

**ISOLASI JAMUR ENDOFIT DARI DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus DAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh:

MIFTACHUL HANIAH

NIM : 03520054



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG
2008**

**ISOLASI JAMUR ENDOFIT DARI DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus DAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Diajukan kepada:

Universitas Islam Negeri Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

Miftachul Haniah
NIM : 03520054

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG
2008**

**ISOLASI JAMUR ENDOFIT DARIDAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus DAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh:
MIFTACHUL HANIAH
NIM : 03520054

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing Agama

Dra. Ulfa Utami, M.Si
NIP. 150 291 272

Ahmad Barizi, M.A
NIP. 150 283 991

Tanggal 17 Maret 2008

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 229 505

**ISOLASI JAMUR ENDOFIT DARI DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Escherichia coli*,**

Staphylococcus aureus DAN *Candida albicans*

SKRIPSI

Oleh:
MIFTACHUL HANIAH
NIM : 03520054

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 31 Maret 2008

Susunan Dewan Penguji:

		Tanda Tangan
1. Penguji Utama	: Ir. Lilik Harianie	()
2. Ketua	: Dwi Suherianto, M.P	()
3. Sekretaris	: Dra. Ulfah Utami, M.Si.	()
4. Anggota	: Ahmad Barizi, M.A	()

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 229 505

MOTTO

*"Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. adapun orang-orang yang beriman, Maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan Ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk, dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik."
(Q.s. Al-baqarah: 26).*

'Seseorang dengan tujuan yang jelas akan membuat kemajuan walaupun melewati jalan yang sulit. Seseorang yang tanpa tujuan, tidak akan membuat kemajuan walaupun ia berada di jalan yang mulus' (Thomas Carlyle)

*Sebuah Persembahan
Kepada Orang Tuaku,
Adik Kecilku,
Dan Orang Yang Selalu Ada Untukku*



KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Penulis menyadari banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, terutama kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, S.U., DSc selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Malang.
4. Dra. Ulfah Utami, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan tekun dan sabar. Semoga Allah Swt. melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarganya.
5. Ahmad Barizi, M.A. selaku Dosen Pembimbing Integrasi Sains dan Islam yang telah memberikan masukan dan meluangkan waktu untuk penulis. Semoga Allah Swt. selalu melimpahkan rahmat-Nya kepada beliau.
6. Segenap Dosen Universitas Islam Negeri Malang yang telah membimbing penulis selama menempuh studi di Universitas Islam Negeri Malang.

7. Ayah dan Ibunda tersayang yang telah mendidik dan mencurahkan kasih sayang dengan ketulusan dan keikhlasan yang tidak akan mampu untuk membalasnya. Semoga berkah dan rahmat Allah Swt. selalu menaungi mereka.
8. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah senantiasa melindungi dan melimpahkan rahmat dan ridho-Nya, Amin.

Malang, 11 Maret 2008

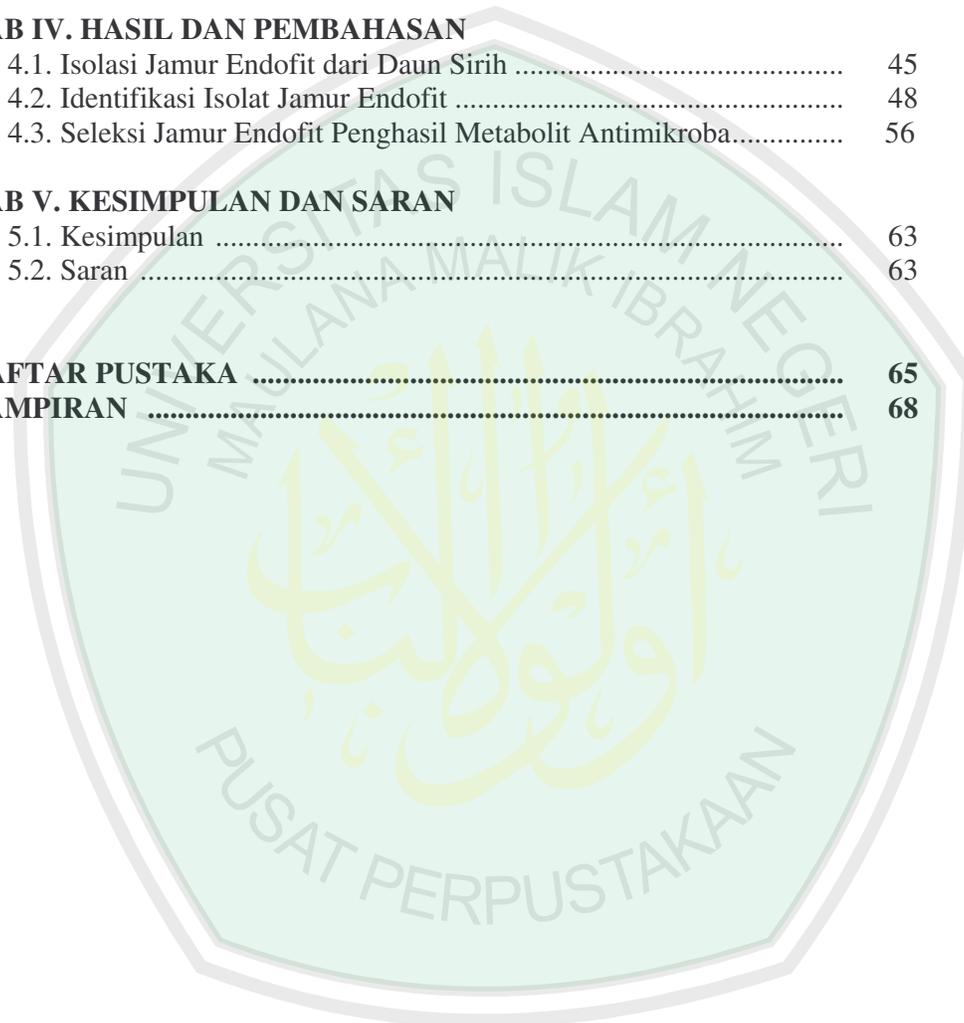
Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
ABSTRAK	viii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian	7
1.5. Batasan Masalah	8
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Umum Tentang tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	9
2.1.1. Klasifikasi	9
2.1.2. Morfologi dan Karakteristik	9
2.1.3. Manfaat dan Kandungan Kimia	10
2.2. Fungi Endofit	16
2.2.1. Produksi Senyawa Antibiotika Oleh Fungi Endofit	18
2.2.2. Potensi Mikroba Endofit.....	19
2.3. Bahan Antimikrobal	23
2.3.1. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba	24
2.3.2. Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba	27
2.4. <i>Escherichia coli</i>	29
2.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.6. <i>Candida albicans</i>	34
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1. Rancangan Penelitian	38
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	38
3.3. Alat dan Bahan	38
3.3.1. Alat	38
3.3.2. Bahan.....	39
3.4. Prosedur Kerja	39
3.4.1. Sterilisasi Alat dan Bahan	39
3.4.2. Pembuatan Media	39
3.4.3. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih	41

3.4.4. Pemurnian Jamur Endofit.....	41
3.4.5. Identifikasi Isolat Jamur Endofit	42
3.4.6. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba.....	43
a. Produktifitas Metabolit Antimikroba.....	43
b. Uji Antimikroba Terhadap <i>Candida albicans</i>	43
c. Uji Antimikroba Terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	44
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih	45
4.2. Identifikasi Isolat Jamur Endofit	48
4.3. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba.....	56
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	63
5.2. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	68



DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
Table 4.1.	Diskripsi Bentuk dan Warna Koloni Isolat Jamur Endofit.....	46
Tebel 4.2.	Rata-rata diameter zona hambat metabolit jamur endofit.....	57

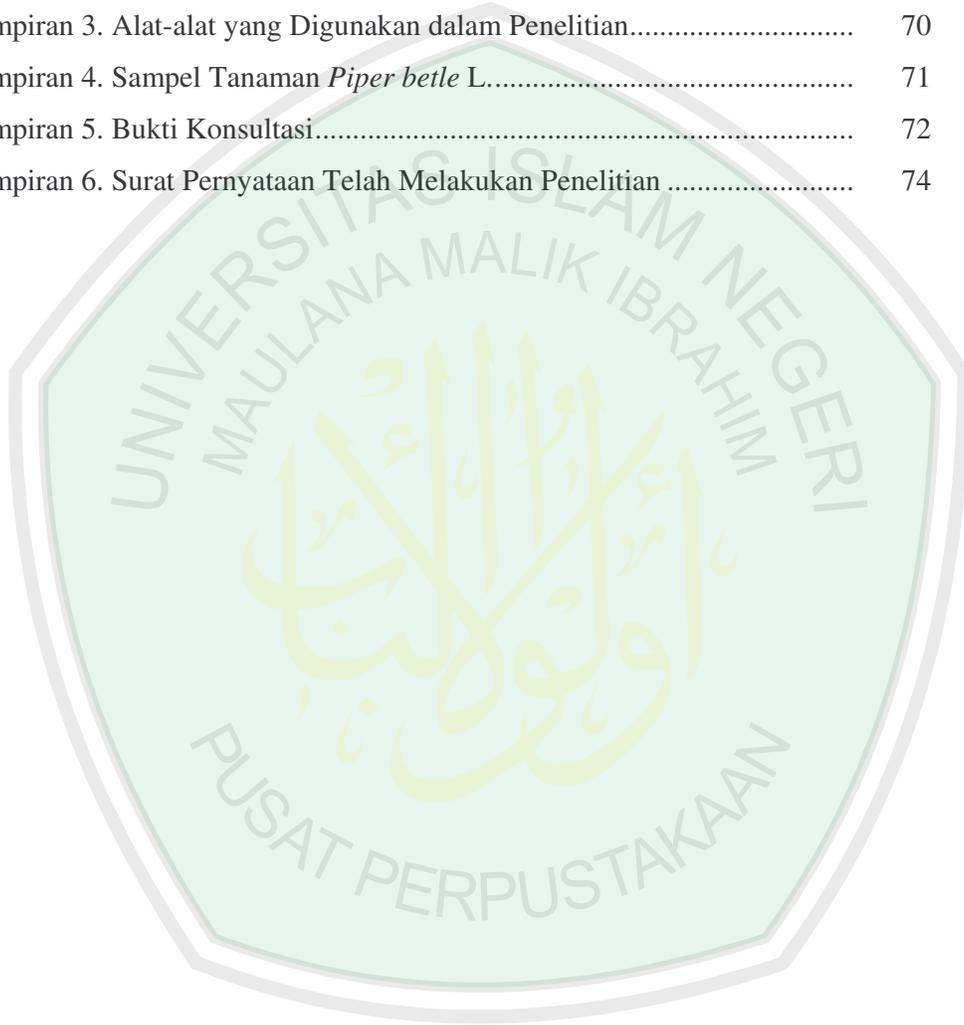


DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
Gambar 4.1.	Jamur Endofit dari Jaringan Daun Sirih (<i>Piper battle</i> L.).....	45
Gambar 4.2.	Isolat B1.....	49
Gambar 4.3.	Isolat B2.....	50
Gambar 4.4.	Isolat B3.....	50
Gambar 4.5.	Isolat B4.....	51
Gambar 4.6.	Isolat B5.....	52
Gambar 4.7.	Isolat K1.....	53
Gambar 4.8.	Isolat K2.....	54
Gambar 4.9.	Isolat K3.....	55
Gambar 4.10.	Isolat K4.....	56
Gambar 4.11.	Zona hambat yang dihasilkan oleh <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> dan <i>Candida albicans</i> setelah diinkubasi selama 24 jam	58

DAFTAR LAMPIRAN

Judul	Halaman
Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja	68
Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran Zona Hambat pada Mikroba Uji	69
Lampiran 3. Alat-alat yang Digunakan dalam Penelitian.....	70
Lampiran 4. Sampel Tanaman <i>Piper betle</i> L.....	71
Lampiran 5. Bukti Konsultasi.....	72
Lampiran 6. Surat Pernyataan Telah Melakukan Penelitian	74



ABSTRAK

Haniah, Miftachul. 2008. **Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans***. Pembimbing I: Dra. Ulfah Utami, M.Si. Pembimbing II: Ahmad Barizi, M.A.

Kata Kunci: Jamur Endofit, Daun Sirih (*Piper betle* L.), Antimikroba.

Banyak mikroba penyebab penyakit berbahaya, misalnya *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* yang merupakan flora normal tubuh manusia. Untuk itu diperlukan obat antimikroba yang efektif. Islam juga memberikan perhatian khusus dalam hal kesehatan. Dalam beberapa riwayat disebutkan: “*Berobatlah, karena tiada suatu penyakit yang diturunkan Allah, kecuali diturunkan pula obat penangkalnya, selain dari satu penyakit, yaitu ketuaan*”. (HR. Abu Daud dan At-Tirmidzi dari sahabat Nabi Usamah bin Syuraik). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa aktif dari daun sirih memiliki aktivitas antimikroba. Namun penggunaan tanaman obat dari tanaman induknya secara terus-menerus dikhawatirkan akan menimbulkan kerusakan ekologis. Jamur endofit hidup intraseluler di dalam jaringan tanaman yang sehat dan mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Jamur endofit dapat dijadikan solusi dalam penemuan antimikroba baru karena dapat diproduksi secara berkesinambungan, *reproducible* dalam skala industri, dengan waktu yang relatif singkat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi jamur endofit dari daun sirih yang mempunyai potensi sebagai penghasil antimikroba terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada bulan Desember 2007 sampai Februari 2008. Metode yang digunakan adalah metode eksplorasi. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi jamur endofit dari daun sirih dan mengidentifikasinya. Sampel daun sirih diperoleh dari Ds. Banjaranyar Kec. Kras Kab. Kediri dan Kel. Ketawanggede Kec. Lowokwaru Kota Malang. Produksi metabolit sekunder jamur endofit didapat dengan metode fermentasi dan diuji aktivitasnya terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* dengan metode difusi agar (Kirby-Bauer). Kuman uji yang digunakan diperoleh dari Lab. Mikrobiologi Universitas Brawijaya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 9 isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari daun Sirih (*P. betle* L.), yaitu 5 isolat jamur endofit sampel dari Ds. Banjaranyar dan 4 isolat jamur endofit sampel dari Kel. Ketawanggede. Hasil uji 9 isolat jamur endofit, memperlihatkan bahwa semua isolat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat 31,76 mm pada *S. aureus* dan 23,44 mm pada *E. coli*. Sedangkan pada jamur *C. albicans* memperlihatkan zona hambat sebesar 1,96 mm, dua dari isolat jamur endofit tidak bisa menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu, isolat B1 dan isolat K1

“Berobatlah, karena tiada suatu penyakit yang diturunkan Allah, kecuali diturunkan pula obat penangkalnya, selain dari satu penyakit, yaitu ketuaan”. (HR. Abu Daud dan At-Tirmidzi dari sahabat Nabi Usamah bin Syuraik) (Shihab, 1996).

