 ; 0,738 ; 0,800 and with Rf 0,938.

Keywords : endophytic fungi, antibacterial, *Garcinia mangostana L.*, *Staphylococcus aureus*, secondary metabolite

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa dari Isolat Fungi Endofit Ranting Manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*” ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat, rahmat, kekuatan dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Papa Yohanes Bosco, Mama Tetty Theresiawati, serta kakak-kakak saya, Steven Wirahadi Kusuma, Patricia Widia Kartikasari dan Laurentia Widia Kristiyanti yang telah menyayangi, mendampingi, memberikan doa dan semangat kepada penulis.
3. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing dan selaku penasehat akademik atas saran, nasehat, semangat, kesabaran dan waktu yang telah banyak diluangkan untuk mendampingi penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt. dan Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku ketua penguji dan penguji atas saran yang diberikan.

5. Mas Anto selaku laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi yang telah membantu, memberi semangat dan mendengarkan keluh kesah penulis selama proses pengerjaan skripsi ini.
6. Mas Tri (laboran Lab. Farmakognosi-Fitokimia) dan Mas Dwi (laboran Lab. Penelitian) yang telah membantu selama proses pengerjaan skripsi ini.
7. Hizkia Yogi Dirgayuana Halim yang telah menemani dan memberi dukungan serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
8. Teman endofit seperjuangan Suwandi Wonowijaya atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Sahabat-sahabat saya Ni Made Riadika Savitri, Gerarda Sartika, Iwana Putri Oktavia, Fransiska Sherly Thung, Leoni Angela dan Melita Nesyamer Daud yang telah menemani, memberi semangat dan menjadi sahabat yang baik bagi penulis serta kesediaannya untuk mendengarkan keluh kesah penulis.
10. Lydwina Andriani Yoe yang telah menemani dan menjadi teman yang baik bagi penulis sejak semester 1 hingga saat ini serta menjadi teman berbagi cerita dan keluh kesah.
11. Albert Sebastian Gani dan Billy Surya Saputra yang telah menjadi teman tertawa bersama disaat penulis mulai lelah dan senantiasa memberikan semangat, serta kesediaannya untuk mendengarkan keluh kesah dan memberi saran kepada penulis.
12. Angela Violita, Kevin Widjaja, Anastasia Yessy, Ivana Valeria, Claudio Dassmer, Daniel Tanuwijaya atas saran, nasehat, bantuan dan kebaikan hatinya dalam memberikan semangat, serta kesediaannya untuk mendengarkan keluh kesah dan memberi saran kepada penulis.

13. Teman-teman BPM, teman-teman SCDC dalam memberikan semangat kepada penulis.
14. Winda Winarto atas bantuannya selama penulis mengerjakan penelitian ini.
15. Semua pihak terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.4 Hipotesis Penelitian	11
1.5 Manfaat Penelitian	11
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Tinjauan tentang Mikroba Endofit	12
2.1.1. Kapang Endofit	13
2.2 Tinjauan tentang Tanaman Manggis	16
2.2.1. Morfologi Tanaman Manggis	16
2.2.2. Klasifikasi Tanaman Manggis	18
2.2.3. Nama Umum dan Daerah Tanaman Manggis	18
2.2.4. Zat Kandungan Tanaman Manggis	19
2.2.5. Khasiat dan Kegunaan Tanaman Manggis	19

	Halaman
2.3	Tinjauan tentang Senyawa Antibakteri 19
2.4	Tinjauan tentang Uji Aktivitas Antibakteri 22
2.4.1.	Metode Difusi 23
2.4.2.	Metode Dilusi 25
2.4.3.	Metode Bioautografi 26
2.5	Tinjauan tentang Fermentasi 28
2.5.1	Fermentasi Metode Goyang 28
2.5.2.	Fermentasi Metode Diam 28
2.6	Tinjauan tentang Pemisahan dan Fraksinasi 28
2.7	Tinjauan tentang Metabolit Sekunder 29
2.8	Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i> 31
2.8.1	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> 31
2.8.2.	Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i> 31
2.8.3.	Habitat 33
2.8.4.	Sifat Biokimia 33
2.8.5.	Struktur Antigen 34
2.8.6.	Resistensi 34
2.8.7.	Patogenitas dan Pengobatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> 35
2.9.	Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis 37
2.10.	Tinjauan tentang 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium <i>chloride</i> 38
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN 41	
3.1	Jenis Penelitian 41
3.2	Bahan dan Alat Penelitian 41
3.2.1.	Bahan Penelitian 41
3.2.2.	Alat Penelitian 42

