

Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*

Novita Andriani¹, St. Ratnah¹, Dwi Rachmawaty Daswi¹, Sesilia Rante Pakadang¹ dan Alfrida Monica Salasa¹

¹ Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar, Jl. Baji Gau No.10, Makassar, 90223

² Program Studi Apoteker, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

Reception date of the manuscript: 28 Mei 2024
Acceptance date of the manuscript: 01 September 2024
Publication date: 12 September 2024

Abstract—Sirsak plant is traditional plant that believed empirically as cough medicine, dysentery, rheumatism, lowering uric acid levels and diarrhea community. *Vibrio cholerae* and *Bacillus subtilis* types bacteria can cause diarrhea. This study aims to determine the number endophytic fungi found from *Sirsak* leaves, to determine antibacterial activity endophytic fungi isolates from *Sirsak* leaves against *Vibrio cholerae*, and *Bacillus subtilis*. Furthermore, inoculated repeatedly on SDA for 5-7 days until isolates were obtained. Each isolate was fermented with GDP for 2-3 weeks and then extracted with ethyl acetate. Ethyl acetate extract was used antibacterial with agar diffusion method MHA media. Test results showed that 5 isolates were obtained, namely White DS isolate, Toska DS isolate, Green DS isolate, Cream DS isolate, and Blackish Brown DS isolate. Where DS White isolate suspected of *Cylindrocladium* sp, DS Toska isolate suspected of *Aspergillus fumigatus*, DS Green, isolate suspected of *Aspergillus flavus*, DS Cream isolate suspected of *Aspergillus terreus*, DS Blackish Brown isolate suspected of *Aspergillus niger*. *Sirsak* leaf endophytic fungal isolates (White DS, Toska DS, Green DS, Cream DS and Blackish Brown DS) showed antibacterial activity against *Vibrio cholerae* and *Bacillus subtilis*.

Keywords—*Sirsak* leaves, Antibacterial, Endophytic fungi, *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis*

Abstrak—Tanaman Sirsak merupakan tanaman tradisional yang diyakini secara empiris sebagai obat batuk, disentri, rematik, menurunkan kadar asam urat dan diare oleh masyarakat. *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis* adalah jenis bakteri yang dapat menyebabkan Diare. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah fungi endofit yang ditemukan dari Daun Sirsak, mengetahui aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari Daun Sirsak terhadap *Vibrio cholerae*, dan *Bacillus subtilis*. Selanjutnya diinokulasikan berulang pada SDA selama 5-7 hari hingga diperoleh isolat. Masing-masing isolat difermentasi dengan PDB 2-3 minggu kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Ekstrak etil asetat digunakan untuk aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar pada media MHA. Hasil pengujian menunjukkan didapatkan 5 isolat yaitu isolat DS Putih, isolat DS Toska, isolat DS Hijau, isolat DS Cream, dan isolat DS Coklat Kehitaman. Di mana isolat DS Putih diduga fungsi *Cylindrocladium* sp, isolat DS Toska diduga fungsi *Aspergillus fumigatus*, isolat DS Hijau diduga *Aspergillus flavus*, isolat DS Cream diduga fungsi *Aspergillus terreus*, isolat DS Coklat Kehitaman diduga fungsi *Aspergillus niger*. Isolat fungi endofit Daun Sirsak (DS Putih, DS Toska, DS Hijau, DS Cream dan DS Coklat Kehitaman) memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*.

Kata Kunci—Daun sirsak, Antibakteri, Fungi Endofit, *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis*

1. PENDAHULUAN

Di Indonesia, diare merupakan penyakit yang menjadi masalah kesehatan yang sangat beresiko disebabkan persentase morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi. Menurut riset Subdit Diare, Departemen Kesehatan pada tahun 2003 sampai 2010 telah terjadi peningkatan jumlah penduduk yang mengalami kejadian diare yaitu dari angka 301 penduduk meningkat menjadi 411 penduduk dari 1000 total jumlah penduduk. Ada sebanyak 1213 orang mengalami kejadian diare di

11 provinsi, 18 kabupaten/kota yang terjadi pada tahun 2017 (Ambarwati & Ibrahim, 2021). Diare merupakan keadaan di mana terjadi buang air besar dengan konsistensi yang lembek ataupun cair, terlebih lagi dapat juga berbentuk cair saja dengan frekwensi selalu lebih dari rata-rata yaitu 3 kali ataupun lebih dalam satu hari. Salah satu penyebab diare adalah adanya infeksi yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Bacillus subtilis* dan *Vibrio cholerae*.

Kolera merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang bernama *Vibrio cholerae*. Kolera menyebabkan pengidapnya mengalami gejala diare parah. Penyakit ini dapat terjadi pada orang dewasa maupun menyerang anak-anak dan diare yang ditimbulkannya dapat berakibat parah hing-

ga menimbulkan terjadinya dehidrasi. Kolera dapat menular karena *Vibrio cholerae* yang mengkontaminasi makanan atau minuman. Kondisi ini dapat mewabah di wilayah padat penduduk serta memiliki lingkungan yang kotor (Kusuma et al., 2021).

