

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
DAUN SIRIH MERAH (*Piper ornatum* N.E.Br) DENGAN  
MENGUNAKAN GEN 16S rRNA SERTA UJI  
AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:

Cantike Lesisky

21110024



**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA BARAT  
PADANG  
2026**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI  
DAUN SIRIH MERAH (*Piper ornatum*) DENGAN  
MENGUNAKAN GEN 16S rRNA SERTA UJI  
AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:

Cantike Lesisky  
21110024

Sebagai Salah Satu Syarat untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana pada  
Program Studi Farmasi Program Sarjana  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA BARAT  
PADANG  
2026**



## HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Daun Sirih Merah (*Piper ornatum*) dengan Menggunakan Gen 16S rRNA serta Uji Aktivitasnya

Nama : Cantike Lesisky

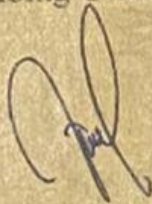
Nomor Induk Mahasiswa : 21110024

Program Studi : Program Studi Farmasi Program Sarjana

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan didepan panitia sidang ujian akhir sarjana pada Program Studi Farmasi Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat dan dinyatakan lulus pada **Senin, 05 Januari 2026**.

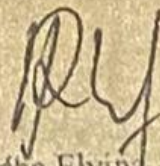
Menyetujui

Pembimbing Utama



apt. Diza Sartika, M. Farm  
NIDN. 1024049006

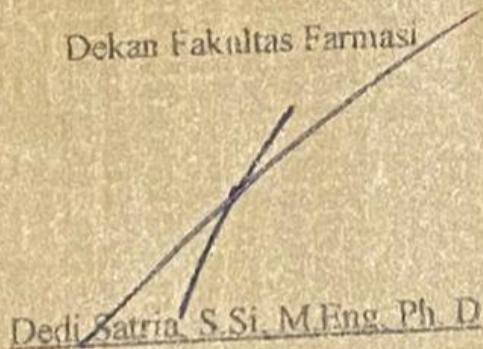
Pembimbing Kedua



apt. Ridha Elvina, M. Farm  
NIDN. 0328078701

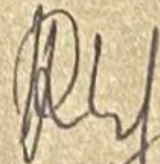
Mengetahui

Dekan Fakultas Farmasi



Dedi Satria, S.Si, M.Eng, Ph. D  
NIDN 1024048603

Ketua Program Studi  
Farmasi Program Sarjana



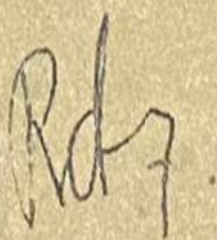
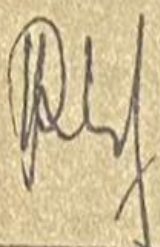



apt. Ridha Elvina, M. Farm  
NIDN. 0328078701



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Komprehensif  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat pada  
Senin, 05 Januari 2026

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dedi Satria, S.Si, M.Eng, Ph. D	Ketua	
2	apt. Diza Sartika, M. Farm	Penguji 1	
3	apt. Rida Rosa, S.Farm, M. Farm	Penguji 2	
4	apt. Ridha Elvina, M. Farm	Penguji 3	
5	Dr. Femi Earnestly, M. Si	Penguji 4	



## HALAMAN PENGHARGAAN

Dengan penuh rasa syukur, penulis panjatkan puji dan terimakasih ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpah rahmat, kesehatan, dan kekuatan yang telah diberikan, sehingga penulis skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana. Perjalanan ini bukan lah yang mudah. Di balik setiap halaman yang tertulis, terdapat perjuangan, air mata, kelelahan dan do'a yang tak terucapkan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, izinkan penulis menyampaikan penghargaan yang setulus-tulusnya kepada orang-orang yang begitu berarti dalam hidup penulis.

Pertama-tama, kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Jamaris dan Ibuk Elfera Susanti serta kakek, nenek, om tante dan adik , yang telah menjadi cahaya dalam setiap langkah penulis. Terimakasih atas doa yang tak pernah henti-hentinya, kasih sayang yang tulus, serta dukungan yang moril dan materil yang tak pernah berkurang sedikit pun. Segala pencapaian ini adalah buah dari pengorbanan dan cinta kalian yang tiada batas.

Tak kalah penting, kepada diri penulis sendiri. Terimakasih karena telah bertahan sejauh ini. Terimakasih telah memilih untuk tidak menyerah meski seringkali merasa letih. Terimakasih karena telah menyelesaikan perkuliahan ini selama 4 tahun 1 bulan. Perjalanan ini adalah bukti bahwa segala usaha, sekecil apa pun, tidak pernah sia-sia jika disertai ketulusan dan keyakinan. Penulis berharap ilmu dan pengalaman yang diperoleh selama masa studi ini dapat memberikan manfaat yang luas, tidak hanya bagi diri penulis sendiri, tetapi juga bagi masyarakat, bangsa dan dunia ilmu pengetahuan. Semoga langkah ini menjadi awal dari perjalanan yang lebih bermakna, serta membuka jalan menuju kontribusi yang lebih besar dalam bidang yang penulis tekuni.

## RIWAYAT HIDUP

Cantike Lesisky adalah nama penulis skripsi ini. Lahir pada tanggal 24 Agustus 2000, di Jakarta. Penulis merupakan anak satu-satunya dari pasangan Bapak Jamaris dan Ibu Elfera Susanti. Penulis pertama kali masuk Taman Kanak Kanak di Taman Kanak Kanak Al – Hidayah Jorong Situmbuk pada Tahun 2005, kemudian penulis melanjutkan Sekolah Dasar Negeri 26 Koto Tangah, Tilatang Kamang pada tahun 2006, setelah itu penulis melanjutkan SMK di SMKS Pembina Bangsa pada tahun 2015. Pada tahun 2021 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat.

Padang, 7 Januari 2026



Cantike Lesisky

21110004



## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Cantike Lesisky  
Nomor Induk Mahasiswa : 21110024  
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Daun Sirih Merah (*Piper ornatum*) dengan Menggunakan Gen 16s rRNA serta Uji Aktivitasnya

Dengan ini menyatakan bahwa :

- Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
- Saya menyerahkan hak cipta dan skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

UPT. Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

Padang, 07 Januari 2026



Cantike Lesisky



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Daun Sirih Merah (*Piper ornatum*) dengan Menggunakan Gen 16S rRNA" yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Sarjana Farmasi di Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat Padang. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada :

1. Bapak Dedi Satria, S.Si., M.Eng., Ph.D selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat yang telah mengajarkan saya selama saya menjalani mahasiswa di Program Studi Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat.
2. Ibuk apt. Ridha Elvina, M.Farm sebagai Kaprodi fakultas farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat dan selaku Pembimbing II saya yang ditengah kesibukannya beliau tetap meluangkan waktu untuk memberikan arahan, masukan, motivasi dan dukungan selama proses penyelesaian skripsi ini
3. Ibuk apt. Diza Sartika, M. Farm selaku Dosen Pembimbing I yang ditengah kesibukannya beliau tetap meluangkan waktu untuk memberikan arahan. masukan, motivasi dan dukungan selama proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ucapan terima kasih yang tak terhingga saya persembahkan kepada kedua orang tua saya tercinta, yaitu Bapak Jamaris dan Ibu Elfera Susanti yang telah memberikan doa, mengorbankan waktu tenaga, dan materi kepada penulis serta menjadi motivasi penulis untuk dapat menyelesaikan pendidikan ini hingga selesai. Semoga penelitian ini bermanfaat dan Allah SWT melimpahkan rahmat-Nya bagi kita semua.

