



**SURAT TUGAS**  
**MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI**  
NO. 219/F.03.08/2023

*Bismillahirrohmanirrohiim,*  
Yang bertanda tangan di bawah ini

|                           |   |
|---------------------------|---|
| N a m a                   | <b>Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.</b>       |
| NIDN                      | 0325067201                                |
| Pangkat /Jabatan Akademik | Penata/IIIC / Lektor Kepala               |
| Jabatan                   | Dekan                                     |
| Unit Kerja                | Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta |

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada semester genap tahun akademik **2022/2023** kepada :

|                           |   |
|---------------------------|---|
| N a m a                   | <b>Wahyu Hidayati, M.Biomed.</b>          |
| NIDN                      | 0308108202                                |
| Pangkat /Jabatan Akademik | Penata Muda Tingkat I (III-B)             |
| Jabatan Fungsional        | ASISTEN AHLI                              |
| Unit Kerja                | Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta |

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

| NO | JUDUL PENELITIAN   |
|----|--|
| 1. | Seleksi Aktivitas Antimikroba Kapang Endofit Daun Salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight.] Walp) Terhadap Mikroba patogen <i>Salmonella typhi</i> . |

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 07 Maret 2023

Dekan,

**Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.**

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip



**SURAT TUGAS**  
**MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI**  
NO. 128/F.03.08/2023

*Bismillahirrohmanirrohiim,*  
Yang bertanda tangan di bawah ini

|                           |   |
|---------------------------|---|
| N a m a                   | <b>Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.</b>       |
| NIDN                      | 0325067201                                |
| Pangkat /Jabatan Akademik | Penata/IIIC / Lektor Kepala               |
| Jabatan                   | Dekan                                     |
| Unit Kerja                | Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta |

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada semester genap tahun akademik **2022/2023** kepada :

|                           |   |
|---------------------------|---|
| N a m a                   | <b>Dra. Fitriani, M.Si.</b>               |
| NIDN                      | 0027026401                                |
| Pangkat /Jabatan Akademik | Penata/ III-C                             |
| Jabatan Fungsional        | LEKTOR                                    |
| Unit Kerja                | Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta |

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

| NO | JUDUL PENELITIAN   |
|----|--|
| 1. | Seleksi Aktivitas Antimikroba Kapang Endofit Daun Salam ( <i>Syzygium polyanthum</i> [Wight.] Walp) Terhadap Mikroba patogen <i>Salmonella typhi</i> |

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 07 Maret 2023

Dekan,

  
**Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.**

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

**(SELEKSI AKTIVITAS ANTIMIKROBA KAPANG  
ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzygium  
polyanthum* [Wight.] Walp) terhadap  
MIKROBA PATOGEN *Salmonella typhi*)**



**LAPORAN AKHIR  
HIBAH RISETMU BATCH VI**

**DISUSUN OLEH:**

**Ketua Tim: Wahyu Hidayati, S. Si., M. Biomed. (Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka)**

**Anggota: Dra. Fitriani, M.Si. (Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka)**

Nomor Surat Kontrak : 1687.220/PD/I.3/D/2022

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH  
2022

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PENELITIAN DASAR**

**Judul Kegiatan** : Seleksi Aktivitas Antimikroba Kapang Endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) Terhadap Mikroba patogen *Salmonella typhi*

**Bidang** : Kesehatan dan Obat

**Jenis** : Penelitian

**Ketua Peneliti**

A. Nama Lengkap : Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed.  
B. NIDN : 0308108202  
C. Universitas : Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka  
D. Program Studi/Fakultas : Fakultas Farmasi Dan Sains  
E. Nomor HP : 08156858725  
F. Surel (e-mail) : wahyu\_hidayati@uhamka.ac.id

**Anggota Riset**

Jumlah Anggota : 1  
Jumlah Anggota Mahasiswa : 1

**Anggota 1**

A. Nama Lengkap : Fitriani Zain  
B. NIDN : 0027026401  
C. Program Studi/Fakultas : Farmasi/ Farmasi dan Sains

**Mahasiswa 1**

A. Nama Lengkap : Shylvanna Fhirda Octaviani  
B. NIM : 1804015271

Mengetahui,  
Dekan

  
  