Selain *Vibrio cholerae*, bakteri lain yang dapat menyebabkan diare adalah *Bacillus subtilis*. Populasi *Bacillus subtilis* yang besar dalam usus dapat menyebabkan diare yang ditularkan melalui makanan. Pada makanan seperti biji - bijian, daging, susu, keju, dan sayuran, bakteri ini dapat berkembang biak. Bakteri ini dapat tumbuh dan menghasilkan toksin yang merugikan kesehatan manusia jika makanan tidak dipersiapkan atau disimpan dengan baik. Tanda - tanda awal dari mengonsumsi makanan yang terkontaminasi bakteri ini biasanya berupa diare dan sakit perut. Tanda - tanda dan gejala ini mulai muncul beberapa jam atau beberapa hari setelah makan makanan yang terkontaminasi (Putri et al., 2023).

Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn) merupakan salah satu jenis tumbuhan obat tradisional. Tumbuhan sirsak banyak diteliti karena kandungan buah maupun daunnya dapat memberikan banyak manfaat bagi masyarakat. Masyarakat banyak memanfaatkan bagian-bagian tanaman sirsak untuk menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya diare (Prasetyo Hasyim, 2022).

Mikroba endofit digunakan karena daun sirsak sulit untuk diperoleh dalam jumlah banyak dan sudah jarang ditemukan di beberapa daerah, sehingga tidak memungkinkan penggunaan dalam jumlah banyak. Fungi Endofit merupakan mikroorganisme yang berasosiasi dengan jaringan tanaman sehat yang bersifat netral atau menguntungkan yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder seperti senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah fungi endofit yang terdapat pada daun sirsak (*Annona muricata* Linn), serta menentukan aktivitas antibakteri isolat fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian tentang mikroba endofit khususnya fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* Linn) belum banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi, identifikasi dan aktivitas fungi endofit dari Daun Sirsak terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan terdiri dari alkohol 75 %, aquadest, kultur murni bakteri *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*, Daun Sirsak segar, Dimetil Sulfoksida (DMSO), etanol 70 %, Saboroud Dextrose Agar (SDA), Nutrient Agar (NA), Potato Dextrose Broth (PDB), natrium hipoklorit (NaOCl) 5 %, dan kloramfenikol 0,005 %. Alat yang digunakan terdiri dari aluminium foil, autoklaf, batang pengaduk, blank paper disc, cawan petri, cutter, erlenmeyer, cover glass, gelas kimia, gelas ukur, gunting, hotplate, inkubator, ose bulat, kapas, LAF (*Luminary Air Flow*), lampu spiritus, mikroskop, *rotary evaporator*, *object glass*, oven, pinset, pisau, swab steril, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

2.2 Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental di laboratorium dengan melakukan proses isolasi,

identifikasi, dan pengujian aktivitas antibakteri fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini dilakukan mulai pada bulan Januari sampai dengan Maret 2024, dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar.

2.3 Isolasi Dan Pemurnian Fungi Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang masih segar dibersihkan dengan cara dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, selanjutnya permukaan daun disterilkan dengan cara daun direndam berturut-turut dengan menggunakan alkohol 75 % selama 1 menit, selanjutnya direndam dengan Natrium Hipoklorit (NaOCl) 5 % selama 5 menit, dan direndam kembali dengan alkohol 75 % selama 30 detik. Setelah itu daun tersebut dimasukkan ke dalam cawan petri dan dikeringkan. Setelah kering dipotong dengan ukuran ± 1 cm di atas object glass steril. Potongan daun tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) yang telah ditambahkan kloramfenikol 0,005 % sebelumnya di dalam cawan petri. Diinkubasi pada suhu 25oC selama 5-7 hari.

Semua koloni fungi endofit yang telah tumbuh pada media SDA kemudian dilakukan proses pemurnian dengan cara menginokulasikannya kembali pada media SDA dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 25oC dan diulangi beberapa kali sehingga diperoleh koloni tunggal. Setelah diinkubasi, diperoleh beberapa jenis fungi murni yang dapat dibedakan berdasarkan bentuk dan warna koloni. Semua koloni kemudian dikultur kembali berulang-ulang hingga diperoleh isolat murni fungi endofit (Pakadang et al., 2021).

2.4 Pengujian aktivitas antibakteri Fungi Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis* Dengan Metode Difusi Agar Menggunakan Paper disc

Masing-masing isolat fungi endofit yang telah dimurnikan, dilanjutkan ke tahap fermentasi untuk memperoleh metabolit sekunder yang memiliki sifat sebagai antibakteri. Isolat murni dibuat starter di dalam cawan petri yang berisi medium SDA, kemudian diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 25oC. Isolat yang tumbuh kemudian di potong berbentuk kotak dan diinokulasikan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media cair *Potato Dextrose Broth* dan diinkubasi lagi selama 3-5 hari. Setelah dilakukan fermentasi selama 5 hari, hasil fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat menggunakan corong pisah. Pelarut etil asetat yang bersifat semi polar sehingga dapat digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar (Rante et al. 2020).

Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dimasukkan ke dalam cawan porselin yang sebelumnya telah ditimbang (berat cawan kosong). Ekstrak kemudian diuapkan kembali di atas water bath hingga ekstrak mengering dan di timbang kembali cawan beserta ekstraknya. Ekstrak yang diperoleh kemudian digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion*. Dilakukan hal yang serupa terhadap semua isolat fungi endofit murni yang diperoleh.

Ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat fungi endofit ditimbang kemudian disuspensikan menggunakan DM-

TABEL 1: HASIL ISOLAT FUNGI ENDOFIT DARI DAUN SIRSAK (*Annona muricata* LINN.)

