

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FUNGSI ENDOFIT DAUN CEMBA (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)
ASAL ENREKANG SULAWESI SELATAN**

*Isolation and Antibacterial Activity Test of Cemba Leaves of Endophytic Fungi
(*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) From Camba village, Enrekang City*

Yasnidar Yasir¹, Nur Hasniati, M. Natsir Djide¹,

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Islam Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 9, Makassar
Sulawesi Selatan 90245, Indonesia
Email : yasnidaryasir.dpk@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

Penelitian Isolasi fungi endofit penghasil Antibakteri dari daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) asal Desa Cemba Kota Enrekang telah dilakukan. Tujuan penelitian untuk mendapatkan isolat fungi endofit pada jaringan daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Isolasi fungi endofit menggunakan metode tanam langsung daun cemba pada media Potato Dextrosa Agar (PDA). Selanjutnya dilakukan uji antagonis untuk mengetahui potensi awal isolat yang aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder dari fermentasi isolat dilakukan dengan metode Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh dua isolat fungi endofit murni yaitu isolat J. 1A dan isolat J. 1B. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan isolat J. 1B dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan zona hambatan 20,04 mm dan *S. aureus* 16,48 mm.

Kata Kunci: **daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) fungi endofit; antibakteri.**

ABSTRACT

The research on the fungi isolation of endophytic that produce Antibacteria from the cemba leaves (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) from Cemba Village, Enrekang City has been carried out. The aim of this research was to obtain the endophytic fungi isolates at cemba leaves (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) have potential as antibacterial properties. Isolation of endophytic fungi using direct planting method of cemba leaves on *Potato Dextrosa Agar* (PDA) media. Furthermore, the antagonist test was carried out to determine the initial potential of the active isolates in inhibiting the growth of the tested bacteria, namely *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antibacterial activity test of secondary metabolites from fermentation of isolates was carried out by using the *Kirby-Bauer* method using disc paper. Based on the research results, two pure endophytic fungal isolates were obtained, namely isolate J. 1A and isolate J.1B. The results of the antibacterial activity test showed that J. 1B isolate could inhibit the growth of *E. Coli* bacteria with an inhibition zone of 20,04 mm and *S. aureus* 16.48 mm.

Keywords: Leaf of cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) endophytic fungi; antibacterial

PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan salah satu sumber daya yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan masyarakat (Radji, M. 2005).

Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat adalah tanaman cemba. Tumbuhan Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) adalah salah satu tumbuhan endemik Sulawesi Selatan khususnya di Kabupaten Enrekang dan merupakan tumbuhan langka yang daunnya biasa digunakan sebagai salah satu rempah khas Enrekang saat memasak. Pencarian dan pengembangan bahan untuk meningkatkan fertilitas yang berasal dari tumbuhan merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan. Salah satu tanaman yang digunakan untuk meningkatkan fertilitas adalah jahe gajah (Triwistikawati, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ahmad, A. R., 2014 ekstrak daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) mengandung senyawa minyak atsiri, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan alkaloid yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian Lilis, (2015) menyatakan bahwa akar tumbuhan cemba memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Fungi endofit hidup berkoloni di dalam jaringan tumbuhan tanpa mengganggu tumbuhan inangnya. Senyawa metabolit sekunder yang disintesis oleh fungi endofit adalah peluang untuk produksi skala besar dalam waktu singkat tanpa menimbulkan kerusakan ekologis, sehingga dapat menjadi alternatif untuk mengatasi resistensi antibiotik yang terus meningkat sebagai upaya untuk penanganan penyakit infeksi (Murdiah, 2017).

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah isolat dari daun tumbuhan cemba memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat fungi endofit pada jaringan daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

Manfaat dari penelitian ini, diharapkan dapat memberi informasi tentang adanya fungi endofit yang dapat diisolasi dari jaringan daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) yang mempunyai potensi sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah autoklaf, cawan petri, corong, erlenmeyer, inkubator, jarum ose, kertas cakram, kertas saring, Laminar Air Flow (LAF), lempeng, oven, pembolong, pinset, sentrifuge, dan tabung reaksi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun Cemba, aquades, aquades steril, Alkohol 70%, Asam tartarat 1%, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, media Potato Dextrose Agar (PDA), media Nutrient Agar (NA), media Potato Dextrose Yeast (PDY) dan Natrium Hipoklorit (NaOCl).