	Halaman
3.3	Metode Penelitian 42
3.4	Variabel Penelitian 44
3.5	Tahapan Penelitian 45
3.5.1.	Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> 45
3.5.2.	Fermentasi Fungi Endofit 45
3.5.3.	Fraksinasi Senyawa Fungi Endofit 46
3.5.4.	Penyiapan Bakteri Uji 46
3.5.5.	Pengujian Fraksi Aktif yang Memiliki Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode Difusi 46
3.5.6.	Penentuan Golongan Senyawa Antibakteri pada Fraksi dengan Bioautografi 47
3.6	Analisis Data 48
3.7	Skema Kerja 49
3.7.1	Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> 50
3.7.2	Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Fungi Endofit Metode Difusi 51
3.7.3	Bioautografi 52
BAB 4. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN 53	
4.1	Hasil Penelitian 53
4.1.1	Skrining Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> . 53
4.1.2.	Fermentasi Fungi Endofit 60

	Halaman
4.1.3. Fraksinasi Senyawa Fungi Endofit	61
4.1.4. Penyiapan Bakteri Uji	62
4.1.5. Pengujian Fraksi Aktif yang Memiliki Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode Difusi	62
4.1.6. Hasil Bioautografi dan Profil KLT	64
4.2 Interpretasi Data	67
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	76
5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Hifa kapang endofit dalam jaringan daun tanaman	12
2.2 Pohon tanaman Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	16
2.3 Daun Tanaman Manggis	17
2.4 Buah dan daun tanaman Manggis	18
2.5 Pembentukan metabolit primer dan sekunder	30
2.6 Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pengecatan Gram	31
2.7 Reaksi Reduksi <i>Triphenyltetrazolium Chloride</i> (TTC) menjadi Formazan	39
2.8 Sintesis TTC	40
3.1 Skema Kerangka Penelitian	49
3.2 Skema Skrining Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	50
3.3 Skema Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Hasil Fermentasi Isolat Fungi Endofit dengan Metode Difusi Cakram	51
3.4 Skema Bioautografi	52
4.1 Pengamatan makroskopis koloni fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri berusia 5 hari	53
4.2 Hasil uji hidrolisa amilum.....	56
4.3 Hasil uji hidrolisa kasein.....	57
4.4 Hasil uji hidrolisa lemak.....	57
4.5 Isolat fungi endofit murni ranting tanaman Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) pada usia 7 hari.....	58
4.6 Hasil skrining aktivitas antibakteri fungi endofit ranting tanaman Manggis terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> setelah inkubasi 24 jam pada media <i>Plate Count Agar</i>	59

Gambar	Halaman
4.7. Fermentasi isolat ER3 fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dalam media PDY (Potatoes <i>Dextrose Yeast</i>) selama 14 hari	61
4.8 Fraksi kering supernatan dari hasil fermentasi isolat fungi endofit.....	61
4.9 Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pengecatan Gram (perbesaran 10x100).....	62
4.10 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi hasil fermentasi isolat 3 fungi endofit dengan metode difusi cakram terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> selama 24 jam menggunakan media MHA.....	63
4.11 Hasil profil KLT yang dilakukan pada fraksi supernatan etil asetat hasil fermentasi fungi endofit ranting manggis (ER3) pada λ 254 nm dan 366 nm, dan setelah disemprot penampak bercak dengan fase gerak etil asetat : eter : n-heksan (2:1:1).....	66

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Fungi Endofit.....	54
4.2	Hasil pengamatan mikroskopis isolat fungi endofit dengan perbesaran 10 x 40 yang dibandingkan dengan gambar pustaka.....	55
4.3	Hasil pengamatan uji biokimia fungi endofit	56
4.4	Rasio hambatan rata-rata Uji Aktivitas Antibakteri Ketiga Isolat terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	58
4.5	Hasil Skrining dan Rasio Hambatan Dari Uji Aktivitas.....	60
4.6	Daerah Hambatan Pertumbuhan Fraksi Hasil Fermentasi Isolat ER3 Fungi Endofit dengan Metode Difusi Cakram terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	64
4.7	Profil Kromatogram setelah disemprot dengan Penampak Noda	67
4.8	Kriteria Rasio Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
A	Hasil Penimbangan Fraksi Kering Hasil Fermentasi	87
B	Sertifikat Analisis <i>Staphylococcus aureus</i>	88