(Dr. Apt. Hadi Sunaryo, M. Si.)  
NIP/NIK 0325067201

Jakarta, 7 September 2022  
Ketua Peneliti,

  
(Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed.)  
NIP/NIK D.14.0855

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian UHAMKA

  
  
(Dr. Apt. Supandi, M. Si.)  
NIK 0319067801

## DAFTAR ISI

|   |    |
|---|----|
| <b>RINGKASAN</b> .....                                    | 3  |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....                           | 4  |
| a. Latar Belakang Penelitian .....                        | 4  |
| b. Perumusan Masalah.....                                 | 5  |
| c. Tujuan Penelitian.....                                 | 5  |
| d. Manfaat Penelitian .....                               | 5  |
| e. Road Map Penelitian .....                              | 6  |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                      | 7  |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....                     | 9  |
| A. Desain Penelitian .....                                | 9  |
| B. Cara Kerja .....                                       | 9  |
| C. Analisis Data.....                                     | 11 |
| D. Diagram Alir Penelitian .....                          | 12 |
| <b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....                         | 13 |
| <b>KESIMPULAN</b> .....                                   | 16 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....                               | 17 |
| <b>RENCANA ANGGARAN BELANJA DAN JADWAL KEGIATAN</b> ..... | 18 |
| REKAPITULASI PENGGUNAAN DANA PENELITIAN.....              | 18 |
| Rincian Penggunaan .....                                  | 18 |
| Jadwal Penelitian .....                                   | 22 |

## RINGKASAN

Penelusuran sumber bahan obat baru masih terus dilakukan, khususnya untuk mengobati penyakit infeksi. Salah satu sumber bahan obat baru yang mulai banyak dieksplorasi oleh peneliti bahan alam adalah mikroorganisme. Salah satu organisme yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber bahan obat baru adalah mikroba endofit, khususnya kapang endofit. Kapang endofit dapat diperoleh dari berbagai tanaman, diantaranya adalah daun Salam. Daun Salam telah diketahui memiliki potensi dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kapang-kapang endofit yang terdapat pada daun Salam dan menyeleksi kemampuan penghambatan pertumbuhan mikroba terhadap bakteri patogen *Salmobella typhi*. Tahapan yang akan dilakukan antara lain melakukan isolasi dan identifikasi kapang endofit yang dilanjutkan dengan melakukan fermentasi dan menguji aktivitas antimikroba terhadap *S. typhi* menggunakan metode agar diffusion. Penelitian ini akan dipublikasikan pada Jurnal nasional terakreditasi SINTA-2 yaitu Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia.

## BAB 1. PENDAHULUAN

### a. Latar Belakang Penelitian

Hingga saat ini, eksplorasi bahan alam sebagai sumber penghasil senyawa aktif untuk pengobatan masih terus dilakukan. Hal ini disebabkan oleh pandangan untuk kembali ke bahan alam dalam mengobati suatu penyakit. Secara empiris, masyarakat dunia, khususnya Indonesia, sudah menggunakan bahan alam dalam pengobatan dikarenakan masih tersedianya tanaman obat yang sangat melimpah dan mudah dijumpai. Akan tetapi, jika eksplorasi terus dilakukan namun tidak diringi oleh kemampuan tumbuh tanaman obat yang digunakan maka akan terjadi kekurangan sumber senyawa aktif.

Sejak diketahui adanya hubungan simbiosis mutualisme yang terjadi antara tanaman dengan mikroba endofit, pencarian sumber bahan obat alami mulai berkembang dengan mengeksplorasi mikroba endofit. Mikroba endofit telah dilaporkan dapat menghasilkan berbagai senyawa yang dapat digunakan sebagai antikanker, antibiotik, dan antioksidan (Strobel, 2018). Mikroba endofit dapat diperoleh dari semua bagian tanaman, baik daun, buah, akar, batang, dan biji (Strobel, 2018). Suatu penelitian melaporkan bahwa sebanyak 12 isolat kapang endofit berhasil diisolasi dari buah belimbing wuluh (Hidayati & Syahputra, 2020).