Berdasarkan hadist di atas jelaslah bahwa Allah itu maha pengasih lagi maha penyayang. Sehingga tidak mungkin Allah memberikan penyakit tanpa ada obatnya. Di sisi lain Allah juga memberikan anugrah berupa akal pikiran kepada manusia untuk berpikir agar dapat menemukan obat dari berbagai macam penyakit yang diturunkan oleh Allah Swt.

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat berbagai penyakit, termasuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa sebagian besar komponen di dalam tanaman obat bersifat sebagai antimikroba. Komponen utama tanaman obat yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah bagian minyak atsiri, misalnya minyak atsiri daun sirih yang bersifat antimikroba.

Penelitian tentang khasiat ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai antiseptik sudah dilakukan Shinta (2000) yang menyatakan bahwa senyawa aktif dari daun sirih memiliki aktivitas antimikroba terhadap jamur *Candida albicans*, bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aerrighrosa*. Pada konsentrasi 1250 gg/ml senyawa tersebut memberikan diameter daerah hambat sebesar 31 mm untuk *C. albicans*, dan 23 mm untuk *E. coli* serta *B. subtilis*. Untuk *P. aerrighrosa*, konsentrasi optimum ditemukan pada 1000 tig/ml dengan diameter daerah hambat 22 mm.

Pangarungan (2003) juga menyatakan bahwa telah diuji aktivitas antiseptik ekstrak daun sirih (*P. betle* L., *Piperaceae*) terhadap *C. albicans*, *E. coli*, dan *S. aureus* dengan metode koefisien *fenol* yang menggunakan *natrium hipoklorit* sebagai pengganti *fenol*. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak air daun sirih pada konsentrasi 8% b/v

mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hasil ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar pemanfaatan daun sirih sebagai antimikroba. Komponen aktif dalam daun sirih yang diduga memberikan khasiat antimikroba adalah *fenol* yang terkandung di dalam minyak atsiri daun sirih.

Selain sebagai antiseptik daun sirih masih mempunyai banyak manfaat lain untuk kesehatan, seperti obat batuk, keputihan, obat sariawan, pencuci luka, menghentikan pendarahan dan sebagainya. Menurut Suriawiria (2006) kandungan kimia yang terdapat pada daun sirih terdiri dari minyak atsiri, *hidroksikavicol*, *kavicol*, *kavibetol*, *allylprokatekol*, *karvacrok*, *eugenol*, *p-cymene*, *cineole*, *caryofelen*, *kadimen estragol*, *terpenena*, *fenil propada*, *tanin*, dan sebagainya. Karena kelengkapan kandungan zat atau senyawa kimia bermanfaat inilah, daun sirih memiliki manfaat yang sangat luas sebagai bahan obat.

Untuk mengambil senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Untuk mengefisienkan cara memperoleh bioaktif tersebut, maka digunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya.

Mikroba endofit merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan gejala penyakit pada tumbuhan inangnya. Hubungan antara mikroba endofit dan tumbuhan inangnya merupakan suatu bentuk hubungan simbiosis mutualisma, yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan

inangnya, sebaliknya tumbuhan inang memperoleh proteksi terhadap patogen tumbuhan dari senyawa yang dihasilkan mikroba endofit (Prihatiningtias, 2006).

Jamur endofit hidup intraseluler di dalam jaringan tanaman yang sehat. Kemungkinan terjadi rekombinasi genetik dengan inangnya, sehingga beberapa endofit terbukti menghasilkan senyawa alami yang karakteristik bagi inangnya (Tan and Zou, 2001 dalam Sugijanto dkk., 2004). Hipotesa ini memang kemudian banyak terbukti. Pada tanaman-tanaman obat yang sudah digunakan masyarakat tradisional secara turun-temurun ditemukan endofit yang mampu menghasilkan antibiotik kelas tinggi.

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut. Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur (Radji, 2005). Sugijanto dkk. (2004) menambahkan bahwa melalui jamur endofit yang diperoleh, dapat diproduksi secara fermentasi senyawa metabolit yang berkhasiat obat secara berkesinambungan, *reproducible* dalam skala industri, dengan waktu yang relatif singkat, tidak merusak tanaman inangnya dan tidak menimbulkan kerusakan ekologis.

Seluruh alam raya diciptakan untuk digunakan oleh manusia dalam melanjutkan evolusinya, hingga mencapai tujuan penciptaan. Kehidupan makhluk-makhluk Tuhan saling berkaitan. Bila terjadi gangguan yang luar biasa terhadap salah satunya, maka makhluk yang berada dalam lingkungan hidup tersebut ikut terganggu pula (Shihab, 1994). Agama mengundang kita untuk membangun tanpa merusak. Manusia sebagai

khalifah dimuka bumi bertanggung jawab untuk memelihara kelestarian alam. Hal ini dijelaskan dalam firman Allah yang tersirat dalam Q.s. al-Qashash: 77

وَأَحْسِنَ الدُّنْيَا مِنْ نَصِيْبِكَ تَنْسَ وَلَا الْآخِرَةَ الدَّارَ اللَّهُ ءَاتَاكَ فِيمَا وَابْتَغِ
المُفْسِدِينَ تُحِبُّ لَا اللَّهُ إِنَّ الْأَرْضِ فِي الْفَسَادِ تَبْغِ وَلَا إِلَيْكَ اللَّهُ أَحْسَنَ كَمَا

“ Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan.”(Q.s. al-Qashash/28: 77)

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk meneliti keberadaan mikroba endofit khususnya jamur endofit yang diisolasi dari jaringan daun Sirih (*P. betle* L.) yang mempunyai potensi sebagai antimikroba. Untuk mengetahui efektivitasnya sebagai antimikroba maka jamur endofit tersebut diujikan terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan jamur *C. albicans*.

Penelitian ini difokuskan pada isolasi jamur endofit, mengingat jamur endofit berdasarkan studi literatur potensial menghasilkan metabolit (Tan and Zou, 2001 dalam Sugijanto dkk., 2004). Selain itu juga lebih sederhana kebutuhan medianya dan murah, pertumbuhannya lebih mudah dikendalikan dari pada bakteri.

Bakteri uji dibagi berdasarkan sifatnya terhadap pewarnaan Gram. *E. coli* dipilih mewakili bakteri Gram negatif, bakteri tersebut merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia akan tetapi menjadi patogen apabila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan. *S. aureus* dipilih mewakili bakteri Gram positif. Darkuni (1997) dalam Chasanah (2001) menyatakan bahwa *S. aureus* merupakan bakteri yang banyak digunakan dalam pengujian daya antimikroba karena merupakan bakteri yang memiliki

ketahanan lebih tinggi terhadap bahan kimia yang berupa bahan antimikroba dibandingkan dengan bakteri lainnya.

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *C. albicans*, jamur tersebut merupakan flora normal pada traktus gastrointestinal, kulit, dan membran mukosa. Sebagai flora normal, *Candida* tidak infeksius. Namun, bila terjadi gangguan imunitas atau disfungsi imun, baik yang berdiri sendiri maupun yang disebabkan oleh penyakit lain, infeksi *Candida* dapat terjadi.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah jamur endofit dapat ditemukan dari jaringan daun sirih (*Piper betle* L.)?
2. Apakah senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan jamur endofit dari jaringan daun sirih (*Piper betle* L.) mempunyai kemampuan sebagai antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka penelitian ini bertujuan:

1. Untuk mengetahui keberadaan jamur endofit pada jaringan daun sirih (*P. betle* L.).
2. Untuk mengetahui kemampuan metabolit sekunder jamur endofit dari jaringan daun sirih (*P. betle* L.) sebagai antimikroba terhadap *C. albicans*, *E. coli*, dan *S. aureus*.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

1. Memberikan informasi tentang adanya jamur endofit pada jaringan daun sirih (*P. betle* L.).
2. Memperbanyak pengetahuan di bidang mikrobiologi atau bidang lainnya, khususnya jamur endofit yang mempunyai potensi sebagai penghasil senyawa antimikroba.
3. Senyawa antimikroba yang didapat, diharapkan nantinya dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli*, bakteri *S. aureus* dan jamur *C. albicans*.

1.5. Batasan Masalah

Untuk mendapatkan penelitian yang lebih terarah, maka penelitian ini perlu dibatasi sebagai berikut:

1. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih (*P. betle* L.) yang diperoleh dari Kelurahan Ketawanggede Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dan Desa Banjaranyar Kecamatan Kras Kabupaten Kediri.
2. Jamur endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari jaringan daun tanaman sirih (*P. betle* L.).
3. Jamur *C. albicans*, bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat dari berbagai isolat jamur endofit.

5. Pada uji aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji, penelitian ini tidak memperhitungkan kadar konsentrasi dari zat antimikroba tersebut.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Tentang Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

2.1.1. Klasifikasi

Menurut Dasuki (1991) kedudukan tanaman sirih dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub-kelas : Magnoliidae
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : *Piper*
Species : *Piper betle* L.

2.1.2. Morfologi dan Karakteristik

Sirih (*Piper betle* L.) adalah jenis tanaman merambat yang diakui banyak kegunaannya di hampir semua tempat di Indonesia dan memiliki nama yang beragam. Misalnya ranub (Aceh), belo (Batak Karo), demban (Batak Toba), lahina atau tawuo (Nias), sireh, sirih (Palembang), suruh, sirih (Minang), canbai (Lampung), seureuh (Sunda). Namun, nama yang paling umum adalah sirih (Suriawiria, 2006).

Daun sirih mempunyai bau yang khas aromatik, rasanya agak pedas. Daunnya berupa helaian-helaian berbentuk bulat telur, adapula yang bulat telur memanjang, berujung runcing, pangkal daun berbentuk jantung yang kadang-kadang tidak

setangkup. Permukaan daun berwarna hijau tua, hijau muda agak kekuning-kuningan. Panjangnya sekitar 5 - 18 cm dan lebar 2 - 20 cm (Kartasapoetra, 1992).

Tanaman sirih bisa mencapai tinggi 15 m. Batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, beruas dan merupakan tempat keluarnya akar. Bunganya majemuk berbentuk bulir dan terdapat daun pelindung \pm 1 mm berbentuk bulat panjang. Pada bulir jantan panjangnya sekitar 1,5 - 3 cm dan terdapat dua benang sari yang pendek, sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 1,5 - 6 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Buahnya buah buni berbentuk bulat berwarna hijau keabu-abuan. Akarnya tunggang, bulat dan berwarna coklat kekuningan (Suriawiria, 2006).

2.1.3. Manfaat dan Kandungan Kimia

Allah menciptakan segala yang ada di langit dan di bumi dengan beranekaragam, baik jenisnya maupun manfaatnya. Allah Swt. berfirman dalam Q.s. an-Nahl: 11

مُنِبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

“ Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.” (Q.s. An-nahl/16: 11)

Ayat di atas menjelaskan bahwa tumbuhan itu terdiri dari berbagai macam jenis. Setiap jenis mempunyai manfaat tersendiri berdasarkan kandungan zat aktif yang terdapat di dalamnya. Seperti tanaman sirih yang mengandung zat antiseptik yang bisa dimanfaatkan sebagai antibiotik. Manfaat-manfaat tersebut hanya bisa diketahui oleh

orang-orang yang mau memikirkan dan mengkaji secara mendalam tentang kandungannya. Sehingga bisa mempertebal keyakinan akan kebesaran Allah Swt. dan menambah wawasan akan manfaat keanekaragaman tumbuhan untuk kemaslahatan umat manusia.

Manfaat daun sirih untuk pengobatan jumlahnya sangat banyak, mulai sebagai obat batuk, bronchitis, gangguan lambung, rematik, menghilangkan bau badan, keputihan, dan sebagainya. Rebusan daun sirih juga sangat bermanfaat untuk obat sariawan, pelancar dahak, pencuci luka, obat gatal-gatal, obat sakit perut yang melilit, obat jantung, menghentikan pendarahan (Suriawiria, 2006).

Khasiat daun sirih sudah banyak dikenal dan telah teruji secara klinis. Hingga kini, penelitian tentang tanaman ini masih terus dikembangkan. Daun sirih telah berabad-abad dikenal oleh nenek moyang kita sebagai tanaman obat berkhasiat. Tanaman ini mengandung zat antiseptik yang mampu membunuh kuman. Kandungan *fenol* dalam sifat antiseptiknya lima kali lebih efektif dibandingkan dengan *fenol* biasa (Triarsari, 2007).