B. Penyiapan Sampel Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Tempat pengambilan sampel pada titik S 3°33'26.3556" E 119°44'12.5268" Cemba, Kec. Enrekang, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan, Indonesia.

C. Prosedur kerja

1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara alat gelas yang memiliki skala disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inch) selama 15 menit, sementara pada alat gelas yang tidak berskala disterilkan di dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat yang berupa ose dan pinset disterilkan dengan pemijaran di atas api secara langsung sesaat akan digunakan.

2. Pembuatan Medium

a. Pembuatan Medium Potato Dextrose Agar (PDA)

Medium PDA ditimbang sebanyak 7,8 g lalu dilarutkan dalam 200 mL aquades steril dan dipanaskan. Medium yang telah jadi disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan asam tartarat 1% ditambahkan apabila pH medium PDA 4,5-5,6.

b. Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

Medium NA ditimbang sebanyak 4 g lalu dilarutkan ke dalam 200 mL aquades steril dan dipanaskan selama satu menit. Medium yang telah jadi dengan pH 7,0 disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Pembuatan Medium Potato Dextrose Yeast (PDY)

Pembuatan medium PDY dengan cara menimbang ekstrak yeast 2 g dan PDB 4,8 g lalu dilarutkan dalam 200 mL aquades steril dan dihomogenkan dengan pemanasan. Medium yang telah jadi dengan pH 7,0 disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Isolasi Fungi Endofit

Fungi endofit diisolasi dari tumbuhan cember yang sehat, bagian yang diambil yaitu daunnya. Daun cember tersebut dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Sterilisasi dilakukan setelah pencucian permukaan daun dengan direndam ke dalam alkohol 70% selama 5 menit dan dilanjutkan perendaman ke dalam larutan NaOCl selama 5 menit kemudian dikeringkan dengan tissu steril. Setelah itu, dibilas dengan aquades steril selama 1 menit, daun dipotong-potong menjadi beberapa bagian, lalu ditempelkan di permukaan cawan petri yang berisi media PDA. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai tampak fungi endofit yang tumbuh. Kemudian fungi endofit tersebut diisolasi dan dimurnikan pada medium PDA baru.

4. Pemurnian Fungi Endofit

Fungi endofit yang tumbuh pada medium isolasi PDA dimurnikan ke medium PDA baru secara aseptis di dalam LAF. Pemurnian berdasarkan kenampakan morfologi secara makroskopis yang meliputi warna dan bentuk koloni. Pemurnian dilakukan berulang-ulang hingga didapatkan isolat fungi endofit tunggal dengan cara mengambil isolat menggunakan pinset steril dan ditumbuhkan kembali pada cawan petri yang berisi medium PDA. Isolat yang telah murni dipindahkan ke dalam dua jenis media kultur (*working culture* dan *Stock culture* ke dalam PDA miring).

5. Uji Antagonis

Isolat fungi endofit murni yang akan diujikan pada bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), sebagai langkah awal untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri isolat. Lempeng agar yang berisi isolat murni dipotong kemudian ditanam pada medium NA yang di dalamnya terdapat bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kultur bakteri uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Pengamatan hasil uji antagonis isolat fungi endofit dengan bakteri uji dilakukan dengan melihat adanya zona bening yang terbentuk di sekitar isolat. Adanya zona bening menunjukkan bahwa keberadaan isolat fungi endofit dapat menghambat aktivitas atau pertumbuhan bakteri uji. Isolat yang aktif menghambat bakteri uji dilanjutkan ke tahap fermentasi.

6. Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Fermentasi isolat fungi endofit dilakukan dengan menggunakan media fermentasi *Potato Dextrose Yeast* (PDY) sebanyak 200 mL dalam erlenmeyer dan ditambahkan asam tartarat 3% sebanyak 2 mL asam hingga diperoleh pH 5.0-5.5. Isolat yang telah diperkecil ukurannya dimasukkan ke dalam media fermentasi, diinkubasi selama 3x24 jam sambil dikocok dengan *incubator shaker*. Medium fermentasi dicuplik sebanyak 1 mL setiap hari selama fermentasi berlangsung. Hasil cuplikan selanjutnya diujikan pada mikroba uji untuk mengetahui ada atau tidaknya produksi metabolit sekunder dan untuk mengetahui bahwa isolat sudah memasuki fase stasioner (berhenti membelah diri dan mulai memproduksi metabolit sekunder) (Amiri dkk., 2014).

7. Uji Antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

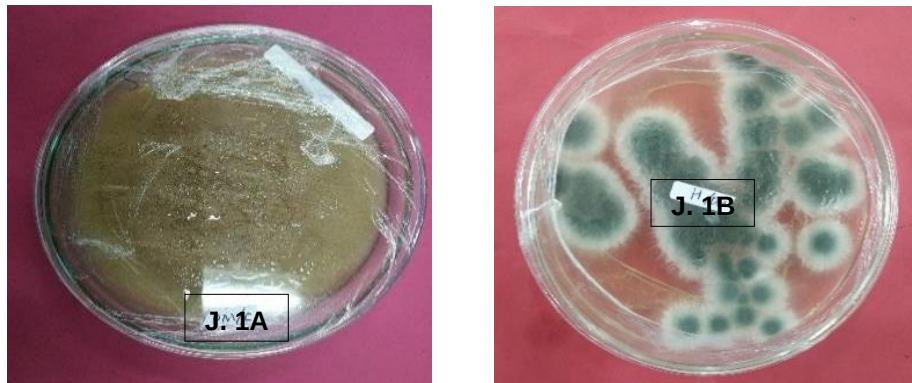
Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit yaitu medium NA. Uji aktivitas antibakteri isolat fungi endofit terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,22 µm dengan menggunakan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 5 mm.

Kertas cakram yang sudah disterilkan direndam dalam supernatan kultur fungi endofit selama 30 menit secara aseptik. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan

di atas medium NA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona hambatan yang terbentuk lalu diamati dan diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

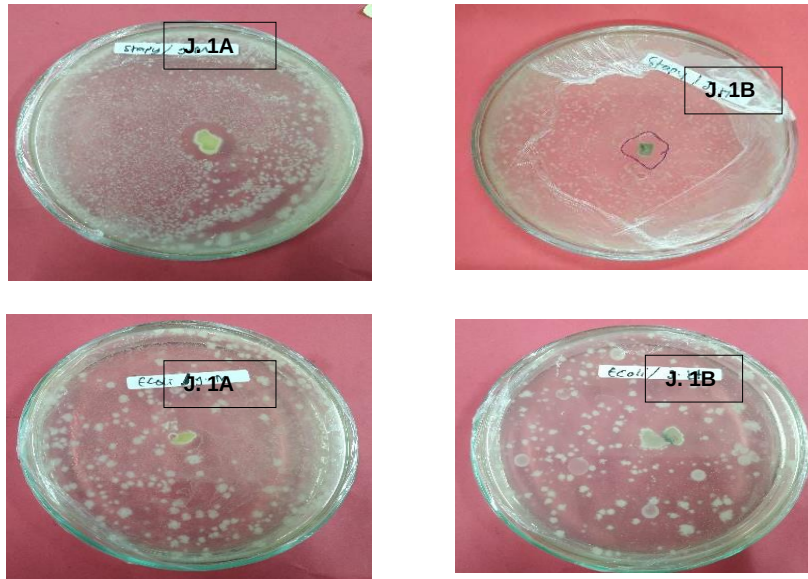
Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopik Isolat Fungi Endofit



Kode Isolat	Karakteristik Makroskopik			
	Warna permukaan koloni	Warna sebalik koloni	Tekstur koloni	Tipe pertumbuhan koloni
J. 1A	Putih	Kuning kecoklatan	Berbentuk bulat	Lambat
J. 1B	Hijau tua	Hijau Tua	Bentuk tidak merata dan terdapat warna putih	Cepat

