

## **SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT  
DAUN BAKAU (*Rhizophora racemosa*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia  
coli*.**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF  
ENDOPHITE FUNCTIONS (*Rhizophora racemosa*)  
AGAINST BACTERIA OF *Staphylococcus aureus*  
AND *Escherichia coli*.**

Disusun dan diajukan oleh

**SYAFIRA PRATIWI**

**N111 15 055**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT DAUN BAKAU  
(*Rhizophora racemosa*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* DAN *Escherichia coli*.**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHITE FUNCTIONS  
(*Rhizophora racemosa*) AGAINST BACTERIA OF *Staphylococcus  
aureus* AND *Escherichia coli*.**

SKRIPSI

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

**SYAFIRA PRATIWI**

**N111 15 055**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT DAUN BAKAU  
(*Rhizophora racemosa*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*.**

**SYAFIRA PRATIWI**

**N111 15 055**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt

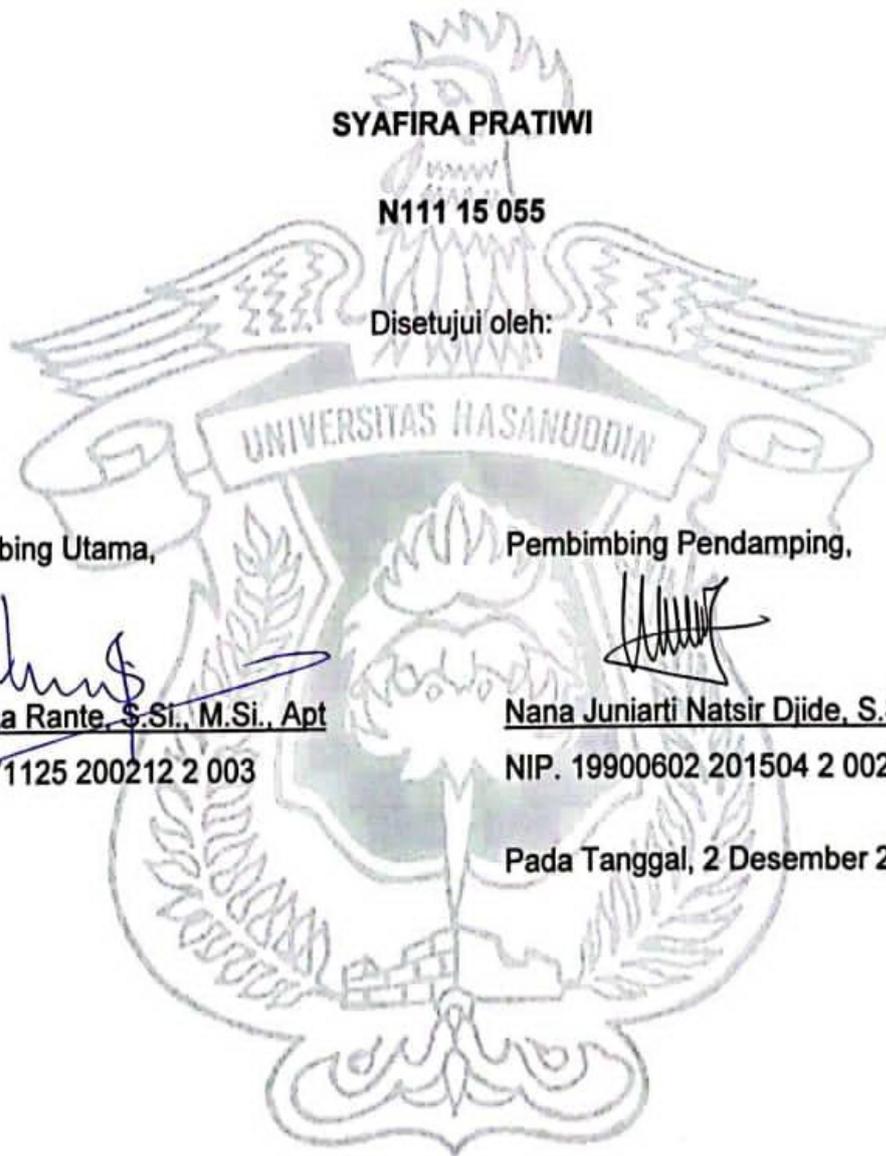
NIP. 19771125 200212 2 003

Pembimbing Pendamping,

  
Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., Apt

NIP. 19900602 201504 2 002

Pada Tanggal, 2 Desember 2022



**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FUNGI ENDOFIT DAUN BAKAU  
(*Rhizophora racemosa*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*.**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHITE FUNCTIONS  
(*Rhizophora racemosa*) AGAINST BACTERIA OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*.**

Disusun dan diajukan oleh:

**SYAFIRA PRATIWI  
N111 15 055**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 2 Desember 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt  
NIP. 19771125 200212 2 003

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

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan  
Fakultas Farmasi

  
Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt  
NIP. 19771111200812100



## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Syafira Pratiwi  
Nim : N111 15 055  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Bakau (*Rhizophora racemose*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 2 Desember 2022

Yang menyatakan,



*Syafira Pratiwi*  
Syafira Pratiwi

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Tak lupa pula penulis mengirimkan salam dan shalawat kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa umat Islam ke jalan yang diridhoi Allah SWT.

Skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Bakau (*Rhizophora racemosa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”** merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi dan memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi di Universitas Hasanuddin. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., Apt selaku pembimbing pendamping saya, yang telah banyak meluangkan waktu untuk penulis menyelesaikan penelitian dan memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang membangun kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
2. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt dan A. Anggriani, S.Si., M.Si.Clin.Pharm., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan

waktunya dan memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini..

3. Seluruh Bapak/ ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah member ilmunya dan memberikan masukan kepada penulis selama masa studi S1 dan juga seluruh staf akademik khususnya Ibunda Setiorini,. ST., MM yang tercinta yang selalu menjadi tempat penulis berkeluh kesah dan memberikan fasilitas kepada penulis selama menempuh masa studi dan menyelesaikan penelitian ini.
4. Prof.Dr.rer.nat. Marianti.,Apt selaku Dekan yang sangat bijaksana dan baik hati selalu membantu dan menyelesaikan semua masalah yang dihadapi penulis, dengan kebijaksanaan beliau dalam memberi solusi penulis bisa ada pada tahap ini.
5. Orang tua dari penulis kepada Ayahanda DRS.Suryadarma M.Pd, yang tercinta Asniah Alwy S.Pd dan Kakanda Presiden BEM Fajrul Ramadhan yang telah memberikan dukungan yang luar biasa kepada penulis, Terima kasih atas kesabaran, kepercayaan, serta supportnya selama ini dan doa yang selalu dipanjatkan kepada penulis dari masa perkuliahan hingga di tahap skripsi ini.
6. Sahabat-sahabat penulis, Dini, Retno, dan Marni terimakasih karena selalu memberikan dukungan dan selalu menjadi sosok yang selalu ada untuk untuk memberi dukungan dan semangatnya serta doa yang diberikan kepada penulis. Juga terkhusus saya

ucapkan terimakasih kepada kanda Cece Marzaman yang telah membimbing penulis selama penelitian.

7. Teman-teman Geng Parkiran yang sudah melewati suka duka perkuliahan bersama, terkhusus Tenri Wulengsari dan Andi Aditiya Natsir yang selalu menemani penulis disetiap harinya menuju proses penyelesaian studi dan teman satu penelitian penulis Nurul Fitri Syahrir terima kasih atas dukungan dan semangatnya serta bantuan dalam proses penelitian ini.
8. Tidak lupa pula terimakasih kepada Kanda Abd.Kabir Husain S.Sos yang begitu sabar dan setia menemani penulis untuk melewati masa-masa sulit perkuliahan dan proses penyelesaian studi penulis.
9. Dan juga terimakasih yang kini tidak bisa saya sampaikan langsung kepada Alm. Alwy Razak, kakek saya yang sudah membesarkan saya, memberi kasih sayang yang cukup besar kepada saya, yang menjadi salah satu alasan saya agar terus bertahan di Farmasi karena wasiat dari beliau yang sangat ingin menyaksikan saya menyelesaikan studi dan melihat saya mengenakan jas Apt. *Al-Fatiha* untuk beliau.
10. Terimakasih atas semua partisipasi dan dukungan, doa untuk penulis yang tidak sempat disebutkan satu persatu terima kasih.

Penulis berharap agar skripsi ini mampu memberikan manfaat dalam mengembangkan pengetahuan dan penelitian selanjutnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

Makassar, 2 Desember 2022



Syafira Pratiwi

## ABSTRAK

**Syafira Pratiwi.** *Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Bakau (Rhizophora racemosa) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.* (dibimbing oleh Herlina Rante dan Nana Juniarti Natrsir Djide).

