

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT DARI
LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI PENGHASIL
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

**ISOLATION AND SCREENING OF ENDOPHYTIC
FUNGI FROM SEAGRASS (*Enhalus acoroides*) AS
ANTIBACTERIAL PRODUCER AGAINST *Escherichia
coli* BACTERIA**

**NADIYYAH MARDHATILLAH ARMIN
N011 19 1166**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT DARI LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

ISOLATION AND SCREENING OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM SEAGRASS (*Enhalus acoroides*) AS ANTIBACTERIAL PRODUCER AGAINST *Escherichia coli* BACTERIA

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

NADIYYAH MARDHATILLAH ARMIN

N011 19 1166

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT DARI LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

NADIYYAH MARDHATILLAH ARMIN

N011 19 1166

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt
NIP. 19900528 201504 1 001

Pembimbing Pendamping,



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19850417 201504 2 001

Pada tanggal..... 2023

SKRIPSI
ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT DARI LAMUN (*Enhalus acoroides*) SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

ISOLATION AND SCREENING OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM SEAGRASS (*Enhalus acoroides*) AS ANTIBACTERIAL PRODUCER AGAINST *Escherichia coli* BACTERIA

Disusun dan diajukan oleh:

NADIYYAH MARDHATILLAH ARMIN
N011 19 1166

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi universitas Hasanuddin
pada tanggal 21 JUNI 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

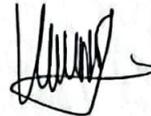
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Pendamping,



Nana Juniarti Natsir Djide., S.Si., M.Si., Apt
NIP. 19900602 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni-Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nadiyyah Mardhatillah Armin
Nim : N011 19 1166
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Isolasi dan Skrining Fungi endofit dari Lamun (*Enhalus acoroides*) Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, _____ 2023

Yang menyatakan,



Nadiyyah Mardhatillah Armin

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah swt, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghanturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tinggi kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si. M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang senantiasa meluangkan waktunya memberikan bimbingan, arahan, dorongan, dan semangat kepada peneliti, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. dan Ibu Nur Indah Yanti, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
3. Dekan Fakultas Farmasi yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam menyelesaikan surat persuratan skripsi saya.
4. Ibu Suhartina Hamzah, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang senantiasa membantu memberikan nasehat dalam penyelesaian studi penulis.

5. Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya selama mengikuti perkuliahan hingga selesainya skripsinya ini.

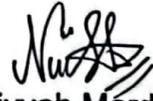
Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terkhusus lagi kepada teman terdekat, Salwa, Wahda, Asmaria, Rabihul, Pebi, Alya, Atikah, Ara, Uca, Finsyani, Aulia, Amel yang selalu hadir memberikan dukungan, motivasi, dan semangat kepada penulis. Kepada teman anak laut, Susan, Finsyani, Toper dan Aina yang telah kebersamai selama penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini. Kepada teman tari dexi, Pewe, Rades, Salwa dan Pumah, serta kepada rekan-rekan Korps Asisten Mikrobiologi Farmasi, teman-teman Angkatan 2019 “DEX19EN”, BEM KEMAFAR Kabinet Kolaboratif, UKM PHARCO KEMAFAR-UH dan teman BOOGI' yang telah mengajarkan banyak ilmu, arti kerja sama dan dukungan kepada penulis.

Akhirnya, semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua, nenek dan saudara-saudara tercinta yang telah memberikan doa, motivasi dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, _____ 2023



Nadiyah Mardhatillah Armin

ABSTRAK

Nadiyyah Mardhatillah Armin. Isolasi dan Skrining Fungi Endofit dari Lamun (*Enhalus acoroides*) Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* (dibimbing oleh Sartini dan Nana Juniarti Natsir Djide)