Bahan Uji	Jumlah Isolat
Daun Sirsak	5

SO (konsentrasi 100%). *Paper disc* direndam dalam masing-masing suspensi bahan uji. Bakteri uji *Vibrio cholerae* diulas pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). *Paper disc* kemudian diletakkan sedemikian rupa pada permukaan media MHA. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam hingga 2 x 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan untuk bakteri uji *Bacillus subtilis*. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat pertumbuhan pada sekeliling isolat dengan pembandingan *control negative* DMSO. Zona hambat ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar *paper disc*.

3. HASIL

3.1 Isolasi Fungi Endofit Dari Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Hasil isolasi fungi endofit yang berhasil diperoleh terdiri dari 5 isolat. Isolat fungi endofit yang dapat dilihat pada Gambar 1.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Isolat Fungi Endofit Dari Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*

Hasil penelitian yang diperoleh berupa zona hambat isolat fungi endofit dari Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis* selama 1x24 jam, suhu 37°C (Tabel 2).

4. PEMBAHASAN

Isolasi, identifikasi dan aktivitas antibakteri fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) dilakukan untuk menentukan jumlah isolate fungi endofit yang terdapat dalam Daun sirsak. Masing-masing isolat kemudian diidentifikasi dengan membandingkan koloni yang tumbuh secara makroskopis dan mikroskopis dengan literatur yang tersedia. Selanjutnya isolat-isolat tersebut diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*.

Fungi endofit merupakan fungi yang hidup dan berasosiasi di dalam jaringan tumbuhan, sehingga tahapan awal yang dilakukan adalah melakukan sterilisasi permukaan bahan uji yaitu daun sirsak. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan tujuan untuk membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan daun. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan menggunakan Alkohol 75% dan Natrium Hipoklorit 5%. Natrium Hipoklorit 5% digunakan karena dapat membunuh bakteri sebesar 98% dengan waktu kontak 30 detik (Maharani, 2018) sedangkan penggunaan Alkohol 75% karena dapat melarutkan membrane lipid dan mendenaturasikan protein pada mikroba sehingga membunuh mikroorganisme (Auliya et al., 2021). Daun sirsak yang telah disterilkan permukaannya selanjutnya diinokulasi pada media SDA dan diinkubasi selama 5-7 hari, pada suhu 25°C. Setelah proses isolasi didapatkan sebanyak 5 isolat murni fungi endofit yaitu isolat DS (Daun Sirsak) Putih, isolat DS (Daun Sirsak) Toska, isolat DS (Daun Sirsak) Hijau, isolat DS (Daun Sirsak) Cream,

isolat DS (Daun Sirsak) Coklat Kehitaman.

Koloni isolat DS Putih secara makroskopik berwarna putih dan lembut seperti kapas, dan secara mikroskopik memiliki konidia, konidifor dan cabang konidiofor. Berdasarkan hal tersebut maka isolat DS Putih diduga adalah *Cylindrocladium* sp merujuk pada (Manurung & Kurniatuhadi, 2022) mengatakan bahwa *Cylindrocladium* sp berwarna putih di bagian atas, bawah, dan tepi secara mikroskopis memiliki hifa bersekat, spora yang halus, memiliki konidia, konidiofor, dan cabang konidiofor. Sedangkan menurut (Hutajulu et al., 2019) *Cylindrocladium* sp secara makroskopik koloni berwarna putih dan mikroskopiknya memiliki Konidiofor, cabang konidiofor dan klandiospora.

Koloni isolat DS Toska memiliki penampakan makroskopik berwarna toska dan berbentuk seperti beludru dan mikroskopik memiliki konidia atas berwarna hijau, terdapat spora, dan konidiofor tidak berwarna. Isolat DS Toska diduga sebagai *Aspergillus fumigatus*. Hal ini merujuk pada hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti-peneliti sebelumnya. Berdasarkan penelitian (Jamilatun et al., 2020) secara makroskopik, *Aspergillus fumigatus* memiliki koloni berwarna hijau kebiruan, tekstur kasar dan koloninya tebal. Penelitian lainnya (Lindawati & Rini, 2019) menyatakan jika masih muda, koloni *Aspergillus fumigatus* akan berwarna putih, dan akan berubah menjadi hijau seiring dengan terbentuknya konidia. Kepala konidia berbentuk kolomnar, konidiofor pendek, ber dinding halus, dan berwarna hijau. Sementara merujuk pada (Indriani et al., 2020) mengatakan bahwa *Aspergillus fumigatus* secara mikroskopis memiliki konidia atas berwarna hijau, terdapat spora hasil dari rantai panjang spora, dan konidiofor tidak berwarna. *Aspergillus fumigatus* secara makroskopis pertumbuhan permukaan koloni nampak seperti beludru, memiliki bulu halus, menunjukkan berbagai nuansa hijau, paling sering biru-hijau ke abu-abu-hijau dengan batas putih sempit. Pengamatan secara mikroskopis nampak hasil dengan ciri-ciri hifa tidak bersepta, memiliki konidiofor yang memanjang dengan dinding yang halus serta pada ujung vesikel berbentuk gada, dan konidia yang berbentuk kolomnar memanjang (Nontji et al., 2023). Menurut (Urip et al., 2021) secara makroskopik, koloni jamur *Aspergillus fumigatus* berwarna hijau tua yang sekelilingnya berwarna putih pada bagian sampingnya, dengan ukuran diameter sekitar 2-3 cm dan dengan bentuk bulat dan memiliki permukaan halus menyerupai beludru dengan karakteristik hifa tidak bersekat, mempunyai konidiofor yang memanjang dengan dinding halus, konidia yang berbentuk kolomnar, konidiofor yang melekat pada ujung konidia.