Daun salam (*Syzigium polyanthun* [WIGHT.] Walp.) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan penyakit secara tradisional, selain digunakan sebagai bumbu masakan Indonesia. Efek farmakologis yang dimiliki oleh daun salam antara lain adalah antihipertensi, antidiabetes, antidiare, dan antiinflamasi (Muhammad and Hariandja, 2015). Daun salam telah dilaporkan memiliki kandungan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen, salah satunya adalah *Salmonella typhi*. Pada ekstrak daun salam yang dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik dan ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Evedi, 2017; Trisnawati, Astuti, & Kartika, 2020).

Adanya kemampuan daun salam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan adanya laporan mengenai potensi kapang endofit dalam

menghasilkan senyawa obat baru, maka dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi kapang endofit yang terdapat pada daun salam sebagai kandidat sumber bahan alam yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

### **b. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut diperoleh permasalahan yaitu pengambilan senyawa bioaktif dari suatu tanaman obat telah banyak dilakukan dengan mengekstraksikan bagian dari tanaman tersebut. Cara lain yang efisien untuk memperoleh senyawa bioaktif dari suatu tanaman adalah menggunakan kapang endofit yang mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan, sehingga tidak harus mengekstrak senyawa bioaktif tersebut dari tanaman inangnya (Kusumawati dkk. 2014). Informasi tentang aktifitas kapang endofit dari daun salam sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Salmonella typhi* belum pernah dilaporkan .

### **c. Tujuan Penelitian**

#### c.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kapang endofit dan menyeleksi kapang endofit daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) yang dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi*.

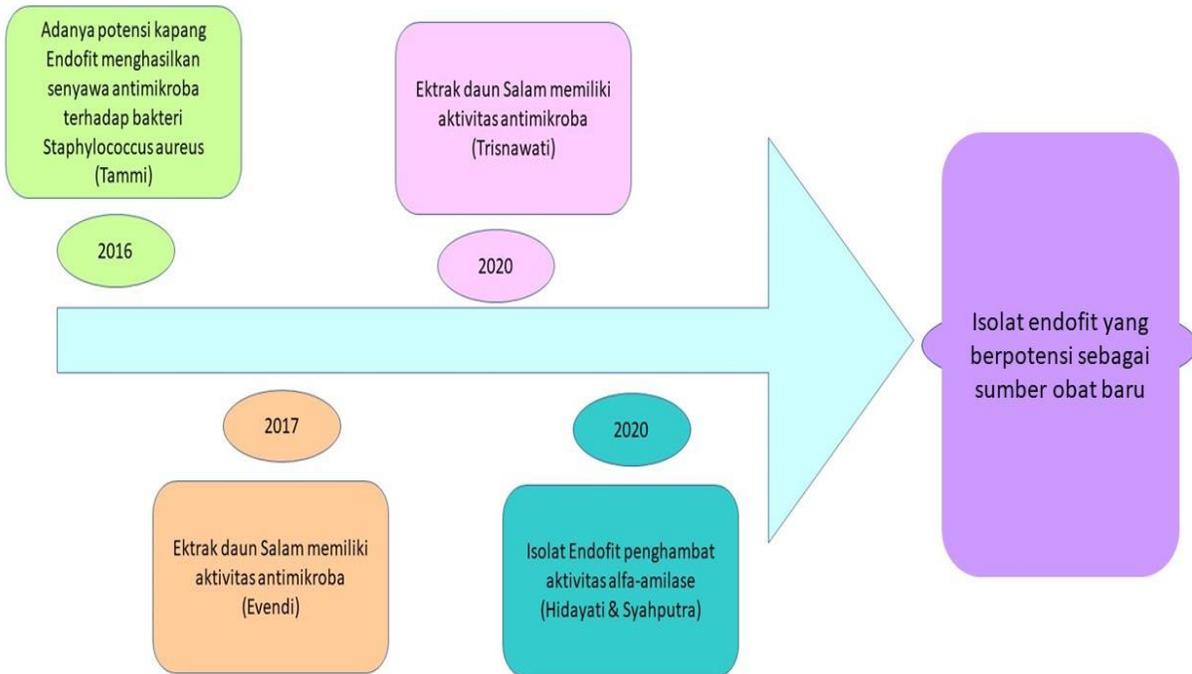
#### c.2. Tujuan Khusus

- a. Mendapatkan isolate kapang endofit dari daun Salam
- b. Mendapatkan supernatant hasil fermentasi kapang endofit
- c. Mengetahui isolat kapang endofit yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *S. typhi* paling baik