Padang, Januari 2026

Cantick Lesisky



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## ABSTRAK

### ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN SIRIH MERAH (*Piper ornatum* N.E.Br) DENGAN MENGUNAKAN GEN 16S rRNA SERTA UJI AKTIVITASNYA

Oleh:

**Cantike Lesisky**

**21110024**

Tanaman sirih merah (*Piper ornatum* N.E.Br) merupakan tanaman obat tradisional yang mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan minyak atsiri, yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit daun sirih merah terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumoniae*. Daun yang digunakan terdiri dari tiga kategori, yaitu daun pucuk, muda, dan daun tua. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Hasil identifikasi morfologi makroskopik menunjukkan bahwa koloni bakteri endofit berbentuk bulat oval, timbul datar, tepi bergelombang, dan berwarna putih kekuningan. Sedangkan hasil mikroskopik menunjukkan bahwa seluruh isolat merupakan bakteri gram positif berbentuk basil. Dari tiga isolat yang diuji, isolat daun muda (MM) menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dengan rata-rata zona hambat sebesar 22,7 mm kategori kuat terhadap *Salmonella typhi* dan 9,7 mm dengan kategori lemah terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Hasil identifikasi molekuler menggunakan gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat daun muda (MM) memiliki kemiripan 99,82% dengan *Bacillus cereus*. Dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit daun muda dari daun sirih merah memiliki potensi antibakteri, dengan isolat MM sebagai isolat paling aktif yang termasuk dalam spesies *Bacillus cereus*.

**Kata kunci:** Bakteri endofit, Daun sirih merah, Antibakteri, 16S rRNA.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

UPT: Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

**ABSTRACT**  
**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENDOPHYTE  
BACTERIA FROM RED BETEL LEAVES (*Piper ornatum*  
*N.E.Br*) USING 16S rRNA GENE AND ITS ACTIVITY  
TESTING**

By:

**Cantike Lesisky**

**21110024**

Red betel plant (*Piper ornatum* N.E.Br) is a traditional medicinal plant that contains various bioactive compounds, including alkaloids, flavonoids, polyphenols, tannins, and essential oils, which have potential antibacterial activity. This study aimed to determine the antibacterial activity produced by secondary bacteria isolated from red betel leaves against *Salmonella typhi* and *Klebsiella pneumoniae*. The leaves used were categorized into three types: young shoots, mature, and old leaves. Antibacterial activity was tested using the disc diffusion method. Macroscopic morphological identification showed that the endophytic bacterial colonies were oval-shaped, raised, with wavy edges, and yellowish-white in color. Microscopic observations revealed that all isolates were Gram-positive bacilli. Among the three isolates tested, the MM isolate (from mature leaves) showed the highest antibacterial activity, with an average inhibition zone of 22.7 mm against *Salmonella typhi* and 9.7 mm against *Klebsiella pneumoniae*. Molecular identification using the 16S rRNA gene showed that the MM isolate had 99.82% similarity with *Bacillus cereus*. It can be concluded that the endophytic bacterial isolates from red betel leaves possess antibacterial potential, with the MM isolate being the most active and identified as *Bacillus cereus*.

**Keywords:** Endophytic bacteria, Red betel leaf, Antibacterial, 16S rRNA.



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Keaslian Penelitian .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tinjauan Botani Daun Sirih Merah ( <i>Piper ornatum N.E.Br</i> ).....	6
2.2 Manfaat Daun Sirih Merah.....	7
2.3 Kandungan Kimia Daun Sirih Merah .....	7
2.4 Tinjauan Farmakologi .....	7
2.5 Tinjauan Farmasetik .....	7
2.6 Bakteri .....	8
2.7 Demam Tifoid .....	11
2.8 Antibiotik .....	12
2.9 Seftriakson .....	12
2.10 Metode Pengujian Antibakteri.....	13
2.11 Zona Hambat .....	14
2.12 PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	14
2.13 Komponen Dalam PCR .....	15
2.14 Tahapan-tahapan PCR.....	17
2.15 Elektroforesis PCR .....	19
2.16 Sekuensing gen 16S rRNA.....	20

2.17	Kerangka Konsep .....	22
2.18	Hipotesis PCR .....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>23</b>
3.1	Desain Penelitian.....	23
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian Desain Penelitian .....	23
3.4	Variabel Penelitian Desain Penelitian.....	23
3.5	Definisi Operasional.....	23
3.6	Instrumen Penelitian.....	24
3.7	Prosedur Kerja.....	25
3.8	Skema Langkah Kerja .....	32
3.9	Analisis Data .....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>33</b>
4.1	Isolasi Bakteri Endofit.....	33
4.2	Uji Aktivitas Antibakteri.....	36
4.3	Amplifikasi PCR dan Sekuensing Gen 16S rRNA .....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>43</b>
5.1	Kesimpulan .....	43
5.2	Saran.....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>44</b>



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

UPT. Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Daun Muda Sirih Merah .....	49
Lampiran 2. Hasil Identifikasi Tanaman Sirih Merah .....	52
Lampiran 3. Alat – alat Penelitian.....	53
Lampiran 4. Hasil Isolasi Bakteri Endofit Daun Sirih Merah.....	54
Lampiran 5. Hasil Pemurnian Bakteri Endofit Daun Sirih Merah.....	58
Lampiran 6. Hasil Identifikasi Morfologi Pewarnaan Gram Daun Sirih Merah...	60
Lampiran 7. Bakteri Uji Salmonella typhi .....	61
Lampiran 8. Bakteri Uji Klebsiella Pneumonia .....	62
Lampiran 9. Hasil Uji Aktivitas Bakteri Endofit Daun Sirih Merah .....	63
Lampiran 10. Hasil Elektroforesis dari Produk amplifikasi Gen 16s rRNA .....	64



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav) .....	6
Gambar 2.2 Salmonella typhi.....	9
Gambar 2.3 Klabsiella Pneumonia.....	10
Gambar 2.4 Kerangka Konsep .....	22
Gambar 3.1 Skema Langkah Kerja .....	32
Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis dari Produk amplifikasi Gen 16s rRNA isolat bakteri endofit.....	41





## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian penelitian .....	4
Tabel 3.1 Klasifikasi Respon Hambatan Mikroba .....	29
Tabel 3.2 Komponen dan campuran untuk primer 16S rRNA dan DNA sampel. ....	30
Tabel 3.3 Siklus Mesin PCR .....	31
Tabel 4.1 Hasil Identifikasi Bakteri Endofit secara Makroskopis .....	34
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Bakteri Berdasarkan Pewarnaan Gram .....	35
Tabel 4.3 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Sirih Merah Kode Isolat / Kontrol Diameter Zona Bening (mm) .....	38



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Nama	Halaman
DNA	Asam Deoksirebonukleat	2
RRNA	Ribosom RNA	3
KBM	Konsentrasi Bakterisidal Minimum	12
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	12
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum	12
PCR	Polymerase Chain Reaction	14
DATP	deoksiadenosin trifosfat	16
DCTP	Deoxycytosine Trisphosphate	16
DGTP	deoxyguanine triphosphate	16
DTTP	Deoksitimidin trifosfat	16
NA	Nutrient Agar	25
PBS	Pospate buffer saline	29
UV	Ultra violet	30