Isolat DS Hijau memiliki penampakan makroskopik koloni berwarna hijau dan berbentuk seperti beludru dan secara mikroskopik terlihat adanya tangkai konidia (hifa), vesikel, dan konidiofor. Berdasarkan hal tersebut maka isolat DS Hijau diduga adalah *Aspergillus flavus* merujuk pada hasil penelitian (Murtafi'ah, 2021) yang menyatakan bahwa *Aspergillus flavus* secara makroskopik berwarna hijau dan secara mikroskopisnya memiliki tangkai konidia (hifa) bening tidak bersepta, vesikel dan konidiofor. Menurut penelitian (Putra et al., 2020), koloni *Aspergillus flavus* nampak berwarna hijau sampai hijau kekuningan dengan bentuk koloni granular dan kompak. Koloni yang masih muda berwarna putih dan warnanya berubah menjadi hijau kekuningan setelah membentuk konidia. Pengamatan *A. flavus* tampak vesikel yang memiliki

TABEL 2: HASIL UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* LINN.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio cholerae*

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Vibrio cholerae</i> 1x24 jam	Putih	24	17	22	63	21
	Toska	21,5	19,5	20,5	61,5	20,3
	Hijau	23	15	21	59	19,67
	Cream	19,5	20,5	15	55	18,3
	Coklat Kehitaman	20	17,5	17,5	55	18,3
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0
<i>Vibrio cholerae</i> 2x24 jam	Putih	13,5	15,5	13	42	14
	Toska	8,5	8	7	23	7,83
	Hijau	7,75	7,5	8	23,25	7,75
	Cream	0	0	0	0	0
	Coklat Kehitaman	0	0	0	0	0
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

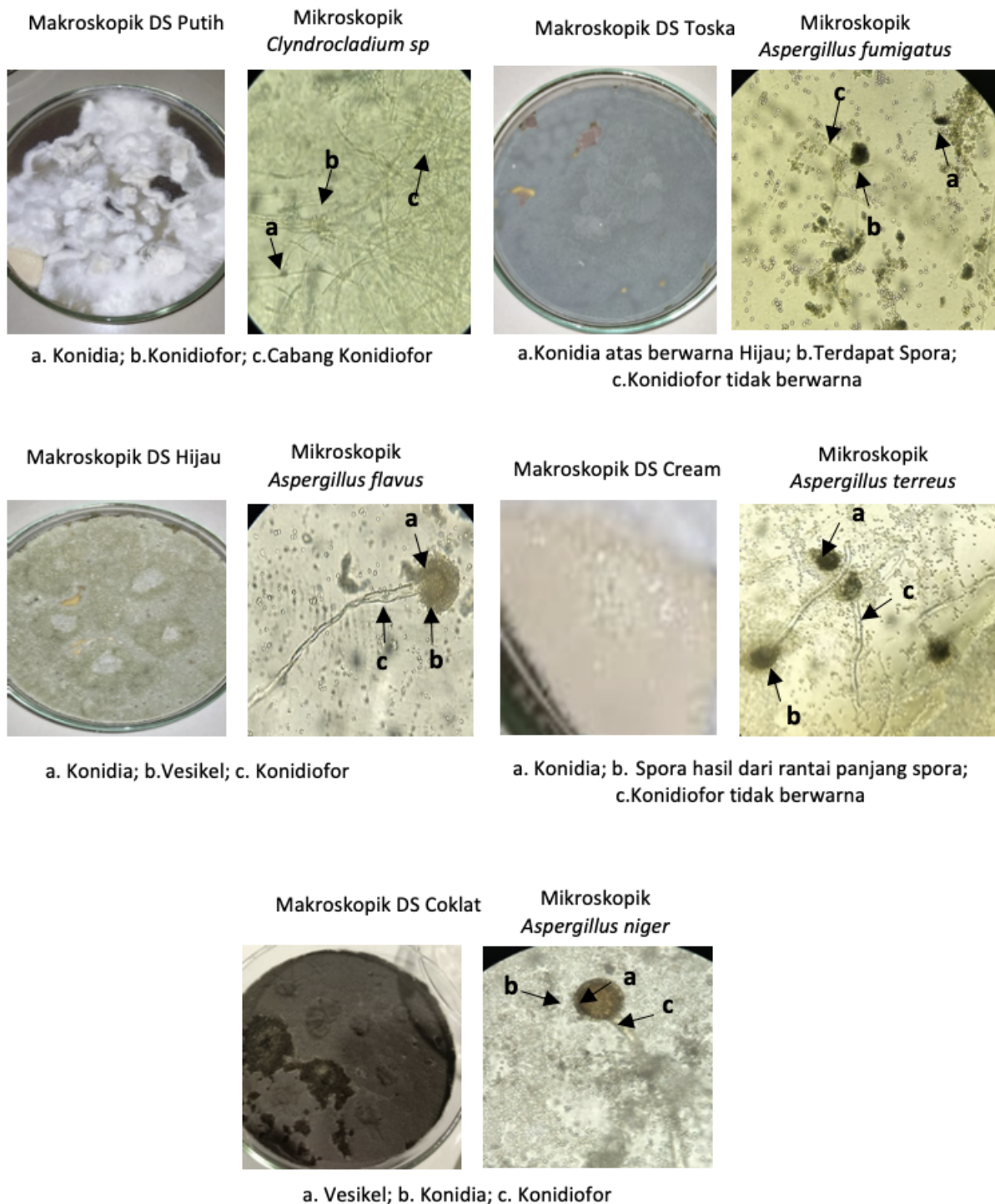
TABEL 3: HASIL UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT ISOLAT FUNGI ENDOFIT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* LINN.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis*