### **d. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat tentang potensi kapang endofit yang terdapat pada daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) dalam menghasilkan senyawa aktif antibakteri dan dapat mencegah sumber daya alam punah yang disebabkan penebangan pohon yang berlebihan .

### e. Road Map Penelitian



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### **Kapang Endofit**

Mikroba endofit banyak dijumpai pada bagian tanaman tingkat tinggi dan hidup berkoloni dalam jaringan tanaman ((Martinez-Klimova, Rodríguez-Peña, & Sánchez, 2017; Strobel, 2018). Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tumbuhan yang tidak memiliki efek patogen terhadap inangnya (An dan Ma 2005). Menurut Dotzler et al., (2007), kapang endofit diduga telah berkaitan dengan tanaman sejak 400 juta tahun yang lalu dan telah dipelajari secara luas di berbagai tempat dan di berbagai iklim. Selain itu, kapang endofit juga memegang peranan penting sebagai komponen yang berada di dalam lingkungan alam khususnya untuk host yang ditempatinya. Kapang endofit adalah fungi tingkat tinggi yang memiliki struktur vegetatif yang disebut miselium. Miselium merupakan sistem tabung yang bercabang banyak. Dalam tabung tertutup, terdapat sitoplasma yang bergerak dan mengandung banyak inti. Miselium tersebut dapat memiliki lebih dari satu sel filamen. Filamen sel yang panjang dan tipis pada miselium disebut hifa (Dinata 2012).

### **Fermentasi Kapang Endofit**

Isolat kapang endofit dapat diketahui memiliki potensi dalam menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas seperti tanaman inangnya dengan cara kultivasi menggunakan teknik fermentasi. Fermentasi adalah suatu proses yang digunakan untuk menghasilkan suatu produk. Fermentasi kapang endofit dilakukan dengan cara fermentasi cair dengan metode goyang dan menggunakan medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*). Fermentasi cair bertujuan untuk mengaktifkan metabolit sekunder kapang endofit yang dihasilkan berupa senyawa antibakteri (Rante dkk. 2013). Medium fermentasi harus memiliki syarat seperti mengandung nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi mikroba, mengandung nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan sel mikroba, tidak mengandung zat yang dapat membahayakan pertumbuhan sel dan tidak terdapat kontaminan yang meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat (Feng, Chen, & Chen, 2018).

### **Bakteri *Salmonella typhi***

*Salmonella* termasuk dalam keluarga Entrobacteriaceae yang merupakan bakteri patogen bagi manusia dan hewan. *Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif, tidak

berspora, tidak mempunyai simpai, tanpa fimbria dan mempunyai flagel. Ukurannya 1-3,5  $\mu\text{m}$  x 0,5-0,8 $\mu\text{m}$ . Besar koloni dalam media pembedihan rata-rata 2-4 mm. Sifat *Salmonella typhi* antara lain dapat bergerak, tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif pada suhu 15-41°C, hanya sedikit membentuk gas H<sub>2</sub>S dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa. Suhu pertumbuhan optimum 37,5°C dengan pH media 6-8. *Salmonella* mempunyai gerak positif, dapat tumbuh dengan cepat pada pembedihan biasa. Infeksi *Salmonella* terjadi pada saluran cerna terkadang menyebar lewat peredaran darah ke seluruh organ tubuh (Radji, 2017).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### A. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Terpadu fakultas farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA (UHAMKA).