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Demam tifoid dan Pneumonia merupakan penyakit infeksi yang menjadi permasalahan kesehatan. Demam tifoid adalah penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang tidak memiliki spora. Bakteri *Salmonella typhi* dapat mengakibatkan gejala seperti demam tinggi, nyeri kepala, lemah, kehilangan nafsu makan, mual, muntah, diare atau sembelit, dan nyeri perut. Penyebaran penyakit ini dapat terjadi melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Di Indonesia, demam tifoid sering terjadi pada anak-anak usia 3 hingga 19 tahun, namun orang dewasa juga tetap berisiko, terutama di wilayah dengan sanitasi yang buruk. Menurut WHO diperkirakan ada 11-20 juta kasus demam tifoid setiap tahunnya di seluruh dunia, dengan 128.000-161.000 diantaranya berakhir dengan kematian.[1] Sedangkan Pneumonia adalah infeksi pernapasan akut yang menyerang alveoli dan saluran bronkial distal paru-paru, disebabkan oleh bakteri, virus, atau jamur, yang menyebabkan peradangan dan penumpukan cairan di paru-paru. Penyakit ini menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas, terutama pada anak di bawah lima tahun. Faktor risiko pneumonia meliputi usia, status imunisasi, gizi, lingkungan, serta pendidikan dan pekerjaan ibu. Menurut Kementerian Kesehatan RI, 2017. Sumatera Barat terdapat 3.571 kasus pneumonia yang termasuk ke dalam 14 wilayah dengan kasus pneumonia tertinggi Pengobatan dengan menggunakan antibiotik.[2] Penanganan demam tifoid dan pneumonia memerlukan terapi antibiotik yang tepat guna untuk mengatasi infeksi bakteri penyebabnya. Pada demam tifoid, antibiotik seperti seftriakson, amoxilin, dan kloramfenikol digunakan untuk membunuh *Salmonella typhi* dan mencegah komplikasi. Sementara itu, pneumonia yang disebabkan oleh bakteri umumnya diobati dengan amoxilin, azitromisin, atau seftriakson, tergantung pada tingkat keparahan dan jenis patogen yang terlibat. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

dapat menyebabkan resistensi bakteri, yang memperumit pengobatan dan meningkatkan angka kesakitan. Oleh karena itu, pengelolaan antibiotik yang bijak sangat penting, termasuk pemilihan obat yang sesuai, kepatuhan pasien terhadap dosis dan durasi terapi, serta pengembangan alternatif pengobatan yang lebih ramah lingkungan, seperti pemanfaatan bahan alam dengan aktivitas antibakteri, salah satunya yaitu daun sirih merah.[3]

Tanaman daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*) adalah salah satu tanaman obat yang dikenal memiliki berbagai manfaat, termasuk aktivitas antimikroba. Kandungan senyawa aktif metabolit sekunder dalam daun sirih merah, seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri berperan penting dalam memberikan efek antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri. Alkaloid berfungsi dengan merusak membran sel bakteri atau menghambat sintesis protein penting dan memiliki aktivitas terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Flavonoid bekerja dengan cara merusak membran sel bakteri, mengganggu fungsi enzim, dan menghambat proses metabolisme bakteri. Serta memiliki potensi sebagai agen antimikroba yang efektif. Polifenol yang mencakup flavonoid dan tanin, mengganggu struktur membran, menekan aktivitas enzim bakteri dan mencegah pembentukan biofilm sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Minyak atsiri bersifat lipofilik mampu menembus membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran komponen seluler seperti ion dan protein, serta menghambat sintesis DNA dan RNA. Kombinasi aktivitas dari metabolit ini menjadikannya lebih efektif dalam mengatasi infeksi mikroba, salah satu cara untuk mendapatkan metabolit sekunder dengan waktu yang cepat adalah dengan pemanfaatan bakteri endofit. [4]

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang berkembang di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan kerusakan pada inangnya. Mikroorganisme ini biasanya ditemukan di jaringan vaskuler, baik secara interseluler maupun intraseluler, dengan pola kolonisasi yang bervariasi. Bakteri endofit berperan penting dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang berguna, seperti antibiotik, dan agen kemoterapi. Senyawa-senyawa ini memiliki efektivitas tinggi, rendah toksisitas, serta dampak lingkungan yang kecil,



#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

sehingga menjadi solusi potensial terhadap masalah resistensi mikroorganisme terhadap obat-obatan konvensional. Selain itu, senyawa bioaktif yang dihasilkannya efektif melawan berbagai patogen, termasuk bakteri, virus, dan jamur, sehingga berpotensi mengatasi resistensi antibiotik. Senyawa ini juga ramah lingkungan karena memiliki toksisitas rendah dan dampak minimal, menjadikannya alternatif yang menjanjikan untuk terapi antimikroba. Senyawa ini juga disebut metabolit sekunder.[5] Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ratu Anugrahi Rahmadira (2022) diperoleh empat isolat bakteri endofit, yaitu satu dari daun pucuk, dua dari daun muda, dan satu dari daun tua. Identifikasi molekuler menggunakan gen 16S rRNA mengungkapkan bahwa isolat dengan aktivitas antibakteri terbesar adalah *Bacillus thuringiensis*, yang menunjukkan potensi sebagai sumber senyawa antibakteri. [6] Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Dwi Dinni Aulia Bakhtra, dkk (2020) disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dari jamur endofit yang diisolasi dari daun sirih merah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil ini menunjukkan potensi ekstrak jamur endofit dari daun sirih merah sebagai agen antibakteri yang efektif terhadap kedua jenis bakteri tersebut. [7] Identifikasi bakteri endofit penghasil senyawa antibakteri dapat dilakukan menggunakan analisis gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA merupakan gen yang paling sering digunakan untuk identifikasi bakteri secara molekuler karena memiliki beberapa kelebihan, yaitu gen ini terdapat pada semua bakteri, gen ini memiliki daerah konservatif dan variabel yang dapat digunakan untuk identifikasi, dan database sekuen gen 16S rRNA yang lengkap sehingga memudahkan proses identifikasi [8] Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji apakah daun sirih merah (*Piper ornatum* N.E.Br) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumonia*, serta mengidentifikasi bakteri endofit penghasil metabolit sekunder antibakteri tersebut menggunakan analisis gen 16S rRNA.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah daun sirih merah (*Piper ornatum* N.E.Br) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Klebsiella pneumonia*?
- 1.2.2 Apa spesies bakteri endofit yang terdapat pada daun sirih merah (*Piper ornatum* N.E.Br)





### 1.3 Keaslian Penelitian

Tabel 1.I.1 Keaslian penelitian

Deskripsi	Penelitian Sebelumnya			Rencana Penelitian
Peneliti	Suci Muliana Afma, 2020	Meysa Alena, 2022	Ratu Anugrahi Rahmadira, 2022	Cantike Lesisky, 2024
Judul	Uji aktivitas antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit dari Akar Sirih Hutan (Piper Aduncum L.)	Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Dengan Menggunakan Gen 16S rRNA Serta Uji Aktivitas Antibakterinya	Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Dengan Menggunakan Gen 16S rRNA Serta Uji Aktivitas Antibakterinya	Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Dengan Menggunakan Gen 16S rRNA Serta Uji Aktivitas Antibakterinya
Variabel	Bebas, Terikat dan Kontrol	Bebas, Terikat dan Kontrol	Bebas, Terikat dan Kontrol	Bebas, Terikat dan Kontrol
Metode	Fermentasi dan LC-MS	Inokulasi, Pemurnian dan Fermentasi	Inokulasi, Pemurnian	Inokulasi, Pemurnian
Hasil	Metabolit Sekunder Bakteri	Isolat Bakteri Endofit Dari Daun	Isolat Bakteri Endofit dari Daun	-