Zat antiseptik di dalam sirih dapat digunakan sebagai obat kumur dan menjaga kesehatan alat kelamin wanita. Sirih juga umum digunakan untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng, serta mengobati keputihan pada wanita. Daun sirih juga dapat memperbanyak keluarnya air susu ibu (ASI) untuk ibu yang baru melahirkan dengan banyak meminum air rebusan daun sirih (Anonymous, 2007).

Nurswida (2002) membuktikan bahwa dekok sirih pada konsentrasi 7,5 % dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Efek hambat dekok sirih terhadap pertumbuhan *C. albicans* disebabkan komponen derivat *fenol*, seperti *eugenol*,

iseugenol, *allypyrocatechol*, *chavichol*, *safrole*, *anethole*, *cavibetol*, *carvacrol*, *betlefenol*. *Fenol* adalah denaturasi protein yang poten. Mekanisme kerja *phenolic* melalui perusakan membran plasma, inaktivasi enzim dan denaturasi protein. Disini fenol BI berkaitan dengan membran yang ergosterol akan merusak membran tersebut sehingga jamur akan mati.

Dalam daun sirih 100 gram terdapat kandungan: air 85,4 mg; protein 3,1 mg; karbohidrat 6,1 mg; serat 2,3 mg; yodium 3,4 mg; mineral 2,3 mg; kalsium 230 mg; fosfor 40 mg; besi ion 3,5 mg; *karoten* (vitamin A) 9600 iu, *kalium nitrat* 0,26–0,42 mg; *tiamin* 70 mg; *riboflavin* 30 mg; *asam nikotinal* 0,7 mg; vitamin C 5 mg; kanji 1,0–1,2%; gula non reduksi 0,6–2,5%; gula reduksi 1,4–3,2%. Sedangkan minyak atsirinya terdiri dari: *alilkatekol* 2,7–4,6%; *kadinen* 6,7–9,1%; *karvakol* 2,2–4,8%; *kariofilen* 6,2–11,9%; *kavibetol* 0,0–1,2%; *kavikol* 5,1–8,2%; *sineol* 3,6–6,2%; *eugenol* 26,8– 42,5%; *eugenol metil eter* 26,8–15,58%; *pirokatekin* (Agustin, 2005). Sedangkan menurut Kartasapoetra (1992) komponen di dalam daun sirih meliputi minyak atsiri sampai 4,2% yang di dalamnya terdapat fenol yang khas disebut betelfenol, khavikol, diastase, zat penyamak, gula dan pati.

Minyak atsiri merupakan senyawa terpenoid. Secara kimia, *terpenoid* umumnya larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Kadang-kadang minyak atsiri terdapat di dalam sel kelenjar khusus pada permukaan daun (Harborne, 1987). Sifat fisik terpenting minyak atsiri adalah sangat mudah menguap pada suhu kamar dan larut dalam lemak. Famili tumbuhan Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Myristicaceae, Astereaceae, Apocynaceae, Umbeliferae, Pinaceae, Rosaceae dan Labiatae adalah famili tumbuhan yang sangat populer sebagai penghasil minyak atsiri (Agusta, 2000).

Fungsi minyak atsiri yang paling luas dan paling umum diminati adalah sebagai pengharum, baik itu sebagai parfum untuk tubuh, kosmetik, pengharum ruangan, pengharum sabun, pasta gigi, pemberi cita rasa pada makanan maupun produk rumah tangga lainnya (Agusta, 2000).

Kebanyakan minyak atsiri bersifat sebagai antibakteri dan antijamur yang kuat. Minyak atsiri daun sirih (*P. betle* L.) merupakan salah satu minyak atsiri yang bersifat antibakteri. Minyak ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri merugikan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* dan *Pasteurella* (Agusta, 2000).

Setiap tanaman memiliki senyawa aktif yang berbeda satu sama lain. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan. Menurut Kartasapoetra (1989) faktor yang mempengaruhi sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan antara lain adalah sebagai berikut:

a. Faktor Genetik

Faktor ini menyesuaikan sifat hasil tanaman yang mana sifat ini merupakan sifat bawaan dari induk tanamannya, seperti rasa, bau, komposisi kimiawi, nilai gizi dan termasuk kemampuan produksinya. Tanaman jenis unggul dapat memberikan produk lebih baik dan banyak dari jenis tanaman tidak unggul.

b. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan merupakan faktor luar dari tanaman yang juga banyak berpengaruh terhadap sifat/kadar bahan aktif pada tumbuhan. Faktor lingkungan/faktor luar ini dapat dikatakan pula faktor lingkungan hidup seperti:

- Sinar Matahari

Sinar matahari banyak berpengaruh pada pembentukan zat makanan dalam jaringan tanaman, melalui fotosintesis misalnya pembentukan zat makanan dalam jaringan tanaman itu akan sangat terbantu. Hasil penelitian menyatakan bahwa banyak atau sedikitnya sinar matahari yang diterima tanaman akan mempengaruhi pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan dan sifat hasil tanamannya. Sebagai contoh misalnya pada buah yang tanamannya banyak menerima sinar matahari kandungan vitamin C-nya akan lebih tinggi dibanding dengan buah yang tanamannya kurang memperoleh sinar matahari.

- Temperatur

Bagi tanaman, temperatur lingkungan yang optimum merupakan faktor yang penting karena berpengaruh terhadap produksi hasil-hasil tanamannya (pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan). Hasil tanaman yang tumbuh baik pada kondisi temperatur yang cocok akan sangat berbeda dengan hasil tanaman yang tumbuh pada temperatur yang tidak cocok.

- Musim

Musim juga sangat berpengaruh terhadap produksi hasil-hasil tanamannya (pembentukan zat-zat makanan dalam jaringan). Hasil tanaman yang tanamannya biasa tumbuh pada musim kering yang panas akan mengandung zat makanan lebih tinggi.

- Tempat/Daerah Pertumbuhan

Tempat/daerah pertumbuhan merupakan faktor geografis yang kaitannya sangat erat dengan macam atau sifat tanahnya. Mutu hasil tanaman yang tanamannya tumbuh di tempat/daerah yang mempunyai ketinggian tertentu yang tanahnya merupakan tanah

lempung akan berbeda dengan mutu hasil tanaman sejenis yang tumbuh pada ketinggian yang sama yang tanahnya merupakan tanah berkapur.

- **Zat Makanan**

Zat makanan atau pupuk juga merupakan faktor yang dapat meningkatkan hasil tanaman. Pemupukan dengan dosis yang memadai dimaksudkan agar zat makanan cukup tersedia bagi pertumbuhan tanaman. Tanaman yang tumbuh pada lahan yang kurang kandungan zat makanan maka menyebabkan tanaman tersebut akan tumbuh kerdil, sedangkan keadaan tersebut akan mengurangi sifat dan mutu hasil tanaman.

c. **Faktor Tingkat Kemasakan**

Perbedaan tingkat kemasakan sangat berpengaruh pada zat-zat penyusun yang terkandung, tekstur dan warna hasil tanaman. Hasil penelitian menyatakan bahwa dengan makin masaknyanya hasil tanaman, maka kandungan zat tepung, zat gulanya makin meningkat pula, sedangkan kandungan vitamin C pada umumnya menurun kecuali pada buah/hasil tanaman seperti tomat, mangga, asparagus, anggur, apel dan sebagainya.

2.2. Fungi Endofit

Segala sesuatu yang ada di muka bumi diciptakan bukan tanpa tujuan. Akan tetapi tidak semua tujuan tersebut diketahui oleh manusia sehingga harus dipelajari terlebih dahulu. Allah Swt. berfirman dalam Q.s. al-Baqarah: 26

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا ۗ ﴾

“*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu.....*”(Q.s. al-Baqarah/2: 26).

Pada ayat di atas terdapat lafadz *fama fauqohaa* yang diartikan sebagai hewan yang lebih kecil dari nyamuk. Dapat diasumsikan bahwa hewan yang lebih kecil dari nyamuk tersebut termasuk mikroba. Walaupun keberadaanya tidak bisa dilihat secara kasat mata, mikroba tertentu ada yang bermanfaat bagi kehidupan manusia, salah satunya adalah mikroba endofit yang dapat menghasilkan zat antibiotik yang dapat dimanfaatkan sebagai obat.

Fungi endofit adalah fungi yang terdapat di dalam sistem jaringan tumbuhan, seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan. Fungi ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika (Carrol, 1988 ; Clay, 1988 dalam Worang, 2003). Tan et al., (2001) dalam Radji (2005) menambahkan bahwa setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (genetic recombination) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit.

Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan inangnya, oleh Carrol (1988) dalam Worang (2003) digolongkan dalam dua kelompok, yaitu mutualisme konstitutif dan induktif. Mutualisme konstitutif merupakan asosiasi yang erat antara fungi dengan tumbuhan terutama rumput-rumputan. Pada kelompok ini fungi endofit menginfeksi ovula (benih) inang, dan penyebarannya melalui benih serta organ penyerbukan inang. Mutualisme induktif adalah asosiasi antara fungi dengan tumbuhan inang, yang penyebarannya terjadi secara bebas melalui air dan udara. Jenis ini hanya menginfeksi bagian vegetatif inang dan seringkali berada dalam keadaan metabolisme inaktif pada periode yang cukup lama.

Ditinjau dari sisi taksonomi dan ekologi, fungi ini merupakan organisme yang sangat heterogen. Petrini *et al.* (1992) dalam Worang (2003) menggolongkan fungi endofit dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina. Keragaman pada jasad ini cukup besar seperti pada Loculoascomycetes, Discomycetes, dan Pyrenomycetes. Strobell *et al.* (1996) dalam Worang (2003), mengemukakan bahwa fungi endofit meliputi genus *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Monochaetia*, dan lain-lain.

Clay (1988) dalam Worang (2003) melaporkan, bahwa fungi endofit dimasukkan dalam famili *Balansiae* yang terdiri dari 5 genus yaitu *Atkinsonella*, *Balansiae*, *Balansiopsis*, *Epichloe* dan *Myriogenospora*. Genus *Balansiae* umumnya dapat menginfeksi tumbuhan tahunan dan hidup secara simbiosis mutualistik dengan tumbuhan inangnya. Dalam simbiosis ini, fungi dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis serta melindungi tumbuhan inang dari serangan penyakit, dan hasil dari fotosintesis dapat digunakan oleh fungi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. (Bacon, 1991; Petrini *et al.*, 1992; Rao, 1994 dalam Worang, 2003).

2.2.1. Produksi Senyawa Antibiotika oleh Fungi Endofit

Banyak kelompok fungi endofit yang mampu memproduksi senyawa antibiotika yang aktif melawan bakteri maupun fungi patogenik terhadap manusia, hewan dan tumbuhan, terutama dari genus *Coniothirum* dan *Microsphaeropsis* (Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang, 2003). Penelitian Dreyfuss *et al.* (1986) dalam Worang (2003), menunjukkan aktivitas yang tinggi dari penisilin N, sporiofungin A, B, serta C yang dihasilkan oleh isolat-isolat endofit *Pleurophomopsis* sp. dan *Cryptosporiopsis* sp. yang diisolasi dari tumbuhan *Cardamin heptaphylla* Schulz.

Penelitian Brunner dan Petrini (1992) yang melakukan seleksi pada lebih dari 80 spora fungi endofit, hasilnya menunjukkan bahwa 75 % fungi endofit mampu menghasilkan antibiotika. Fungi endofit *Xylotropik*, suatu kelompok fungi yang berasosiasi dengan tumbuhan berkayu, juga merupakan penghasil metabolit sekunder. Pada suatu studi perbandingan yang dilakukan terhadap berbagai fungi, lebih dari 49 % isolat *Xylotropik* yang diuji menunjukkan aktivitas antibiotika, sedangkan fungi pembandingnya hanya 28 % (Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang 2003).

Fungi endofit juga mampu menghasilkan siklosporin A, yang berpotensi sebagai antifungal dan bahan immunosupresif (Borel *et al.*, 1976; Petrini *et al.*, 1992 dalam Worang, 2003). Siklosporin dihasilkan oleh strain *Acremonium luzulae* (Fuckel) W. Gams, yang diisolasi dari buah strawberry (Moussaif *et al.*, 1977 dalam Worang, 2003). Senyawa antibiotika lainnya seperti sefalosporin mulanya dihasilkan oleh satu strain *Cephalosporium* dan *Emericellopsis* (*Acremonium*). Selanjutnya juga ditemukan pada fungi *Anixiopsis*, *Arachnomyces*, *Diheterospora*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis* dan *Spiroidium* (Morin, 1982 dalam Worang, 2003).

2.2.2. Potensi Mikroba Endofit

Mikroba endofit terdiri atas bakteri, fungi/jamur, dan aktinomisetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan fungi dan aktinomisetes. Mikroba endofit ini mendapat perhatian besar karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibiotik disebabkan oleh aktivitasnya yang besar dalam membunuh mikroba-mikroba patogen. Disamping mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba, mikroba endofit juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker, antimalaria, anti HIV, antioksidan dan sebagainya (Prihatiningtias, 2006).

Mikroba endofit yang diisolasi dari tumbuhan obat akan memiliki aktivitas yang lebih besar, bahkan dapat memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini 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. Di samping hal-hal yang sudah disebutkan di atas, ada keuntungan lain yang diperoleh, yaitu menjaga kelestarian tumbuhan-tumbuhan obat, terutama yang termasuk jenis tumbuhan langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

Radji (2005) menyebutkan bahwa berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya, dan telah berhasil dibiakkan dalam media perbenihan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya. Beberapa diantaranya adalah :

1. Mikroba endofit yang menghasilkan antibiotika *Cryptocandin* adalah anti-fungi yang dihasilkan oleh mikroba endofit *Cryptosporiopsis quercina* yang berhasil diisolasi dari tanaman obat *Tripterigeum wilfordii*, dan berhasiat sebagai antijamur yang patogen terhadap manusia yaitu *Candida albicans* dan *Trichopyton spp.* (Strobel et al., 1999 dalam Radji, 2005).
2. Jenis endofit lainnya yang juga menghasilkan antibiotika berspektrum luas adalah mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman *Grevillea pteridifolia*. Endofit ini menghasilkan metabolit *kakadumycin*. Aktifitas antibakterinya sama

seperti *munumbicin D*, dan *kakadumycin* ini juga berkhasiat sebagai anti malaria (Castillo et al., 2003 dalam Radji, 2005).