Lamun (*Seagrass*) merupakan tumbuhan laut yang kaya akan metabolit sekunder dan berpotensi sebagai antibakteri. Salah satu jenis lamun yang paling banyak dijumpai di perairan Indonesia adalah *Enhalus acoroides*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat fungi endofit dari lamun (*E. acoroides*) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit *E. acoroides*. Isolasi fungi endofit dilakukan dengan metode tanam langsung, skrining antibakteri dilakukan dengan metode agar blok, fermentasi fungi endofit menggunakan fermentasi substrat cair, uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram dan dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan cara penyemprotan reagen pada lempeng KLT. Berdasarkan hasil skrining aktivitas antibakteri diperoleh 3 isolat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yaitu KS, KPAL-1 dan KPAL-2, dan yang memiliki zona hambat terbesar yaitu KS. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada hasil fermentasi isolat terpilih (KS), ekstrak lamun (*E. acoroides*), fraksi etil dan fraksi air diperoleh hasil zona hambat pada fraksi etil dan air masing-masing sebesar $8,37 \pm 1,11$ mm dan $6,54 \pm 0,92$ mm. Pada skrining fitokimia diketahui bahwa fraksi etil dan fraksi air mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid.

Kata Kunci: *Enhalus acoroides*, Fungi Endofit, Antibakteri

ABSTRACT

Nadiyyah Mardhatillah Armin. Isolation dan Screening Of Endophytic Fungi From Seagrass (*Enhalus Acoroides*) As Antibacterial Producer Against *Escherichia Coli* Bacteria (supervised by Sartini and Nana Juniarti Natsir Djide).

Lamun (Seagrass) is a marine plant that is rich in secondary metabolites and has the potential as an antibacterial. One of the most common types of seagrass found in Indonesian waters is *Enhalus acoroides*. This study aims to obtain isolates of endophytic fungi from seagrass (*E. acoroides*) which have antibacterial activity against *E.coli* bacteria and to identify the secondary metabolite compounds which have antimicrobial activity in fermented endophytic fungal extract *E.acoroides*. Isolation of endophytic fungi was carried out by direct cultivation method, antibacterial screening was carried out by block agar method, endophytic fungal fermentation was carried out using the submerged fermentation method, inhibition test was carried out by agar diffusion method using paper discs and identification of secondary metabolites was carried out by spraying reagents on TLC plate. Based on the results of the antibacterial activity screening, it was found that 3 isolates had antibacterial activity against *E.coli*, namely KS, KPAL-1 and KPAL-2, and those with the largest inhibition zone, namely KS. The results of testing the antibacterial activity of the fermented selected isolates (KS), seagrass extract (*E. acoroides*), ethyl fraction and water fraction obtained inhibition zone results for the ethyl and water fractions of 8.37 ± 1.11 mm and 6, respectively. 54 ± 0.92 mm. On the phytochemical screening it was known that the ethyl fraction and the water fraction contained flavonoids and alkaloids.

Keywords: *Enhalus acoroides*, Endophytic Fungi, Antibacterial

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAKASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Uraian Tanaman	5
II.2 Fungi	6
II.3 Fungi Endofit	8
II.5 Fermentasi	10
II.6 Antimikroba	11
II.7 Ekstraksi	14
II.8 Uji Aktivitas Antimikroba	11
II.9 Kromatografi Lapis Tipis	18
II.5 <i>Escherichia coli</i>	18

BAB III METODE PENELITIAN	20
III.1 Alat dan Bahan	20
III.2 Metode Kerja	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
IV.1 Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit	27
IV.2 Skrining Antibakteri Fungi Endofit	31
IV.3 Fermentasi dan Uji Daya Hambat	33
IV.4 Skrining Fitokimia	37
BAB V PENUTUP	40
V.1 Kesimpulan	40
V.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik Isolat Fungi Endofit	29
2. Hasil Skrining Aktivitas Aktimikroba	32
3. Hasil Pengukuran Uji Daya Hambat	35
4. Hasil Skrining Fitokimia	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Enhalus acoroides</i>	5
2. Proses Isolasi Fungi Endofit	28
3. Hasil Pemurnian	30
4. Hasil Skrining Antimikroba	32
5. Hasil Uji Daya Hambat	35
6. Hasil Skrining Fitokimia	37
7. Proses Pengambilan Sampel di Kabupaten Pangkep	49
8. Proses Sterilisasi Permukaan	49
9. Proses Isolasi Fungi Endofit	49
10. Proses Pemurnian Fungi Endofit	49
11. Proses Skrining Antimikroba	49
12. Proses Fermentasi	49
13. Proses Penyaringan Hasil Fermentasi	50
14. Proses Ekstraksi	50
15. Proses Penguapan Pelarut	50
16. Proses Partisi	50
17. Proses Pengujian Daya Hambat	50
18. Proses Kromatografi Lapis Tipis	50
19. Kontrol Pengerjaan	51
20. Hasil Uji Daya Hambat	51