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

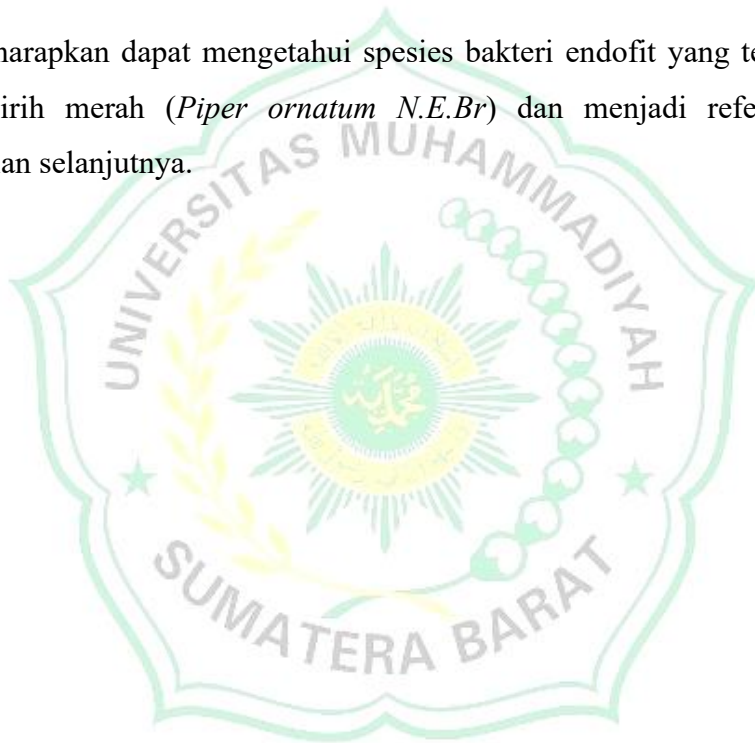
Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

- 1.4.1 Untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang diisolasi dari Daun Sirih Merah (*Piper ornatum N.E.Br*) terhadap penyakit penyebab tifoid
- 1.4.2 Untuk mengetahui spesies bakteri endofit yang terdapat pada daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*)

#### 1.5 Manfaat Penelitian

- 1.5.1 Dari penelitian ini diharapkan diperoleh informasi mengenai aktivitas antibakteri daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*) terhadap bakteri penyebab tifoid
- 1.5.2 Diharapkan dapat mengetahui spesies bakteri endofit yang terdapat pada daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*) dan menjadi referensi bahan penelitian selanjutnya.





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Botani Daun Sirih Merah (*Piper ornatum* N.E.Br)

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Daun Sirih Merah (*Piper ornatum* N.E.Br)



Gambar 2.1 Tanaman Daun Sirih Merah (*Piper ornatum* N.E.Br)

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Ordo : Piperales  
 Family : Piperaceae  
 Genus : Piper  
 Spesies : Piper crocatum

##### 2.1.2 Morfologi Daun Sirih Merah

Tanaman sirih merah (*Piper ornatum* N.E.Br) adalah tanaman merambat yang dapat tumbuh hingga ketinggian 1-7 meter. Akar tanaman berbentuk bulat dengan warna coklat kekuningan. Batangnya bersulur dan beruas, dilengkapi dengan akar udara, serta memiliki tekstur halus dengan warna hijau keunguan. Jarak antar ruas batang sekitar 5-9cm. Daunnya berbentuk tunggal dan tersusun berseling, dengan bentuk bulat telur, memiliki panjang sekitar 8-16 cm dan lebar 5-10 cm. Ujung daun meruncing dan pangkalnya membulat, dengan pertulangan daun yang melengkung dan tepi rata. Permukaan atas daun berwarna hijau dengan corak putih ke abu-abuan, sedangkan permukaan bawahnya berwarna ungu. Teksturnya halus pada bagian bawah, dan mengkilap di bagian atas. Tangkai daun bertekstur halus

dan memiliki panjang sekitar 6,5-8 cm. Daun sirih merah juga mengeluarkan aroma cukup kuat.[9]

## 2.2 Manfaat Daun Sirih Merah

Daun sirih merah memiliki manfaat sebagai antioksidan dan membantu mencegah penyakit degeneratif dan memperkuat sistem imun, sebagai antijamur untuk mengatasi infeksi jamur, serta sebagai antiinflamasi yang dapat meredakan peradangan, pembengkakan dan nyeri. Secara tradisional, juga digunakan untuk membantu mengelola tekanan darah tinggi.[10]

## 2.3 Kandungan Kimia Daun Sirih Merah

Daun sirih merah memiliki beberapa kandungan senyawa aktif, yaitu seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan minyak atsiri. Minyak atsiri yang terkandung dalam daun sirih merah mengandung kavikol, fenol, eugenol, trans-karyopilen, dan beta selinen, yang juga merupakan metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri.[11]

## 2.4 Tinjauan Farmakologi

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Desi Sagita dkk, (2017) menunjukkan bahwa dari 13 isolat bakteri endofit yang diperoleh dari daun sirih (*Piper betle*), 6 isolat memiliki aktivitas antibakteri signifikan. Lima isolat (E1, E2, E3, E4 dan E8) efektif menghambat *Staphylococcus aureus*, sementara satu isolat E7 mampu menghambat *Escheria coli*. [12]

Dan pada penelitian yang dilakukan oleh Puspa Julistia Puspita, dkk (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Ekstrak ini efektif menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, namun tidak efektif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli*. [13]

## 2.5 Tinjauan Farmasetik

Daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*) merupakan bahan alami yang sering digunakan dalam berbagai sediaan farmasetik karena kandungan fitokimianya, seperti flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Sediaan farmasetik yang umum seperti tablet hisap ekstrak etanol, gel wajah, sirup antidiabetes, dan sabun padat antibakteri. [14]

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Alesan dkk. hand sanitizer yang diformulasikan menggunakan ekstrak air daun sirih merah sebagai bahan aktif menunjukkan efektivitas antiseptik yang cukup baik. Namun, efektivitasnya masih lebih rendah dibandingkan dengan hand sanitizer berbahan aktif alkohol 60% yang umum dijumpai di pasaran.[15].

## 2.6 Bakteri

### 2.6.1 Bakteri Endofit

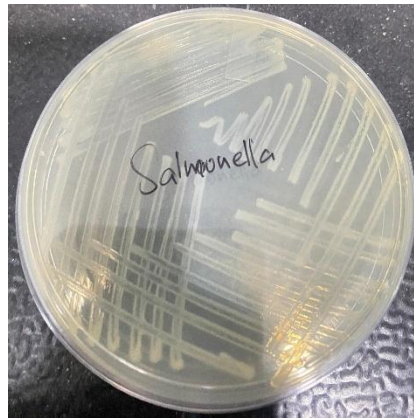
Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit, bersifat tidak patogen, dan dapat menghasilkan metabolit sekunder, termasuk senyawa antimikroba. Bakteri endofit ditemukan di berbagai bagian tanaman, seperti akar, batang daun, dan buah serta hidup dalam simbiosis mutualisme dengan tanaman inangnya. Bakteri memperoleh nutrisi dan perlindungan, sementara tanaman mendapat manfaat dari senyawa aktif yang dihasilkan.[16]

Simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dan tanaman inangnya menunjukkan hubungan yang saling menguntungkan, di mana bakteri menghasilkan senyawa bioaktif untuk melindungi tanaman dari patogen tanpa menyebabkan kerusakan atau penyakit. Sebagai imbalannya, tanaman menyediakan nutrisi yang diperlukan untuk kelangsungan hidup bakteri. Penelitian mengungkapkan bahwa bakteri endofit memproduksi senyawa antimikroba yang melindungi tanaman dari ancaman mikroorganisme patogen, sementara tanaman memperoleh perlindungan dan nutrisi yang bermanfaat. Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit ini juga memiliki potensi aplikasi medis, seperti sifat antimikroba dan antiinflamasi.[17]



## 2.6.2 Bakteri Uji

### 1. Salmonella Typhi



Gambar 2.2 Salmonella typhi

#### a. Klasifikasi dari Bakteri *Salmonella typhi*

Kingdom : Bakteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Enterobacteriales

Ordo : Gamma protobacteria

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : Salmonella typhi

*Salmonella typhi* adalah bakteri patogen dari genus *Salmonella* yang menjadi penyebab penyakit salmonellosis. Penularannya dari makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh feses penderita tifoid. Infeksi yang ditimbulkan mencakup berbagai kondisi, seperti gastroenteritis, demam tifoid, dan bakteremia.[18]

#### b. Morfologi Bakteri *Salmonella Typhi*

*Salmonella typhi* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran 2-4  $\mu\text{m}$  x 0,6  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini tidak membentuk spora, bersifat motil, memiliki kapsul, dan dilengkapi dengan flagela. *Salmonella typhi* dapat bertahan hidup selama satu jam pada pH 6-8 serta suhu 15-41°C, tetapi akan mati jika dipasteurisasi, direbus, diklorinasi, atau dipanaskan pada suhu 60°C selama 15-20 menit.[19]

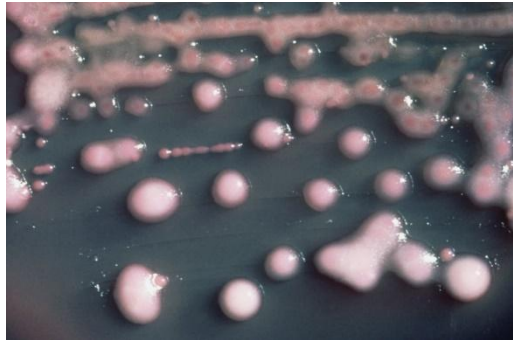
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## 2. Klebsiella Pneumonia



Gambar 2.3 *Klebsiella pneumonia*

### a. Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*:

Kingdom : Bacteria  
 Filum : Proteobacteria  
 Kelas : Gamma Proteobacteria  
 Ordo : Enterobacteriales  
 Famili : Enterobacteriaceae  
 Genus : *Klebsiella*  
 Spesies : *Klebsiella pneumoniae*[20]

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel yang kompleks dan terdiri dari tiga lapisan utama. Lapisan terluarnya mengandung lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, serta protein membran luar yang berperan dalam interaksi dengan lingkungan dan sistem imun inang. Lapisan tengah tersusun dari peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan bakteri Gram positif, tetapi tetap berfungsi sebagai penunjang struktur sel. Sementara itu, lapisan terdalam berupa membran sitoplasma yang kaya akan protein dan lipid yang berperan dalam transportasi zat serta metabolisme sel. Membran luar *Klebsiella pneumoniae* berkontribusi terhadap patogenesisnya, termasuk kemampuannya bertahan dari sistem imun dan resistensi terhadap antibiotik. Selain itu, kapsul polisakarida yang tebal memberikan perlindungan dari fagositosis dan meningkatkan virulensinya.[21]

### b. Morfologi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dengan ukuran sekitar  $0,5-0,5 \times 1,2 \mu\text{m}$ . Bakteri ini memiliki kapsul

## Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

polisakarida besar yang berkontribusi pada sifat mukoid koloninya, namun tidak memiliki flagel sehingga bersifat non-motil. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang mampu memfermentasi laktosa serta menghasilkan gas dan asam dari karbohidrat. Bakteri ini memiliki dua antigen utama, yaitu antigen O yang merupakan bagian lipopolisakarida dinding sel dan tahan terhadap panas serta alkohol, serta antigen K yang berupa polisakarida kapsular dengan lebih dari 80 variasi, yang berperan dalam virulensinya. *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan berbagai infeksi, terutama pneumonia bakterial dengan konsolidasi luas dan nekrosis hemoragik di paru-paru, serta infeksi saluran kemih dan bakteremia pada individu dengan sistem imun lemah. Identifikasi laboratorium dilakukan melalui berbagai uji biokimia seperti fermentasi laktosa pada media MacConkey, uji TSIA, motilitas, indol, metil merah-Voges Proskauer (MR-VP), sitrat, dan urease. Bakteri ini dapat menghasilkan enzim ESBL yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik beta-laktam, sehingga pengobatan membutuhkan antibiotik seperti meropenem dan kloramfenikol, meskipun beberapa strain telah menunjukkan resistensi tinggi terhadap berbagai antibiotik.[22]

## 2.7 Demam Tifoid

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut pada sistem pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Penularan penyakit ini terjadi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut, serta melalui kontak langsung dengan feses, urin, atau sekret dari penderita demam tifoid. Dengan demikian, faktor kebersihan dan sanitasi yang buruk menjadi penyebab utama penyebaran penyakit ini.[23]

### 2.7.1 Terapi Farmakologi Penyakit Demam Tifoid

Terapi farmakologis untuk penderita demam tifoid meliputi pemberian antibiotik, seperti Ciprofloxacin, Cefixime, Kloramfenikol, Tiamfenikol, Azitromisin, dan Ceftriaxone, serta terapi kortikosteroid, seperti Dexamethasone. Namun, penggunaan antibiotik maupun kortikosteroid harus dilakukan dengan hati-hati. Penggunaan yang tidak tepat dapat



meningkatkan risiko resistensi antibiotik dan menimbulkan efek samping yang justru memperburuk kondisi penderita demam tifoid.[24]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Mayaranti Wilsya, dkk. di RS X pada tahun 2020 menunjukkan bahwa 90% penggunaan antibiotik untuk demam tifoid adalah rasional, sementara 10% tidak rasional, dengan beberapa kasus menunjukkan adanya antibiotik yang lebih efektif dan waktu pemberian yang terlalu singkat. [25]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dwi Arymbhi Sanjaya, dkk disimpulkan bahwa Antibiotik yang disarankan untuk terapi empiris demam tifoid adalah azithromycin dan ceftriaxone, yang menunjukkan efektivitas yang baik terhadap strain yang resisten. Penggunaan antibiotik harus disesuaikan dengan profil resistensi lokal dan hasil minimum inhibitory concentration (MIC) untuk memastikan keberhasilan terapi dan mengurangi risiko komplikasi.[26]

## 2.8 Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti jamur atau dapat disintesis secara kimia, yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lainnya dengan tingkat toksisitas yang rendah terhadap tubuh manusia. Dalam memahami antibiotik, penting untuk mengenali prinsip terapi antibiotik, klarifikasi jenis antibiotik, dan mekanisme kerjanya, termasuk efeknya pada bakteri, spektrum aktivitas, serta pemilihan yang tepat sesuai dengan jenis infeksi.[27]

## 2.9 Seftriakson

Seftriakson adalah antibiotik spektrum luas dari golongan sefalosporin generasi ketiga yang efektif melawan berbagai bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerjanya mirip dengan penisilin, yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada protein pengikat penisilin (PBP). Pengikatan ini menghambat proses transpeptidasi peptidoglikan, komponen utama dinding sel bakteri, yang mengakibatkan terganggunya integritas dinding sel dan akhirnya menyebabkan lisis atau kematian bakteri. [28]

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## 2.10 Metode Pengujian Antibakteri

Metode pengujian antibakteri terbagi 2, yaitu:

### 2.10.1 Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum) dari agen antimikroba.

Metode ini dibagi menjadi dua jenis:

1. Dilusi Cair: Pada metode ini, agen antimikroba diencerkan dalam berbagai konsentrasi pada medium cair yang diinokulasi dengan mikroba uji. KHM diukur dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, yang ditandai dengan media cair yang tidak berubah keruh setelah di inkubasi.
2. Dilusi Padat: Disini agen antimikroba diinokulasi pada media agar yang berisi mikroba uji. KBM diukur berdasarkan konsentrasi terendah yang tidak mengizinkan pertumbuhan koloni mikroba pada agar.

