



**ISOLASI FUNGI ENDOFIT DARI KULIT  
BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lamk.) ASAL KABUPATEN JAYAPURA  
SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI**

**(ISOLATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM RED FRUIT (PANDANUS CONOIDEUS  
LAMK) FROM JAYAPURA REGENCY AS A PRODUCER OF ANTIBACTERIAL  
COMPOUNDS)**

Yasnidar Yasir<sup>1</sup>, Herlina Rante<sup>2</sup>, Rohmah Wijayati<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kimia, Universitas Islam Makassar<sup>1</sup>, Makassar, 90245,

<sup>2</sup> Farmasi, Universitas Hasanuddin<sup>2</sup>, Makassar, 90245.

<sup>3</sup> Farmasi, Universitas Islam Makassar<sup>3</sup>, Makassar, 90245.

Email: [yasnidarruslan.dpk@uim-makassar.ac.id](mailto:yasnidarruslan.dpk@uim-makassar.ac.id)

**ABSTRAK**

Fungi endofit merupakan sekelompok jamur yang sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan hidup dan biasanya tidak merugikan inangnya. Fungi endofit umumnya memproduksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat seperti antibiotik, antifungi, antioksidan dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi fungi endofit dari Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Asal Kabupaten Jayapura serta menguji aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat fungi endofit yang diperoleh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Proses isolasi fungi endofit menghasilkan 3 buah isolat yang diberi kode BM-1, BM-2 dan BM-3. Isolat yang paling aktif pada uji antagonis yaitu isolat dengan kode BM-1. Produksi senyawa antibakteri dilakukan melalui proses fermentasi selama 13 hari pada kondisi teragitasi menggunakan medium PDY. Proses fermentasi menghasilkan cairan fermentasi dan misella fungi. Cairan fermentasi diekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah dan misella fungi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol. Uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat BM-1 pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 10%, 5% dan 2,5% diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 23,84 mm; 20,40 mm dan 17,71 mm dan *Escherichia coli* sebesar 18,95 mm; 13,54 mm dan 11,64 mm. Ekstrak metanol diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 11,64 mm dan *Escherichia coli* sebesar 9,03 mm.

**Kata kunci:** Antibakteri, *Escherichia coli*, *Pandanus conoideus* Lamk., *Staphylococcus aureus*

**ABSTRACT**



Endophytic fungi are a group of fungi that partially or completely live in living plant tissue and usually do not harm their host. Endophytic fungi generally produce secondary metabolites that have beneficial biological activities such as antibiotics, antifungals, antioxidants and anticancer. This study aimed to isolate endophytic fungi from the skin of Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Origin of Jayapura Regency and tested the antibacterial activity of secondary metabolites of endophytic fungi isolate obtained against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The isolation process of endophytic fungi produced 3 isolates coded BM-1, BM-2 and BM-3. The most active isolate in the antagonist test is the isolate with the code BM-1. Production of antibacterial compounds is carried out through a fermentation process for 13 days under agitated conditions using PDY medium. The fermentation process produces fermentation liquid and fungal misella. The fermentation liquid was extracted 2 times with ethyl acetate solvent (1:1 v/v) in a split funnel and the fungal misella was extracted by maceration using methanol. Test of antibacterial activity of secondary metabolites of BM-1 isolate on ethyl acetate extract with concentrations of 10%, 5% and 2.5% obtained the average diameter of the inhibitory zone against *Staphylococcus aureus* of 23.84 mm; 20.40 mm and 17.71 mm and *Escherichia coli* by 18.95 mm; 13.54 mm and 11.64 mm. Methanol extract obtained the average diameter of the inhibitory zone against *Staphylococcus aureus* of 11.64 mm and *Escherichia coli* of 9.03 mm.

**Keywords:** Antibacterial, *Escherichia coli*, *Pandanus conoideus* Lamk., *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyebab utama penyakit di dunia terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Indonesia termasuk salah satu negara yang beriklim tropis serta memiliki temperatur yang hangat dan lembab, sehingga mendukung mikroba untuk terus berkembang biak dan pada akhirnya dapat menyebabkan infeksi. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur dan protozoa (Kumalasari dan Nanik, 2011).