DAFTAR SINGKATAN

<i>E. acoroides</i>	= <i>Enhalus acoroides</i>
<i>E. coli</i>	= <i>Escherichia coli</i>
PDA	= <i>Potato Dextrose Agar</i>
SDA	= <i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
MHA	= <i>Muller Hinton Agar</i>
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
SmF	= Submerged Fermentation
SSF	= Solid State Fermentation

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	47
2. Perhitungan Diameter Zona Hambat	48
3. Dokumentasi Kegiatan	49

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Infeksi bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu penyebab terjadinya peningkatan yang signifikan dalam morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia (Li *et al.*, 2020). Secara global, sebesar 20% penyebab *Food Borne Disease* adalah makanan yang terkontaminasi *E. coli* (Holmes *et al.*, 2017). Selain itu, bakteri *E. coli* juga dapat menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, meningitis dan septikimia (Martak *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Manuaba dkk. (2020), prevalensi bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) tertinggi penyebab penyakit pneumonia adalah bakteri *E. coli* (93,3%). Bakteri *E. coli* telah dilaporkan resisten terhadap beberapa golongan antibiotik antara lain penisilin, sefalosporin generasi 1-4, aminoglikosida dan fluoroquinolon (Endriani dkk. 2010; Prabowo & Habib, 2012). Banyaknya laporan mengenai bakteri *E. coli* yang menunjukkan reaksi resistensi terhadap banyak kelas antibiotik lain menyebabkan pilihan terapi untuk infeksi bakteri ini menjadi sangat terbatas, sehingga diperlukan pencarian antibiotik baru (Manuaba dkk. 2020).

Lingkungan hidup organisme laut yang sangat karakteristik dan ekstrim menyebabkan keberagaman pada metabolisme yang terjadi pada setiap organisme laut sehingga berpotensi sebagai penghasil senyawa antimikroba dengan sifat yang unik dan baru sehingga berpotensi sebagai penghasil

senyawa antimikroba dengan sifat yang unik dan baru. Selain itu, pemanfaatan organisme asal laut masih sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan memanfaatkan organisme laut dalam pencarian antibiotik baru (Rijai, 2019).

Lamun (*Seagrass*) merupakan tumbuhan laut yang kaya akan metabolit sekunder dan berpotensi sebagai antibakteri. Salah satu jenis lamun yang paling banyak dijumpai di perairan Indonesia adalah *Enhalus acoroides* (*E. acoroides*). Berdasarkan penelitian Setyoningrum dkk. (2020), ekstrak daun *E. acoroides* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari terbentuknya zona hambat sebesar 11,6 mm. Hal ini karena ekstrak daun *E. acoroides* mengandung senyawa bioaktif (flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Pradana dkk. 2018).

Seiring dengan meningkatnya aktivitas industri dan pembangunan di wilayah pesisir, maka tekanan ekologis terhadap ekosistem lamun juga meningkat, akibatnya berdampak terhadap rusaknya ekosistem dan menyusutnya luas padang lamun (Jalaluddin dkk. 2020). Hal ini menyebabkan bahan baku senyawa antibiotik baru menjadi semakin terbatas, sehingga diperlukan alternatif pencarian senyawa antibiotik baru dengan bahan baku yang lebih sedikit, salah satunya adalah fungi endofit (Radji, 2005). Kemampuan fungi endofit dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar,