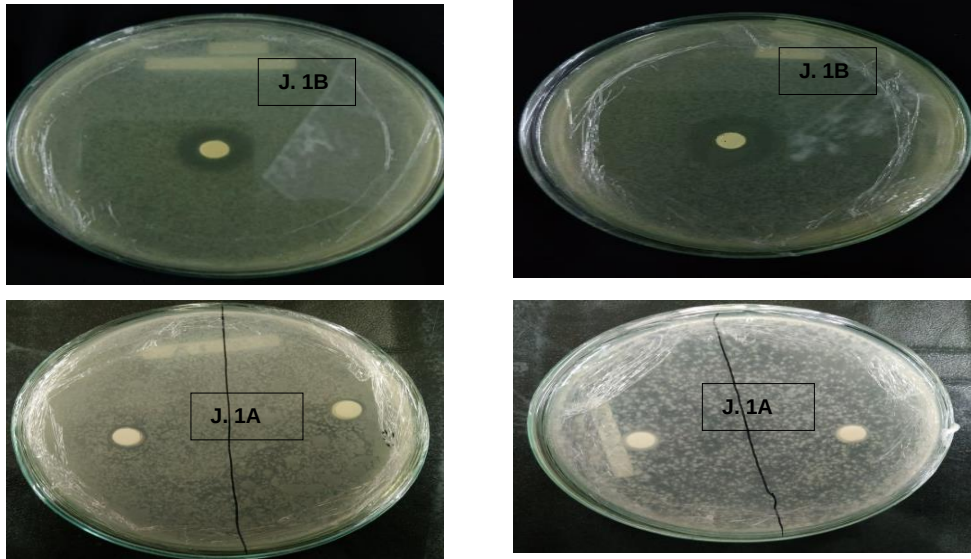
Keterangan: J.1A : Kode Isolat 1
J.1B : Kode isolat 2

Tabel 2. Hasil Uji Antagonis Isolat



Kode Isolat	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
J. 1A	-	+
J. 1B	-	+

Keterangan: - : Isolat tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri uji
+ : Isolat memiliki aktivitas terhadap bakteri uji

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit

No	Kode Isolat	Diameter zona hambatan (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	J. 1A	-	-
2.	J. 1B	16,48	20,04

PEMBAHASAN

Penelitian isolasi fungi endofit penghasil antibakteri dari daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) asal Desa Cemba Kota Enrekang telah dilakukan.

Proses isolasi merupakan tahap pertama yang dilakukan untuk memperoleh fungi endofit dari sampel. Permukaan sampel daun yang akan digunakan harus steril dan bebas dari kontaminasi sehingga fungi yang tumbuh pada media isolat benar merupakan fungi endofit. Menurut Novarianti (2017), sampel yang digunakan dalam mengisolasi fungi endofit harus memenuhi kriteria segar dan sehat karena di dalam jaringan tumbuhan inang yang sakit biasanya didominasi oleh fungi patogen.

Permukaan daun cemba disterilisasi dengan merendam daun ke dalam alkohol 70% dan NaOCl. Menurut Pratiwi (2008), Alkohol 70% berfungsi untuk mendenaturasi protein, membran sel, merusak struktur lemak dan membran protein mikroba sehingga mikroba mengalami dehidrasi sedangkan NaOCl akan melepaskan klor dan berikatan dengan protein membran sel dan enzim sehingga dapat terjadi oksidasi dan kerusakan organel terpenting dari sel mikroba.

Pembilasan menggunakan aquades steril dilakukan setelah proses dekontaminasi untuk menghilangkan sisa alkohol dan NaOCl yang menempel pada sampel. Menurut Zhang dkk., (2006), kombinasi kedua pelarut digunakan untuk

mensterilkan permukaan organ tanaman secara optimal.

Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode *direct seed planting* yaitu sampel langsung ditempelkan pada media isolasi (Gambar 5a). Potongan daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) pada media isolasi kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 4x24 jam dan pertumbuhannya diamati setiap hari (Gambar 5b). Pengerjaan proses sterilisasi permukaan dan isolasi fungi endofit dilakukan secara aseptis dalam *Laminar air flow cabinet* untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi dari lingkungan (Radji, 2011).