Pengobatan infeksi dimulai dari ditemukannya sumber infeksi yang umumnya menggunakan antibiotik sintetik. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama akan berdampak negatif yaitu bakteri akan menjadi resisten atau kebal terhadap antibiotik yang diberikan. Meningkatnya resistensi terhadap antibiotik-antibiotik yang digunakan menjadi suatu masalah baru bagi kesehatan, oleh sebab itu diperlukan alternatif lain untuk mendapatkan antibakteri yang mampu menghambat atau membunuh bakteri tersebut. Penggunaan bahan-bahan alami salah satunya baik dari tanaman maupun endofit (Utami, 2012).

Fungi endofit merupakan fungi yang hidup di dalam sistem jaringan tanaman dan bersimbiosis mutualisme atau saling menguntungkan satu sama lain. Jaringan tanaman yang terdapat fungi endofit dapat menghasilkan senyawa yang memiliki khasiat sama dengan tanaman inangnya, walaupun jenis senyawanya berbeda. Fungi endofit sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut dan



jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar dengan menggunakan proses fermentasi. Keuntungan lain yang diperoleh yaitu menjaga kelestarian tumbuhan obat, terutama yang termasuk jenis tumbuhan langka agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan dari tumbuhan langka tersebut (Prihatiningtias, 2008).

Buah merah dapat ditemukan di daerah Papua. Papua merupakan bagian dari wilayah Timur Indonesia yang sebagian besar daratannya masih berupa hutan belantara. Masyarakat Papua meyakini bahwa buah merah dapat mengobati penyakit degeneratif seperti kanker, arteriosklerosis, rheumatoid arthritis dan stroke. Buah merah memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yaitu fenol, flavonoid, steroid (triterpenoid), tanin dan saponin (Djamil R, et al. 2006).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Indrawati (2016) menunjukkan bahwa ekstrak air buah merah dapat menghambat *Salmonella typhi* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 14.78 mm dan *Bacillus cereus* sebesar 15.72 mm. Ekstrak etanol buah merah dapat menghambat *Staphylococcus aureus* sebesar 14.39 mm dan *Klebsiella pneumonia* sebesar 8,28 mm. Ekstrak butanol buah merah dapat menghambat *Escherichia coli* sebesar 14.56 mm dan *Bacillus cereus* sebesar 9.33 mm.

Penelitian Asrianto, et al. (2021) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji buah merah memiliki senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid dan tannin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan penelitian tersebut harus dikembangkan. Penelitian tentang mikroba endofit khususnya fungi endofit pada kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sudah pernah dilakukan. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu pada penelitian sebelumnya bakteri yang digunakan yaitu *Salmonella typhi* dengan metode KLT-Bioautografi sedangkan pada penelitian ini bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode Difusi Kirby-Bauer.

## METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium (Pyrex®), autoklaf (All American Model 25X-2®), batang pengaduk, bunsen, cawan petri, cork borer, cover glass, gunting, incubator (WTC Binder®), jangka sorong (Krisbow®), Laminar Air Flow (Envirco®), lemari pendingin (Panasonic®), pisau skalpel, mikropipet (Nesco®), mikroskop (Binokuler XSZ 107 BN®), objek glass, ose, oven (Fisher®), pinset, shaker (Gemmy Orbit model VRN-480®) dan timbangan analitik (Fujitsu®)

Bahan yang digunakan yaitu akuades, aluminium foil, bakteri *Escherichia coli* ATCC 11775, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ekstrak yeast (Merck®), etanol 70%, etil asetat, kloramfenikol, kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), larutan NaOCl 5,25% (Bayclin®),



medium *Potato Dektrose Agar* (PDA) (Merck®), medium *Nutrient Agar* (NA) (Merck®), medium *Potato Dektrose Broth* (PDB) (Merck®), medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck®), *metilen blue*, *paper disc* dan *tisu*.

Sampel penelitian yang digunakan berupa kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang diperoleh dari Distrik Waibu, Kecamatan Sentani, Kabupaten Jayapura, Provinsi Papua, S 2°31'58. 7928", E 116°54'52.524". Sampel kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel pada sampel.

Alat-alat yang digunakan berupa gelas direndam dan dicuci hingga bersih dengan menggunakan detergen. Cawan petri dan alat-alat gelas lainnya kemudian dibungkus terlebih dahulu dengan kertas dan disterilkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat yang terbuat dari plastik atau yang tidak tahan pemanasan tinggi dan alat-alat gelas yang berskala disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ose disterilkan dengan pemijaran di atas api bunsen secara langsung sebelum digunakan.