3. Mikroba endofit yang memproduksi antivirus Jamur endofit *Cytonaema sp.* dapat menghasilkan metabolit *cytonic acid A* dan *B*, yang struktur molekulnya merupakan isomer p-tridepside, berkhasiat sebagai anti virus. *Cytonic acid A* dan *B* ini merupakan protease inhibitor dan dapat menghambat pertumbuhan cytomegalovirus manusia. (Guo et al., 2000 dalam Radji, 2005).
4. Mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sebagai antikanker *Paclitaxel* dan derivatnya merupakan zat yang berkhasiat sebagai antikanker yang pertama kali ditemukan yang diproduksi oleh mikroba endofit. *Paclitaxel* merupakan senyawa *diterpenoid* yang didapatkan dalam tanaman *Taxus*. Senyawa yang dapat mempengaruhi molekul tubulin dalam proses pembelahan sel-sel kanker ini, umumnya diproduksi oleh endofit *Pestalotiopsis microspora*, yang diisolasi dari tanaman *Taxus andreanae*, *T. brevifolia*, dan *T. wallichiana*. Saat ini beberapa jenis endofit lainnya telah dapat diisolasi dari berbagai jenis *Taxus* dan didapatkan berbagai senyawa yang berkhasiat sebagai anti tumor. Demikian pula upaya untuk sintesisnya telah berhasil dilakukan (Strobel et al., 2002 dalam Radji, 2005).
5. Mikroba endofit penghasil zat anti malaria *Colletotrichumsp.* merupakan endofit yang diisolasi dari tanaman *Artemisia annua*, menghasilkan metabolit *artemisinin* yang sangat potensial sebagai anti malaria (Lu H. et al., 2000 dalam Radji, 2005). Di samping itu beberapa mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman *Cinchona spp*, juga mampu menghasilkan alkaloid *cinchona* yang dapat

dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat anti malaria (Simanjuntak et al., 2002 dalam Radji, 2005).

6. Endofit yang memproduksi antioksidan *Pestacin* dan *isopestacin* merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh endofit *P. microspora*. Endofit ini berhasil diisolasi dari tanaman *Terminalia morobensis*, yang tumbuh di Papua New Guinea. Baik *pestacin* ataupun *isopestacin* berhasiat sebagai antioksidan, dimana aktivitas ini diduga karena struktur molekulnya mirip dengan *flavonoid* (Strobel et al., 2002 dalam Radji, 2005).
7. Endofit yang menghasilkan metabolit yang berkhasiat sebagai antidiabetes Endofit *Pseudomassaria sp* yang diisolasi dari hutan lindung, menghasilkan metabolit sekunder yang bekerja seperti insulin. Senyawa ini sangat menjanjikan karena tidak sebagaimana insulin, senyawa ini tidak rusak jika diberikan peroral. Dalam uji praklinik terhadap binatang coba membuktikan bahwa aktivitasnya sangat baik dalam menurunkan glukosa darah tikus yang diabetes. Hasil tersebut diperkirakan dapat menjadi awal dari era terapi baru untuk mengatasi diabetes di masa mendatang (Zhang et al., 1999 dalam Radji, 2005).

2.3. Bahan Antimikrobia

Bahan antimikroba adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Dalam penggunaan umum, istilah ini menyatakan penghambatan pertumbuhan, dan bila dimaksudkan untuk kelompok-kelompok organisme yang khusus, maka seringkali digunakan istilah-istilah seperti antibakterial atau antifungal (Pelczar, 1988).

Menurut Brooks dkk. (1996) zat antimikroba yang berasal dari mikroorganisme dinamakan antioitika. Gan (1987) menambahkan bahwa antibiotika adalah zat yang

dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, dan bersifat dapat membasmi mikroba jenis lain.

Dijelaskan lebih lanjut oleh Pelczar (1988) tujuan utama pengendalian mikroba adalah:

- a. Mencegah penyebaran penyakit dan infeksi.
- b. Membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi.
- c. Mencegah pembusukan dan kerusakan oleh mikroba.

Suatu zat antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif. Artinya bahwa suatu obat berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inang (Brooks dkk., 1996). Pelczar (1988) mengemukakan beberapa hal pokok yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antimikroba yaitu:

- a. Harus mempunyai kemampuan untuk merusak atau menghambat mikroorganisme patogen spesifik.
- b. Tidak mengakibatkan resisten pada mikroba patogen.
- c. Berspektrum luas.
- d. Mudah larut dalam air dan stabil.
- e. Tidak melenyapkan flora mikroba normal dalam tubuh inang.
- f. Tidak menimbulkan efek samping pada inang dalam jangka waktu yang lama.
- g. Tetap aktif dalam plasma darah.
- h. Konsentrasi antimikroba dalam jaringan atau darah harus dapat mencapai taraf cukup tinggi sehingga mampu menghambat atau mematikan.

Siswandono (1995) menambahkan bahwa antibiotika dapat dikelompokkan berdasarkan spektrum aktifitasnya:

- a. Antibiotika dengan spektrum luas, efektif baik terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif.
- b. Antibiotika yang aktifitasnya lebih dominan terhadap bakteri Gram positif.
- c. Antibiotika yang aktifitasnya lebih dominan terhadap bakteri Gram negatif.
- d. Antibiotika yang aktifitasnya lebih dominan terhadap Mycobacteriae.
- e. Antibiotika yang aktif terhadap jamur/antijamur.
- f. Antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (antikanker)

2.3.1. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja bahan atau zat mikroba. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja zat antimikroba harus diperhatikan guna keefektifan penggunaan zat antimikroba tersebut. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba, diantaranya adalah: umur bakteri, konsentrasi zat antimikroba, suhu, kandungan bahan antimikroba, dan sebagainya.

Menurut Ristiati (2000) bahwa kecepatan populasi mikroba mengalami kematian erat hubungannya dengan umur mikroba. Pada umumnya mikroba yang lebih muda daya tahannya lebih rendah dibandingkan dengan bakteri yang lebih tua (fase stasioner). Kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau membunuh mikroba tergantung pada tinggi rendahnya konsentrasi dan bahan antimikroba. Pada umumnya, kecepatan kematian mikroba berhubungan secara langsung dengan konsentrasi antimikroba. Ini berarti semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan, semakin cepat mikroba terbunuh. Sedangkan menurut Darkuni (1997) dalam Chasanah (2001) menyatakan bahwa keefektifan suatu bahan antimikroba untuk menghambat atau membunuh

mikroorganisme ditentukan dari rendahnya konsentrasi bahan yang digunakan, tetapi mempunyai daya hambat atau daya bunuh besar.

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antimikroba menurut Pelczar (1988) adalah sebagai berikut:

a. Konsentrasi atau intensitas zat antimikroba

Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba semakin tinggi zat antimikrobanya, artinya banyak bakteri akan terbunuh lebih cepat bila konsentrasi zat tersebut lebih tinggi.

b. Jumlah mikroorganisme

Semakin banyak jumlah organisme yang ada makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya.

c. Suhu

Kenaikan suhu yang besar dapat menaikkan keefektifan suatu desinfektan atau bahan mikrobial lain. Hal ini disebabkan karena zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia. Dan reaksi kimia dipercepat dengan meningkatkan suhu.

d. Spesies mikroorganisme

Spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu bahan kimia tertentu.

e. Adanya bahan organik

Adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antimikrobial dengan cara menginaktifkan bahan kimia tersebut. Adanya bahan organik dalam campuran zat antimikrobial dapat mengakibatkan

- 1) Penggabungan zat antimikrobal dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antimikrobal.
 - 2) Penggabungan zat antimikrobal dengan bahan organik menghasilkan suatu endapan sehingga antimikrobal tidak mungkin lagi mengikat mikroorganisme
 - 3) Akumulasi bahan organik pada permukaan sel mikroba menjadi suatu pelindung yang akan mengganggu kontak antara zat antimikrobal dengan sel.
- f. Keasaman atau kebasaaan (pH)

Mikroorganisme yang hidup pada pH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan yang basa.

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan antimikroba. Hal ini disebabkan dengan meningkatnya suhu akan dapat mempercepat laju reaksi kimia, sehingga akan semakin cepat pula zat tersebut untuk merusak mikroba. Sedangkan adanya kandungan bahan organik akan dapat menghambat atau menurunkan keefektifan zat antimikroba, yang mengakibatkan kemampuan bahan antimikroba menjadi lemah. Disamping itu, pH dan spesies mikroba juga berpengaruh terhadap keefektifan kerja zat antimikroba.

2.3.2. Mekanisme Kerja Bahan Antimikroba

Brooks dkk. (1996) menyatakan bahwa pada dasarnya mekanisme kerja zat antimikroba adalah penghambatan sintesis dinding sel, fungsi selaput sel, sintesis protein dan sintesis asam nukleat.

Menurut Pelczar (1988) cara kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

a. Merusak dinding sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan menahan sel, dinding sel bakteri tersusun atas lapisan peptidoglikan yang merupakan polimer kompleks yang terdiri atas rangkaian asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat yang tersusun secara bergantian. Keberadaan lapisan peptidoglikan ini menyebabkan dinding sel bersifat kaku dan kuat sehingga mampu menahan tekanan osmotik dalam sel yang kaku. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau dengan mengubahnya setelah selesai dibentuk. Pada konsentrasi rendah, bahan antimikroba yang ampuh akan menghambat pembentukan ikatan glikosida sehingga pembentukan dinding sel baru terganggu. Selanjutnya dijelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi bahan antimikroba akan menyebabkan ikatan glikosida menjadi terganggu dan pembentukan dinding sel terhenti.

b. Merubah molekul protein dan asam nukleat

Kelangsungan hidup sel sangat tergantung pada molekul-molekul protein dan asam nukleat. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antimikroba yang dapat mendenaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki lebih lanjut.

c. Merubah permeabilitas sel

Sitoplasma dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran

sitoplasma berfungsi mengatur keluar masuknya bahan-bahan tertentu dalam sel. Proses pengangkutan zat-zat yang lebih diperlukan baik ke dalam maupun keluar sel kemungkinan karena di dalam membran sel terdapat protein pembawa (*carrier*), di dalam membran sitoplasma juga terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Apabila fungsi membran sel terganggu oleh adanya bahan antimikroba, maka permeabilitas sel bakteri akan mengalami perubahan, sehingga akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

d. Menghambat kerja enzim

Di dalam sel terdapat enzim protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lain, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif rendah. Dengan demikian kerja enzim yang terhambat akan menyebabkan proses metabolisme terganggu, sehingga aktifitas sel bakteri akan terganggu, hal ini dapat menyebabkan sel bakteri hancur dan akan mati.

e. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel, beberapa bahan antimikroba dalam bentuk antibiotik dapat menghambat sintesis protein. Apabila keberadaan DNA, RNA dan protein mengalami gangguan atau hambatan pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel sehingga proses kehidupan sel terganggu.

2.4. *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* termasuk basil coliform, mempunyai ukuran panjang 2,0–6,0 μm dan lebar 1,1–1,5 μm , tersusun tunggal, berpasangan, dengan flagella peritikus, tidak berkapsul, umumnya mempunyai fimbria dan bersifat motile. Bakteri ini mampu meragi laktosa dengan cepat sehingga pada agar Mc. Concey dan EMB membentuk koloni merah muda sampai tua dengan kilat logam yang spesifik dan permukaan halus (Supardi, 1999).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan penghuni normal dalam saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini berbentuk batang, anaerobik fakultatif, merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis (10–15 nm) dan berlapis tiga (multi). Kandungan lipid dinding sel bakteri Gram negatif lebih tinggi (11–22 %) dari pada yang dikandung bakteri Gram positif, peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam (Pelczar, 1986).

Volk (1993) menambahkan bahwa bakteri Gram negatif mengandung lebih sedikit peptidoglikan (10 sampai 20 persen bobot kering dinding sel), tetapi di luar lapisan peptidoglikan, ada struktur membran kedua, yang tersusun dari protein, fosfolipida dan lipopolisakarida (asam lemak yang dirangkai dengan polisakarida).

Escherichia coli tumbuh pada suhu antara 10–40° C, dengan suhu optimum 37° C. pH optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 7,0–7,5, pH minimum pada 4,0 dan maksimum pada pH 9,0. Bakteri ini sangat sensitif terhadap panas. Susunan antigen yang penting dalam penentuan serologi *E. coli* ada tiga macam yaitu: antigen O (somatik) yang terdiri dari polisakarida, H (*flagellar*) dan K (kapsul). Di samping itu terdapat antigen fimbria yang ikut berperan dalam penentuan starin dari berbagai serotype *E. coli* (Supardi, 1999).

Sejak 1940 di Amerika Serikat telah ditemukan strain-strain *E. coli* yang tidak merupakan flora normal saluran pencernaan. Serotype dari *E. coli* yang dapat menyebabkan diare pada manusia disebut *Escherichia coli enteropatogenik* (EPEK). Berdasarkan sifat patogenik dan produksi toksinnya, strain enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEK) dapat dibedakan menjadi dua grup. Grup I terdiri dari strain yang bersifat patogenik, tetapi tidak dapat memproduksi toksin, sedangkan grup II terdiri dari strain yang memproduksi enterotoksin dan menyebabkan gejala enterotoksigenik. Strain yang termasuk grup II ini disebut *Escherichia coli enterotoksigenik* (EPET), dan merupakan bakteri penyebab diare yang banyak menyerang bayi (Supardi, 1999).