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tanaman dengan kemampuan menghasilkan senyawa serupa inang maupun senyawa baru, termasuk senyawa antimikroba. Pencarian fungi endofit dari tanaman yang tumbuh di daerah lingkungan ekstrim diharapkan dapat meningkatkan diversifikasi isolat dan metabolit sekunder yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat fungi endofit yang telah diambil dari sampel daun bakau yang berada di lokasi Hutan Mangrove Tongke-Tongke, Sinjai Timur. Isolasi fungi endofit dilakukan pada media PDA menggunakan sampel daun yang telah disterilisasi permukaan (etanol 70%-NaOCL) dilanjutkan dengan uji antagonis dan fermentasi isolat aktif dalam media PDY. Hasil fermentasi diekstraksi menggunakan etil asetat (1:1) dan diujikan kembali terhadap bakteri uji. Sebanyak 1 isolat (kode A1, diduga merupakan genus *Aspergillus* sp.) diperoleh, isolat menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* pada uji antagonis. Ekstrak air dan ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas spektrum sempit terhadap bakteri *E. coli* dengan diameter 17,29 dan 21,97 berturut-turut. Isolat fungi endofit dari daun bakau yang berada di lokasi Hutan Mangrove Tongke-Tongke, Sinjai Timur disimpulkan menunjukkan potensi sebagai penghasil senyawa antimikroba.

Kata Kunci : Antibakteri, daun bakau, fungi endofit, hutan mangrove tongke-tongke.

## ABSTRACT

Syafira Pratiwi. antibacterial activity test of endophytic mangrove leaf fungi (*Rhizophora racemosa*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. (supervised by Herlina Rante and Nana Juniarti Natrsir Djide).

Endophytic fungi are microorganisms that grow in plant tissues with the ability to produce compounds similar to their hosts or new compounds, including antimicrobial compounds. The search for endophytic fungi from plants growing in extreme environmental areas is expected to increase the diversity of isolates and secondary metabolites produced. This study aims to determine the antibacterial activity of isolates of endophytic fungi that have been taken from samples of mangrove leaves in the Tongke-Tongke Mangrove Forest, East Sinjai. Isolation of endophytic fungi was carried out on PDA media using leaf samples that had been surface sterilized (70% ethanol/NaOCL), followed by antagonistic tests and fermentation of the active isolates in PDY media. The fermented product was extracted using ethyl acetate (1:1) and tested again against the test bacteria. A total of 1 isolate (code A1, presumably belonging to the genus *Aspergillus* sp.) was obtained; the isolate showed antimicrobial activity against the test bacteria *S. aureus* and *E. coli* in the antagonist test. The water extract and ethyl acetate extract showed narrow-spectrum activity against *E. coli* bacteria with diameters of 17,29 and 21,97, respectively. Endophytic fungi isolate from mangrove leaves located in the Tongke-Tongke Mangrove Forest, East Sinjai, were concluded to show potential as producers of antimicrobial compounds.

Keywords: antibacterial, mangrove leaves, endophytic fungi, tongke-tongke mangrove forest.

## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.2 Fungi Endofit	5
II.3 Fermentasi	9
II. Uraian Umum Bakteri Uji	11
BAB III METODE PENELITIAN	14
III.1 Alat dan Bahan	14
III.2 Metode Kerja	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
IV.1 Hasil Isolasi Fungi Endofit dari Daun Bakau ( <i>Rhizophora racemosa</i> )	20
IV.2 Uji Antagonis	22

IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi Isolat Fungi Endofit	24
IV.4 Uji Aktivitas Antibakteri	27
IV.5 Identifikasi Isolat Fungi Endofit	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	36
2. Tabel Penelitian	39
3. Gambar Hasil Penelitian	41

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Resistensi terhadap antimikroba merupakan salah satu masalah yang sering terjadi dalam dunia kesehatan. Resistensi mikroba terus berkembang dan menjadi sorotan utama dalam penanganan penyakit infeksi. Infeksi yang diakibatkan oleh bakteri yang resisten menyebabkan  $\pm 13.300$  pasien meninggal (Sengupta & Chattopadhyay, 2012). Secara klinis, bakteri tidak hanya dapat mengalami resisten terhadap satu antibiotika (*Singel Drug Resistance*), tetapi juga dapat resisten terhadap beberapa obat (*Multi Drug Resistance*). Selain itu, resistensi terhadap lini pertama antibiotika dapat mendorong penggunaan antibiotika lini kedua ataupun lini ketiga, yang secara umum memiliki biaya yang cukup mahal serta dapat mengurangi pilihan antibiotik untuk terapi penyakit infeksi (Radji dkk., 2013). Hal ini menjadi masalah penting, sehingga senyawa antimikroba baru penting ditemukan untuk melawan penyakit infeksi (Adwan, 2009).

Pengambilan senyawa metabolit langsung dari tanaman obat membutuhkan biomassa yang banyak dan waktu yang lama untuk tumbuh. Solusi untuk mengefisienkan perolehan senyawa bioaktif yang terdapat alam jaringan tumbuhan obat, yaitu fungi endofit (Setyowati & Wardah, 2007). Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam

jaringan tanaman (*xilem* dan *floem*) dari daun, akar, buah, dan batang yang mampu menghasilkan senyawa serupa inangnya maupun senyawa baru salah satunya, senyawa antibiotik (Murdiyah, 2017). Selama 5 tahun terakhir, fungi endofit telah banyak diteliti sebagai penghasil senyawa antibiotika. Penelitian oleh Margio (2012) melaporkan ada 86 isolat fungi endofit dalam 25 jenis tanaman berbeda dengan persentase isolat yang dapat memproduksi antibiotik sebesar 52,33%.

*Rhizophora racemosa* salah satu jenis bakau yang bagian daunnya diisolasi untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antitumor, insektisida, dan antileukimia (Vivi, 2017). Tanaman ini dapat menjadi kandidat sumber isolat fungi endofit penghasil senyawa antibiotika. Penelitian yang dilakukan oleh Prihanto dkk. (2011), berhasil memperoleh lima isolat fungi endofit yang diisolasi dari daun, batang, akar dari tumbuhan bakau yang diperoleh dari Sungai Porong, Sidoarjo. Tiga di antaranya memiliki aktifitas antimikroba. *S. aureus* ATCC 9144, sedangkan dua isolat aktif terhadap menghambat pada *E. coli* ATCC 8739. Penelitian lainnya oleh Tarman dkk. 2013 memperoleh lima isolat fungi endofit dari tumbuhan bakau yang diperoleh dari Taman Wisata Alam Angke Kapuk, Jakarta, yang menunjukkan daya hambat yang paling kuat terhadap *P. aeruginosa* dan zona hambat miselium paling kuat terhadap *S. aureus*.

Hutan bakau Tongke-Tongke yang terletak di daerah Sinjai Timur, Sulawesi Selatan memiliki ekosistem yang sangat baik. Di kawasan hutan bakau ini, tidak hanya ditumbuhi pohon bakau saja tetapi juga dijadikan

tempat penangkaran ikan air tawar, dan kepiting (Arfian dkk., 2017). Ekosistem yang beragam ini, dapat mempengaruhi diversitas mikroorganisme dan metabolit sekundernya sehingga, dapat menjadi sumber potensial bagi isolat baru. Selain itu, belum ada penelitian mengenai potensi fungi endofit dari hutan bakau ini.

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian terhadap tanaman bakau khususnya daun bakau untuk mendapatkan isolat fungi endofit yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba dari Hutan Bakau Tongke-tongke Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun bakau Hutan Tongke-Tongke *R. racemosa* mampu menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan fungi endofit *R.racemosa* dalam menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II. 1 Uraian Tanaman

##### II. 1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman Bakau (*Rhizophora racemosa*) merupakan tanaman dengan tatanan taksonomi

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Rhizophoraceae
Marga	: Rhizophora
Jenis	: <i>Rhizophora racemosa</i>

##### II.1.2 Nama Daerah

*Abat* (Ceram) *ailave*, *kailau* (Aru), *bako*, *bakau hitam*, *tancang* (Jawa), *bangko* (Bugis), *bangka* (Aceh), *lolaro*, *belukap* (Sulawesi), *bakauan*, *bakhaw* (Philipina), Indo-West Pasific stilt mangrove (English) (Duke, 2006).

##### II.1.3 Morfologi Tanaman

Tanaman bakau pada umumnya ditemukan di daerah beriklim tropis karena bakau membutuhkan kondisi konsisten hangat untuk pengembangan dan kelangsungan hidupnya. Selain itu, bakau dapat beradaptasi pada kondisi lingkungan yang ekstrim yang meliputi salintas

yang tinggi, angin kencang, variasi pasang surut, suhu tinggi dan rawa pasang surut anaerobik yang terdiri dari beberapa spesies yang kaya akan sumber metabolit aktif dan enzim (Sunarmi, 2010).

Pohon bakau memiliki ketinggian yang mencapai 30–50 m dengan diameter batang mencapai 50 cm. Pohon bakau memiliki sistem perakaran yang khas yang mencapai ketinggian 5 meter, dan kadang-kadang memiliki akar udara yang keluar dari cabang. Kulit kayu berwarna abu-abu tua dan berubah-ubah (Sunarmi, 2010).