### B. Cara Kerja

#### 1. Isolasi Kapang Endofit Dari Daun Salam

Sampel daun salam dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam etanol 75% selama 1 menit, selanjutnya ke dalam natrium hipoklorit 5,3% selama 30 detik. Terakhir sampel dibilas dengan etanol 75% selama 30 detik. Daun yang telah steril dipotong menggunakan pemotong steril. Selanjutnya diletakkan di atas medium cawan PDA yang telah diberi 0,05 mg/ml kloramfenikol, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari ((Hidayati, Yuniarti, Shofaya, & Utomo, 2017)

#### 2. Pemurnian Kapang Endofit

Kapang endofit yang tumbuh pada media isolasi PDA selanjutnya dimurnikan ke dalam media PDA dengan cara memotong sebagian miselium kapang dan dipindahkan secara aseptik ke dalam media PDA lalu diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu ruang. Tiap koloni kapang yang tumbuh pada media PDA dipindahkan ke agar miring PDA dan dibuat duplo. Isolat kapang yang telah murni diidentifikasi secara mikroskopis. (Hidayati & Syahputra, 2020)

#### 3. Identifikasi Morfologi Kapang Endofit

##### a. Secara Makroskopis

Pengamatan koloni secara makroskopis meliputi bentuk morfologi koloni, warna koloni, bentuk koloni, warna sebalik koloni (Ariyanto dkk. 2013). Setelah identifikasi, morfologi yang sama dianggap sebagai isolat yang sama dan sebaliknya morfologi yang berbeda dianggap sebagai isolat yang berbeda. Pengamatan morfologi dilakukan kembali setelah inkubasi selama 5-7 hari.

##### b. Secara Mikroskopik

Identifikasi mikroskopik menggunakan metode *slide culture*. Cara kerja pertama yaitu kertas saring diletakkan pada dasar cawan Petri dan di atas kertas saring diletakkan batang gelas berbentuk "U". Kertas saring dibasahi dengan air, kaca objek diletakkan di atas batang gelas "U" yang ada, kemudian cawan petri tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai, kaca objek ditetesi medium PDA steril dan didiamkan hingga dingin. Setelah dingin, diambil sedikit miselium kapang dengan menggunakan jarum, dan diletakkan di atas medium PDA yang membeku. Kaca objek ditutup secara hati-hati dengan kaca penutup, setelah cawan petri ditutup, inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Morfologi kapang diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali (Agu & Chidozie, 2021).

#### **4. Fermentasi Skala Kecil Kapang Endofit**

Isolat murni kapang endofit yang telah diperoleh dari proses isolasi selanjutnya fermentasi dalam medium cair PDY yang telah di sterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Isolat tunggal kapang endofit dipotong dan diambil kemudian diinokulasi ke dalam medium PDY sebanyak 20 ml dalam labu Erlenmeyer ukuran 100 ml, labu Erlenmeyer yang berisi media fermentasi cair PDY dan potongan isolat kapang endofit difermentasi goyang menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 170 rpm, dilakukan pada suhu ruang selama 7 hari, kemudian supernatan dipisahkan dari biomassa dengan sentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit (modifikasi metode Kumala dkk. 2007). Supernatan yang diperoleh dari hasil fermentasi akan digunakan untuk uji aktifitas antibakteri (Hidayati & Syahputra, 2020).

#### **5. Uji Aktivitas Antibakteri dari Hasil Fermentasi**

Untuk uji aktivitas antibakteri dari supernatan hasil fermentasi kapang endofit dilakukan dengan metode cakram kertas. Kertas cakram dimasukkan selama 15 menit dalam supernatan, masing-masing kertas cakram diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji dan dilakukan secara triplo selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (Yuniarti, Hidayati, & Shofaya, 2019).