Media isolasi yang digunakan medium PDA, Medium PDA merupakan media yang umum digunakan untuk menumbuhkan fungi endofit dan media pemurnian fungi endofit. Medium PDA kaya akan nutrisi, sehingga memudahkan pertumbuhan fungi endofit. Medium PDA mengandung ekstrak kentang dan dekstrosa, sebagai sumber karbohidrat dan nutrisi untuk pertumbuhan fungi endofit (Aziz, 2017).

1. Peremajaan dan Pemurnian Isolat Fungi Endofit

Fungi endofit yang berhasil tumbuh pada media isolasi diamati koloni fungsinya. Pengamatan koloni fungi endofit dilakukan dengan menggunakan kriteria bahwa bentuk koloni yang berbeda dianggap sebagai isolat yang berbeda. Setiap koloni dengan morfologi berbeda dipisahkan menjadi isolat tersendiri yang ditanam pada media PDA baru untuk memperoleh biakan fungi yang murni. Dua isolat fungi endofit hasil pemurnian tersebut selanjutnya diberi kode isolat 1 (J. 1A) dan Isolat 2 (J. 1B) (Gambar 6). Dilakukan uji karakteristik secara makroskopis pada kedua isolat tersebut.

2. Karakterisasi Fungi Endofit

Permukaan isolat J. 1A secara makroskopis berwarna kuning kecoklatan yang merupakan kumpulan hifa, tekstur koloni bulat, di sisi luar jamur terdapat hifa berwarna putih, di sisi tengah jamur berwarna coklat sedangkan jika dilihat dari penampakan bawah, hifa cenderung berwarna kekuningan dan tipe pertumbuhannya lambat.

Permukaan isolat J. 1B permukaannya berwarna hijau tua yang merupakan kumpulan hifa, tekstur koloni

tidak merata, di sisi luar jamur terdapat hifa berwarna putih, di sisi tengah hifa berwarna hijau tua sedangkan jika dilihat dari penampakan bawah, hifa cenderung berwarna putih dan tergolong dalam tipe pertumbuhan cepat (tabel 1).

3. Uji Antagonis

Isolat murni yang diperoleh selanjutnya diujikan pada bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, tujuannya untuk mengetahui potensi awal isolat dalam menghambat bakteri uji. Hasil uji antagonis kedua isolat terhadap bakteri uji, menunjukkan bahwa isolat J. 1A dapat menghambat aktivitas *S. aureus* yang dilihat dari terbentuknya zona bening di sekitar isolat sedangkan pada bakteri *E. coli* tidak menunjukkan adanya hambatan yang dapat dilihat dari zona bening sekitar isolat. Isolat J. 1B tidak dapat menghambat aktivitas dari bakteri *E. coli* dan pada bakteri *S. aureus* dapat dilihat zona bening yang disekitar yang mengartikan bahwa isolat tersebut dapat menunjukkan hambatan. (tabel 2, gambar 7, dan 8).

Isolat fungi endofit dapat menghambat pertumbuhan fungi uji, disebabkan karena adanya kompetisi ruang dan nutrisi antara isolat fungi endofit dengan bakteri uji. Penghambatan pertumbuhan bakteri uji oleh isolat fungi endofit diinkubasi selama 1x24 jam, karena pada masa ini fungi endofit membutuhkan banyak nutrisi dan mengeluarkan berbagai macam enzim pertumbuhan. Enzim yang dihasilkan antara lain *kitinase* yang berperan dalam pertahanan diri dan *protease* yang berperan penting dalam melisis dinding sel selama terjadi interaksi dengan bakteri uji yang bersifat patogen, sehingga pertumbuhan isolat fungi endofit mengurangi ruang yang tersedia untuk bakteri. Pemanfaatan sumber nutrisi yang sama antara fungi endofit dengan bakteri uji menyebabkan persaingan yang sangat kompetitif antara keduanya (Atikah, 2018).

4. Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Isolat fungi endofit (J. 1A dan J. 1B) dilanjutkan ketahap fermentasi untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri. Proses fermentasi menggunakan medium *Potato Dextrose Yeast* (PDY). Medium PDY dipilih sebagai medium fermentasi sebab PDY

mengandung nitrogen sebanyak 10,6% dari *yeast extract* dan 1% dari *Potato Dextrose Broth* (PDB) sehingga total nitrogen yang terkandung dalam medium ini merupakan total nitrogen yang berasal dari *yeast extract* dan PDB. Nitrogen sebagai salah satu makronutrien yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisme (Aziz, 2017).

Medium fermentasi yang digunakan adalah medium yang memiliki pH 6. Pengukuran pH dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keasaman dari medium fermentasi. Hal ini disebabkan karena pH medium dapat mempengaruhi membran sel, morfologi dan struktur sel serta produksi biosintesis fungi endofit. Fungi endofit akan tumbuh dan berkembang biak pada pH yang optimum yaitu 6,7. Kondisi ini merupakan pH yang optimal bagi fungi endofit dalam memproduksi metabolit sekunder (Aziz, 2017).

Proses fermentasi dilakukan selama 3x24 jam pada suhu 25°C dengan metode fermentasi goyang (*shaking fermentation*) menggunakan *incubator shaker*. Fermentasi goyang merupakan metode pemanfaatan medium oleh mikroorganisme yang hasilnya lebih efisien, mempercepat pertumbuhan dan pertumbuhannya lebih homogen karena proses agitasi dan aerasi dalam fermentasi goyang menyebabkan efisiensi suplai oksigen lebih baik dan distribusi panas tersebar rata pada semua bagian substrat yang dibutuhkan oleh mikroorganisme (Novarienti, 2017).

Perubahan pada medium kultur dihari pertama dan kedua fermentasi isolat J. 1A dan isolat J. 1B tidak terlihat sedangkan pada hari ketiga mulai terlihat adanya hifa berwarna putih. Bentuk-bentuk seperti kapas tersebut adalah spora atau konidia tunggal yang sudah menjadi miselium. Pemisahan miselium dari mediannya harus melalui suatu penyaringan (Ganjar, 2006 dalam Novarienti 2017). Cairan fermentasi selanjutnya diujikan pada bakteri uji yaitu *E. coli* dan *S. aureus*.

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri isolat J. 1A dan isolat J. 1B dengan menggunakan metode difusi. Cairan fermentasi ditetaskan pada kertas cakram yang berukuran 6 mm hingga mengering.

Pengeringan ini bertujuan agar senyawa metabolit sekunder terserap secara merata pada kertas cakram. Kemudian di letakkan di permukaan media yang telah diberi bakteri uji (*E.coli* dan *S. aureus*) kemudian diinkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C.

Metode ini merupakan salah satu metode kualitatif uji aktivitas antibakteri yang hanya akan memberikan gambaran tentang ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari zat tersebut (Hermawati 2016).

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat J.1A menunjukkan tidak adanya zona hambatan pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Isolat J.1B menunjukkan zona hambatan pada *Escherichia coli* sebesar 20,04 mm dan *Staphylococcus aureus* 16,48 mm. Zona hambatan dari J.1B dimasukkan ke dalam kategori kuat (tabel 3 dan gambar 7). Menurut Rastina dkk. (2015), yang menyatakan bahwa kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa isolasi fungi endofit dari daun cempa menghasilkan dua fungi endofit murni. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa J. 1A tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Isolat J. 1B untuk *Escherichia coli* dengan zona hambatan sebesar 20,04 mm dan *S. aureus* dengan zona hambatan sebesar 16,48 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Qur'an.

Ahmad, A. R., 2014. Standardization of Simplisia and Methanolic Extracrt of Cempa (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) Leaves Endemic Plant from Massenrenpulu Regency of Enrekang. *World Jurnal of Pharmaceutical Sciences*. Fakultas Farmasi Univ. Muslim Indonesia. Makassar.