Daun bakau berwarna hijau tua bagian atas dan hijau muda pada bagian bawah. Gagang daun panjangnya 17-35 mm dan warnanya kecoklatan. Tanaman bakau tumbuh pada tanah berlumpur, halus, dalam dan tergenang pada saat pasang normal serta menyukai perairan pasang surut yang memiliki pengaruh masukan air tawar yang kuat secara permanen. Kayu dari pohon bakau, biasanya dimanfaatkan untuk bahan bangunan, kayu bakar dan arang (Sunarmi, 2010).

#### **II.1.4 Kandungan Kimia**

*Rizhophora racemosa* dilaporkan mengandung beberapa senyawa bioaktif yaitu antresan, flavanoid, saponin, tanin, triperteniod , hidrokuinon (Kumari *et al.*,2005).

### **II.2 Fungi Endofit**

#### **II.2.1 Definisi Fungi Endofit**

Mikroba endofit merupakan organisme-organisme, baik fungi maupun bakteri yang terdapat dalam jaringan tanaman dan tidak bersifat

patogenik. Endofit merupakan suatu organisme yang hidup hanya satu periode siklus hidup dalam jaringan tanaman, tidak termasuk mikroorganisme yang hidup di permukaan tanaman maupun mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada tanaman (Irianto, 2007).

Istilah 'endofit' awalnya diperkenalkan oleh De Bary pada tahun 1866, mengacu pada setiap organisme yang hidup dalam jaringan tanaman. Beberapa ahli mikrobiologi menggunakan istilah "*endophyte*" (fungi endofit) hanya untuk fungi yang hidup berkoloni di dalam jaringan tanaman tertentu tanpa menyebabkan gejala penyakit yang terlihat pada saat tertentu (Gherbawy & Voigt, 2010). Fungi endofit memberikan efek yang menguntungkan bagi tanaman inangnya, seperti peningkatan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta berkontribusi untuk meningkatkan kapasitas tanaman inang untuk mentoleransi atau menghindari berbagai tekanan abiotik dan biotik yang merugikan. Hal ini dapat mengurangi ketergantungan bahan baku tumbuhan inangnya, dengan demikian keanekaragaman hayati dapat dipertahankan (Kuncoro & Erma Sugijanto, 2016).

Fungi endofit yang dihasilkan dari tumbuhan inang dapat menghasilkan jenis isolat yang bervariasi. Hal ini merupakan mekanisme adaptasi dari kondisi fisiologis yang spesifik dari tumbuhan inang. Bahkan dari satu jaringan hidup suatu tumbuhan dapat diisolasi lebih dari satu jenis fungi endofit (Noverita *et al.*, 2009).

## II.2.2 Interaksi Fungi Endofit dengan Tumbuhan Inang

Interaksi mutualisme fungi endofit dengan tanaman inangnya disajikan dari tiga aspek yang berbeda. Pertama, sebagian besar fungi endofit dapat menghasilkan hormon tanaman yang berbeda untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman inang. Sebagai contoh, pertumbuhan gandum (*Triticum aestivum* L.) dapat ditingkatkan oleh *Azospirillum* sp. di bawah tekanan kekeringan. Kedua, fungi endofit akan menghasilkan senyawa bioaktif yang berbeda, seperti alkaloid, diterpen, flavonoid, dan isoflavonoid untuk meningkatkan ketahanan tanaman inang terhadap tekanan biotik dan abiotik. Ketiga, fungi endofit dapat meningkatkan akumulasi metabolit sekunder (termasuk komponen obat atau obat yang penting) yang awalnya diproduksi oleh tanaman. Metabolit ini dapat diproduksi oleh tanaman inang dan fungi endofit (Jia dkk., 2016).

Mikroba endofit dan tumbuhan inangnya bersimbiosis secara mutualisme. Mikroba endofit berperan dalam melindungi tumbuhan dari serangan penyakit dan kekeringan dengan meningkatkan daya tahan tumbuhan, dan mikroba endofit juga berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tumbuhan (Bahi & Anizar, 2013).

Interaksi mikroba endofit dapat terbantu dalam upaya reproduksi dan kolonisasi. Sedangkan tumbuhan inang akan mendapatkan keuntungan berupa penginduksian ketahanan terhadap berbagai tekanan yang disebabkan oleh faktor biotik maupun abiotik. Mikroba endofit juga meningkatkan laju pertumbuhan tumbuhan dengan menginduksi produksi

fitohormon, akses meniral dan nutrisi meningkat, dan sintesis metabolit antagonistik meningkat (Schulz & Boyle, 2006).

### **II.2.3 Metabolit Sekunder Fungi Endofit**

Fungi endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan jenis tanaman inangnya, hal ini merupakan peluang untuk memproduksi metabolit sekunder dari fungi endofit tersebut. Dengan demikian kita dapat mengambil kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi tersebut tanpa harus melakukan panen dari tanaman inang untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan membutuhkan waktu untuk dipanen (Radji, 2005).

Fungi endofit menghasilkan beberapa jenis metabolit sekunder. Beberapa metabolit–metabolit yaitu bersifat *herbisidal* (antara lain brefeldin A yang dihasilkan oleh *Aspergillus clavatus*), antibakterial (antara lain pyrrocidine A dan B yang dihasilkan oleh *Acremonium zeae*), antiviral (misalnya mellein yang dihasilkan oleh *Penicillium janzcewskii*), antifungi (antara lain pyrocidine A dan B yang dihasilkan oleh *Acremonium zeae*), dan antikanker (misalnya vincristine yang dihasilkan oleh *Fusarium oxysporum*) dan juga memicu pertumbuhan dengan sifat–sifat fitohormon, oleh karena itu, fakta bahwa fungi endofit bisa menghasilkan metabolit sekunder dengan kemampuan yang beragam (Schulz *et al.*, 2002).

### II.3 Fermentasi

Fermentasi merupakan istilah yang digunakan oleh ahli mikrobiologi untuk menggambarkan proses produksi oleh kultur massa mikroorganisme. Produk yang dihasilkan dapat berupa biomassa maupun metabolit sekunder, yang dihasilkan oleh strain alami maupun strain rekombinan. (Pumphrey, 1996).

Menurut Rahman (1989), Fermentasi adalah suatu proses yang dapat menghasilkan produk tertentu yang berasal dari mikroorganisme. Salah contoh industri fermentasi yaitu industri makanan. Berbagai produk dihasilkan seperti tempe, kecap, keju dan tape. Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain adalah pH, oksigen, suhu dan inoculum.

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses fermentasi mikroorganisme antara lain (Stainer, 1982) :

#### 1. Kultur Permukaan (*Surface Culture*)

Pada metode ini, medium diinokulasikan spora atau miselium fungi. Miselium akan tumbuh permukaan medium cair membentuk suatu koloni bervariasi. Ini merupakan metode yang paling mudah dan murah, akan tetapi memiliki beberapa kerugian yaitu pertumbuhan yang tidak homogen dimana koloni terdiri dari beberapa miselium yang berbeda pertumbuhannya dan lingkungan tumbuhnya dimana miselium yang berada permukaan koloni berada dalam kondisi yang lebih aerobik dibandingkan yang permukaan koloni, hal ini berkebalikan pada keadaan kontak dengan

medium.

## 2. Kultur Dengan Pengocokan (*Shaker Culture*)

Metode ini medium dikocok setelah diinokulasikan spora atau miselium sehingga pertumbuhan akan tampak pada seluruh medium. Kelebihan metode ini dibandingkan dengan metode kultur permukaan yaitu pemanfaatan medium oleh mikroorganisme lebih efisien, mempercepat pertumbuhan dan pertumbuhannya lebih homogen.

## 3. Kultur Dengan Pengocokan, Mengalirkan Udara (*Stirred Aerate Culture*)

Metode ini merupakan pengembangan dari metode kultur dengan pengocokan, menggunakan pengaduk medium dan jalur udara atau oksigen. Dikarenakan efisiensi pengocokan dan aerasi produksi dapat meningkat pesat dan ini merupakan metode yang paling efisien untuk memproduksi metabolit fungi dalam skala besar.

## 4. Kultur Berkelanjutan (*Continuous Culture*)

Metode ini dilakukan dengan cara berkala mengganti medium pada fermentor dengan medium fermentasi yang baru, hal ini akan menyebabkan proses fermentasi akan terus berlangsung.

Menurut Davis dkk. (1971) respon pertumbuhan bakteri dan fungi dikategorikan berdasarkan zona hambat yang dihasilkan melalui empat tahap:

### a. Fase Lag

Fase penyesuaian atau adaptasi mikroba terhadap media baru. Selama fase lag, tidak terjadi peningkatan jumlah sel, tetapi hanya terjadi

peningkatan ukuran sel mikroba. Lama fase lag sangat dipengaruhi oleh kondisi dan jumlah awal mikroba (inokulum) dan media pertumbuhan;

b. *Fase Log/Eksponensial*

Mikroba tumbuh dan memperbanyak sel dengan kecepatan maksimum, tergantung pada genetika mikroba, media dan kondisi pertumbuhan.

c. *Fase Stasioner*

Terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dan sel yang mati. Pada fase ini terjadi akumulasi senyawa toksik oleh mikroba

d. *Fase Kematian*

Jumlah sel mati meningkat karena nutrisi dalam media telah habis dan akumulasi senyawa toksik

## **II.4 Uraian Umum Bakteri Uji**

### **II.4.1 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif dan berbentuk kokus. Bakteri tersebut tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupai buah anggur), berbentuk menyerupai bola dengan garis tengah  $\pm 1 \mu\text{m}$ , dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu. Bakteri *S. aureus* bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pada pH 4,2-9 (Dewi, 2013).