Keuntungan dari metode dilusi adalah kemampuannya untuk menguji beberapa mikroba dengan menggunakan satu konsentrasi agen antimikroba yang sama, mempermudah perbandingan efektivitasnya terhadap berbagai mikroba.

### 2.10.2 Metode Difusi

Metode difusi digunakan untuk mengukur sensitivitas mikroba terhadap agen antimikroba menggunakan kertas cakram yang mengandung senyawa uji. Kertas cakram tersebut ditempatkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Agen antimikroba akan menyebar ke setiap cakram, dan terbentuknya zona jernih di sekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroba, yang menandakan bahwa mikroba tersebut sensitif terhadap agen tersebut.

Kelebihan dari metode difusi adalah mudah dilakukan karena tidak memerlukan peralatan khusus dan memberikan fleksibilitas dalam memilih obat yang di uji. Jika bakteri sensitif terhadap antibiotik yang digunakan, maka akan terbentuk area bebas mikroba di sekitar cakram, yang dapat diukur sebagai diameter zona hambatan.[29]

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## 2.11 Zona Hambat

Menurut CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) Zona hambat dibedakan menjadi tiga kriteria, yaitu resisten dengan zona hambat  $\leq 13$  mm, intermediate dengan zona hambat 14-15 mm, dan sensitive dengan zona hambat  $\geq 16$  mm. Faktor yang dapat berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri adalah jenis bakteri yang di hambat, kandungan senyawa antibakteri, konsentrasi ekstrak dan daya difusi suatu ekstrak. [30]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Tiara Magvirah, dkk (2019) judul "Uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.)", ditemukan bahwa ekstrak daun tahongai efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10 g/L hingga 100 g/L, diameter zona hambat yang dihasilkan mencapai puncaknya pada konsentrasi 100 g/L dengan ukuran 13,048 mm, sedangkan kontrol positif menggunakan antibiotik Kloramfenikol 10 g/L menunjukkan diameter zona hambat sebesar 22,199 mm. Analisis statistik menggunakan ANOVA mengindikasikan bahwa perbedaan antara perlakuan signifikan ( $P < 0,05$ ), sementara perlakuan pada konsentrasi rendah (1 g/L dan 3 g/L) tidak menunjukkan efek yang signifikan. Temuan ini menegaskan potensi ekstrak daun tahongai sebagai alternatif alami dalam pengendalian infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

## 2.12 PCR (Polymerase Chain Reaction)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik ilmiah dalam biologi molekuler yang digunakan untuk mengamplifikasi salinan DNA menjadi ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu. Meskipun prinsip dasar PCR, yang melibatkan penggunaan dua primer untuk mereplikasi potongan DNA, perkembangan PCR terbatas oleh masalah sintesis primer dan pemurnian polimerase. PCR kini menjadi teknik yang umum dan sangat diperlukan dalam laboratorium medis dan penelitian biologi untuk berbagai aplikasi. Teknik ini sangat cepat, murah, dan sederhana, serta dapat mengamplifikasi fragmen DNA tertentu meskipun dari bahan DNA yang sedikit dan berkualitas rendah. PCR telah merevolusi banyak bidang, mulai



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

dari diagnosis medis hingga studi ekologi dan hukum, memungkinkan analisis materi genetik dalam jumlah kecil, bahkan yang telah rusak, dengan tingkat ketepatan dan keandalan yang tinggi.[31]

### 2.13 Komponen Dalam PCR

Komponen-komponen yang diperlukan dalam proses PCR meliputi template DNA, pasangan primer (oligonukleotida pendek yang urutannukleotidanya komplementer dengan urutan pada DNA template) dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates), buffer PCR, magnesium klorida ( $MgCl_2$ ), dan enzim polimerase DNA. Semua komponen ini penting untuk memulai dan menjalankan proses PCR secara efisien. Setiap komponen memiliki fungsi spesifik.

#### 2.13.1 Template DNA

Template DNA adalah potongan DNA yang digunakan sebagai cetakan dalam proses penggandaan DNA, seperti pada teknik PCR. Fungsinya yaitu menyediakan contoh DNA yang akan disalin agar mendapatkan banyak salinan untuk dianalisis. Dalam studi mikrobioma, template DNA membantu kita mengetahui jenis dan jumlah mikroorganisme dalam suatu sampel. Namun, perlu mengetahui jumlah template yang akan digunakan, terlalu sedikit atau terlalu banyak bisa memengaruhi hasil dan membuat hasil kurang akurat dalam melihat keragaman spesies.

#### 2.13.2 Primer PCR

Primer PCR adalah potongan kecil urutan DNA yang digunakan untuk memulai proses amplifikasi dalam reaksi PCR. Desain primer yang baik sangat penting untuk memastikan amplifikasi DNA yang efisien dan spesifik. Panjang primer biasanya antara 18-30 basa, dengan kandungan GC yang seimbang, serta suhu leleh ( $T_m$ ) yang konsisten untuk kedua primer. Struktur dan desain yang optimal akan memaksimalkan hasil PCR dan mengurangi kemungkinan kesalahan dalam amplifikasi.

#### 2.13.3 Enzim DNA Polimerase

DNA polymerase adalah enzim yang berperan penting dalam proses sintesis DNA, yaitu menambahkan nukleotida pada untai DNA baru yang sedang dibentuk. Enzim ini bekerja dengan cara memperpanjang untai DNA yang

telah dimulai dengan primer, yang merupakan potongan kecil DNA atau RNA yang memberikan titik awal bagi enzim untuk bekerja. Dalam teknik seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR), DNA polymerase digunakan untuk menggandakan segmen DNA tertentu secara eksponensial. Taq polymerase adalah jenis DNA polymerase yang sering digunakan dalam PCR karena kemampuannya untuk bertahan pada suhu tinggi yang diperlukan selama proses denaturasi DNA.

#### 2.13.4 dNTP (deoksiribonukleosida trifosfat)

dNTP (deoksiribonukleosida trifosfat) merupakan komponen penting dalam reaksi PCR, karena mereka digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesis rantai DNA baru selama amplifikasi. Dalam proses PCR, dNTPs seperti dATP, dTTP, dCTP, dan dGTP ditambahkan ke dalam campuran reaksi, di mana masing-masing dNTP berpasangan dengan basa yang sesuai pada template DNA. Keseimbangan antara empat jenis dNTP ini sangat penting, karena ketidakseimbangan kadar dNTP dapat menyebabkan kesalahan dalam replikasi DNA dan mempengaruhi kualitas amplifikasi PCR. Oleh karena itu, pengukuran dan pengontrolan kadar dNTP yang tepat sangat penting dalam eksperimen PCR untuk memastikan hasil yang akurat dan efisien.