karena dapat menghemat penggunaan tanaman inang, dapat ditumbuhkan dengan mudah dan dalam jumlah yang banyak dengan waktu fermentasi yang relatif singkat dibanding menumbuhkan tanaman inang (Purniasih *dkk.*, 2022). Prasetyo *dkk.* (2017) melaporkan kemampuan isolat fungi endofit dari daun *E. acoroides* yang berasal dari Perairan Tongkaina, Kota Manado dalam menghambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Pengaruh lingkungan (suhu, salinitas, pH, dan kondisi area yang berbeda) dapat berpengaruh terhadap keragaman fungi endofit dan metabolit sekundernya (Manurung *dkk.*, 2022). Beberapa kondisi lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan lamun yaitu suhu air berkisar antara 28 - 32°C, pH air laut berkisar antara 7,8 - 8,2 dan salinitas berkisar antara 24 - 35% (Tahril *dkk.*, 2011). Menurut Manuputty *dkk.* (2012), daerah perairan Pangkep memiliki suhu air berkisar antara 30,5 - 32,4°C, pH air laut berkisar antara 7,31 - 8,26 serta salinitas berkisar antara 26,53 - 27,82 yang sesuai dengan rentang optimum untuk menunjang pertumbuhan lamun. Belum adanya penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari lamun *E. acoroides* asal perairan Pangkep menjadi alasan dilakukan penelitian mengenai isolasi dan skrining fungi endofit dari lamun *E. acoroides* asal perairan Pangkep sebagai penghasil antibakteri.

I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah *E. acoroides* memiliki fungi endofit yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* ?
2. Golongan senyawa apakah yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak

hasil fermentasi fungi endofit *E. acoroides* ?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan isolat fungi endofit *E. acoroides* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa pada ekstrak hasil fermentasi fungi endofit *E. acoroides* yang bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* melalui teknik skrining fitokimia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Alismatales

Family : Hydrocharitaceae

Genus : *Enhalus*

Species : *Enhalus acoroides* (Irawan dan Matuankotta, 2015)



Gambar 1. *Enhalus acoroides* (Rawung dkk., 2012)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Enhalus acoroides merupakan salah satu jenis lamun yang sangat mudah dikenali dan memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan jenis lamun lainnya. Daun *E. acoroides* memiliki morfologi yang tebal dan berbentuk memanjang seperti pita (*strap-like*) dengan ujung yang bulat. Spesies ini memiliki 3-5 helai daun dalam satu tegakan dengan ukuran panjang daun

berkisar antara 2-54,3 cm dan lebar antara 0,6-1,5 cm. *E. acoroides* memiliki rimpang berukuran antara 1-8,3 cm yang diselubungi oleh sabut tebal berwarna hitam serta terdapat akar-akar berwarna putih kecoklatan yang berukuran 1-27,7 cm (Wagey & Sake, 2013).

II.1.3 Kandungan Kimia Tanaman

Menurut Mahmiah *dkk.* (2023), kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada *E. acoroides* antara lain yaitu golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid, dan polifenol yang berpotensi dikembangkan di bidang farmasi, kesehatan, perikanan, pertanian, dll. Selain itu, *Enhalus acoroides* juga mengandung air sebesar 89,99%, abu sebesar 0,79%, lemak sebesar 0,52%, protein sebesar 0,75% dan karbohidrat sebesar 4,16% (Kaya, 2017).

II.2 Fungi

Fungi adalah organisme heterotrofik yang memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya. Fungi bersifat saprofit apabila mereka hidup dari benda organik mati yang terlarut dengan cara menghancurkan sisa-sisa tumbuhan dan hewan yang kompleks, menguraikannya menjadi zat-zat kimia yang lebih sederhana, kemudian dikembalikan ke dalam tanah dan selanjutnya meningkatkan kesuburannya. Fungi yang bersifat saprofit ini sangat menguntungkan bagi manusia seperti berperan dalam fermentasi industri, misalnya pembuatan bir, minuman anggur, dan produksi antibiotik. Selain itu, fungi juga bersifat parasit yaitu apabila mereka menyerbu inang yang hidup lalu tumbuh dengan subur pada inangnya. Fungi yang bersifat parasit ini dapat

merugikan karena menimbulkan penyakit bagi tumbuhan, hewan dan manusia (Pelczar & Chan, 2008).