Bahan Uji	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Bacillus subtilis</i> 1x24 jam	Putih	16	17	16,5	49,5	16,5
	Toska	20,5	18,5	19	58	19,33
	Hijau	20,5	15,5	16,5	52,5	17,5
	Cream	15,5	16	16	47,5	15,83
	Coklat Kehitaman	15,5	16	16,5	48	16
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> 2x24 jam	Putih	12	15	13,5	40,5	13,5
	Toska	11	9,5	8	28,5	9,5
	Hijau	10	9,5	9,75	29,25	9,75
	Cream	7	8,5	7,75	23,25	7,75
	Coklat Kehitaman	7,5	10	7,5	25	8,3
	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

TABEL 4: HASIL ANALISIS MANN WHITNEY EKSTRAK ETIL ASETAT ISOLAT FUNGI ENDOFIT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* LINN.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio cholerae*

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Vibrio cholerae</i> 1x24 jam	Isolat DS Putih	3	21.0000	3.60555	22.00 ^a	17.00	24.00
	Isolat DS Toska	3	20.5000	1.00000	20.50 ^{ab}	19.50	21.50
	Isolat DS Hijau	3	19.6667	4.16333	21.00 ^{abc}	15.00	23.00
	Isolat DS Cream	3	18.3333	2.92973	19.50 ^{abcd}	15.00	20.50
	Isolat DS Coklat Kehitaman	3	18.3333	1.44338	17.50 ^{abcd}	17.50	20.00
<i>Vibrio cholerae</i> 2x24 jam	Isolat DS Putih	3	14.0000	1.32288	13.50	13.00	25.50
	Isolat DS Toska	3	7.8333	0.76376	8.00 ^p	7.00	8.50
	Isolat DS Hijau	3	7.7500	0.25000	7.75 ^{pq}	7.50	8.00
	Isolat DS Cream	3	7.5000	0.00000	7.50 ^{pq}	7.50	7.50
	Isolat DS Coklat Kehitaman	3	7.0000	0.00000	7.00 ^p	7.00	7.00

Keterangan: ^{abcd} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* ^{pqrs} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*



Gambar. 1: Karakteristik Isolat Fungi Endofit Dari Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Secara Makroskopik dan Mikroskopik

ki bentuk bulat hingga lonjong. Konidianya berbentuk bulat serta konidiofornya panjang dan berbentuk silinder. Menurut (Nontji et al., 2023), *Aspergillus flavus* secara makroskopis yaitu terlihat koloni tampak seperti tepung dimana mula-mula berwarna putih hijau dengan diakhir nampak hijau tebal serta secara mikroskopis *Aspergillus flavus* yang terdiri atas konidia, vesikel serta konidiofor. Penelitian lainnya menyebutkan *Aspergillus flavus* menghasilkan koloni yang berwarna kuning hijau atau coklat pucat, abu-abu hingga kehitaman. Konidiofornya tidak berwarna, bagian atas agak bulat ser-

ta konidia kasar dengan bermacam-macam warna, berukuran kurang lebih 1 mm, dan tepat dibawah vesikel bulat biasanya kasar (Lindawati & Rini, 2019).

Isolat DS Cream secara makroskopik nampak koloni berwarna cream dan berbentuk seperti beludru serta penampakan mikroskopiknya terlihat adanya konidia, spora hasil dari rantai panjang spora, dan konidiofor tidak berwarna. Berdasarkan hal tersebut maka isolat DS Cream diduga adalah *Aspergillus terreus* merujuk pada (Indriani et al., 2020) yang menyatakan bahwa secara makroskopik koloni berwar-

TABEL 5: HASIL ANALISIS MANN WHITNEY EKSTRAK ETIL ASETAT ISOLAT FUNGI ENDOFIT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* LINN.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis*

Bakteri Uji	Perlakuan	N	Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji				
			Mean	Std.dev	Median	Min	Max
<i>Bacillus subtilis</i> 1x24 jam	Isolat DS Putih	3	16.5000	0.50000	16.50 ^a	16.00	17.00
	Isolat DS Toska	3	19.3333	1.04083	19.00 ^b	18.50	20.50
	Isolat DS Hijau	3	17.5000	2.64575	16.50 ^{abc}	15.50	20.50
	Isolat DS Cream	3	15.8333	0.28868	16.00 ^{acd}	15.50	16.00
	Isolat DS Coklat Kehitaman	3	16.6667	1.25831	16.50 ^{acd}	15.50	18.00
<i>Bacillus subtilis</i> 2x24 jam	Isolat DS Putih	3	13.5000	1.50000	13.50	12.00	15.00
	Isolat DS Toska	3	9.5000	1.50000	9.50 ^q	8.00	11.00
	Isolat DS Hijau	3	9.7500	0.25000	9.75 ^{qr}	9.50	10.00
	Isolat DS Cream	3	7.7500	0.75000	7.75 ^[qs]	7.00	8.50
	Isolat DS Coklat Kehitaman	3	8.3333	1.44338	7.50 ^{qrs}	7.50	10.00