#### 2.13.5 Larutan buffer

Larutan buffer memiliki kapasitas untuk mempertahankan pH yang stabil meskipun ada penambahan asam atau basa. Komponen utama dalam larutan buffer terdiri dari asam lemah dan garamnya (atau basa lemah dan garamnya). Misalnya, larutan buffer asam asetat-sodium asetat dapat menjaga pH sekitar 5, dengan cara menetralkan penambahan basa atau asam. Buffer berfungsi efektif dalam rentang pH tertentu, sesuai dengan nilai pKa atau pKb komponen buffer tersebut. Sebagai contoh, buffer  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  bekerja baik di pH sekitar 9, karena amonia ( $\text{NH}_3$ ) berfungsi menetralkan asam, sementara amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) menetralkan basa. Namun, buffer tidak dapat berfungsi di seluruh rentang pH. Setiap buffer memiliki rentang pH yang efektif, dan di luar rentang tersebut, kapasitas buffer berkurang. Jika jumlah asam atau basa yang ditambahkan melebihi

kapasitas buffer, pH larutan akan berubah signifikan. Oleh karena itu, penting untuk memilih komponen buffer yang tepat berdasarkan pH yang diinginkan dan konsentrasi yang sesuai. Keberhasilan buffer bergantung pada konsentrasi asam lemah dan garamnya, serta kesetimbangan ionisasi dalam larutan tersebut.[32]

## 2.14 Tahapan-tahapan PCR

Proses PCR terdiri dari tiga tahap utama, yaitu denaturasi DNA template, penempelan primer (annealing), dan polimerisasi rantai DNA (extension). Denaturasi adalah proses pemisahan utas ganda DNA menjadi dua untai tunggal yang berfungsi sebagai template untuk penempelan primer dan sebagai tempat kerja bagi enzim DNA polimerase. Proses ini dilakukan dengan pemanasan singkat pada suhu 90-95°C selama beberapa menit.

### 2.14.1 Denaturasi

Pada tahap denaturasi, untai ganda DNA akan terpisah menjadi dua untai tunggal. Pemisahan ini terjadi karena suhu tinggi yang menyebabkan ikatan hidrogen antar basa yang saling berpasangan menjadi terputus. Selama tahap ini, aktivitas enzim seperti reaksi polimerisasi dari siklus sebelumnya tidak berlangsung. Denaturasi biasanya dilakukan pada suhu antara 90-95°C.

### 2.14.2 Penempelan Primer

Pada tahap penempelan primer (annealing), primer akan berikatan dengan urutan DNA yang spesifik dan komplementer pada template. Proses ini menyebabkan terbentuknya ikatan hidrogen antara primer dan urutan komplementernya pada template DNA. Proses annealing biasanya dilakukan pada suhu 50°C hingga 60°C. Setelah itu, enzim DNA polimerase akan berikatan dengan primer tersebut, memperkuat ikatan hidrogen agar tetap stabil, sehingga tidak terputus saat reaksi polimerisasi dilanjutkan pada suhu sekitar 72°C. Namun, suhu yang umum digunakan pada tahap ini antara 50°C-60°C.

### 2.14.3 Reaksi Polimerisasi

Pada tahap polimerisasi atau perpanjangan rantai DNA, biasanya dilakukan pada suhu 72°C. Primer yang telah menempel akan diperpanjang pada ujung 3'nya dengan menambahkan dNTP yang komplementer terhadap template



#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

DNA, yang dilakukan oleh enzim DNA polimerase. Jika siklus PCR diulang beberapa kali, daerah yang dibatasi oleh dua primer akan teramplifikasi secara eksponensial (dikenal sebagai ampikon, berupa untai ganda). Hasil amplifikasi dapat dihitung dengan rumus  $(2^n) \times x$ , di mana  $n$  adalah jumlah siklus dan  $x$  adalah jumlah molekul DNA awal. Misalnya, jika sebelum siklus terdapat 1 salinan DNA, setelah 1 siklus menjadi 2, setelah 2 siklus menjadi 4, dan seterusnya. Proses ini akan berlangsung secara eksponensial. Dalam PCR, enzim Taq DNA polimerase akan menambahkan satu nukleotida A pada ujung 3' dari potongan DNA yang dihasilkan. Produk PCR ini kemudian dapat digunakan untuk kloning dengan menambahkan nukleotida T pada ujung 5' dengan bantuan vektor. Proses PCR dilakukan menggunakan alat yang disebut *thermocycler*.

Reaksi dalam proses PCR dilakukan sebanyak 25-30 siklus, sehingga pada akhir siklus akan dihasilkan molekul DNA rantai ganda yang baru, dengan jumlah amplifikasi yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan awal. Jumlah siklus yang diperlukan untuk amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target dalam campuran reaksi. Untuk mengidentifikasi produk DNA, digunakan elektroforesis gel agarosa, di mana sampel DNA diinjeksi ke dalam gel agarosa dan arus listrik diterapkan. Hasilnya, untai DNA yang lebih kecil akan bergerak lebih cepat dibandingkan untai DNA yang lebih besar, menunjukkan hasil positif.

Keunggulan PCR terletak pada efisiensi, akurasi, dan spesifisitasnya. PCR sangat akurat karena enzim DNA polimerase mampu meminimalkan kesalahan dalam amplifikasi produk. Spesifisitas PCR terletak pada kemampuannya untuk mengamplifikasi dan menghasilkan produk yang tepat setelah beberapa siklus. Selain itu, PCR memiliki kelebihan dalam melipatgandakan fragmen DNA, yang bisa mencapai 200.000 kali setelah 20 siklus dalam waktu 22 menit, dengan jumlah komponen yang relatif sedikit, yaitu sekitar 5  $\mu$ g DNA cetakan dan 1 mM oligonukleotida. DNA cetakan yang digunakan tidak perlu dimurnikan terlebih dahulu, sehingga PCR bisa digunakan untuk menggandakan sekuen DNA dalam genom

bakteri hanya dengan mencampurkan kultur bakteri ke dalam tabung PCR.[33]

#### 2.14.4 Identifikasi PCR 16S rRNA

Identifikasi bakteri secara molekuler kini banyak dipilih oleh peneliti karena mudah dilakukan, akurat, dan bisa digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang sulit dikultur. Salah satu metode yang sering digunakan adalah dengan menganalisis gen 16S rRNA, yang panjangnya sekitar 1.550 bp dan memiliki daerah konservatif. Metode ini berguna untuk mengidentifikasi bakteri yang tumbuh lambat atau memiliki ciri unik, serta dapat membantu menemukan spesies baru dan mendeteksi infeksi dari bakteri yang sulit dikultur. Langkah-langkah identifikasinya meliputi ekstraksi DNA bakteri, amplifikasi gen dengan PCR, visualisasi hasil amplifikasi lewat elektroforesis, sekuensing, dan analisis data sekuensing dengan bioinformatika. Namun, metode ini juga memiliki kekurangan, seperti kurangnya variasi pada beberapa spesies yang bisa membuat identifikasi tidak akurat. Pada tahun 1980-an, para peneliti menemukan bahwa bakteri memiliki hubungan filogenetik yang bisa dianalisis melalui gen tertentu, dan gen 16S rRNA dipilih karena lebih mudah digunakan dibandingkan gen lainnya, seperti 5S dan 23S rRNA. Selain cepat dan praktis, metode ini juga bisa mengklasifikasikan bakteri hingga tingkat genus dan spesies. Walaupun analisis genom utuh juga bisa digunakan untuk mempelajari hubungan filogenetik, analisis 16S rRNA lebih murah dan lebih mudah diterapkan. Untuk meningkatkan akurasi, terkadang gen lain, seperti groEL, juga digunakan sebagai alternatif.[34]