### C. Analisis Data

Desain yang digunakan pada penelitian ini bersifat eksploratif yaitu dengan tujuan mengeksplorasi kapang endofit dan mengidentifikasi apakah kapang endofit yang terdapat pada daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai aktifitas sebagai antibakteri. Data yang diperoleh bersifat kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif diperoleh dengan mengamati morfologi koloni kapang endofit secara makroskopis dan mikroskopis, sedangkan data kuantitatif diperoleh dengan mengamati dan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada mikroba uji. Data diameter zona hambat yang diperoleh dihitung secara statistik dengan regresi linear dengan rumus :

$$Y = a + bx \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan : Y = Diameter hambat

a = Intersep

b = Nilai slope

Kemudian dihitung kesetaraan konsentrasi larutan uji kapang endofit dengan antibiotik kloramfenikol sebagai pembanding terhadap zona bening yang terbentuk, sehingga diperoleh nilai potensi relatifnya.

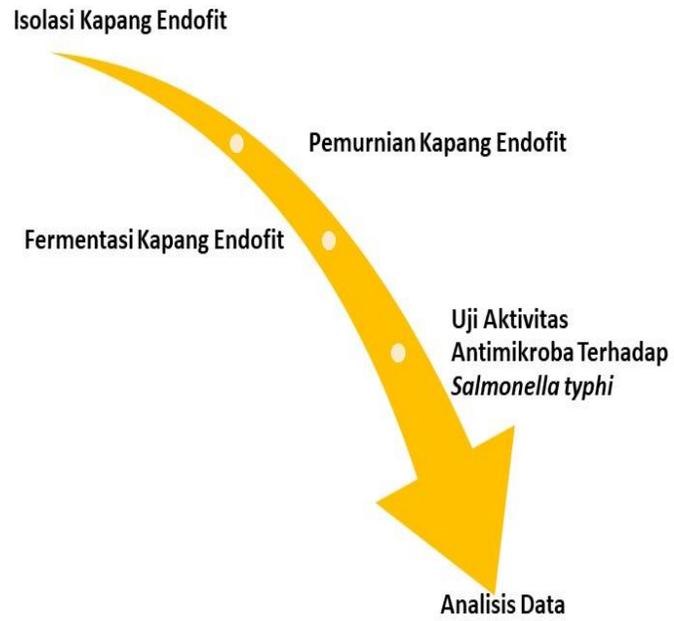
$$PR = \frac{X_s}{X_u} \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan : PR = Potensi Relatif

Xs = Konsentrasi Antibiotik Pembanding

Xu = Konsentrasi Larutan Uji Kapang Endofit

## D. Diagram Alir Penelitian



## HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroba endofit dapat dijumpai di dalam jaringan tanaman seperti daun, buah, batang, akar, bunga, dan biji. Untuk mendapatkan kapang endofit dari jaringan tanaman dapat dilakukan isolasi mikroba endofit dengan variasi teknik isolasi yang disesuaikan dengan bagian tanaman yang akan diisolasi mikroba endofitnya (Martinez-Klimova, Rodríguez-Peña, & Sánchez, 2017). Dikarenakan penelitian ini menggunakan daun, maka isolasi mikroba endofit hanya dilakukan dengan menempelkan potongan daun salam yang telah disterilisasi permukaan pada medium agar.

Keberhasilan isolasi mikroba endofit terlihat dari munculnya mikroba di tepi potongan daun yang ditempelkan pada medium agar dan lazimnya lebih dari isolat endofit akan diperoleh pada tahapan isolasi. Untuk dapat mengetahui adanya kesamaan maupun perbedaan isolat endofit yang diperoleh maka diperlukan suatu tahapan identifikasi mikroba endofit, baik secara makroskopis, mikroskopis hingga molekuler (Hidayati & Syahputra, 2020).

Pada penelitian ini, berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan lima isolat kapang endofit dengan karakteristik yang berbeda (tabel 1). Semua isolat memiliki hifa berseptat meskipun warna miselium seluruh isolat kapang endofit berbeda-beda.