Salah satu faktor yang mempengaruhi sifat patogenik *E. coli* adalah kemampuan untuk melakukan adesi pada sel-sel hewan dan manusia. Kemampuan untuk adesi ini diduga disebabkan oleh adanya fimbria atau pili yang dapat menyebabkan adesi dan kolonisasi strain ETEK pada hewan dan manusia (Supardi, 1999).

Menurut *Bergey's manual of Determinative Bacteriology* edisi ketujuh (Dwidjosaputro, 1998) bakteri *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

2.5. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah suatu kokus tidak berflagela, tidak bergerak, Gram positif, katalase-negatif. Berdiameter sekitar 0,5-1,5 μm . Pembelahan sel terjadi

pada lebih dari satu bidang sehingga terbentuk masa tidak teratur menyerupai untaian anggur. Bakteri ini sangat patogen, menyebabkan infeksi berat pada individu yang terjadinya sehat. Koloni *S. aureus* biasanya berpigmen, warna kuning muda sampai jingga tua atau kuning lemon oleh pigmen karotinoid yang dihasilkan mikroorganisme (Shulman dkk., 1994).

Bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang tebal yaitu 15–80 nm dan berlapis tunggal (mono), sedangkan kandungan lipidnya rendah yaitu 1–4 %. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif ada sebagai lapisan tunggal dengan jumlah lebih dari 50 % berat kering (Pelczar, 1986).

Bakteri *S. aureus* memproduksi koagulase dan dapat memfermentasikan glukosa dan mannitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik. Bakteri ini bersifat anaerobik sangat lambat. *S. aureus* akan tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim lysozim dan memproduksi enzim fosfatase dan deoksiribonuklease (Supardi, 1999).

S. aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteri dalam keadaan aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada pembenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Supardi (1999) menambahkan bahwa bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein.

Selain memproduksi koagulase, yaitu suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma, *S. aureus* juga dapat memproduksi berbagai toksin, diantaranya: (1) eksotoksin - α yang sangat beracun, (2) toksin - β yang terdiri dari hemolisin, yaitu suatu komponen yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah, (3) toksin F dan S, (4)

hialuronidase, yaitu suatu enzim yang dapat memecah asam hyaluronat di dalam tenunan sehingga mempermudah penyebaran bakteri ke seluruh tubuh, (5) suatu grup enteotoksin yang terdiri dari protein sederhana (Supardi, 1999).

Dijelaskan lebih lanjut oleh Supardi (1999) bahwa *S. aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus.

Menurut *Bergey's manual of Determinative Bacteriology* edisi ketujuh (Dwidjosaputro, 1998) bakteri *S. aureus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.6. *Candida albicans*

Menurut Lodder (1970) dalam Suprihatin (1982), taksonomi *Candida albicans* adalah sebagai berikut:

Divisi : Deuteromycota
Famili : Cryptococcaceae
Sub famili : Candidoidea
Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans*

C. albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa *strain*, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12 μ . Morfologi koloni *C. albicans* pada medium padat agar Sabouraud Dekstrosa, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Umur biakan mempengaruhi besar kecil koloni. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti *glucose yeast, extract pepton*, *C. albicans* tumbuh di dasar tabung (Tjampakasari, 2006).

Sel jamur *Candida* berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong, dengan ukuran 2 – 5 $\mu \times$ 3 – 6 μ hingga 2-5,5 $\mu \times$ 5 – 28,5 μ , bergantung pada umurnya. Koloninya pada medium padat sedikit menjulang dari permukaan medium, dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi. Besar koloni bergantung pada umurnya. Pada tepi koloni dapat dilihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam medium. Pada medium cair jamur biasanya tumbuh pada dasar tabung (Suprihatin, 1982).

Dinding sel *C. albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan pula dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. *C. albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Komposisi primer

terdiri dari glukosa, manan dan khitin. Manan dan protein berjumlah sekitar 15,2-30 % dari berat kering dinding sel, -1,3-D-glukosa dan 1,6-D-glukosa sekitar 47-60 %, khitin sekitar 0,6-9 %, protein 6-25 % dan lipid 1-7%. Dalam bentuk ragi, kecambah dan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan sel ragi. Dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda (Tjampakasari, 2006).

C. albicans dianggap spesies terpatogen dan menjadi penyebab utama kandidiasis. Jamur ini tidak terdapat di alam bebas, tetapi dapat tumbuh sebagai saproba pada berbagai alat tubuh manusia, terutama yang mempunyai hubungan dengan dunia luar, misalnya rongga usus. Usus merupakan sumber infeksi terpenting untuk manusia (Suprihatin, 1982).

C. albicans dapat dibedakan dari spesies lain berdasarkan kemampuannya melakukan proses fermentasi dan asimilasi. Pada kedua proses ini dibutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon. Pada proses fermentasi, jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa. Pada proses asimilasi menunjukkan adanya pertumbuhan pada glukosa, maltosa dan sukrosa namun tidak menunjukkan pertumbuhan pada laktosa. Seperti halnya pada eukariot lain, nukleus *C. albicans* merupakan organel paling menonjol dalam sel. Organ ini dipisahkan dari sitoplasma oleh membran yang terdiri dari 2 lapisan. Semua DNA kromosom disimpan dalam nukleus, terkemas dalam serat-serat kromatin. Isi nukleus berhubungan dengan sitosol melalui pori-pori nucleus. Vakuola berperan dalam sistem pencernaan sel, sebagai tempat penyimpanan lipid dan granula polifosfat. Mikrotubul dan mikrofilamen

berada dalam sitoplasma. Pada *C. albicans* mikrofilamen berperan penting dalam terbentuknya perpanjangan hifa (Tjampakasari, 2006).

Potensi patogen dari *C. albicans* berkaitan erat dengan perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa. Ini berdasarkan pada penampakan faktor virulensi dihubungkan dengan perlekatan dan invasi pada fase hifa dan pengamatan klinis bahwa terdapat hifa pada lesi invatif. Hifa dari *C. albicans* memiliki kapasitas berkaitan dengan sejumlah struktur molekul pada jaringan tubuh manusia. Termasuk komponen matrik ekstraseluler seperti *fibronectin*, *kolagen*, *laminin*, dan produk konversi komplemen C₃. Pendekatan ini diperantai oleh komponen *mannoprotein* dari permukaan luar fibril organisme, tapi tidak jelas perlekatan tunggal atau ganda yang bertanggung jawab. Sebagaimana protein yang membentuk komponen matrik ekstraseluler host diketahui bersama-sama membentuk rangkaian spesifik, mungkin saja jika satu molekul *C. albicans* dapat memperantai perlekatan pada banyak komponen di jaringan host (Sherris, 1994 dalam Nurswida, 2002)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi. Eksplorasi dengan cara mengisolasi jamur endofit dari daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Kelurahan Ketawanggede Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dan Desa Banjaranyar Kecamatan Kras Kabupaten Kediri, kemudian menyeleksi isolat jamur endofit yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa aktif sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan dimulai pada bulan Desember 2007 sampai Februari 2008.

3.3. Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laminar flow cabinet, autoklaf, oven, cawan petri, jarum ose, bunsen, kompor gas, pengaduk kaca, entkas, pinset, kertas saring, incubator, aluminium foil, mikroskop, cover glass, gelas obyek, gelas ukur, tabung reaksi, pipet volume, erlenmeyer, jangka sorong, botol media, shaker incubator, sentrifugasi, timbangan analitik dan silet.

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Media PDASV (Potato Dextrose Agar Streptomycin Vankomysin), media NA (Nutrient Agar), media PDB (Potato Dextrose Broth), larutan NaOCl 1 %, daun sirih, aquades steril, spirtus, kapas, biakan *C. albicans*, *E. coli* dan *S. aureus*, alkohol 70 %, kertas cakram dan tissue.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat dengan aluminium foil, kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

3.4.2. Pembuatan Media

a. Media PDASV, cara pembuatannya sebagai berikut:

- Menyiapkan bahan yang terdiri dari kentang 0,5 kg, glukosa/sukrosa 20 gram, agar-agar 20 gram, streptomycin sulfat 100 ug/ml, vancomycin 50 ug/ml dan aquades steril 1000 ml.
- Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Menuangkan larutan PDASV tersebut ke dalam cawan petri dengan ketebalan media \pm 5 ml dan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 4 ml (untuk media miring) dan menutupnya dengan kapas, kemudian didiamkan sampai membeku.
- Kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi.

- Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.

b. Media PDB, cara pembuatannya sebagai berikut:

- Menyiapkan bahan yang terdiri dari kentang 0,5 kg, glukosa/sukrosa 20 gram dan aquades steril 1000 ml.
- Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Menuangkan larutan PDB tersebut ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 4 ml dan menutupnya dengan kapas.
- Kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.
- Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.

c. Media NA, cara pembuatannya sebagai berikut:

- Menyiapkan bahan yang terdiri dari beef ekstrak 3 gram, bacto pepton 5 gram, agar padat 15 gram dan aquades 1000 ml.
- Memasukkan semua bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Menuangkan larutan NA tersebut ke dalam cawan petri dengan ketebalan media ± 5 ml, kemudian didiamkan sampai membeku.
- Media miring dan media lempeng disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.
- Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.

3.4.3. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih

Jamur endofit diisolasi dari tanaman sirih (*P. betle* L.) sehat yang diambil dari daunnya. Bagian daun sirih tersebut dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Setelah pencucian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan memasukkannya ke dalam larutan alkohol 70 % selama 5 menit, dilanjutkan kedalam larutan NaOCl 1 % selama 5 menit kemudian dikeringkan dengan tissue steril. Setelah itu dibilas dengan aquadest steril \pm 1 menit diulang dua kali, lalu ditempelkan di atas cawan petri yang berisi media PDASV, perlakuan ini berfungsi sebagai kontrol. Kemudian potongan daun sirih dikeringkan di atas kertas tissue steril dan ditanam pada cawan petri yang berisi media PDASV. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai tampak jamur yang tumbuh. Kemudian jamur endofit tersebut diisolasi dan dimurnikan pada media PDASV baru. Jamur endofit yang digunakan untuk penelitian adalah jamur yang tumbuh pada belahan daun bagian dalam (Indriana, 2005).

3.4.4. Pemurnian Jamur Endofit

Medium yang digunakan untuk pemurnian jamur endofit yaitu medium PDASV. Jamur endofit yang tumbuh pada medium PDASV, dimurnikan masing-masing pada medium plat dan media miring PDASV. Kemudian diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 25 °C, setelah inkubasi dilakukan pengamatan terhadap bentuk dan warna koloni pada medium PDASV. Setiap koloni yang berbeda bentuk maupun warnanya disubkultur lagi pada medium PDASV baru.

3.4.5. Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 25 °C tadi diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dengan cara langsung melihat bentuk dan warna koloni jamur endofit. Sedangkan

pengamatan ciri-ciri mikroskopis dengan menggunakan mikroskop binokuler. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan setiap hari sampai tampak adanya konidia.

Pembuatan preparat untuk pengamatan yang menggunakan mikroskop binokuler adalah sebagai berikut:

- Media agar diambil dari cawan petri dengan jamur ose
- Potongan media tersebut diletakkan di atas obyek glass
- Konidia atau spora dari biakan murni jamur diambil dengan jamur ose
- Inokulum jamur diletakkan di atas potongan media pada obyek glass
- Cover glass ditutup dan diletakkan secara perlahan-lahan
- Preparat tersebut diletakkan di atas tissue basah yang diletakkan di atas nampan plastik dan di inkubasi selama 3-4 hari
- Morfologi jamur (bentuk dan ukuran hifa, konidia, spora) yang terbentuk diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x
- Preparat jamur diidentifikasi dengan menggunakan buku identifikasi jamur.

3.4.6. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba

a. Produktifitas Metabolit Antimikroba

Produksi metabolit antimikroba oleh jamur endofit dilakukan dengan cara menumbuhkannya di dalam medium PDB. Koloni jamur endofit yang telah diinkubasi pada medium PDASV selama 24 jam pada suhu 25 °C, diambil satu sengkeli dengan menggunakan jarum Ose dan diinokulasikan ke medium PDB dalam Erlenmeyer 50 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C dalam shaker incubator 130 rpm selama 48 jam. Setelah selesai, masing-masing medium disentrifugasi dengan kecepatan 3800 rpm pada suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan diambil dan dipergunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba terhadap jamur *C. albicans*, bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus*

b. Uji Antimikroba Terhadap *Candida albicans*

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba isolat jamur yaitu medium PDASV. Uji aktivitas antijamur isolat jamur terhadap jamur *C. albicans* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,22 um, dengan cara mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam supernatan kultur jamur endofit selama 30 menit. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antimikroba (medium plat PDASV). Kemudian diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37⁰C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

c. Uji Antimikroba Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba isolat bakteri yaitu medium NA. Uji aktivitas antimikroba isolat jamur terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatman dengan ukuran pori 0,22 um, dengan cara mengguntingnya dengan alat pembolong kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam di dalam supernatan kultur jamur endofit selama 30 menit. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas medium uji aktivitas antimikroba

(medium plat NA). Kemudian diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37⁰C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

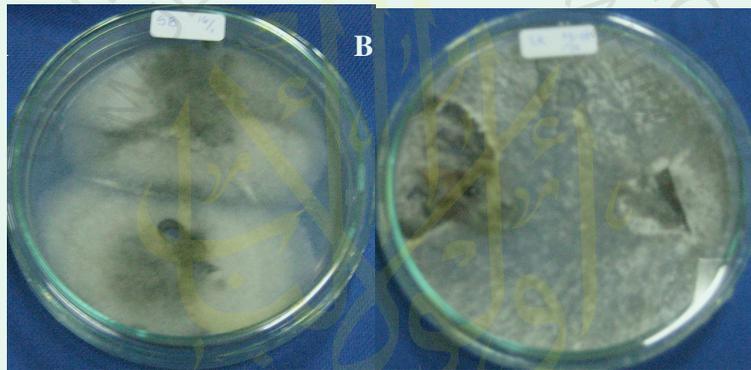


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (*Piper battle L.*)

Jamur endofit berhasil diisolasi dari potongan daun tanaman sirih (*P. battle L.*) setelah inkubasi selama 20 hari dalam medium PDASV pada suhu kamar, dapat dilihat pada Gambar 4.1. Sampel tanaman sirih yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari dua tempat yang berbeda yaitu, Desa Banjaranyar Kecamatan Kras Kabupaten Kediri dan Kelurahan Ketawanggede Kecamatan Lowokwaru Kota Malang.