Media PDA ditimbang sebanyak 39 g kemudian dilarutkan dalam 1000 mL air suling dan dipanaskan. Media yang sudah jadi disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Fardiaz, 1988). Media PDB ditimbang sebanyak 26,5 g dan media ekstrak yeast ditimbang sebanyak 4 g kemudian dilarutkan hingga 1000 mL dengan air suling dan dipanaskan. Media yang sudah jadi disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Fardiaz, 1988). Media NA ditimbang sebanyak 23 g kemudian dilarutkan dalam 1000 mL air suling dan dipanaskan. Media yang sudah jadi disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Fardiaz, 1988). Media MHA ditimbang sebanyak 38 g kemudian dilarutkan dalam 1000 mL air suling dan dipanaskan. Media yang sudah jadi disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Fardiaz, 1988).

Kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang telah bersih dipotong kecil dengan ukuran +2 cm. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL kemudian ditambahkan etanol 70% sampai terendam. Sterilisasi selama 2 menit menggunakan etanol 70% kemudian dilanjutkan sterilisasi dengan bayclin (NaOCl 5,25%) selama 2 menit. Sampel dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali, masing-masing selama 1 menit. Sampel ditiriskan dalam cawan petri steril, kemudian dipotong dengan pisau skalpel ukuran +1 cm. Bagian potongan diletakkan di atas medium PDA yang telah ditambahkan kloramfenikol untuk mencegah pertumbuhan bakteri kemudian diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama 2 hari. Air bilasan terakhir akuades diinokulasikan pada medium PDA sebagai kontrol. Pertumbuhan fungi diamati setelah 2 hari kemudian diisolasi untuk mendapatkan biakan murni (Peterson, *et al.* 2005).

Pemurnian fungi endofit yang tumbuh pada masing-masing medium PDA *plate* lain selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25°C. Pengamatan dilakukan terhadap bentuk dan warna koloni. Koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur lagi pada medium PDA miring sampai diperoleh koloni murni. Pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni endofit yang memiliki morfologi yang berbeda satu dan yang lainnya (Peterson, *et al.* 2005).



Pembuatan stok dan peremajaan bakteri uji dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan bakteri murni kemudian digoreskan di atas permukaan medium NA miring. Biakan bakteri diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C (Djide & Sartini, 2008). Bakteri uji hasil peremajaan diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeuhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5% yaitu setara dengan pertumbuhan 1,5x10<sup>8</sup> CFU/mL (Djide & Sartini, 2008).

Medium agar yang berisi isolat murni dipotong menggunakan cork borer dan ditempatkan di atas permukaan medium MHA yang telah berisi bakteri uji, selanjutnya diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C. Isolat diamati kemampuannya dalam menghambat bakteri uji yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat (Peterson, et al. 2005). Isolat aktif hasil uji antagonis diambil menggunakan jarum preparat dan diletakkan di atas permukaan *object glass*, lalu ditetesi pewarna *lactophenol cotton blue* atau alternatif *metilen blue* untuk membantu mengamati struktur mikroskopisnya. Preparat ditutup dengan *deck glass* kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Isolat aktif dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 500 mL yang mengandung 150 mL medium cair PDY. Fermentasi dilakukan pada suhu 25°C selama 13 hari pada kondisi tergojok pada laju kecepatan 150 rpm (Burhamzah, et al. 2020).

Proses penyaringan hasil fermentasi dilakukan untuk memisahkan cairan fermentasi dan miselia fungi, kemudian cairan fermentasi diekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah selama 20 menit dan miselia fungi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh diuapkan lalu disimpan pada desikator untuk digunakan pada uji selanjutnya (Liu, et al. 2001).