Secara umum fungi dapat dibagi atas dua kelompok berdasarkan tipe selnya yaitu khamir dan kapang. Khamir adalah fungi yang bersel satu atau uniseluler (Djide & Sartini, 2016). Pada umumnya, sel khamir lebih besar dari pada kebanyakan bakteri, tetapi khamir yang paling kecil tidak sebesar bakteri yang terbesar. Khamir memiliki ukuran berkisar antara 1-5 μm untuk lebarnya dan panjang antara 5-30 μm . Setiap spesies mempunyai bentuk yang khas, sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk sel, tergantung pada umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengkapi flagellum atau organ-organ penggerak lainnya (Pelczar & Chan, 2008). Khamir hidupnya sebagian saprofit dan ada pula yang bersifat parasit. Pada umumnya khamir terdapat dipermukaan buah-buahan, di tanah perkebunan, daun dari beberapa tanaman, nectar bunga-bunga, di permukaan dan di dalam tubuh serangga, di dalam cairan yang mengandung gula misalnya cairan buah, madu, sirup, melase dan lain-lain. Khamir dapat berkembang biak dengan cara bertunas (*budding*), pembelahan membentuk spora aseksual, reproduksi seksual (konjugasi) dan secara partenogenesis (Djide & Sartini, 2016).

Kapang adalah organisme yang berbentuk benang, multiseluler, tidak berklorofil dan belum mempunyai diferensiasi dalam jaringannya. Pada dasarnya kapang terdiri dari dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filament yang dinamakan hifa. Setiap hifa memiliki ukuran antara 5-10 μm (Djide & Sartini, 2016).

Berdasarkan morfologi, hifa terbagi atas tiga macam, yaitu aseptat atau senosit, hifa berseptat dengan sel-sel uninukleat, dan hifa berseptat dengan sel-sel multinukleat. Aseptat atau senositik adalah hifa yang tidak mempunyai dinding sekat atau septum. Hifa berseptat dengan sel-sel uniseluler adalah hifa yang setiap sekatnya berisi nukleus tunggal. Dan hifa berseptat dengan sel-sel multiseluler adalah hifa yang setiap sekatnya berisi lebih dari satu nukleus. Kemudian, berdasarkan fungsinya hifa terbagi atas dua, yaitu hifa vegetatif dan reproduktif. Hifa vegetatif yaitu hifa yang menembus ke dalam medium untuk mendapatkan zat makanan. Sedangkan hifa reproduktif adalah hifa yang bertanggung jawab dalam pembentukan spora dan biasanya tumbuh meluas ke udara dari medium (Pelczar & Chan, 2008).

Perkembang biakan dari kapang dapat terjadi secara vegetatif dan generatif. Perkembangan secara vegetatif dapat terjadi dengan cara fragmentasi miselium, pembentukan tunas dan pembentukan spora-spora aseksual. Sedangkan secara generatif dapat terjadi dengan cara pembentukan spora seksual dan dengan cara peleburan miseliumnya (gamet). Proses seksual hanya terjadi pada hifa atau spora yang mempunyai tipe kelamin berbeda. Peranan jamur di alam sangat luas, ada yang merugikan dan ada pula yang menguntungkan (Djide & Sartini, 2016).

II.3 Fungi Endofit

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat

tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Rollando, 2019).

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya. Tanaman yang tumbuh di bumi mengandung satu atau lebih mikroba endofit, sehingga apabila mikroba endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu menebang tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia, yang kemungkinan besar memerlukan puluhan tahun untuk dapat dipanen (Rollando, 2019).

Fungi endofit dapat ditemukan di semua spesies tanaman. Fungi endofit dapat diisolasi dari tanaman yang berbeda, baik berbeda familia, kelas maupun lingkungan dan kondisi geografik tempat tanaman inang tersebut tumbuh. Sebagian besar fungi endofit menyebabkan infeksi sistemik secara intraselular, namun tidak menyebabkan kerugian pada inangnya. Dengan demikian, fungi endofit hidup secara simbiosis mutualisme atau secara simbiosis komensalisme (Kumala, 2019).