**a. Klasifikasi**

Kerajaan	: Protophyta
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i>

**b. Sifat dan Morfologi**

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ , terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama; peptidoglikan dan asam teikoat. Metabolisme secara respiratif dan fermentatif. Tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan *aerob*. Suhu optimum 35-40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Kisaran inangya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial (Dewi, 2013).

**II.5.2 *Escherichia coli*****a. Klasifikasi**

Divisi	: Procaryota
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Enterobacteriaes

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Escherichia

Jenis : *Escherichia coli*

#### **b. Sifat dan Morfologi**

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus, 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0-6,0  $\mu\text{m}$ , motil dengan flagelum peritrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktose difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (Pelczar, 1988; Holt, 1994). Bakteri *E. coli* seringkali menyebabkan infeksi pada usus, dan merupakan penghuni normal (*flora normal*) usus (Elfindasari, 2011).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *plastic ziplock*, alat-alat gelas, lampu spiritus, ose, labu tentukur, timbangan, pisau skalpel, autoklaf, inkubator, pinset, corong pisah, *corkborer*, tabung reaksi, shaker, sonikator, *water bath*, *freeze dryer*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun bakau, media *Nutrient Agar*, media *Potato Dextrosa Agar*, media *Muller Hinton Agar*, mikro uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, etanol 70%, larutan Natrium hipoklorit 25%, aquadest, spoit, kertas cakram, aluminium foil, spoit, kertas cakram, kertas timbang, Standar Mc *Farland* (Nomedic<sup>®</sup>)

#### **III.2 Metode Penelitian**

##### **III.2.1 Penyiapan Sampel**

Sampel diperoleh di Kawasan Hutan Bakau Tongke-Tongke di Desa Tongke-Tongke Kecamatan Sinjai Timur Kabupaten Sinjai Provinsi Sulawesi Selatan dengan titik koordinat yaitu berada di S 5°8'57.354" E120°16'23.0952. Sampel daun bakau kemudian dimasukkan ke dalam *plastic ziplock* lalu dibawa ke laboratorium untuk digunakan dalam penelitian.

### **III.2.2 Sterilisasi alat**

Semua alat yang telah dicuci bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas yang tidak berskala seperti cawan petri dan lainnya, disterilkan di dalam oven dengan suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat gelas lainnya yang berskala dan berbahan karet disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada nyala api.

### **III.2.3 Pembuatan Medium**

#### **III.2.3.1 Medium NA (*Nutrient Agar*)**

Sebanyak 2,3 gram medium NA ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest dan dicukupkan hingga 100 mL. Setelah itu, media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 1 jam dengan tekanan 2 atm.

#### **III.2.3.2 Medium PDA (*Potato Dextrosa Agar*)**

Media PDA ditimbang sebanyak 7,8 gram dan dilarutkan dalam 200 ml aquadest lalu dipanaskan sampai melarut sempurna. Kemudian, medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### **III.2.3.3 Medium PDY (*Potato Dekstrosa Yeast*)**

Media PDB ditimbang sebanyak 4,8 gram dan ditambahkan ekstrak yeast 0,8 gram dilarutkan dalam 200 ml air suling dan dipanaskan serta diatur untuk pH  $\pm 7,0$ . Selanjutnya, medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

### III.2.4 Isolasi dan Pemurnian Fungi Endofit Penghasil Antimikroba

Sampel yang telah dicuci dengan air mengalir kemudian, disterilisasi permukaan dengan menyemprotkan etanol 70%, lalu sampel dipotong-potong dengan pisau skalpel steril menjadi ukuran  $\pm 1$ cm. Selanjutnya, disterilisasi dengan perendaman larutan Etanol 70% selama 30 detik kemudian dilanjutkan dengan perendaman Natrium hipoklorit 5,25% selama 15 detik. Setelah itu, sampel dibilas lagi dengan aqudest sebanyak tiga kali ke dalam beaker. Etanol 70% memiliki mekanisme kerja yang dapat melarutkan lemak pada membran protein mikroba, mendenaturasi protein, sehingga sel mikroba dapat rusak. NaOCl 5,25% termasuk golongan halogen, yang merupakan zat kimia yang mampu merusak membran dan protein mikroba dengan melepaskan radikal klor. Air steril yang dipakai untuk membilas sampel berfungsi dalam menghilangkan sisa-sisa larutan yang terdapat pada permukaan daun. Sterilisasi permukaan bertujuan untuk mencegah tumbuhnya mikroba epifit, yakni mikroba yang tumbuh pada permukaan tumbuhan yang dapat mengkontaminasi fungi endofit (Zhu *dkk*, 2008). Setelah itu, sampel yang telah melalui proses sterilisasi ditanam pada cawan petri yang berisi media PDA dan diinkubasi pada suhu kamar (25°C) selama 14 hari. Berdasarkan komposisinya, PDA termasuk dalam media semi sintetik karena tersusun atas bahan alami (kentang) dan bahan sintesis (dextrose dan agar). Kentang merupakan sumber karbon (karbohidrat), vitamin dan energi, dextrosa sebagai sumber gula dan energi, selain itu komponen agar berfungsi untuk memadatkan medium PDA.

Masing-masing dari ketiga komponen tersebut sangat diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakkan mikroorganisme terutama jamur. Maka dari itu, pada proses isolasi fungi endofit digunakan medium PDA (Barnett & Hunter, 1998). Sebagai kontrol, air bilasan terakhir diinokulasikan pada media yang sama. Kemudian pertumbuhan fungi diamati lalu dimurnikan dengan menginokulasi isolat pada media baru.

### **III.2.5 Penyiapan Mikroba Uji**

Bakteri uji masing-masing diinokulasikan di atas permukaan medium NA miring. Kemudian, biakan diinkubasi dalam inkubator selama 18 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji yang telah diremajakan masing-masing diambil menggunakan ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl fisiologis 0,9% steril sebanyak 9 mL sampai kekeruhan bakteri sama dengan standar McFarland 0,5 (setara dengan jumlah perkiraan suspensi bakteri yaitu  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Sulistiyani & Akbar, 2013).

### **III.2.6 Uji Antagonis**

Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode *agar block*. Metode *agar block* dilakukan dengan cara memotong isolat fungi endofit murni yang telah ditumbuhkan. Uji antagonis dilakukan untuk melihat aktivitas langsung terhadap organisme uji dan menyeleksi isolat-isolat yang memiliki aktivitas antimikroba. Hal ini dapat diamati dengan terbentuknya zona bening sebagai zona hambat pertumbuhan. Tujuannya untuk mengukur dan mengetahui kemampuan fungi antagonis dalam menekan

pertumbuhan dan perkembangan fungi patogen (Amaria, 2013). Media isolat fungi endofi yang telah ditumbuhkan kemudian dipotong menggunakan *corkborer* lalu ditempelkan pada medium NA yang telah diinokulasi bakteri uji. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona bening yang terbentuk. Isolat aktif kemudian dilanjutkan untuk proses fermentasi.

### **III.2.7 Fermentasi dan Uji Aktivitas Antibakteri**

Isolat fungi yang telah aktif terhadap mikroba uji, dilanjutkan ke tahap fermentasi untuk di produksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri. Isolat aktif dibuat starter pada cawan petri yang berisi medium PDA, kemudian dipotong dan di inokulasikan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 100 mL pada media cair PDY. Proses fermentasi dengan media cair lebih efektif dibandingkan menggunakan media padat untuk memproduksi biomassa, serta lebih optimal mengabsorpsi nutrisi dalam media cair, dan dapat terus homogen jika mengalami proses agitasi dalam waktu yang lama (Urhidayah *et al.*, 2010). Kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 6 haridengan terus di *shaker* dengan kecepatan 150 rpm yang bertujuan untuk memperluas kontak antar udara dalam lingkungan sekitar dengan medium fermentasi, sehingga oksigen dalam udara yang terlarut dalam medium menjadi meningkat. Ketersediaan oksigen yang terlarut dalam medium digunakan untuk proses metabolisme oleh bakteri dalam medium tersebut. Semakin besar kecepatan agitasi yang diberikan, maka kelarutan oksigen dalam medium akan semakin tinggi (Rao & Stevens 2005).

Prekultur sebanyak 100 mL dicuplik setiap hari sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung sentrifius.

Sebanyak 1 swab bakteri uji *S. aureus* dan *E. Coli* masing-masing diinokulasikan ke media MHA dan dibiarkan mengering. Isolat aktif lalu dipipet 20  $\mu$ L ke dalam kertas cakram (diameter 6 mm) dan diangin-anginkan untuk menghilangkan pelarut. Kertas cakram berisi isolat ditempelkan pada media MHA dan diinkubasi selama 1x24 jam kemudian diamati zona hambatnya.