Pengujian aktivitas antibakteri pada sampel dilakukan dengan metode difusi agar. Medium yang digunakan untuk penentuan daya hambat adalah medium MHA. Suspensi bakteri uji diinokulasi pada cawan petri dan ditambahkan dengan medium MHA. Ekstrak etil asetat 10% dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak etil asetat kemudian dicukupkan dengan pelarut etil asetat hingga volume 500 µL. Ekstrak etil asetat 5% dibuat dengan cara memipet 250 µL ekstrak etil asetat konsentrasi 10% kemudian dicukupkan dengan pelarut etil asetat hingga volume 500 µL. Ekstrak etil asetat 2,5% dibuat dengan cara memipet 250 µL ekstrak etil asetat 5% kemudian dicukupkan dengan pelarut etil asetat hingga volume 500 µL.

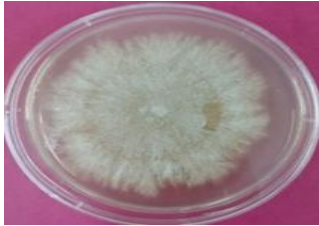





Ekstrak metanol 10% dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak metanol kemudian dicukupkan dengan pelarut metanol hingga volume 500 µL. Ekstrak etil asetat 10%; 5%; 2,5%; hasil ekstraksi yang tidak larut etil asetat dan ekstrak metanol 10% diteteskan sebanyak 20 µL pada masing-masing paper disc dan diuapkan selama 20 menit sebelum diletakkan pada media uji. Paper disc diletakkan secara aseptis pada permukaan medium yang telah berisi bakteri uji. Antibiotic Amoxicillin paper disc digunakan sebagai kontrol positif dan paper disc yang berisi etil asetat digunakan sebagai kontrol negatif, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap zona bening yang terbentuk di sekitar paper disc. Zona bening berupa zona hambatan yang diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0.05 mm.



## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan yang diperoleh pada penelitian Isolasi Fungi Endofit dari Kulit Buah Merah Asal Kabupaten Jayapura sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 1. Hasil Pengamatan Isolat Fungi Endofit**

Kode Isolat	Tampak Depan	Tampak Belakang
BM-1		
BM-2		
BM-3		

**Tabel 2. Hasil Pengamatan Makroskopik Isolat Fungi Endofit**

Isolat	Karakteristik Makroskopik			
	Warna Permukaan Koloni	Pigmentasi Koloni	Tekstur Koloni	Bentuk Koloni
BM-1	Putih	Putih Kekuningan	Halus Seperti Kapas	Bundar
BM-2	Putih	Putih Kekuningan	Halus Seperti Kapas	Bundar
BM-3	Putih	Putih Kekuningan	Halus Seperti Kapas	Bundar



**Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji Antagonis Menggunakan Bakteri Uji**

Isolat	Bakteri Uji	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
BM-1	+++	+++
BM-2	+++	+++
BM-3	+++	+++

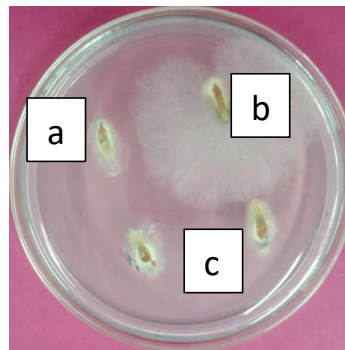
Keterangan: + : Lemah  
++ : Sedang  
+++ : Kuat

**Tabel 4. Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat fungi Endofit Kode BM-1**

Perlakuan	Rata-Rata Diameter Zona Hambat pada Bakteri Uji (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Ekstrak etil asetat 10%	23,84 mm	18,95 mm
Ekstrak etil asetat 5%	20,40 mm	13,54 mm
Ekstrak etil asetat 2,5%	17,77 mm	11,64 mm
Ekstrak metanol	9,03 mm	11,64 mm
Filtrat larut air	-	-
Kontrol (-) Etil asetat	-	-
Kontrol positif (+) Amoxicilin	32,11 mm	12,48 mm

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi fungi endofit dari Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Asal Kabupaten Jayapura serta menguji aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat fungi endofit yang diperoleh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fungi endofit berhasil diisolasi dari potongan kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.).