II.5 Fermentasi

Produk metabolit sekunder mikroba endofit dapat diperoleh dari hasil fermentasi. Fermentasi berasal dari kata latin *ferfere*, yang berarti mendidihkan. Istilah fermentasi sekarang digunakan untuk proses penguraian metabolik senyawa organik oleh mikroorganisme yang menghasilkan energi. Fermentasi adalah suatu proses alami yang digunakan untuk menghasilkan suatu produk, seperti anggur, keju dan bir sebelum proses biokimia diketahui (Kumala, 2019).

Berdasarkan jenis media, fermentasi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu fermentasi substrat padat/ *solid state fermentation* (SSF) dan fermentasi substrat cair/ *submerged fermentation* (SmF). Metode SSF adalah proses fermentasi dengan substrat tidak larut dan tidak mengandung air untuk keperluan mikroba. Mikroorganisme ditumbuhkan pada permukaan media padat, sehingga fermentasi jenis ini disebut fermentasi permukaan. Metode SSF digunakan untuk produksi enzim dan asam organik yang menggunakan kapang. Sedangkan fermentasi substrat cair adalah proses fermentasi dengan substrat yang larut atau tersuspensi dalam fase cair. Metode SmF disebut fermentasi kultur terendam yang umumnya memerlukan aerasi dan agitasi. Sebagai inokulum pada fermentasi ini digunakan bakteri, kapang dan khamir (Kumala, 2019). Selain itu, dalam hal penanganan substrat, metode SSF lebih sulit serta membutuhkan biaya yang lebih mahal dibandingkan dengan metode SmF. Dari segi fleksibilitas teknologi, fermentasi menggunakan substrat cair lebih sering dipilih karena dapat digunakan untuk bakteri maupun jamur dan mudah dimodifikasi kondisi dan komposisi mediumnya (Hidayat dkk, 2018).

Pada proses fermentasi perlu dipertimbangkan apakah dilakukan dengan *starter* atau tanpa *starter*. Keuntungan menggunakan *starter* adalah kondisi awal untuk melakukan fermentasi sama. Berdasarkan metodenya, fermentasi dibagi tiga, yaitu fermentasi batch (curah), fed-batch (curah sulang) dan kontinyu (sinambung). Fermentasi batch termasuk sistem tertutup, tidak ada penambahan media baru dan biasanya ada tambahan oksigen untuk kondisi aerob. Fermentasi fed-batch merupakan pengembangan dari sistem batch, termasuk sistem terbuka sehingga ada penambahan media baru dan menghasilkan lebih tinggi daripada sistem batch. Selanjutnya, fermentasi kontinyu yang termasuk dalam sistem terbuka juga, ada penambahan media baru, volume tetap, dan fase fisiologi selnya konstan (Sihotang dkk. 2019).

II.6 Antimikroba

Antimikroba merupakan obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia. Selain antimikroba, terdapat juga beberapa istilah yang digunakan dalam memberantas infeksi seperti antiseptik, disinfektansia, antibiotik dan preservatif (Djide & Sartini, 2016).

Antimikroba dan bersifat bakteriostatika dan bakteriosida. Bakteriostatika adalah zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner dan tidak dapat lagi berkembang biak. Contoh antimikroba yang bersifat bakteriostatik adalah sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin dan novobiosin (konsentrasi rendah). Sedangkan bakteriosida adalah zat atau bahan yang dapat membunuh

mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini, jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang bahkan habis dan tidak dapat lagi berkembang biak. Contoh antimikroba yang bersifat bakteriosida yaitu penisilin, sefalosporin dan neomisin (Djide & Sartini, 2016).

Antimikroba mempunyai beberapa mekanisme kerja antara lain sebagai berikut (Djide & Sartini, 2016):

1. Inaktivasi enzim tertentu

Inaktivasi enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptika dan desinfektansia seperti turunan aldehida, amida, etilenoksida dan lain-lain.

2. Denaturasi protein

Turunan alkohol, halogen dan halogenator, senyawa merkuri, peroksida, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarterner bekerja sebagai antiseptika dan desinfektansia dengan cara denaturasi dan konjugasi protein sel bakteri.

3. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Turunan senyawa golongan amin dan guanidine bekerja dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri sehingga menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial dan bakteri mengalami kematian.