### **III.2.8 Ekstraksi Isolat dan Uji Aktivitas Antimikroba**

Setelah dilakukan fermentasi hingga hari ke-6, media pertumbuhan mikroba disaring untuk memisahkan biomassa dan cairan fermentasi, setelah itu disonikasi selama 1 jam. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu sampel dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano (Kurt AB, 2016). Cairan fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan (1:1 v/v) dalam corong pisah yang digojok selama 20 menit. Pelarut etil asetat yang bersifat semipolar digunakan dengan maksud untuk mendapatkan komponen yang bersifat polar sekaligus non polar selain itu, yang akan diekstraksi adalah air yang bersifat polar sehingga dipilih pelarut yang tidak bercampur dengan air (Mawaddah 2008). Ekstrak etil asetat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotavapor sedangkan ekstrak air dikeringkan dengan *freeze drying* lalu disimpan pada desikator untuk digunakan pada uji selanjutnya.

Sebanyak 1 swab bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. Coli* ATCC 25922 masing-masing diinokulasikan ke media MHA dan dibiarkan mengering. Ekstrak uji kemudian dipipet 20  $\mu$ L ke dalam kertas cakram (diameter 6 mm) dan diangin-anginkan untuk menghilangkan pelarut. Kemudian, kertas cakram berisi ekstrak ditempelkan pada media MHA dan diinkubasi selama 1x24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

### **III.2.9 Identifikasi Fungi Endofit**

Fungi endofit diambil menggunakan ose bulat dan disuspensikan dengan air steril pada *object glass* untuk membuat preparat. Preparat difiksasi pada nyala api lampu spiritus dan dibiarkan mengering, perlu berhati-hati agar nyala api tidak langsung menyentuh sampel. Preparat yang telah mengering selanjutnya dilakukan pewarnaan menggunakan lactophenol cotton blue lalu dibiarkan selama 1 menit. *Object glass* kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Dilakukan pengamatan preparat untuk melihat bentuk hifa, dan spora pada mikroskop. Data yang telah dikumpulkan kemudian dianalisis dengan membandingkan ciri fungi dengan penelitian fungi sebelumnya yang telah diketahui.

### **III.2.10 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan**

Data dari hasil penelitian selanjutnya dikumpulkan, dianalisis, serta diinterpretasi, lalu ditarik kesimpulan berdasarkan hasil dan pembahasan.

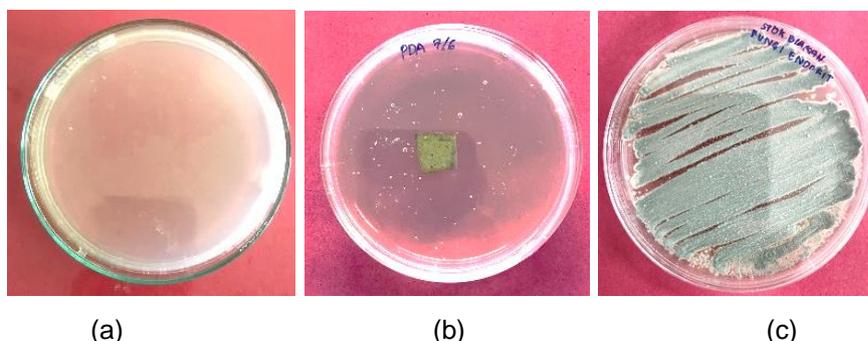
## BAB VI

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Isolasi Fungi Endofit dari Daun Bakau (*Rhizophora racemosa*).

Dalam penelitian ini dilakukan isolasi fungi endofit dari daun bakau untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang sifatnya mirip atau sama dengan inangnya (Tan & Zou, 2001). Sebelum diisolasi, daun diberikan perlakuan sterilisasi permukaan. Sterilisasi permukaan menggunakan tiga tahap, yang pertama sampel daun bakau direndam selama 30 detik menggunakan etanol 70%, lalu setelah itu dilanjutkan dengan perendaman NaOCL 5,25% selama 15 detik, tahap terakhir sampel dibilas sebanyak tiga kali dengan aquadest steril.

Sampel daun bakau yang sudah disterilisasi permukaan, kemudian dipotong lalu ditempelkan pada media PDA. Pada hari ke-8 inkubasi, diperoleh isolat yang diduga fungi endofit yang ditunjukkan pada Gambar 1(c), dengan karakteristik fungi berwarna hijau keabuan pada koloninya dan ditumbuhi rambut halus berwarna putih di sekitarnya.

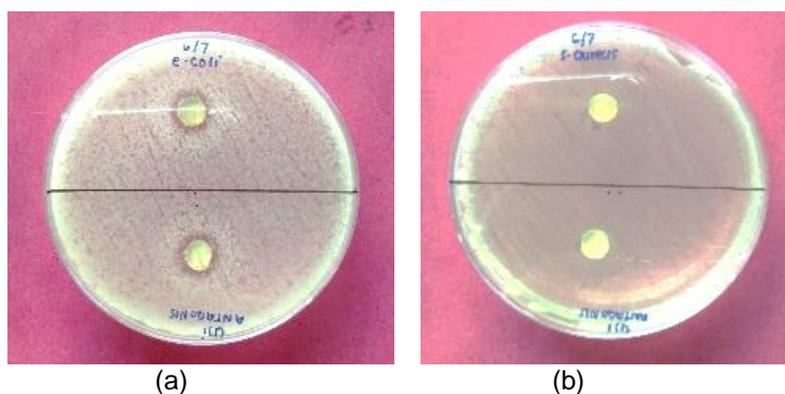


Gambar.1 Hasil Isolasi Fungi dari Daun Bakau (*R.racemosa*): (a) Kontrol ruang; (b) Isolasi sampel daun bakau pada medium PDA; (c) Isolat fungi

Isolat fungi endofit yang didapatkan merupakan isolat murni karena melalui proses sterilisasi permukaan. Proses sterilisasi permukaan bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan sampel, yang dapat menghambat ataupun mengkontaminasi pertumbuhan isolat murni fungi endofit (Balitbiogen, 2003).

#### IV.2 Uji Antagonis Fungi Endofit

Isolat fungi endofit yang diberi kode A1, selanjutnya dilakukan uji antagonis dan diperoleh hasil setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.



**Gambar.2 Hasil Uji Antagonis Isolat Fungi Endofit A1: (a) Uji antagonis menggunakan bakteri uji *e.coli*; (b) Uji antagonis menggunakan bakteri uji *s.aureus***

Sehingga diperoleh hasil isolat A1 yang dapat dilihat pada Gambar 2 (a), memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* karena terdapat zona bening disekitar isolat A1 sedangkan pada bakteri *S. aureus* yang dapat dilihat pada gambar 2 (b) tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak terdapat zona bening disekitar isolat A1. Hal ini menandakan bahwa, isolat fungi endofit dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji disebabkan karena adanya kompetisi ruang dan nutrisi antara isolat fungi endofit

dengan bakteri uji.

### IV.3 Fermentasi dan Ekstraksi Fungi Endofit

Isolat fungi endofit A1 yang aktif terhadap mikroba uji kemudian di lanjutkan ke tahap fermentasi untuk diproduksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri. Media PDY yang telah dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL sebanyak 100 mL kemudian diagitasi selama 6x24 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 28-30°C selama 6 hari. Proses agitasi atau pengocokan yang dilakukan selama 6x24 tanpa henti.

Setelah 6 hari fermentasi, biakan yang tumbuh berbentuk granul yang semakin hari jumlahnya semakin banyak dan terbentuk seperti selaput berwarna putih pada permukaan media. Hasil dari proses selama 6 hari masa inkubasi dapat dilihat pada Gambar 3.



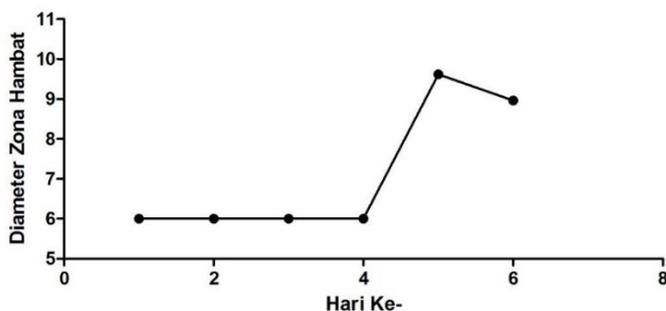
**Gambar 3. Kultur yang telah di shaker selama 6x24 jam**

Kultur dicuplik setiap harinya sebanyak 2 mL lalu diendapkan untuk memisahkan biomassa. Selanjutnya, sebanyak 20  $\mu$ L kultur yang telah dipisahkan biomasanya diteteskan pada kertas cakram kemudian diletakkan di atas medium MHA yang sudah diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati zona

hambat yang terbentuk.