Fungi endofit merupakan fungi yang tumbuh pada permukaan sampel karena sebelumnya telah dilakukan sterilisasi permukaan pada sampel. Tujuan sterilisasi adalah untuk menghilangkan mikroorganisme yang terdapat pada permukaan sampel dengan menggunakan etanol 70%, natrium hipoklorit 5,25% dan air steril. Proses sterilisasi menggunakan etanol 70% yang merupakan kadar optimal untuk tujuan ini karena proses denaturasi protein mikroba memerlukan keberadaan air dan etanol dengan kadar 70%. Kemampuan etanol untuk mensterilkan permukaan organ tumbuhan tersebut mempunyai spektrum sempit sehingga perlu dikombinasikan dengan dengan larutan natrium hipoklorit. Natrium hipoklorit 5,25% mampu merusak membran dan protein mikroba dengan melepaskan radikal klor, sedangkan air steril berfungsi untuk menghilangkan sisa-sisa larutan yang terdapat pada permukaan sampel (Strobel dan Bryn, 2003).

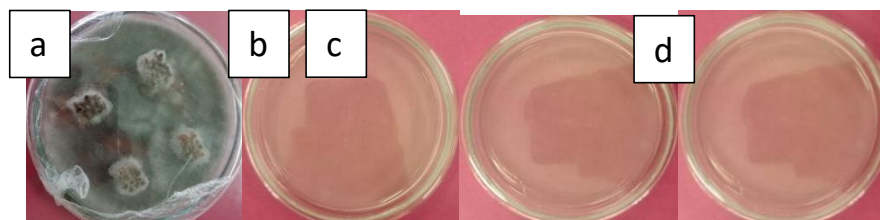


**Gambar 2.** Hasil Isolasi Sampel Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang Telah Diisolasi Selama 2 Hari

Keterangan:

- a. Isolat Murni BM-1
- b. Isolat Murni BM-2
- c. Isolat Murni BM-3

Hasil isolasi fungi endofit yang tumbuh pada hari ke-2 diperoleh 3 isolat fungi endofit yaitu isolat yang diberi kode BM-1, BM-2 dan BM-3 Hasil isolasi fungi endofit yang tumbuh pada hari ke-2 diperoleh 3 isolat fungi endofit yaitu isolat yang diberi kode BM-1, BM-2 dan BM-3 yang secara makroskopis memiliki permukaan koloni berwarna putih kekuningan dengan pigmen berwarna kuning. Bentuk koloni bundar, tekstur seperti kapas, butir halus warna kuning pada hifa dan tidak memiliki lingkaran konsentris (Gambar 2). Berbeda dengan isolat yang diperoleh dari sampel yang tidak disterilisasi permukaan yang memiliki permukaan koloni berwarna hitam dan bagian pinggir berwarna putih yang diduga fungsi epifit, serta kontrol ruangan, kontrol medium, dan kontrol air bilasan terakhir sampel tidak ditumbuhi kontaminan (Gambar 3), sehingga isolat BM-1, BM-2 dan BM-3 merupakan isolat fungi endofit dari kulit buah merah. Penambahan kloramfenikol pada medium PDA pada proses isolasi bertujuan agar isolat yang tumbuh adalah fungi endofit bukan bakteri endofit. Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat atau membunuh bakteri gram positif dan negatif (Kemenkes, 2011).



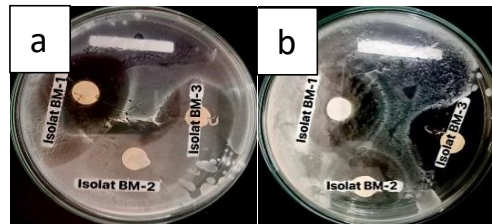
**Gambar 3.** Hasil Pengamatan Kontrol pada Tahap Isolasi

Keterangan:

- a. Kontrol Sampel Tanpa Sterilisasi Permukaan
- b. Kontrol Ruang
- c. Kontrol Medium
- d. Kontrol Air Bilasan Terakhir Sampel



Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi dimurnikan pada medium yang baru dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan isolat jenis baru. Hasil pemurnian isolat fungi endofit dari kulit buah merah yaitu 3 buah isolat murni (Tabel 1). Isolat yang telah diperoleh yaitu isolat BM-1, BM-2 dan BM-3 selanjutnya dilakukan uji antagonis terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai langkah identifikasi awal aktivitas isolat terhadap bakteri uji. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat.