#### 2.15 Elektroforesis PCR

Elektroforesis adalah metode yang digunakan untuk mengukur kecepatan pergerakan partikel bermuatan dalam medan listrik. Prinsip dasar dari elektroforesis adalah pergerakan partikel bermuatan, seperti DNA, di mana partikel bermuatan negatif (anion) bergerak menuju kutub positif (anode), sementara partikel bermuatan positif (kation) bergerak menuju kutub negatif (katode). Proses ini memanfaatkan gel agarosa sebagai medium pemisah, dan perpindahan partikel dalam gel dipengaruhi oleh beberapa

faktor, seperti ukuran partikel, komposisi gel, konsentrasi gel, densitas muatan, dan kuat medan listrik. Peralatan yang digunakan mencakup sumber arus listrik searah (DC), ruang elektroforesis (termasuk comb, sumur, platform, dan cetakan wadah gel), larutan buffer (buffer ionik dan loading buffer), matriks elektroforesis, marker, dan gel itu sendiri. Partikel yang lebih kecil akan bergerak lebih cepat dalam gel, karena pori-pori dalam gel memungkinkan partikel untuk berpindah lebih mudah melalui matriks tersebut.[35]

## 2.16 Sekuensing gen 16S rRNA

Sekuensing adalah proses untuk menentukan urutan nukleotida dalam DNA atau RNA, yang digunakan untuk memahami struktur genetik dan informasi yang dikodekan oleh materi genetik. Metode ini dikenal dengan akurasi tinggi dalam mendeteksi perbedaan genetik antar mikroorganisme, serta memungkinkan identifikasi yang lebih cepat, terutama pada mikroorganisme yang sulit dibiakkan seperti *Mycobacterium* dan beberapa jenis virus. Proses analisis sekuensing dimulai dengan pengambilan DNA dari kultur bakteri, baik yang berasal dari media padat maupun cair. DNA yang telah diisolasi kemudian digunakan sebagai cetakan dalam tahap amplifikasi dengan teknik PCR. Pada PCR, digunakan primer 16S rRNA yang bersifat universal dan berukuran sekitar 1500 pb, yang dapat mengamplifikasi daerah 16S rRNA pada seluruh bakteri. Setelah PCR, produk amplifikasi dimurnikan menggunakan kit komersial untuk menghilangkan sisa primer dan fragmen nukleotida yang tidak diinginkan. Produk PCR yang telah dimurnikan selanjutnya dianalisis urutan nukleotidanya melalui sekuensing. Pada tahap ini, primer yang digunakan pada PCR juga diterapkan, namun masing-masing primer (forward atau reverse) digunakan secara terpisah dalam satu siklus sekuensing. Proses sekuensing ini berbeda dengan PCR karena ditambahkan ddNTP (dideoxynucleotide triphosphates) yang berfungsi sebagai terminator pada pembacaan urutan. Terminator ini mengandung pewarna fluoresen yang menyerap panjang gelombang tertentu, sehingga pembacaan sekuen dapat dilakukan dengan menggunakan alat fluorometri. Hasil pembacaan dari dua primer (forward dan reverse) akan digabungkan untuk menghasilkan sekuens konsensus, yang merupakan urutan akhir dari analisis. Setelah diperoleh sekuens konsensus, hasil



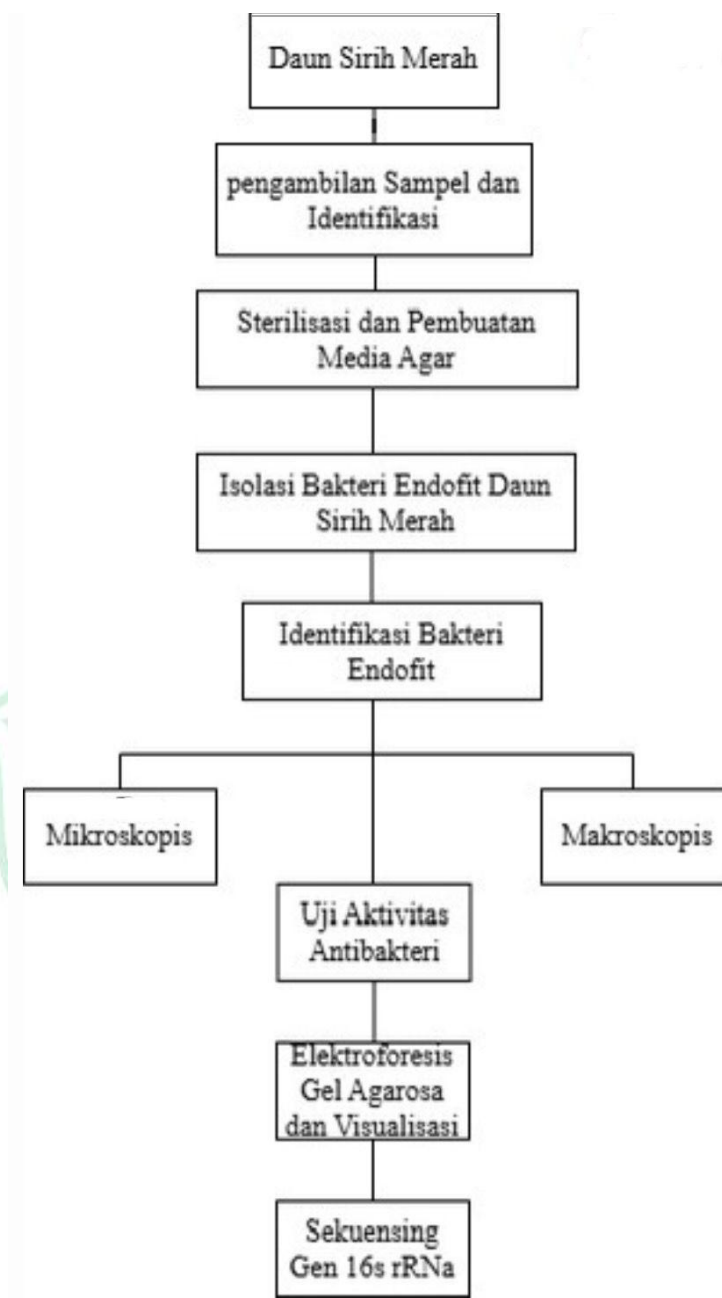
tersebut dibandingkan dengan database sekuens yang tersedia seperti GenBank, Ribosomal Database Project (RDP-II), dan beberapa sumber lain, menggunakan perangkat lunak analisis sekuensing. Proses ini memberikan hasil yang lebih akurat jika dilakukan dengan dua primer, dibandingkan hanya dengan satu primer.



#### Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Seluruh isi karya tulis ini, baik berupa teks, gambar, tabel, grafik, maupun informasi lainnya, dilindungi oleh Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta. Dilarang mengutip, menggandakan, mendistribusikan, menerbitkan dan menyebarkan sebagian atau seluruh isi karya ini dalam bentuk apapun dandengan cara apapun, baik secara elektronik maupun secara mekanik, tanpa izin tertulis dari penulis, kecuali untuk keperluan akademik dan referensi dengan menyebutkan sumber secara tepat dan benar.

## 2.17 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

## 2.18

### Hipotesis PCR

Aktivitas antibakteri dari metabolit sekunder bakteri endofit yang terdapat pada tanaman daun sirih merah (*Piper ornatum N.E.Br*) terhadap bakteri penyebab tifoid.