Pada hari pertama hingga hari ke empat tidak ditemukan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram hal ini menandakan tidak ada aktivitas antibakteri pada hasil fermentasi, sedangkan pada hari kelima dan keenam terlihat adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.

Penentuan Waktu Optimum Fermentasi Terhadap *E.coli* Isolat Fungi Endofit A1



**Gambar 4.** Kurva hubungan antara diameter zona hambat (mm) dan lama fermentasi (Hari) Isolat Fungi Endofit A1 terhadap bakteri *E. coli*

Setelah itu dilakukan ekstraksi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit yang dihasilkan dari fermentasi berdasarkan kepolarannya (Kumala dkk, 2014). Hasil fermentasi kemudian disatukan dalam labu Erlenmeyer 1000 mL lalu disonikasi selama 1 jam untuk memecah sel sehingga senyawa metabolit berdifusi ke pelarut. Selanjutnya, proses ekstraksi menggunakan metode partisi menggunakan pelarut Etil asetat dengan perbandingan 1:1 v/v dalam corong pisah yang digojok selama 20 menit sehingga membentuk dua fase yakni fase Etil asetat dan air. Filtrat Etil asetat yang ditampung kemudian diuapkan menggunakan *Rotavapor* sedangkan filtrat air dikeringkan menggunakan *Freezedrying*.

Hasil ekstraksi dari fermentasi isolat fungi endofit A1 diperoleh, ekstrak Etil asetat sebanyak 730 mg dan ekstrak air sebanyak 2.710 mg.

#### IV.4 Uji Aktivitas Antibakteri

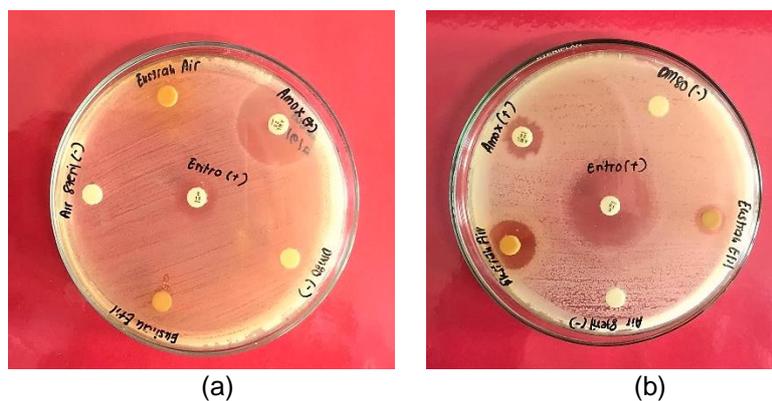
Sebanyak 20  $\mu$ L ekstrak isolat A1 diteteskan pada kertas cakram lalu diangin-anginkan, hal ini bertujuan untuk mencegah pelarut ekstrak memberi zona hambat. Setelah itu, kertas cakram ditempelkan pada media MHA yang telah diinokulasikan bakteri uji yaitu *S. aureus* dan *E. coli* selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

Hasil pengujian ekstrak isolat A1 pada bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 1

**Tabel 1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat dan Ekstrak Air Isolat Fungi Endofit A1 Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.**

Sampel	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Amoxicilin (kontrol positif)	27,16 $\pm$ 1,58	14,83 $\pm$ 0,53
Eritromisin	12,17 $\pm$ 2,17	29,45 $\pm$ 1,51
Ekstak Etil Asetat	6,00	11,29 $\pm$ 1,14
Ekstrak Air	6,00	15,97 $\pm$ 1,91
DMSO	6,00	6,00
Air Steril	6,00	6,00

Pada Tabel 1 dapat dilihat, bahwa ekstrak isolat A1 tidak dapat menghambat bakteri *S. aureus*. Ekstrak isolat fungi endofit A1 menunjukkan daya hambat yang baik pada bakteri Gram negatif saja sehingga, dapat disimpulkan dari tabel pengamatan tersebut bahwa ekstrsk isolat fungi endofit A1 memiliki sifat antibakteri spektrum sempit. Penghambatan tersebut juga diasusimkan akibat adanya senyawa antimikroba yang dihasilkan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak air dan ekstrak etil dari isolat fungi endofit A1.



**Gambar 5. Aktivitas Antibakteri Hasil Ekstraksi Isolat Fungi Endofit A1: (a) Uji aktivitas antimikroba isolat A1 menggunakan bakteri uji *S. aureus*; (b) Uji aktivitas antimikroba isolat A1 menggunakan bakteri uji *E. coli***

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan isolat murni fungi endofit A1 memiliki rata-rata diameter terhadap daya hambat bakteri *E. coli* 11,29 mm untuk zona bening ekstrak etil asetat dan 15,97 mm untuk zona bening ekstrak air. Menurut Davis dan Stout (1971) kriteria kekuatan daya antibakteri dengan diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, untuk zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm lebih dikategorikan sangat kuat, sehubungan dengan itu berdasarkan diameter rata-rata dari uji aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat dan ekstrak air dari isolat murni fungi endofit A1 masuk kedalam kategori kuat.

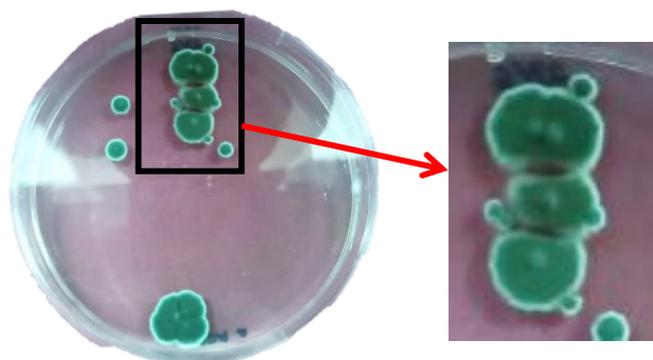
Penggunaan pelarut etil asetat digunakan dengan tujuan agar kandungan senyawa yang bersifat semi polar dapat tersari, sedangkan pelarut air digunakan dengan tujuan agar kandungan senyawa yang bersifat polar larut dalam pelarut tersebut (Andriyanto dkk., 2016). Aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* oleh ekstrak etil asetat dan air diduga disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenol, flavanoid

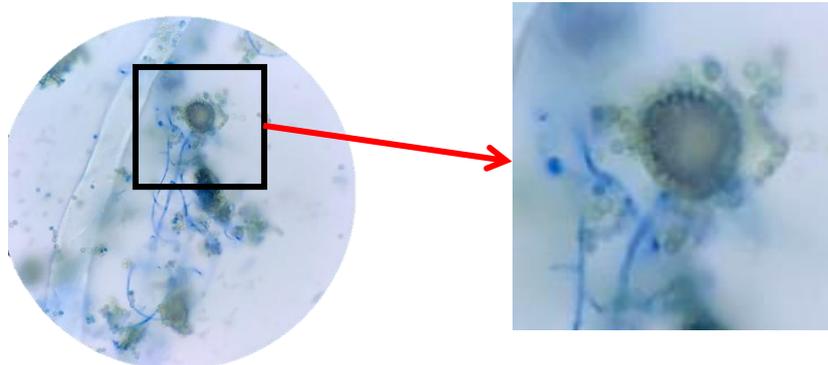
dan saponin.

#### IV. 5 Identifikasi Fungi Endofit

Isolat fungi dikarakterisasi secara makroskopis pada media PDA. Karakterisasi makroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi koloni meliputi warna koloni, warna sebalik koloni (*reverse color*), tekstur (granular, seperti tepung, seperti beludru, seperti kapas), zonasi, dan tetes eksudat (*exudates drops*) (Gandjar, 2000). Sedangkan pengamatan mikroskopik sel dilakukan pewarnaan gram yang merupakan pewarnaan diferensial (Rismawati, 2018).

Pengamatan mikroskopik dilakukandenganmetode *slide culture*. Metode *slide culture* memiliki keuntungan yaitu metode yang dilakukan secara sederhana dan mudah sertaidak merusak miselium dari isolat yang akan diamati. Hasil isolasi dan identifikasi fungi endofit dari sampel daun bakau *R. racemose* diperoleh 1 isolat fungi endofit yang kemudian diamati menggunakan perbesaran mikroskop 100x (okuler 10x dan objektif 10x). Hasil uji mikroskop dapat dilihat pada gambar 6.





**Gambar 6. Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik Isolat Fungi Endofit A1**

Hasil yang didapatkan setelah mengamati isolat murni fungi endofit A1 secara makroskopik dan mikroskopik diduga fungi Endofit *Aspergillus* sp. yang sesuai dengan cirinya yaitu berwarna hijau tua dengan bentuk bulat tidak teratur, serta tipe permukaan yang halus. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan fungi memiliki hifa bersepta uninukleat, namun, bentuk spora tidak bisa diamati dengan jelas karena telah terurai sehingga biakan ini belum bisa teridentifikasi secara mikroskopi. Disarankan adanya pengujian pada tingkat molekuler.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, telah didapatkan isolat fungi endofit murni A1 yang diperoleh dari sampel daun bakau *Rhizophora racemosa*. Sampel diperoleh dari Hutan Mangrove Tongke-Tongke, Sinjai Timur, Sulawesi Selatan. Setelah dilakukan uji aktivitas antimikroba, ekstrak etil asetat dan ekstrak air isolat fungi endofit A1 mampu menghambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*.