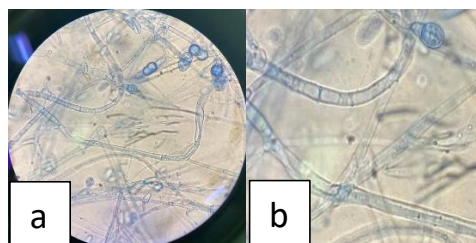
**Gambar 4.** Hasil Uji Antagonis Isolat BM-1, BM-2 dan BM-3 terhadap Bakteri Uji

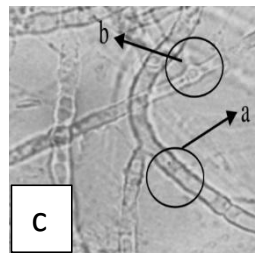
Keterangan:

- a. Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*
- b. Bakteri Uji *Escherichia coli*

Hasil yang diperoleh pada uji antagonis yaitu isolat BM-1, BM-2 dan BM-3 memiliki aktivitas menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar isolat (Gambar 4). Isolat BM-1 kemudian dipilih untuk uji selanjutnya karena merupakan isolat paling aktif terhadap bakteri uji dan proses pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan dengan isolat BM-2 dan BM-3.

Isolat BM-1 selanjutnya dilakukan pengujian mikroskopik untuk mengetahui struktur anatomi dan jenis fungi. Pengamatan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa 400x dan 1000x. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat BM-1 secara mikroskopis tidak memiliki konidia, memiliki hifa dan sporangium serta *clamp connection* (penghubung sekat antara sel hifa yang berada pada septa hifa). Menurut Barnett dan Hunter (2000), jamur *Sclerotium* sp. tidak memiliki konidia, memiliki hifa dan sporangium serta *clamp connection*.





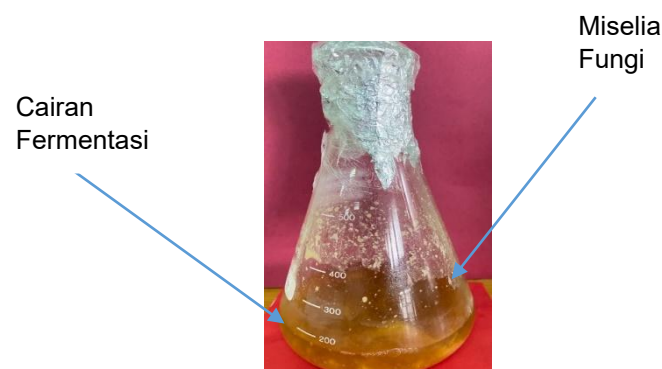
**Gambar 5.** Hasil Pengamatan Mikroskopik

Keterangan:

- a. Perbesaran 400x
- b. Perbesaran 1000x
- c. Identifikasi Jamur *Sclerotium* sp.

Isolat aktif BM-1 yang telah diuji antagonis selanjutnya dilakukan proses fermentasi. Fermentasi dilakukan untuk menghasilkan sel mikroba endofit dalam jumlah yang banyak sehingga senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan menjadi lebih optimal. Proses fermentasi menggunakan media cair karena lebih efektif untuk memproduksi biomassa dan senyawa bioaktif dibandingkan fermentasi dengan media padat. Medium yang digunakan untuk fermentasi fungi endofit yaitu medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*) yang terbuat dari medium PDB (*Potato Dextrose Broth*) dan *Extract Yeast*. Medium PDB mengandung sumber karbon yang berasal dari ekstrak kentang dan dekstrosa serta *extract yeast* sebagai sumber nitrogen selama proses fermentasi.

Penggojokan dilakukan untuk menghomogenkan medium fermentasi dengan isolat fungi endofit sehingga pertumbuhan produksi metabolit sekunder dari isolate dapat dipercepat. Sistem fermentasi yang digunakan adalah sistem tertutup yaitu tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil selama fermentasi berlangsung, semua nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme selama pertumbuhan dan pembentukan produk metabolit sekunder berada di dalam satu fermentor. Perubahan warna pada medium fermentasi dari kuning menjadi jingga terjadi karena adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh isolat fungi dimana perubahan ini menunjukkan metabolit sekunder telah diproduksi (Gandjar, 2006).