Keterangan: ^{abcd} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* ^{pqrs} : menunjukkan aktivitas yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*

na krem, dengan tekstur beludru. Secara mikroskopik, tangkai konidia, konidiofor yang kasar tidak berwarna, vesikel dan spora/konidia berbentuk seperti elips berwarna hijau kebiruan. Uji makroskopik *Aspergillus terreus* berwarna putih kekuningan hingga kecoklatan dan hasil uji mikroskopis nampak adanya konidia dengan jumlah yang sedikit. Vesikel berbentuk bulat dan terdapat konidiofor panjang dan pendek. Konidiofor dari *Aspergillus terreus* berwarna coklat kekuningan yang akan bertambah gelap dengan bertambahnya umur koloni. Kepala konidia nampak berwarna coklat kekuningan, kompak, konidiofor berwarna hialin dan ber dinding halus. Vesikula berbentuk semi bulat. Konidia berbentuk bulat hingga elips, berdiameter 1,5 – 2,5 m, berwarna hialin hingga kuning muda dan ber dinding halus (Febriyossa & Salsabil, 2022).

Isolat DS Coklat Kehitaman memiliki penampakan makroskopik koloni berwarna Coklat Kehitaman dan berbentuk seperti beludru serta mikroskopiknya memiliki vesikel dan konidia berbentuk bulat, konidiofornya Panjang dan tidak berwarna (hialin). Pada penelitian (Fatur et al., 2023) ciri makroskopis *Aspergillus niger* yaitu memiliki koloni berwarna hitam kecoklatan. Menurut (Putra et al., 2020), *Aspergillus niger* secara mikroskopis memiliki vesikel dengan bentuk bulat memiliki diameter yang berkisar antara 17,52 sampai 23,4 µm. Pada permukaan vesikelnya terdapat sterigma kemudian fialid, dimana konidianya terdapat. Konidianya berbentuk bulat dengan kisaran diameter antara 3,5 sampai 4,5 µm. Konidioforanya panjang dan berbentuk silinder serta tidak berwarna (hialin). Bayjili et al., (2023) menyatakan secara makroskopis tampak koloni *Aspergillus niger* berwarna hitam kecoklatan dan menurut (Septiana et al., 2023), secara makroskopik *Aspergillus niger* memiliki koloni berbentuk bulat, memiliki tekstur yang lembut, tepi koloni rata berwarna coklat dan dapat pula kehitaman serta pengamatan mikroskopiknya konidiofor tumbuh tegak lurus dan tidak bercabang, vesikel berbentuk bulat, memiliki konidia berbentuk bulat dan hitam.

Semua isolat yang sudah murni tersebut kemudian difermentasikan. Tujuan proses ini adalah untuk menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki sifat sebagai antibakteri. Fermentasi dilakukan dengan cara isolat murni dibuat starter dengan menumbuhkannya pada media SDA di dalam cawan petri, dan diinkubasi selama 2-3 hari hingga isolat tum-

buh. Isolat yang telah tumbuh kemudian di potong berbentuk kotak dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media *Potato Dextrose Broth* (PDB), kemudian diinkubasi selama 2-3 minggu dengan sesekali diaduk. Setelah 2-3 minggu, hasil fermentasi selanjutnya diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat di dalam corong pisah. Tujuan menggunakan pelarut etil asetat karena pelarut etil asetat yang memiliki sifat semi polar sehingga akan didapatkan komponen yang bersifat polar dan non polar (Rante et.al 2023), selain itu etil asetat juga memiliki densitas yang lebih rendah dari air sehingga pada proses ekstraksi dengan corong pisah akan terjadi dua lapisan yang terpisah karena pada media PDB yang digunakan pada proses fermentasi menggunakan air sebagai pelarut. Selanjutnya ekstrak etil asetat dari masing-masing isolat fungi endofit diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan diuapkan kembali di atas water bath hingga didapatkan ekstrak yang kering. Masing-masing ekstrak kemudian disuspensikan dengan DMSO sesuai berat ekstrak masing-masing sehingga diperoleh konsentrasi 100 %.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan merendam *blank paper disc* di dalam masing-masing ekstrak selama 30 menit, kemudian paper disc tersebut diletakkan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan bakteri uji. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37oC selama 1x24 jam, diameter zona hambat berupa daerah bening di sekitar paper disc diamati dan diukur. Inkubasi dilanjutkan hingga 2x24 jam, kemudian diamati dan diukur lagi zona hambat yang terbentuk. Jika selama 2x24 jam zona hambat masih terbentuk, maka isolat tersebut dinyatakan memiliki sifat bakterisida yaitu dapat membunuh bakteri uji, tetapi jika zona hambat hanya terbentuk pada masa inkubasi 1 x 24 jam dan setelah 2 x 24 jam bakteri uji tumbuh kembali (daerah bening di sekitar paper disc kembali ditumbuhi bakteri) maka isolat dinyatakan bersifat bakteriostatik (hanya menghambat pertumbuhan bakteri uji).