Gambar 4.1. Jamur Endofit dari Jaringan Daun Sirih (*P. battle L.*)
(ket: A : sampel dari Desa Banjaranyar; B : sampel dari Kelurahan Ketawanggede)

Dalam hal isolasi jamur endofit, dilakukan pemurnian pada permukaan sampel dengan perendaman dalam alkohol 70% selama 5 menit dan NaOCl 1% selama 5 menit, maka jamur yang tumbuh adalah yang berasal dari dalam jaringan tanaman. Radji (2005) juga menyebutkan bahwa mikroba endofit adalah mikroba yang hidup dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya.

Setelah dilakukan pemurnian berdasarkan bentuk dan warna secara makroskopis pada media PDASV yang baru, dihasilkan 5 macam isolat jamur endofit dari Desa

Banjaranyar dan 4 macam isolat jamur endofit dari Kelurahan Ketawanggede. Masing-masing koloni memperlihatkan penampakan fisik yang beranekaragam, dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Diskripsi Bentuk dan Warna Koloni Isolat Jamur Endofit

Kode Isolat	Lokasi	Ciri Makroskopis
B1	Banjaranyar	Warna koloni mula-mula putih lama-kelamaan menjadi ungu kecoklatan, miselium menyebar, pertumbuhan koloni datar, tipis seperti serabut
B2	Banjaranyar	Warna koloni mula-mula putih lama-lama menjadi abu-abu kehitaman, miselium teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, halus, melebar
B3	Banjaranyar	Warna koloni putih bersih, miselium menyebar teratur, pertumbuhan koloni tebal, datar, kasar dan seperti berserat
B4	Banjaranyar	Warna koloni putih lama kelamaan menjadi hijau di bagian pusat, miselium menyebar teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, seperti serabut halus
B5	Banjaranyar	Warna koloni mula-mula hijau keabu-abuan lama-kelamaan menjadi hijau kehitaman, miselium menyebar teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, kasar, seperti serabut
K1	Ketawanggede	Warna koloni putih bersih, miselium meyebar, pertumbuhan koloni datar, tipis, seperti beludru kasar
K2	Ketawanggede	Warna koloni putih, miselium menyebar, pertumbuhan koloni datar, tipis, kasar dan melebar
K3	Ketawanggede	Warna koloni hijau tua, miselium teratur, terdapat serbuk spora, pertumbuhan koloni keatas, tebal, halus, seperti beludru
K4	Ketawanggede	Warna koloni mula-mula putih lama-lama menjadi abu-abu kehitaman, miselium teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, halus, melebar

Dalam Al-Qur'an juga dijelaskan, Q.s. ar-Ra'd: 4

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ وَصِنَوَانٌ
غَيْرٌ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لُبَّهَا عَلَىٰ بَعْضِ الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ
يَعْقِلُونَ

“Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanaman-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.” (Q.s. ar-Ra'd/13: 4)

Ayat di atas menjelaskan bahwa setiap tanaman mempunyai kelebihan tersendiri dari tanaman yang lain. Begitu juga pada tanaman sirih, tanaman sirih dari tempat yang berbeda menghasilkan jamur endofit yang berbeda pula. Disitulah bukti kekuasaan Allah Swt. yang menciptakan alam semesta dengan beranekaragam jenis dan manfaatnya.

Hasil pengamatan makroskopis terhadap penampakan koloni isolat jamur endofit, dapat diketahui bahwa masing-masing isolat memperlihatkan penampakan yang berbeda meskipun diambil dari sampel yang sama, akan tetapi daerahnya berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Atmosukarto (2006) karena tumbuh didalam jaringan tanaman, di mana tanaman yang satu tentunya berbeda dengan tanaman yang lainnya, maka biotop tempat hidup mikroba sangat sangat unik sifatnya. Bahkan, fisiologi tumbuhan tinggi termasuk yang berasal dari spesies yang sama akan beda di lingkungan yang berbeda.

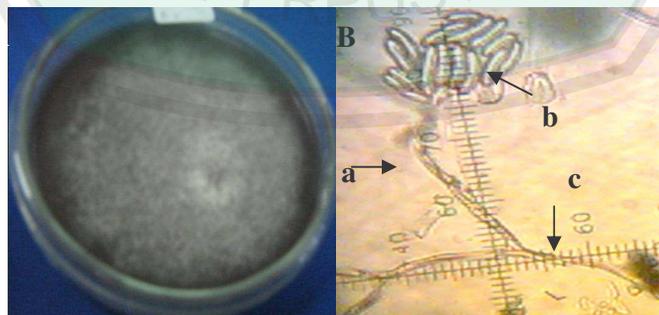
4.2. Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Berdasarkan hasil pengamatan, jamur endofit yang telah berhasil diisolasi dari daun sirih dapat diidentifikasi dengan melihat ciri makroskopis dan ciri mikroskopis, dengan mengacu pada buku petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972).

1. Isolat B1

Miselium menyebar, pada media PDASV koloni jamur muda berwarna putih tebal, lama-kelamaan pada bagian dasar koloni warna berubah menjadi ungu kecoklatan. Pada hari keempat setelah inokulasi diameter koloni mencapai 3,6 cm dan diameter koloni dapat mencapai 9 cm pada hari ke 8 setelah inokulasi. Pada hari kelima setelah inokulasi, dibawah mikroskop binokuler konidia tampak hyalin, berbentuk silinder, membengkok, tidak bersekat dan tampak gemuk. Konidiofor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin, miselium bercabang.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.2. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat B1 termasuk Famili Tuberculariaceae, genus *Fusarium sp.*

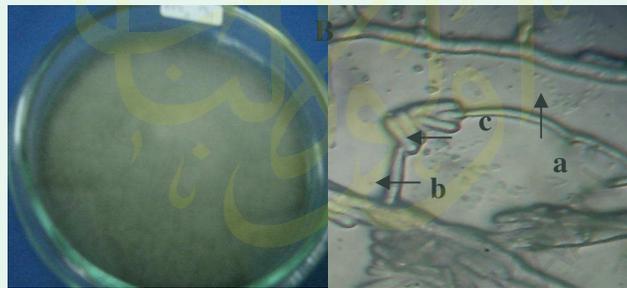


Gambar 4.2. Isolat B1
A. Koloni Isolat B1, B. Foto mikroskopis Isolat B1 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Konidiofor, b. Konidia, c. Hifa)

2. Isolat B2

Tumbuh cepat pada media PDASV, koloni jamur berwarna putih seperti kapas kemudian lama-kelamaan berubah menjadi abu-abu kehijauan, bagian pinggir berwarna hijau tua. Pada hari ketiga setelah inokulasi diameter koloni mencapai 4,5 cm. Sedangkan dibawah mikroskop binokuler, pada hari kelima setelah inokulasi tampak miselium bercabang. Hifa aseptat dan hyalin. Konidiofor pendek, hyalin, aseptat dan ramping. Konidia berbentuk silinder, 1 sel, hyalin, berukuran $3,9 \times 1,2 \mu\text{m}$.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.3. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat B2 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Cephalosporium* sp.

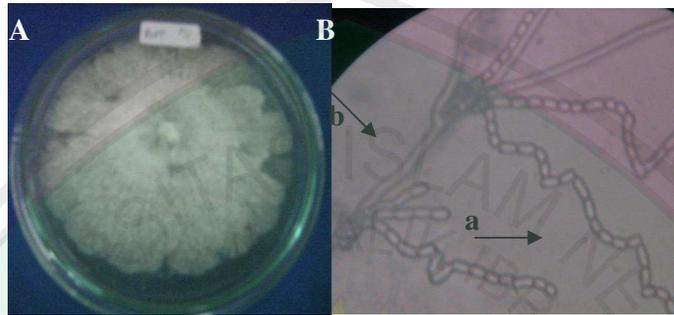


Gambar 4.3. Isolat B2
A. Koloni Isolat B2, B. Foto mikroskopis Isolat B2 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Hifa, b. Konidiofor, c. Konidia,)

3. Isolat B3

Koloni berwarna putih bersih pada media PDASV. Miselium menyebar teratur, pertumbuhan koloni tebal, datar, kasar dan seperti berserat. Dalam waktu 4 hari diameter koloni mencapai 4 cm. Pada pengamatan secara mikroskopis konidia biasanya tersusun secara silindris dan pendek, hyalin, 1 sel dan terbentuk seperti untaian panjang. Tidak terdapat konidiofor. Hifa aseptat dan hyalin.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.4. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat B3 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Geotrichum sp.*

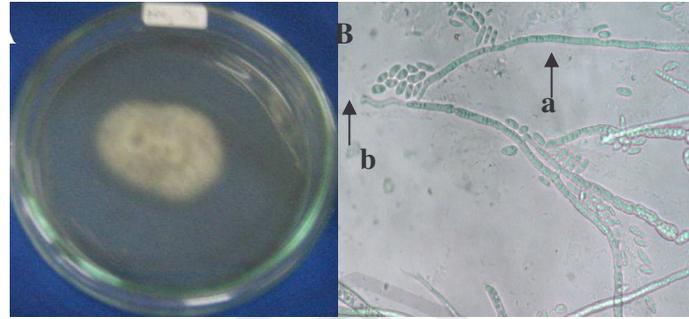


Gambar 4.4. Isolat B3
A. Koloni Isolat B3, B. Foto mikroskopis Isolat B3 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Hifa, b. Konidia)

4. Isolat B4

Warna koloni pada awalnya putih lama kelamaan menjadi hijau di bagian pusat, miselium menyebar teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, seperti serabut halus. Pada pengamatan hari keempat diameter koloni mencapai 3,9 cm. Pada hari kelima setelah inokulasi, dibawah mikroskop binokuler hifa tampak bersepta dan hyalin. Konidiofor panjang, asepta dan hyalin. Konidia hyalin, 2 sel, berbentuk silinder, sederhana dan membengkok.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.5. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat B4 termasuk Famili Tuberculariaceae, genus *Fusarium sp.*



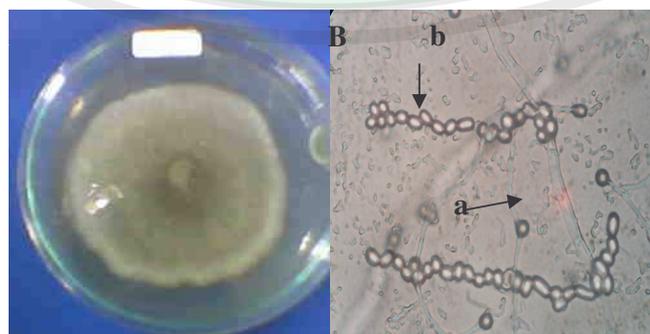
Gambar 4.5. Isolat B4

A. Koloni Isolat B4, B. Foto mikroskopis Isolat B4 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Konidiofor, b. Konidia)

5. Isolat B5

Koloni tumbuh cepat dan berwarna hijau keabu-abuan pada media PDASV. Pada biakan yang sudah tua warna berubah menjadi hijau kehitaman, miselium tumbuh menyebar dengan teratur, pertumbuhan koloni datar, tebal, kasar, seperti serabut. Pada pengamatan secara mikroskopis konidia biasanya tersusun secara silindris dan pendek, hyalin, 1 sel dan terbentuk seperti untaian panjang. Tidak terdapat konidiofor. Hifa aseptat dan hyalin.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.6. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat B5 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Geotrichum sp.*



Gambar 4.6. Isolat B5

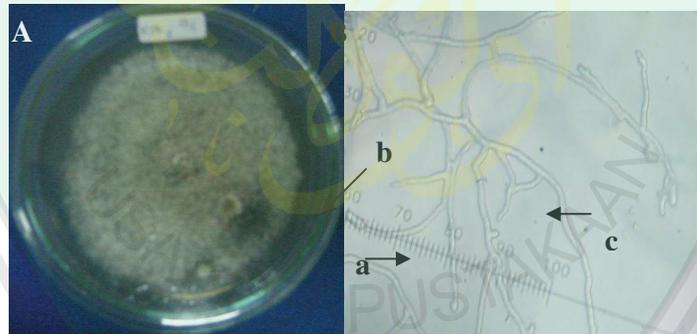
A. Koloni Isolat B5, B. Foto mikroskopis Isolat B5 dengan perbesaran 400x

(Ket: a. Hifa, b. Konidia)

6. Isolat K1

Koloni jamur berwarna putih bersih, miselium meyebar, pertumbuhan koloni datar, tipis, seperti beludru kasar. Dalam waktu 4 hari diameter koloni mencapai 3,2 cm. Sedangkan dibawah mikroskop binokuler, pada hari keempat setelah inokulasi tampak miselium bercabang. Hifa aseptat dan hyalin. Konidiofor pendek, hyalin, aseptat dan ramping. Konidia berbentuk silinder, 1 sel, hyalin, berukuran 4-5 x 1,2 μm .