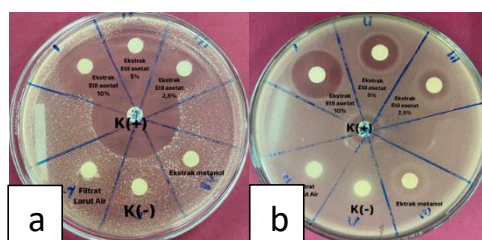
**Gambar 6.** Hasil Fermentasi Isolat Fungi Endofit Hari Ke-13



Proses fermentasi dilakukan sampai hari ke-13 saat fungi endofit berada pada fase stationer. Fase stationer merupakan fase dimana nutrisi pada medium semakin menipis dan menyebabkan biakan mengalami kematian sehingga metabolit sekunder akan terbentuk. Proses filtrasi dilakukan untuk memisahkan cairan fermentasi dan miselia fungi. Cairan fermentasi diekstraksi dalam corong pisah menggunakan etil asetat sebanyak 2 kali dengan perbandingan 1:1 v/v dan miselia fungi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol. Proses filtrasi dilakukan untuk mengetahui metabolit aktif fungi dieksekresikan secara ekstraseluler atau intraseluler.

Ekstrak yang diperoleh yaitu 1,73 mg ekstrak etil asetat dan 1,52 mg ekstrak metanol. Filtrat larut air disimpan di lemari pendingin untuk diuji aktivitas antibakterinya. Media fermentasi yang digunakan bersifat cair dan senyawa kimia yang akan ditarik berada pada larutannya, tujuan pemilihan metode ekstraksi cair-cair karena Etil asetat tidak bercampur dengan air dan memiliki sifat semipolar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dan non polar.

Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakteri dengan metode difusi menggunakan *paper disc*. Metode difusi memiliki kelebihan yaitu sederhana untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis bakteri terhadap antibakteri pada konsentrasi tertentu



**Gambar 7.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat BM-1

Keterangan:

- a. Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*
- b. Bakteri Uji *Escherichia coli*

Hasil yang diperoleh pada uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat fungi endofit kode BM-1 pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 10%, 5% dan 2,5% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 23,84 mm; 20,40 mm dan 17,71 mm serta mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 18,95 mm; 13,54 mm dan 11,64 mm. Ekstrak metanol mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 11,64 mm dan *Escherichia coli* sebesar 9,03 mm. Kontrol positif amoxicilin memiliki nilai zona hambat rata-rata terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 32,11 mm dan *Escherichia coli* sebesar 12,48 mm. Filtrat larut air tidak dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dikarenakan metabolit aktif fungi telah tertarik semua oleh etil asetat pada proses ekstraksi. Metabolit aktif fungi endofit kode BM-1 dieksekresikan secara ekstraseluler dan intraseluler pada proses fermentasi karena cairan fermentasi dan miselia fungi keduanya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disc* (Gambar 7). Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat dikarenakan tidak adanya senyawa aktif yang



terkandung didalam etil asetat. Hasil diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak pula kandungan zat aktifnya sehingga semakin besar zona hambat yang diperoleh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Isolasi fungi endofit dari Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) menghasilkan tiga buah isolat fungi endofit murni yang diberi kode BM-1, BM-2 dan BM-3. Uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat BM-1 pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 10%, 5% dan 2,5% diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 23,84 mm; 20,40 mm dan 17,71 mm dan *Escherichia coli* sebesar 18,95 mm; 13,54 mm dan 11,64 mm. Ekstrak metanol diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 11,64 mm dan *Escherichia coli* sebesar 9,03 mm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada seluruh yang telah terlibat pada penelitian penulis semoga Allah SWT selalu merahmati semuanya, terkhusus kepada keluarga tercinta.

## DAFTAR PUSTAKA

Al-Qur'an

- Asrianto, A.; Sitompul S. L.; Sahli T. I.; Hartati R. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Biologi*. Universitas Pendidikan Mandalika: Mataram
- Barnett, H. L. & Hunter B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Third Edition)*. Burgess Publishing Company: Minneapolis
- Bourke, R. M. (2005). *Indigenous Fruit in Papua New Guinea*. Departement of Human Geography. Research School of Pacific and Asian Studies. The Australian National University. Canberra
- Brooks, G. F.; Butel S. J.; Morse A. S. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dan RF Maulany. Jakarta: EGC
- Burhamzah, R.; Gemini A.; Rante H. (2020). *Characterization of Antibacterial Producing Endophytic Fungi of Syzygiumpolyanthum Leaves*. *Infectious Disorders Drug Targets* 20(4): 448-454
- Burton, G. R. W. & Engelkirk G. P. (2004). *Microbiology For The Health Science 7th Edition*. Crawfordsville: USA
- Davis, W. & Stout T. R. (1971). *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *J. Microbiology*.(4): 659-665