Hasil pengujian terhadap aktivitas antibakteri *Vibrio cholerae* 1x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat pada isolat DS Putih sebesar 21 mm; isolat DS Toska sebesar 20,5 mm; isolat DS Hijau sebesar 19,67 mm; isolat DS Cream sebesar 18,3 mm; isolat DS Coklat Kehitaman sebesar 18,3 mm. Sedangkan pada pengamatan 2x24 jam jam diperoleh rata-rata zona hambat pada isolat DS Putih sebesar 14 mm; iso-

lat DS Toska sebesar 7,83 mm; isolat DS Hijau sebesar 7,75 mm; namun tidak diperoleh rata-rata zona hambat pada DS Coklat Kehitaman dan DS Cream yang berarti isolat Coklat Kehitaman dan cream tidak dapat membunuh pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*.

Pengujian aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* 1x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat pada isolat DS Putih sebesar 16,5 mm; isolat DS Toska sebesar 19,33 mm; isolat DS Hijau sebesar 17,5 mm; isolat DS Cream sebesar 15,83 mm; isolat DS Coklat Kehitaman sebesar 16 mm. Sedangkan pada pengamatan 2x24 jam diperoleh rata-rata zona hambat pada isolat DS Putih sebesar 13,5 mm; isolat DS Toska sebesar 9,5 mm; isolat DS Hijau sebesar 9,75 mm; isolat DS Cream sebesar 7,75 mm; Isolat DS Coklat Kehitaman sebesar 8,3 mm.

Uji analisis statistik pada data aktivitas antibakteri isolat fungi endofit Daun Sirsak terhadap kedua bakteri uji menggunakan SPSS. Berhubung ada data yang tidak normal maka pengujian dilakukan dengan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Uji nonparametrik *Mann-Whitney* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri isolat fungi endofit yang satu dengan yang lainnya. Berdasarkan analisis uji Mann Whitney yang telah dilakukan pada data dari bakteri uji *Vibrio cholerae* 1 x 24 jam diperoleh nilai sig >0,05 pada pengujian isolat DS Putih memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Toska, isolat DS Hijau, isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Toska memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Hijau, isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Hijau memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Cream memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Coklat Kehitaman.

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae* 2x24 jam diperoleh nilai sig >0,05 pada pengujian Isolat DS Toska memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Hijau, isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Hijau memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Cream. Sedangkan pada pengujian lainnya yaitu isolat DS Putih dengan isolat DS Toska, Isolat DS Hijau, isolat DS Cream, dan isolat DS Coklat Kehitaman memperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam membunuh pertumbuhan bakteri uji *Vibrio cholerae*. Isolat DS Hijau dengan isolat DS Coklat Kehitaman memperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam membunuh pertumbuhan bakteri uji *Vibrio cholerae*. Isolat DS Cream dengan isolat DS Coklat Kehitaman memperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam membunuh pertumbuhan bakteri uji *Vibrio cholerae*.

Uji non-parametrik *Mann-Whitney* pada uji aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* 1x24 jam diperoleh nilai sig >0,05 pada pengujian isolat DS Putih memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan DS Hijau, isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Toska memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Hijau. Isolat DS Hijau memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Cream memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Coklat Kehitaman. Sedangkan pada pengujian lainnya yaitu isolat DS Putih dengan isolat DS Toska, mem-

peroleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *Bacillus subtilis*. Isolat DS Toska dengan isolat DS Cream dan Isolat DS Coklat Kehitaman diperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *Bacillus subtilis*.

Uji Mann-Whitney pada uji aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* 2x24 jam diperoleh nilai sig >0,05 pada pengujian Isolat DS Toska memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Hijau, isolat DS Cream dan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Hijau memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Coklat Kehitaman. Isolat DS Cream memiliki aktivitas yang tidak berbeda nyata dengan isolat DS Coklat Kehitaman. Sedangkan pada pengujian lainnya yaitu isolat DS Putih dengan isolat DS Toska, Isolat DS Hijau, isolat DS Cream, dan isolat DS Coklat Kehitaman memperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam membunuh pertumbuhan bakteri uji *Bacillus subtilis*. Isolat DS Hijau dengan isolat DS Cream memperoleh nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan yang nyata dalam membunuh pertumbuhan bakteri uji *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa pada bakteri uji *Vibrio cholerae*, isolat DS Cream dan DS Coklat Kehitaman bersifat bakteriostatik (menghambat), sedangkan isolate DS putih, toska dan hijau bersifat bakterisida (membunuh). Pada bakteri uji *Bacillus subtilis*, semua isolat fungi endofit daun sirsak bersifat bakteriosida (membunuh).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan data pengamatan yang diperoleh pada penelitian ini, peneliti dapat menyimpulkan bahwa. Isolasi fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang telah dilakukan memperoleh 5 isolat murni yang diduga meliputi *Cylindrocladium* sp, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*. Isolat fungi endofit daun sirsak (DS Putih, DS Toska, DS Hijau, DS Cream dan DS Coklat Kehitaman) memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis*.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua dosen dan staff pegawai di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar dan semua pihak atas bantuan, masukan serta saran dalam proses penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, D., & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus subtilis* terhadap *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(1), 25–32. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n1.p25-32>
- Fatur Bayjili, M., Chamzurni, T., & Jauharlina, J. (2023). Pengaruh Kerapatan Tanaman Penaung terhadap Tingkat Serangan Hama Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei*) dan Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* di Perkebunan Kopi Arabika Gayo (The Effect of Shade Tree Density on Coffee Berry Borrer (*Hypothenemus* . *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4), 1033–1042.
- Febriyossa, A., & Salsabil, A. (2022). Isolasi dan Identifikasi Jamur *Aspergillus* sp. Pada Paru-paru Ayam Pe-