4. Intekalasi ke dalam DNA

Beberapa zat warna seperti turunan trifenilmetan dan turunan akridin, bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat asam nukleat secara kuat,

menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

5. Pembentukan khelat

Beberapa turunan fenol seperti heksoklorofen dan oksikuinolin dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu, kemudian bentuk khelat tersebut masuk ke dalam sel bakteri. Apabila kadar dari ion-ion logam tersebut tinggi di dalam sel akan menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim, sehingga mikroorganisme akan mengalami kematian.

6. Bersifat sebagai antimetabolit

Antimikroba bekerja dengan cara memblok tahap metabolik spesifik mikroba, salah satunya seperti sulfonamida. Sulfonamida menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri.

7. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel

Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme, contohnya seperti penisilin, sefalosporin dan vankomisin.

8. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme (bakteri).

9. Penghambatan sintesis protein

Antimikroba bekerja dengan cara mempengaruhi fungsi ribosom [ada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat.

10. Penghambatan asam nukleat

Dalam hal ini antimikroba mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Contohnya seperti pada rifampisin yang bekerja dengan cara mengikat dan menghambat *DNA-dependent RNA polymerase* yang ada pada bakteri.

II.7 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan satu atau lebih senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Leba, 2017).

Jenis-jenis metode ekstraksi antara lain sebagai berikut (Mukriani, 2014):

1. Maserasi

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2. *Ultrasound-assisted solvent extraction*

Metode ini merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

3. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah percolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam percolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

4. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam selongsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu soxhlet. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu

dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut serta tidak memakan banyak waktu. Namun, kerugian metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

5. Reflux dan destilasi uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama dengan pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih, kemudian uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Sedangkan pada destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa yang mudah menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah menjadi dua bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Namun, kedua metode ini memiliki kerugian yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

II.8 Uji aktivitas antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi (Kusmiati dan Agustini, 2007).

II.8.1 Metode Difusi

Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu metode silinder, metode sumuran dan metode kertas cakram (Kusmiati & Agustini, 2007).

1. Metode silinder

Metode silinder dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasikan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar. Kemudian, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiati & Agustini, 2007).

2. Metode sumuran

Metode sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang pada media agar yang telah diinokulasikan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian. Kemudian, lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmiati & Agustina, 2007).

3. Metode kertas cakram

Metode kertas cakram dilakukan dengan cara meletakkan kertas cakram yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasikan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling kertas cakram (Kusmiati & Agustina, 2007).

II.8.2 Metode dilusi

Metode dilusi yaitu metode yang dilakukan dengan mengencerkan zat antimikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi steril.

Selanjutnya, sejumlah mikroba uji ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tabung-tabung reaksi ke dalam tabung berisi media steril. Kemudian, diinkubasi dan diamati penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pada tabung reaksi (Kusmiati & Agustina, 2007).

II.9 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang berdasar pada prinsip adsorbs, bedanya dengan kromatografi kolom yaitu konfigurasi KLT yang berbentuk planar (*plate*). Fase diam berupa padatan yang diaplikasikan berbentuk datar pada permukaan kaca atau aluminium sebagai penyangganya seperti silika gel. Sedangkan fase gerak berupa zat cair seperti campuran pelarut yang cocok. Dalam kromatografi lapis tipis, harga R_f (*Retardation Factor*) dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik awal terhadap jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik awal aplikasi. Nilai R_f dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Rubiyanto, 2017):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan senyawa}}{\text{Jarak yang digerakkan pelarut}}$$

II.10 *Escherichia coli*

II.10.1 Klasifikasi *E. coli*

Kingdom : Monera
Phylum : Schizomycota
Class : Schizomycetes
Order : Eubacteriales

Family : Enterobacteriaceae
Genus : Escherichia
Spesies : *Escherichia coli* (Rollando, 2019).

II.10.2 Ciri-ciri *E. coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1-1,5 μm x 2-6 μm , motil dengan flagela serta dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen (bersifat fakultatif anaerobik), dapat tahan pada media yang miskin nutrisi. Karakteristik biokimia *E. coli* lainnya adalah kemampuannya untuk memproduksi indol, kurang mampu memfermentasi sitrat dan bersifat negatif pada analisis urease (Rahayu dkk., 2018).