- Djamil, R.; Karina D.; Wuri W. (2006). Studi Farmakologi, Penapisan Fitokimia dan Uji Hayati secara BSLT dari Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4(2): 55-59
- Djide, M. N. & Sartini. (2008). *Metode Instrumentasi Bioteknologi Farmasi*. Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
- Djide, M. N.; Sartini; Syahriadi K. (1997). *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
- Engelkirk, G. P. & Burton G. R. W. (2004). *Burton's Microbiology for The Health Science 8th Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams dan Wilkins
- Faliatra (2002). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natural Indonesia*
- Fardiaz, S. (1988). *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: IPB
- Gandjar, I.; Sjamsurizal W.; Rosheroe; Oetari A. (2006). *Mikrobiologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- Ganiswarna & Gunawan S. (1995). *Farmakologi dan Terapi Edisi IV*. Jakarta: Gaya Baru
- Garrity, G. M.; Bell J. A.; Timoty G. L. (2004). *Taxonomic Outline of The Procaryotes: Bergey's Manual of Systemic Bacterology 2nd ed*. New York. Release 5,0 Spring-Verlag, p. 46
- Hermawati, L. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Kapang Endofit dari Daun Tanaman Paku Kepala Tupai (*Drynaria quercifolia* (L.) J. Smith) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Syarif Hidayatullah
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia, Volume II*. Terjemahan: Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Indrawati, I. (2016). *Sensitivity of Pathogenic Bacteria to Red Fruit (Pandanus conoideus Lamk.)*. Bandung: Universitas Padjajaran
- Kumalasari, E. & Nanik S. (2011). Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*
- Liu, C.; Xin W. Z.; Lu H. T.; Tan R. X. (2001). Antifungal Activity or Artemisia Annu Endophyte Cultures Against Phytopatogenic Fungi. *The Journal of Biotechnology* 88: 277-282
- Peterson, L. R. (2005). Squeezing The Antibiotic Balloon: The Impact of Antimicrobial Classes On Emerging Resistance. Evanston Northwestern Healthcare, *Jurnal The Feinberg School of Medicine at North Western University: USA*
- Prihatiningsih, W. (2008). *Mikroba Endofit, Sumber Penghasil Antibiotik yang Potensial*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi. Vol II. Departemen Farmasi. FMIPA-UI. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 2, No. 3
- Radji, M. (2008). *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi. Jakarta: Universitas Indonesia



- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Rante, H.; Wahyono; Yosi B. M.; Gemini A. (2010). Purifikasi dan Karakterisasi Senyawa Anti-Bakteri dari Actinomycetes Asosiasi Spons terhadap Bakteri Patogen Resisten. *Majalah Farmasi Indonesia*
- Sarungallo, Z. L.; Murtiningrum; Santoso B.; Roreng M. K.; Latumahina R. M. M. (2019). Nutrient Content of Three Clones of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lamk.). During the Maturity Development. *IFRJ* 23(3)
- Setiawan, M. A.; Hasnawati; Sernita; Sulistia L. (2016). Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinik*. IAI Sumatera Barat
- Shulman, S. T.; Phair J. P.; Sommer H. M. (1994). *Dasar dan Biologi Klinis Penyakit Infeksi Edisi IV*. Yogyakarta: UGM Press
- Stainer, R. Y. (1982). *Dunia Mikrobiologi I*. Bharata Karya Aksara. Jakarta
- Stone, B. C. (1997). The Genus *Pandanus parkinson* on Halmahera Island. Dalam: Verheij, E. W. M. & Corenel R. E (Editor). *Proses Sumber Daya Nabati Asia Tenggara*
- Strobel, G. & Bryn D. (2003). *Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products*. *Microbiology and Molecular Biology Review* 67(4): 491-502
- Utami, E. R. (2012). Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi. *Jurnal Sains*. 1: 124-138
- Worang, R. L. (2003). Fungi Endofit sebagai Penghasil Antibiotika. *Makalah Pengantar Falsafah Sains (PPS702)*. Bogor: Program Pascasarjana/S3 Institusi Pertanian Bogor