- daging yang Dijual di Pasar Cengkareng Jakarta Barat. *Jurnal Sehat Indonesia (JUSINDO)*, 4(01), 28–35. <https://doi.org/10.36418/jsi.v4i01.43>
- Hutajulu, E. F., Anna, N., Batara, E., & Siregar, M. (2019). Uji infeksi *Cylindrocladium* sp pada tiga klon hibrid *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus pellita*. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(3), 148–158.
- Indriani, C., FR, F., & L, K. (2020). Identification Of *Aspergillus* Sp Growth On White Bread Against Storage Temperature. *Indriani C, Fadhila FR, Kodariah L. Jurnal Kesehatan Rajawali*, 10(2), 92–103. <http://ojs.rajawali.ac.id/index.php/JKR/article/view/75>
- Jamilatun, M., Azzahra, N., & Aminah, A. (2020). Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi Carrot Sucrose Agar dan Potato Dextrose Agar. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 4(1), 168–174. <https://doi.org/10.46638/jmi.v4i1.69>
- Jessica Altin Suhardi, Sesilia Rante Pakadang, Sisilia Tereisia Rosmala Dewi, S. R., & Djuniasti Karim, A. M. S. (2023). Isolasi, Identifikasi Dan Aktivitas Antibakteri Dari Fungi Endofit Daun Miana Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Vibrio Cholerae*. 19(1). Kusuma, E. W., Djatmiko, D., & Rasyidah, R. (2021). Pandemi dan Pemenuhan Hak Anak: Studi Kasus Peran Unicef di Yaman pada Masa COVID-19. *Transformasi Global*, 8(2), 189–204. <https://doi.org/10.21776/ub.jtg.2021.008.02.7>
- Lindawati, S., & Rini, C. S. (2019). Identifikasi *Aspergillus flavus* pada Kue Pia yang Di Jual Di Dusun Warurejo Kabupaten Pasuruan. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 2(2), 56–62. <https://doi.org/10.21070/medicra.v2i2.1618>
- Maharani, K. (2018). Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Dan Biji Manggis (*Garcinia mangostana*) Pada Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*) Dengan Menggunakan Solven Etanol. *Universitas Airlangga*, 5–26.
- Manurung, L. P., & Kurniatuhadi, R. (2022). Inventarisasi Jamur Endofit dari Daun *Avicennia marina* di Mempawah Mangrove Center, Desa Pasir, Kalimantan Barat. *Inventory of Endophyte Fungi from Avicennia marina Leaves in Mempawah Mangrove Center, Pasir Village, West Borneo. LenteraBio*, 11(3), 378–384.
- Murtafi'ah. (2021). Identifikasi Jamur *Aspergillus* Sp Pada Roti Tawar Sebelum Masa Kadaluarsa Di Pasar Burungtungku Kota Bandung. *Klinikal Sains: Jurnal Analis Kesehatan*, 9(2), 122–130. https://doi.org/10.36341/klinikal_sains.v9i2.2159
- Nontji, M., Palad, M., & Diniarti, W. (2023). Isolasi dan Inventarisasi Cendawan Endofit pada Tanaman Tomat. *Agrium: Jurnal Ilmu Pertanian*, 26(1), 37–49. <https://doi.org/10.30596/agrium.v26i1.13736>
- Prasetyo, M. H., & Hasyim. (2022). Nusantara Hasana Journal. *Nusantara Hasana Journal*, 1(11), 22–32. <http://nusantarahasanajournal.com/index.php/nhj/article/view/279>
- Putra, G. W., Ramona, Y., & Proborini, M. W. (2020). Eksplorasi Dan Identifikasi Mikroba Pada Rhizosfer Tanaman Stroberi (*Fragaria* x *anannya Dutch*) Di Kawasan Pancasari Bedugul. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 7(2), 62. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i02.p09>
- Putri, F. S., Rahayu, T. P., & Fitriyati, L. (2023). Antibacterial Activity Of Extract Ethanol White Turmeric (*Curcuma mangga Val*) Test On *Bacillus subtilis* Causes Diarrhea Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Kunir Putih (*Curcuma mangga Val*) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* Penyebab Diare. *Prosiding University Research Colloquium*, 622–634.
- Septiana, L. M., Ajizah, A., & Halang, B. (2023). Karakterisasi Jamur Mikroskopis Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagai Materi Pengayaan Konsep Fungi Kelas X SMA/MA. *JUPEIS: Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Sosial*, 2(3), 24–32. <https://doi.org/10.57218/jupeis.vol2.iss3.621>
- Urip, U., Jiwintarum, Y., & Gandi, N. L. P. G. (2021). Studi Jamur *Aspergillus fumigatus* di Pasar Cakranegara Kota Mataram Penyebab Penyakit Aspergillosis Menggunakan Media Pertumbuhan Potato Dextrose Agar. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2), 631. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v9i2.4560>