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.7. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnet (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat K1 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Cephalosporium sp.*



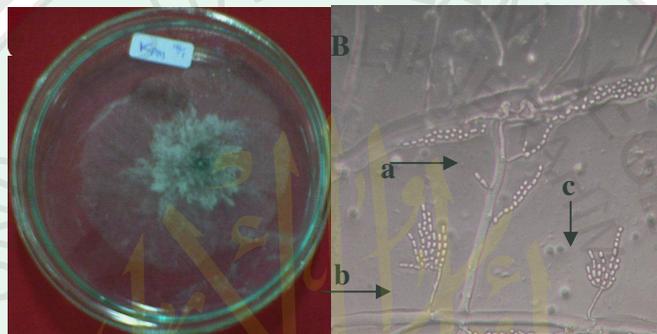
Gambar 4.7. Isolat K1
A. Koloni Isolat K1, B. Foto mikroskopis Isolat K1 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Konidiofor, b. Konidia, c. Hifa)

7. Isolat K2

Koloni berwarna putih, pertumbuhannya cepat dalam 4 hari diameter koloni mencapai 4,5 cm. Koloni datar, tipis, dan penampaknya kasar, miselium melebar dan menyebar pada seluruh permukaan media. Pada hari keenam setelah inokulasi, di bawah mikroskop binokuler tampak hifa bersepta dan hyalin. Konidiofor pendek silindris pada

ujungnya, hyalin, kadang bersekat, konidia 1 sel berbentuk silinder atau elips terbentuk berantai dari ujung konidiofor, saling terkait dalam satu kelompok.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.8. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat K2 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Cylindrocephalum sp.*



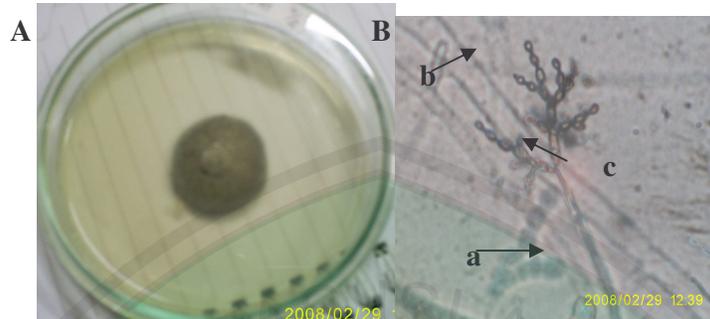
Gambar 4.8. Isolat K2
A. Koloni Isolat K2, B. Foto mikroskopis Isolat K2 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Hifa, b. Konidiofor, c. Konidia)

8. Isolat K3

Koloni berwarna hijau tua, merupakan kumpulan hifa dan di atasnya terdapat serbuk spora. Pertumbuhan sangat lambat pada media PDASV. Pada hari ke 9 setelah inokulasi diameter koloni baru mencapai 4 cm. Konidiofor panjang, hyaline dan aseptat. Konidia bulat seperti bulat telur, hyalin dan tumbuh di atas phialid, konidia mengeluarkan cahaya dari semua permukaan, satu konidiofor terdapat 2 atau 3 phialid, dan setiap phialid terdiri dari 3-5 konidia. Konidia terdiri dari satu sel, bundar dan tumbuh berantai.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.9. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett

(1972), maka dapat diketahui bahwa isolat K3 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Penicillium sp.*



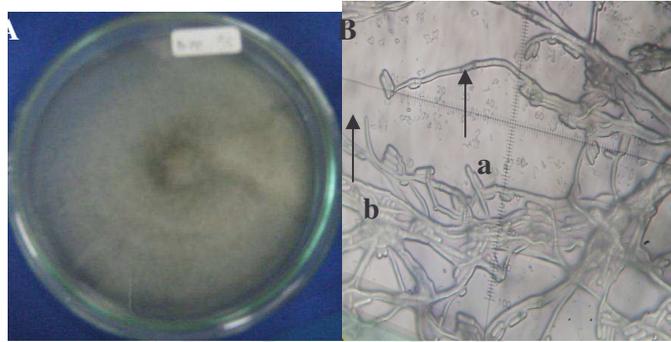
Gambar 4.9. Isolat K3

A. Koloni Isolat K3, B. Foto mikroskopis Isolat K3 dengan perbesaran 400x
(Ket: a. Konidiofor, b. Konidia, c. Sterigma/Phialid)

9. Isolat K4

Isolat K4 bisa dikatakan sama dengan Isolat B2 karena ciri morfologi baik secara makroskopis maupun mikroskopis menunjukkan panampakan yang sama yaitu, tumbuh cepat pada media PDASV, koloni jamur berwarna putih seperti kapas kemudian lama-kelamaan berubah menjadi abu-abu kehijauan, bagian pinggir berwarna hijau tua. Pada hari ketiga setelah inokulasi diameter koloni mencapai 4,5 cm. Miselium bercabang. Hifa aseptat dan hyalin. Konidiofor pendek, hyalin, aseptat dan ramping. Konidia berbentuk silinder, 1 sel, hyalin, berukuran $3,9 \times 1,2 \mu\text{m}$.

Berdasarkan ciri makroskopis dan mikroskopis seperti yang nampak pada Gambar 4.10. dan setelah dibandingkan dengan petunjuk klasifikasi menurut Barnett (1972), maka dapat diketahui bahwa isolat K4 termasuk Famili Moniliaceae, genus *Cephalosporium sp.*



Gambar 4.10. Isolat K4
 A. Koloni Isolat K4, B. Foto mikroskopis Isolat K4 dengan perbesaran 400x
 (Ket: a. Konidiofor, b. Konidia)

Sembilan isolat jamur endofit yang ditemukan dari daun sirih (*Piper betle* L.) tersebut setelah dilakukan identifikasi berdasarkan kunci identifikasi menurut Barnett (1972) termasuk dalam Famili Moniliaceae. Famili Moniliaceae termasuk fungi imperfecti atau Deuteromycotina. Hal ini sesuai dengan pernyataan Petrini *et al.* (1992) dalam (Worang, 2003) yang menggolongkan fungi endofit dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina.

4. 3. Seleksi Jamur Endofit Penghasil Metabolit Antimikroba

Jamur endofit yang diisolasi dari daun sirih (*P. batle* L.) menunjukkan kemampuan yang bervariasi dalam menghasilkan metabolit antimikroba. Seleksi terhadap 9 isolat jamur endofit yang menghasilkan metabolit antimikroba, menggunakan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Semua uji kemampuan antimikroba menggunakan parameter terbentuknya zona hambat (zona bening). Pengukuran dengan menggunakan jangka sorong, pengamatan dilakukan setelah bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil uji aktivitas dari 9 isolat jamur endofit secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memperlihatkan bahwa semua isolat dapat

menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat yang relative besar yaitu mencapai 31,76 mm pada *S. aureus* dan 23,44 mm pada *E. coli* (Tabel 4.2.). Sedangkan pada jamur *Candida albicans* memperlihatkan zona hambat yang relatif kecil yaitu mencapai 1,96 mm, bahkan dua dari isolat jamur endofit tidak bisa menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu, isolat B1 dan isolat K1 (Tabel 4.2.).

Tabel 4.2. Rata-rata Diameter Zona Hambat Metabolit Jamur Endofit

Kode Isolat	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
B1	26,45	8,7	0
B2	24,50	15,68	1,26
B3	29,73	24,64	0,98
B4	27,09	23,44	1,96
B5	28,54	18,43	1,35
K1	22,04	13,77	0
K2	31,76	9,74	1,68
K3	26,16	17,11	0,87
K4	19,23	9,78	1,54

Keterangan: B= isolat jamur endofit dari Desa Banjaranyar;K= isolat jamur endofit dari Kelurahan Ketawanggede.

Berdasarkan Tabel 4.2. di atas dapat diketahui bahwa isolat K2 mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter zona hambat tertinggi. Pada *E. coli* isolat B3 yang mampu menghambat paling tinggi, sedangkan pada *C. albicans* diameter zona hambat paling tinggi ditunjukkan oleh isolat B4 (Gambar 4.11.).



Gambar 4.11. Zona hambat yang dihasilkan oleh *Stapilococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* setelah diinkubasi selama 24 jam (ket: A: *S. aureus*; B: *E. coli*; C: *C. albicans*)

Ketidaksamaan isolat yang mempunyai diameter zona hambat terbaik pada ketiga mikroba uji bisa disebabkan karena jenis metabolit antimikroba yang dihasilkan pada masing-masing isolat juga berbeda. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Siswandono (1995) bahwa antibiotik mempunyai spesifikasi dalam efektifitasnya. Antibiotik dapat dikelompokkan berdasarkan tempat kerja spektrum aktivitas dan struktur kimianya.

Dijelaskan lebih lanjut oleh Siswandono (1995) bahwa metabolit antimikroba dari daun sirih merupakan antibiotika dengan spektrum luas yaitu, efektif baik terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Sedangkan kecilnya diameter zona hambat yang dihasilkan oleh metabolit jamur endofit pada *C. albicans* bisa disebabkan karena metabolit yang dihasilkan merupakan antibiotika yang tidak aktif terhadap jamur (antijamur). Untuk lebih jelasnya dapat dilakukan uji lanjutan terhadap karakteristik metabolit yang dihasilkan jamur endofit dari daun sirih.

Bonang (1982) menyebutkan bahwa antibiotika Ampisilin pada batang Gram negatif dinyatakan peka jika mempunyai diameter zona hambat sebesar 14 mm atau lebih pada batang Gram negatif dan 29 mm atau lebih pada Stafilokokus, Pimisilin G dengan diameter zona hambat 29 mm atau lebih, Streptomisin dengan diameter zona hambat 15 mm atau lebih dan Vankomisin dengan diameter zona hambat 12 mm atau lebih. Dari pernyataan di atas dapat disimpulkan bahwa antibiotik yang terdapat pada metabolit jamur endofit kemungkinan merupakan antibiotik yang peka. Hal ini bisa dijadikan sumber acuan baru dalam pencarian jenis antibiotik yang potensial.

Data hasil pengamatan pada Tabel 4.2. menunjukkan rata-rata bahwa *Staphylococcus aureus* menghasilkan diameter zona hambat lebih besar dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding

sel pada bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dengan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*).

Menurut Pelczar (1986) struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Sedangkan bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya.

Lay (1992) menambahkan perbedaan utama antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif ialah bahwa pada bakteri Gram negatif memiliki lapisan membran luar yang meliputi peptidoglikan. Lapisan membran luar disebut "outer wall layer" yang mempunyai struktur sebagai unit membran. Perbedaannya adalah bahwa lapisan ini tidak hanya terdiri dari fosfolipida saja seperti pada membran plasma tetapi juga mengandung lipida lainnya, polisakarida dan protein. Lipida dan polisakarida ini berhubungan erat dan membentuk struktur khas yang disebut lipopolisakarida.

Struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks tersebut menyebabkan antibiotik lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Untuk menunjukkan kerja antibiotik pada bakteri Gram negatif, antibiotik pertama-tama harus menembus membran terluar selubung bakteri secara difusi pasif melalui saluran yang terbentuk oleh pori protein. Sesudah menembus membran terluar, antibiotik masuk melalui dinding sel melewati ruang periplasma dan mencapai sasaran, yaitu enzim serin protease yang terdapat pada membran terdalam (sitoplasma). Enzim inilah yang bertanggung jawab terhadap biosintesis dinding sel (Siswandono, 1995).

Berbeda dengan bakteri, jamur mempunyai struktur dinding sel yang sangat kompleks dengan rangka dasar yang terdiri dari polisakarida kristalin, kitin, dan β -

glukan, dan suatu matrik yang terdiri dari polisakarida amorf dan kompleks protein-sakarida. Kitin dan β -glukan bertanggung jawab terhadap mekanisme dinding sel jamur (Siswandono, 1995).

Dalam Q.s. Al-Furqon ayat 2 dijelaskan

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ
وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

“ Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan dia Telah menciptakan segala sesuatu, dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Q.s. Al-Furqon/25: 2)

Dimana segala sesuatu yang dijadikan Tuhan diberi-Nya perlengkapan-perengkapan dan persiapan-persiapan, sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup. Begitu pula dengan jamur endofit dimana di dalamnya terdapat manfaat tertentu sesuai dengan kandungan senyawanya.

Radji (2005) mengungkapkan bahwa, jamur endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya. Sebagai contoh Taxol, yang dihasilkan dari kulit batang *Taxus brevifolia*, ternyata dapat dihasilkan oleh kultur jamur endofit *Taximyces andreanae* yang diisolasi dari *Taxus brevifolia* di Montana. Ergot alkaloida ditemukan dalam kultur *Neotyphodium*, endofit yang dikarakterisasi dari *Ergot scerotia* (Tan and Zou, 2001 dalam Sugijanto, 2004).

Pernyataan di atas memperkuat bahwa jamur endofit yang berhasil diisolasi dari penelitian ini juga menghasilkan metabolit skunder sesuai dengan yang dihasilkan inangnya dalam hal ini tanaman sirih (*P. betle* L). Menurut Kartasapoetra (1992) komponen di dalam daun sirih meliputi minyak atsiri sampai 4,2 % yang didalamnya

terdapat fenol yang khas disebut betelfenol, khavikol, diastase, zat penyamak, gula dan pati. Brooks dkk. (1996) juga menambahkan bahwa fenol merupakan zat anti kuman yang kuat fenol dan derivatnya menyebabkan denaturasi protein pada kuman. Dengan demikian kemungkinan besar jamur endofit dari daun sirih juga mengandung senyawa aktif fenol.