**Tabel 1. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Kapang Endofit Daun Salam**

| Kode Isolat | Karakteristik Makroskopis |                              | Mikroskopis |                         |
|-------------|---------------------------|------------------------------|-------------|-------------------------|
|             | Warna Permukaan           | dan Warna Sebalik            | Hifa        | Konidia                 |
| KSP1        | Putih seperti kapas       | Putih ditengah ada kehijauan | Berseptat   | Bentuk bulat, bercabang |

|      |                                |                                 |          |                          |
|------|--------------------------------|---------------------------------|----------|--------------------------|
| KSP2 | Putih dan permukaan menggunung | Putih seperti susu              | Bersepat | Bentuk tersusun berantai |
| KSP3 | Putih kekuningan               | Putih kekuningan                | Bersepat | Tidakk ada               |
| KSP4 | Putih seperti kapas            | Putih ditengah ada warna jingga | Bersepat | Bentuk elips             |
| KSP5 | Hijau terdapat putih ditengah  | Hijau kehitaman                 | Bersepat | Tidak ada                |

Untuk menguji daya hambat yang dimiliki oleh kapang endofit terhadap patogen *S. typhi* dilakukan dengan menggunakan supernatant hasil fermentasi setiap kapang dan bakteri endofit pada medium fermentasi. Beberapa penelitian melaporkan jika metabolit sekunder mikroba endofit diperoleh dengan melakukan ekstraksi pada supernatant dari hasil fermentasi mikroba endofit yang diperoleh. Lakshmi dan Selvi (2013) melaporkan bahwa ekstrak dari supernatan hasil fermentasi isolat kapang endofit dari daun *Barringtonia acutangula* memiliki aktivitas antikanker setelah diuji pada HT29 cell line. Kumala dan Siswanto (2007) juga melaporkan jika ekstrak mikroba endofit daun *Morinda citrifolia* dari supernatant hasil fermentasi memiliki aktivitas antimikroba terhadap empat mikroba patogen yang diujikan. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan supernatan hasil fermentasi isolat mikroba endofit yang telah diperoleh untuk diujikan aktivitas antimikrobanya terhadap pathogen *S. typhi* dengan maksud sebagai efisiensi penelitian.

Berdasarkan data pada gambar 2, terlihat bahwa supernatan hasil fermentasi isolat kapang endofit memperlihatkan adanya aktivitas inhibisi terhadap patogen uji yang sama yang dilakukan dengan dengan beragam

ukuran diameter zona hambat yang muncul yaitu antara 6 mm hingga 10 mm (gambar 1).



Gambar 1. Daya hambat isolat bakteri Endofit terhadap pertumbuhan patogen *S. typhi*

Isolat kapang endofit KSP3 memiliki zona hambat terbesar yaitu  $10,55 \pm 0,35$ . Hasil tersebut memperlihatkan bahwa supernatant hasil fermentasi mikroba endofit dapat digunakan untuk mengetahui isolat mikroba endofit yang paling potensial untuk dapat dijadikan sebagai alternatif sumber bahan alam penghasil senyawa metabolit sekunder untuk pengobatan. Hal ini dikarenakan proses fermentasi akan merangsang mikroba endofit untuk mensekresi produk metabolit sekunder, selain itu interaksi antara mikroba endofit dengan tanaman inang menyebabkan mikroba endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (*mimicking*) (Staniek, Woerdenbag, & Kayser, 2008; Strobel, 2018; Venugopalan & Srivastava, 2015).