- Alim, A., Razak T. & Citrakesumasari, 2011. Evaluasi Program Pemberian Bubuk Taburia di Kota Makassar. *Jurnal Universitas Hasanuddin*. Makassar.
- Amiri, IS. A., Nikoukar A., Shahidinejad T., Anwar J., Ali, 2014. The Impact of Nutrition on Child Development at 3 Years in a Rural Community. *International Jurnal of Prevenive*. India.
- Brooks, G. F., Stephen A. M., Jawets M and Adelber G. S., 2007. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 23*, Ahli Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B, Mertaniasih, N. M. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Djide, M. N. & Sartini., 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makasar: Lephass, Halaman 81.
- Ganiswarna, S. G., 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi Keempat*. FK-UI. Jakarta hal. 571-573.
- Garrrity, G. M., Matthew W., Danise B. S., 2004. *Taxonomic Outline of The Procaryotes: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, 2nd ed., Release 5,0 Spring-Verlag, p. New York.
- Hamka, A., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal mikrobiologi*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar. Makassar.
- Hidayat, R., 2009. Isolasi dan Seleksi Fungi Endofit Tumbuhan Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Penghasil Antimikroba. *Skripsi*. Universitas Nasional. Jakarta.
- Hoffmann, M. P. & Anne C. F., 1993. *Natural enemies of Vegetable Insect Pest. Cooperative Extension*. Cornell University. Iyhaca. New York.
- Ikatrinasari, Z. F., 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit Akar Tanaman Kayu Jawa (*Lanneacoromandelica*) (Hoult.) Merr.) *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Nisa, K., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi Endofit dan Ekstrak Daun dari *Chrimolaena odorata* terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Skripsi*. Program Studi Biologi Jurusan Sains Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel.
- Novarienti, N. D., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Kapang Endofit Tanaman Lumut Hati (*Marchantia emarginata* Reinw., Blume & Nees). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2011. *Pedoman umum antibiotika*. Jakarta.
- Kumala, S. & M. Biomed, 2014. *Mikroba Endofit*, ISFI Penerbitan. Jakarta Barat.
- Lilis, A. S., 2014. Isolasi dan Karakterisasi Metabolit Sekunder Antibakteri Isolat Fungi Endofit Akar Tumbuhan Cemba (*Acacia Rugata* (Lam.) Fawc Rendle). *Skripsi*. Sekolah Ilmu Farmasi. Makassar.
- Pelczar, M. J., 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi* 2. Penerbit Universitas Indonesia (UI Press). Jakarta.
- Penerson, L. R., 2005. Squeezing The Antibiotic Ballon: The Impact of Antimicrobial Classes on Emerging Resistance,. Evanston Northwestern Healthcare, The Feinbery, Shool of Medicine at North Western University. *International Jurnal of Research In Pharmaceutical and Biomedical Scinces*. USA.

- Pratiwi, S. T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Farmasi. Erlangga Universitas Gadjah Mada. Jakarta.
- Prihatiningtias, W., 2005. Senyawa bioaktif fungi endofit akar kuning (*Fibraurea hloroleucac* Miers) sebagai senyawa antimikroba. *Thesis*. Pascasarjana Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Proverawati, A. & Siti, A., 2018. *Buku Ajar Gizi untuk Kebidanan*. Yogyakarta.
- Radji, M., 2011. *Buku ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Rooshereo, I. G., Wellyzar S., Ariyanti O., 2006. *Mikrobiologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obat Indonesia. Jakarta.
- Sari, N. I. 2018. Isolasi Fungi Endofit Daun Talas (*Xanthosomasagitifolium* (L) Schott.) sebagai Penghasil Senyawa Antifungi. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar. Makassar
- Simarmata, R., 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Jurnal Penelitian Hayati*.
- Strobel, G., 2004. Natur al Products from Endophytic Microorganism. *Journal Scholar*.
- Sunarmi & Cahyo., 2010. Isolasi Dan Identifikasi Jamur Endofit Dari Akar Tanaman Kentang Sebagai Anti Jamur (*Fusarium Sp*, *Phytophthora infestans*) Dan Anti Bakteri (*Ralstonia Solanacaerum*). *Jurnal Mikrobiologi Farmasi*. Universitas Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Worang, R. L., 2003. *Fungi Endofit Sebagai Penghasil Antibiotika*. Program Pasca sarjana Institut Pertanian. Bogor.
- World Health Organization, 2011. *THE World Medicine Situation 3ed. Rational Use of Medicine*. Geneva.