Dalam kerjanya, pertama fenol merusak membran plasma sehingga enzim menjadi inaktif yang menyebabkan denaturasi protein. Fenol lebih efektif pada bakteri gram positif (Tim Mikrobiologi, 2003). Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Pelczar, 1988).

Menurut Volk (1993) apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dan mengendapkan protein sel. Akan tetapi, dalam konsentrasi 0,1 hingga 2 persen, fenol merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting, dan disamping itu, menginaktifkan sistem enzim bakteri.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Jamur endofit berhasil diisolasi dari daun sirih (*Piper betle* L.), sebanyak 9 isolat yaitu 5 isolat jamur dari Desa Banjaranyar Kecamatan Kras Kabupaten Kediri dan 4 isolat dari Kelurahan Ketawanggede Kecamatan Lowokwaru Kota Malang.
2. Hasil uji 9 isolat jamur endofit, memperlihatkan bahwa semua isolat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat 31,76 mm pada *S. aureus* dan 23,44 mm pada *E. coli*. Sedangkan pada jamur *Candida albicans* memperlihatkan zona hambat sebesar 1,96 mm, dua dari isolat jamur endofit tidak bisa menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu, isolat B1 dan isolat K1.

5.2. Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Melakukan uji lanjutan tentang spesifikasi jenis antimikroba yang terdapat dalam metabolit jamur endofit dari daun sirih.
2. Melakukan karakterisasi dari interaksi mikroba endofit dengan inang.

3. Melakukan pengujian terhadap konsentrasi mikroba uji dan konsentrasi metabolit jamur endofit yang paling tepat untuk mendapatkan hasil yang maksimal di dalam pengujian aktivitas antimikroba.



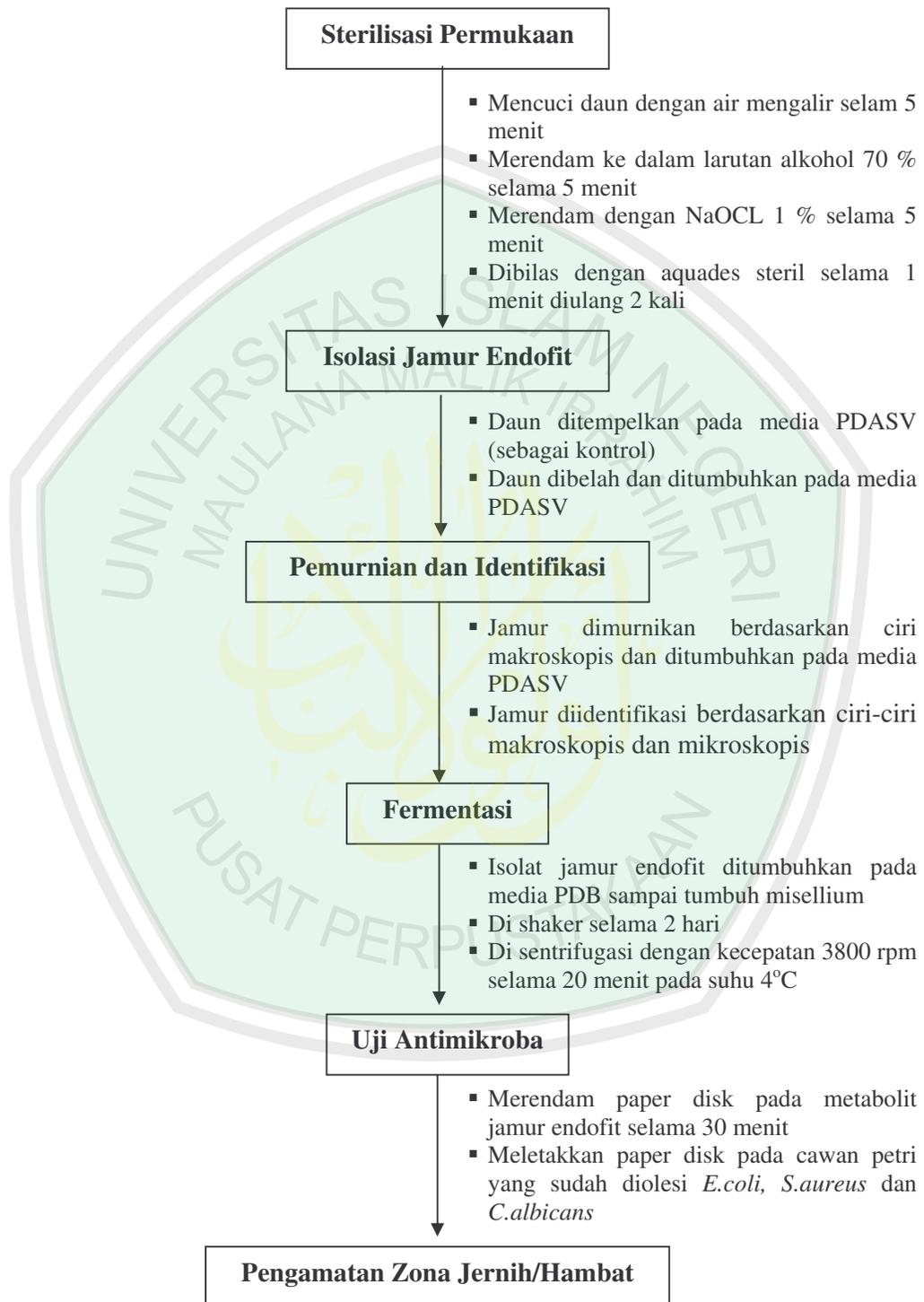
DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik Indonesia*. Bandung: ITB.
- Agustin W, D. 2005. *Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi antara Hidrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% Terhadap Bakteri Mix* Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.), Vol. 38. No. 1 Januari 2005: 45–47. <http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/DENTJ-38-1-12.pdf>. Diakses pada 12 November 2007.
- Agustrini, S. 2006. *Keputihan-Si Putih Yang Mengganggu*. <http://www.pom.go.id/medikaholistik.com/2006/journal/item>. Diakses pada 4 November 2007.
- Anonymous. 2007. *Tanaman Obat Indonesai*. <http://toiusd.multiply.com/journal/item/282>. Diakses pada 12 November 2007.
- Atmosukarto, I. dan Anggia P. 2006. *Mikroba Endofit: Sumber Molekul Baru yang Berpotensi*. *BioTrends* Vol 1 Nomor 2.
- Barnett, L. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company.
- Bonang, G dan Enggar S. K. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Brooks, G.F, Janet S. B., L. Nicholas O. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dan RF Maulany. Jakarta: EGC.
- Chasanah, N. 2001. *Pengujian Daya Antimikroba Air Perasan Blimbing Wuluh (Averhoa blimbi L.)*. Universitas Negeri Malang FMIPA. Skripsi Tidak Diterbitkan.
- Dasuki, U. A. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati ITB.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiolog*. Jakarta: Djambatan.
- Gan, V.H.S dan Setiabudy, R. 1987. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 3. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fotokimia*. Bandung: ITB.
- Indriana, H.H. 2005. *Eksplorasi Jamur Endofit Antagonis Terhadap Phytophthora spp. Penyebab Penyakit Busuk Pada Batang Jeruk*. Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Tidak Diterbitkan.

- Kartasapoetra, A.G. 1989. *Teknologi Penanganan Pasca Panen*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Kartasapoetra, A.G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: PT. Rineka Cipta
- Lay, B.W dan Sugyo H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers
- Nurswida, I. 2002. *Efektivitas Dekok Sirih Hijau dan Sirih Kuning Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* (uji In Vitro)*. Universitas Brawijaya. Skripsi Tidak Diterbitkan.
- Pangarungan, E. 2003. *Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Air Daun Sirih [*Piper betle L.*] dan Minyak Cengkeh [*Syzygium Aromaticum (L.) MERR. & PERRY*] Serta Kombinasinya*. Departemen Farmasi. <http://fa.lib.itb.ac.id/go.php?id=jbptitbfa-gdl-s1-2003-evapangaru-467&node=56&start=6>. Diakses pada 8 November 2007.
- Pelczar, M.J. dan E.S.C. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Terjemahan Ratna S.H, Teja I., S. Sutarmi dan Sri L.A. Jakarta: UI-Press.
- Pelczar, M.J. dan E.S.C. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi II*. Terjemahan Ratna S.H., Teja I., S. Sutarmi dan Sri L.A. Jakarta: UI-Press.
- Prihatiningtias, W. 2006. *Mikroba Endofit, Sumber Penghasil Antibiotik Yang Potensial*. Fakultas Farmasi UGM. http://dianing.blogspot.com/2006_05_01_archive.html. Diakses pada 5 Oktober 2007
- 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, ,No.3, Desember.
- Ristiati, N. P. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Proyek Pengembangan sekolah menengah IBRD Loan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi: Departemen Pendidikan Nasional.
- Shihab, M.Q. 1994. *Membumikan Al-Qur'an: Fungsi dan Peran Wahyu dalam Kehidupan Masyarakat*. Bandung: Mizan.
- Shihab, M.Q. 1996. *Wawasan Al-Qur'an: Tafsir Maudhu'i atas Pelbagai Persoalan umat*. Bandung: Mizan.
- Shinta. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antimikroba dari Daun Tumbuhan *Piper sarmentosum Roxb. Ex. Hunter**. Perpustakaan pusat universitas gunadarma. <http://Antibiotik\metsekunder\jbptitbpp-gdl-s2-2002-shinta-1629-mikroba%20-%20>.

- Siswandono dan Bambang S. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Erlangga.
- Shulman, T. S. dkk. 1994. *Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi*. Edisi 4. Penerjemah Prof. Dr. A. Samik Wahab dan Dr. Sutaryo, DSA. Yogyakarta: UGM Press.
- Sugijanto, N.E. dkk. 2004. *Isolasi dan Determinasi Berbagai Jamur Endofit dari Tanaman Aglaia elliptica, Aglaia eusideroxylon, Aglaia odorata dan Aglaia odoratissima*. Jurnal Penelitian Medika Eksakta vol. 5 no 2 Agustus.
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Alumni
- Suprihatin, S.D. 1982. *Candida dan Kandidiasis pada Manusia*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Suriawiria, U. 2006. *Daun Sirih, Obat Serbaguna Sepanjang Masa*. Bandung: Pikiran Rakyat.
- Tjampakasari, C.R. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. Cermin Dunia Kedokteran No. 151, 200633. http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13_151_KarakteristikBiologikCandidaAlbicans.pdf/13_151_KarakteristikBiologikCandidaAlbicans.html. Diakses pada 23 November 2007.
- Triarsari, D. 2007. *Manfaat Daun Sirih*. Bulletin DWP PTRI Jenewa. <http://dwpptrijenewa.isuisse.com/bulletin/?p=1040>. Diakses pada 12 November 2007.
- Volk, W.A. dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar 1*. Terjemahan Soenarto A. Jakarta: Erlangga.
- Worang, R.L. 2003. Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Program Pascasarjana / S3 Institut Pertanian Bogor Oktober 2003.

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja



Gambar 1. Diagram alir metode kerja

Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran Zona Hambat pada Mikroba Uji

Tabel 1. Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit terhadap *Staphylococcus aureus*

Isolat	Ulangan			Keterangan
	I	II	III	
B1	28,45	24,31	26,59	Menghambat
B2	25,76	26,64	21,09	Menghambat
B3	30,55	27,53	31,11	Menghambat
B4	28,66	24,04	28,57	Menghambat
B5	29,14	28,28	22,61	Menghambat
K1	20,12	21,40	19,22	Menghambat
K2	33,33	30,82	32,70	Menghambat
K3	21,00	28,33	29,17	Menghambat
K4	20,12	18,35	28,22	Menghambat

Keterangan: B: isolat jamur endofit dari Desa Banjarnayar; K: isolat jamur endofit dari Kelurahan Ketawanggede.

Tabel 2. Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit terhadap *Escherichia coli*

Isolat	Ulangan			Keterangan
	I	II	III	
B1	9,21	10,46	6,44	Menghambat
B2	17,85	12,35	16,83	Menghambat
B3	24,28	23,57	26,07	Menghambat
B4	21,07	26,07	23,17	Menghambat
B5	16,18	21,83	17,27	Menghambat
K1	11,08	16,98	13,27	Menghambat
K2	10,27	11,00	7,94	Menghambat
K3	20,16	16,14	15,03	Menghambat
K4	11,04	12,27	6,03	Menghambat

Keterangan: B: isolat jamur endofit dari Desa Banjarnayar; K: isolat jamur endofit dari Kelurahan Ketawanggede.

Tabel 3. Uji Aktivitas Metabolit Jamur Endofit terhadap *Candida albicans*

Isolat	Ulangan			Keterangan
	I	II	III	
B1	0	0	0	Tidak Menghambat
B2	1,01	0,73	1,04	Menghambat
B3	1,01	0,80	1,14	Menghambat
B4	1,66	1,99	2,30	Menghambat
B5	1,17	1,00	1,87	Menghambat
K1	0	0	0	Tidak Menghambat
K2	1,00	2,00	2,04	Menghambat
K3	0,41	1,30	0,91	Menghambat
K4	1,60	0,90	2,07	Menghambat

Keterangan: B: isolat jamur endofit dari Desa Banjarnayar; K: isolat jamur endofit dari Kelurahan Ketawanggede.

LAMPIRAN 3. Alat-alat yang Digunakan dalam Penelitian



Gambar 2. Alat-alat Penelitian
(ket: A: Inkubaror; B: Centrifuge; C: Laminar flow; D: Bio-Shaker Inkubator)

Lampiran 4. Sampel Tanaman *Piper betle* L



Gambar 3. Tanaman *Piper betle* L.