#### **V.2 Saran**

Sebaiknya dilakukan uji aktivitas antimikroba dengan beberapa jenis bakteri. Selain itu, diharapkan untuk mengidentifikasi senyawa apa yang terkandung pada sampel daun bakau yang dapat memberikan aktivitas antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adwan, G., Shanab, B.A., dan Adwan, K. 2009. In Vitro Interaction of Certain Antimicrobial Agens in Combination with Plant Extracts Againts Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 4 (3): 158-162
- Arfan, A., Umar, R., & Fauzi, K. (2017). Peranan Pemerintah, Masyarakat dan Strategi Pengelolaan Ekowisata Hutan Mangrove di Tongke Tongke Kecamatan Sinjai Timur Kabupaten Sinjai. *Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*, 6(2), 107-115.
- Bahi, M. dan Anizar. 2013. Senyawa Antibiotika dari Bakteri dan Fungi Endofit. Prosiding Semirata. Fakultas MIPA Universitas Lampung. Lampung. Hal. 429–432.
- Schulz, B. and Boyle, C. 2006. What are Endophytes?. *Microbial Root Endophytes*. Ed. 9. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. Hal. 1–14.
- De Kraker, ME., Jarlier, V., Monen, JC., Heuer, OE., van de Sande, N., Grundmann, H. 2012. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect*. 19 ; 860-868
- Dewi, A. K. 2013. isolasi , identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE ) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. (online). Vol. 2. No. 31. (<https://jurnal.ugm.ac.id/jsv/article>, diakses pada 11 Juli 2018). Hal. 138 150.
- Davis, W.W. and T.R Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *J. Microbiology*. (4):659-665.
- Djide, N., Sartini. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi. Makassar: Lembaga Penerbitan Unhas. Hal. 328, 339-342, 367-370
- Duke, N.C. 2006. Indo-West Pacific stih mangrove. *Species Profiles for*

Pacific Island Agroforestry ([www.frtraditionalfree.org](http://www.frtraditionalfree.org))

- Fatiqin, A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun dan Kulit Pulai (*Alstonia scholaris*) sebagai penghasil Senyawa Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri.
- Gandjar, I. 2000. Pengenalan Kapang Tropic Umum. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Gherbawy, Y., & Voigt, K. (Eds.). 2010. Molecular Identification of Fungi. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin. 277-278 pp.
- White, J. F., and Torres, M. S. 2009. Defensive Mutualism in Microbial Symbiosis. CRC Press. New York. 367-387 pp
- Holt, J. G. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Phyllis, E. (Ed.). *Difco Manual* (11th ed). Sparks, Maryland: Difco Laboratories, Division of Becton Dickinson and company.
- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Bandung: Yrama Widya. Hal. 91
- Kardinan, A. 2003. Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Kuncoro, H. and Erma Sugijanto, N. 2016. Mini Review Fungi Endofit Biodiversitas , Potensi Dan Prospek. *Journal Tropical Pharmacy Chemistry*. Vol. 1. No.3. (<https://www.researchgate.net/>, diakses pada 11 Juli 2018).
- Levin, Todd P. Darric E. Baty. Thomas Fekete. 2004 American Society for Microbiology. All Rights Reserved. *Cladophialophora bantiana* Brain Abscess in a Solid-Organ Transplant. *Journal Of Wahyuni, dkk IJOBB*, Vol 3 (1), 2019 25 *Clinical Microbiology*. Vol. 42, No. 9:4374–4378.
- Martha, D., Achmad, S., Tejasari. 2015. *Escherichia coli* resisten terhadap setriakson dan siplofloksasin: Prosiding Pendidikan Dokter Bandung. Universitas Islam Bandung

- Mawaddah, R. 2008. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami dan Aplikasinya Dalam Bahan Pangan Di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Hal. 1-114.
- Mulyani, S. 2006. Kimia dan Bioteknologi Dalam Resistensi Antibiotik', Makalah Utama Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Negeri Surakarta. Surakarta. Hal. 257–265.
- Nedialkova, D. and Naidenova, M. 2015. Screening The Antimicrobial Activity of Actinomycetes Strains Isolated from Antarctica. *Journal of Culture Collections*. Vol. 4: 29-95
- Noverita, Fitriah, D, dan Sinaga E. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Fungi Endofit dari Daun dan Rimpang Zingiber ottensii Val. *Jurnal Farmasi 35 Indonesia*. (Online). Vol. 4. No.4. (<http://jfionline.org>, diakses pada April 2018). Hal. 171 -176.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. and Hadioetomo, R. S. 2016. Dasar-dasar mikrobiologi Jilid 2. UI press. Jakarta
- Elfindasari, D. (2011) 'Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah Escherichia coli Terlarut', *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. (Online). Vol. 1. No. 1. ([jurnal.uai.ac.id/i](http://jurnal.uai.ac.id/i), diakses pada 11 juli 2018). Hal. 18–23.
- Pratiwi ST. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Prihaningtias, W. 2005. Senyawa Bioaktif Fungi Endofit Tumbuhan Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca Miers*) Sebagai Agensia Antimikroba. *Tesis*. Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana UGM.
- Prihanto AA. Perbandingan Aktivitas Antibakteri *Penicillium notatum* ATCC 28089 Dengan *Penicillium sp.* R1M yang Diisolasi dari Mangrove *Sonneratia casaolari*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
- Prihanto, A.A., Firdaus, M., Nurdiani, R. Endophytic Fungi Isolated from

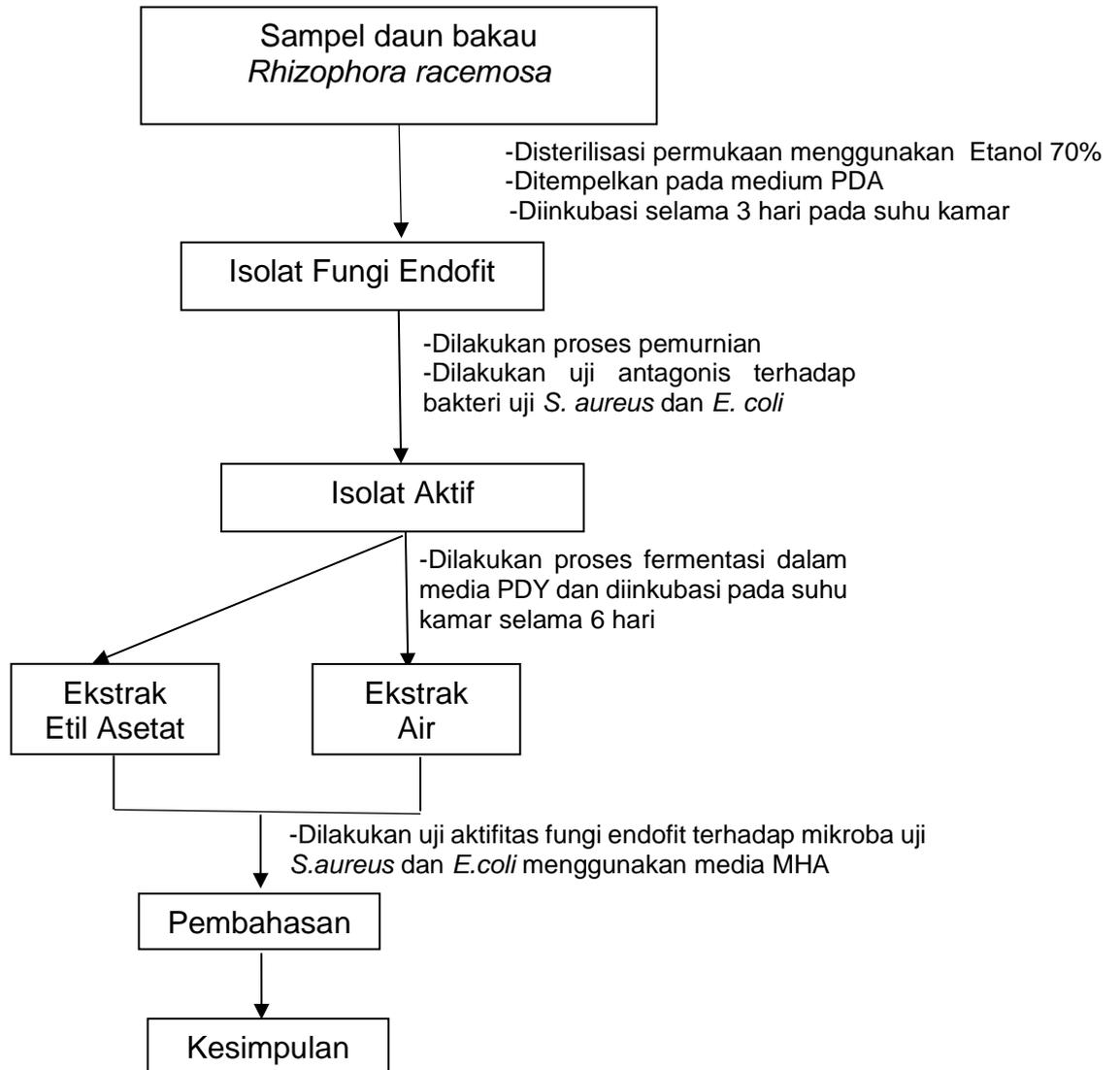
- Mangrove (*Rhizophora mucronata*) and Its Anticacterial Activity on *S.aureus* and *E.coli*. *Journal of Food Science and Engineering* 1 (2001) 386-389
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Jilid 2. No. 3. Hal. 113–126.
- Rismawati. (2018). Identifikasi Bakteri Endofit Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia marina*) dan Potensinya Menghasilkan Senyawa Anti Mikroba. In Skripsi. UIN Alauddin Makassar.
- Rozali, G. 2015. Penapisan Jamur Antagonis Indigenus Rizosfir Kakao (*Theobroma cacao* Linn.) yang Berpotensi Menghambat Pertumbuhan Jamur *Phytophthora palmivora* Butler. Skripsi. Padang: Universitas Andalas
- Sengupta, S dan Chattopadhyay. Antibiotic Resistance of Bacteria : A Global Challenge. Vol.17, No.2 : Hal : 177-191
- Setyowati, A. 2015. Peningkatan Resistensi Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicilin menggunakan Metode Adaptif Gradua. *Jurnal Farmasi Indonesia*. (Online). Vol. 7, No. 3. Hal. 190-191
- Sinaga E, Noverita, Fitria D. Daya antibakteri jamur endofit yang diisolasi dari daun dan rimpang lengkuas (*Alpinia galangal Sw.*). *Jurnal Farmasi Indonesia* 2009;4:161-162
- Soetarno, S. Potential and Benefits of Mangrove Plants as Source of Bioactive Compounds. 2000. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 12(4), 84-103
- Stobel G, Daisy B. Bioprospecting For Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2003;67:492
- Stobel G,A. Natural Products from Endophytic Microorganism. *J.Nat.Prond*.2004.. 67: 257-268
- Sulistiyani, N., dan Akbar, A.N. 2013. Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai penghasil antibiotik

terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12. (1) : 1-9

Tarman, K., Safitri D., Setyaningsih I., Endophytic Fungi Isolated from Mangrove *Rhizophora mucronata* and Their Antibacterial Activity. *Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology*, 8 (2) 2013, 69-7.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema kerja penelitian



## Lampiran 2. Tabel

2.1. Tabel diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*

Kontrol	Sampel	Diameter zona hambat terhadap bakteri <i>S. aureus</i>					
		R1	R2	R3	Rata-rata R1	Rata-rata R2	Rata-rata R3
Positif	Amoxicilin	28,88	26,57	27,68	28,84	25,69	26,96
		29,00	25,43	30,20			
		28,65	25,09	23,01			
Positif	Eritromicin	9,05	14,19	13,88	9,69	13,71	13,12
		10,43	13,56	12,90			
		9,60	13,40	12,59			
	Ekstak Etil Asetat	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
	Ekstrak Air	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
Negatif	DMSO	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
Negatif	Air Steril	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
Rata-rata diameter	Amoxicilin			27,16 ± 1,58			
	Eritromicin			12,17 ± 2,17			

2.2 Tabel diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*

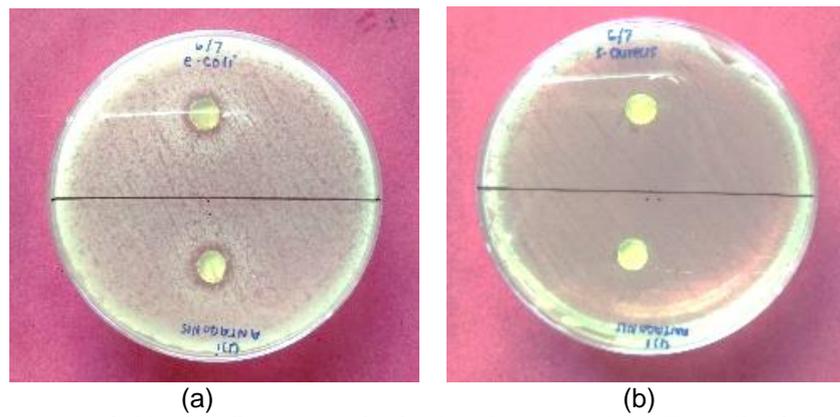
Kontrol	Sampel	Diameter zona hambat terhadap bakteri <i>E. coli</i>					
		R1	R2	R3	Rata-rata R1	Rata-rata R2	Rata-rata R3
Positif	Amoxicilin	15,36	15,86	11,74	14,77	15,39	14,33
		14,81	15,02	12,83			
		14,16	15,30	18,43			
Positif	Eritromicin	29,08	32,15	28,58	28,47	31,20	28,69
		29,75	32,34	29,00			
		26,58	29,13	28,51			
	Ekstak Etil Asetat	10,82	12,00	10,47	12,45	11,28	10,16
		10,81	11,67	10,03			
		15,72	10,18	10,00			
	Ekstrak Air	16,54	13,91	17,58	16,69	13,81	17,43
		17,27	14,13	18,61			

		16,26	13,41	16,11			
<b>Negatif</b>	<b>DMSO</b>	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
<b>Negatif</b>	<b>Air Steril</b>	-	-	-	-	-	-
		-	-	-			
		-	-	-			
<b>Rata-rata diameter</b>	<b>Amoxicilin</b>				<b>14,83 ± 0,53</b>		
	<b>Eritromcin</b>				<b>29,45 ± 1,51</b>		
	<b>Ekstrak Etil Asetat</b>				<b>11,29 ± 1,14</b>		
	<b>Ekstrak Air</b>				<b>15,97 ± 1,91</b>		

### Lampiran 3. Gambar Hasil Penelitian



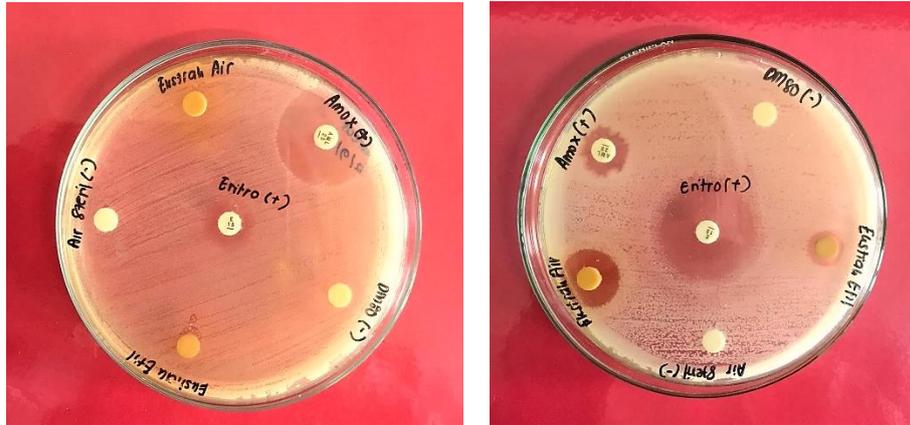
Gambar 7. Isolat murni fungi endofit A1 dari daun bakau (*Rhizophora racemosa*)



Gambar 8. a) Hasil uji antagonis isolat A1 terhadap *E. coli*. b) Hasil uji antagonis isolat A1 terhadap *S. aureus*



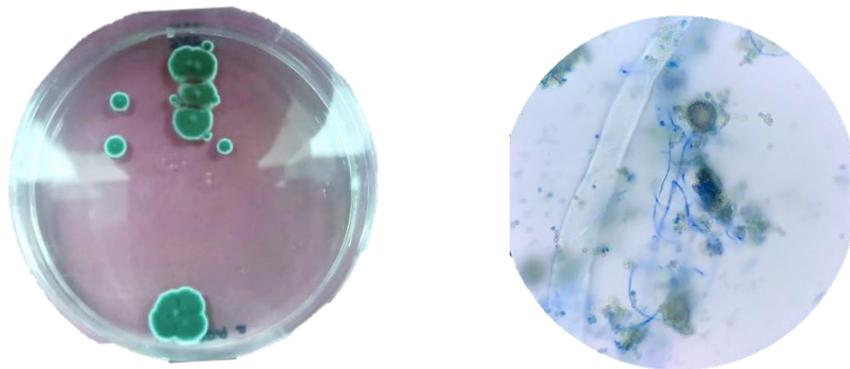
Gambar 9. Hasil Fermentasi selama 6 hari



(a)

(b)

Gambar 10. a) Hasil uji antagonis isolat A1 terhadap *S. aureus*. b) Hasil uji antagonis isolat A1 terhadap *E. coli*.



(a)

(b)

Gambar 10. a) Identifikasi senyawa isolat A1 secara Makroskopik. b) Identifikasi senyawa isolat A1 secara Mikroskopik.