## KESIMPULAN

Mikroba endofit memiliki kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder seperti yang dimiliki oleh tanaman inangnya. Berbagai teknik isolasi mikroba endofit dilakukan dengan menyesuaikan jaringan tanaman yang akan digunakan sebagai sumber endofit. Pada penelitian ini sebanyak 5 isolat kapang endofit berhasil diperoleh dan seluruh isolat endofit memiliki aktivitas antimikroba terhadap patogen *S. typhi* meskipun hanya KSP3 yang memiliki zona hambat terbesar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dinata DI. 2012. *Bioteknologi Pemanfaatan Mikroorganisme dan Teknologi Bioproses*. EGC. Jakarta. Hlm. 35-36
- Agu, C. K., & Chidozie, P. C. (2021). An Improved Slide Culture Technique for the Microscopic Identification of Fungal Species. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development* , 6(1), 243–254.
- Dotzler, N., Krings, M., Taylor, T. N., Hass, H., Hermsen, E. J., & Kerp, H. (2007). Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist*, 174(3), 648–657. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02008.x>
- Evendi, A. (2017). Uji FITOKIMIA DAN ANTI BAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM ( *Syzygium polyanthum* ) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* DAN *Escherichia coli* SECARA IN VITRO. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, 11(1), 1–9.
- Feng, R., Chen, L., & Chen, K. (2018). Fermentation trip: amazing microbes, amazing metabolisms. *Annals of Microbiology*, 68(11), 717–729. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1384-5>
- Hidayati, W., & Syahputra, R. (2020). Potensi Kapang Endofit Belimbing Wuluh sebagai Kandidat Penghasil Senyawa Antidiabetes. *Jurnal Bitek Medisiana Indonesia*, 9(1), 35–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.22435/jbmi.v9i1.3897>
- Hidayati, W., Yuniarti, F., Shofaya, L., & Utomo, S. P. (2017). Screening And Identification Endophytic Bacteria From Indonesian Bay Leaves (*Eugenia polyantha* Wight) With Antibacteria Activity. *Proceeding Kolokium UHAMKA*, 1(2), 167–176.
- Kumala, S., Agustina, E., & Wahyudi, P. (2007). Uji AKTIVITAS ANTIMIKROBA METABOLIT SEKUNDER KAPANG ENDOFIT TANAMAN TRENGGULI (*Cassia futula* L.). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*.
- Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K., & Sánchez, S. (2017). Endophytes as sources of antibiotics. *Biochemical Pharmacology*, 134, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.010>
- Radji, M. (2017). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 113–126. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i3.3388>
- Strobel, G. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi*, 4(2). <https://doi.org/10.3390/jof4020057>
- Trisnawati, E. E., Astuti, W., & Kartika, R. (2020). KEMAMPUAN EKSTRAK METANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhi*. *Jurnal Atomik*, 2020(1), 53–56.
- Yuniarti, F., Hidayati, W., & Shofaya, L. (2019). Screening of Antibacterial Potency and Molecular Identification of Endophytic Bacteria from Soursop Leaf (*Annona muricata* L.), 169–175. <https://doi.org/10.5220/0008241201690175>

## RENCANA ANGGARAN BELANJA DAN JADWAL KEGIATAN

### REKAPITULASI PENGGUNAAN DANA PENELITIAN

Judul : **SELEKSI AKTIVITAS ANTIMIKROBA KAPANG ENDOFIT DAUN SALAM (*Syzigium Polyanthum* [Wight.] Walp) Terhadap MIKROBA PATOGEN *Salmonella typhi***

Skema Hibah : Peneliti Dasar

Peneliti/Pelaksana

Nama Ketua : Wahyu Hidayati, S, Si., M. Biomed.

Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA

NIDN : 0308108202

Nama Anggota (1) : Dra. Fitriani, M. Si.

#### Rincian Penggunaan

| 1. HONOR OUTPUT KEGIATAN |        |        |                |                                 |
|--------------------------|--------|--------|----------------|---------------------------------|
| Item Honor               | Volume | Satuan | Honor/Jam (Rp) | Total (Rp)                      |
| 1. Honor Ketua           | 80     | Jam    | 25.000         | 2.000.000                       |
| 2. HNR Anggota 1         | 80     | Jam    | 20.000         | 1.600.000                       |
|                          |        |        |                | <b>Sub Total (Rp) 3.600.000</b> |

| 2. BELANJA BAHAN |  |  |  |  |
|------------------|--|--|--|--|
|                  |  |  |  |  |

| <b>Item Honor</b>              | <b>Volume</b> | <b>Satuan</b> | <b>Honor/Jam (Rp)</b> | <b>Total (Rp)</b> |
|--------------------------------|---------------|---------------|-----------------------|-------------------|
| Kertas A4                      | 1             | RIM           | 50.000                | 50.000            |
| Medium PDA                     | 1             | Botol         | 2.000.000             | 2.000.000         |
| Medium PDB                     | 1             | Botol         | 2.000.000             | 2.000.000         |
| Mikroba Patogen                | 1             | Buah          | 450.000               | 450.000           |
| Perlengkapan Sterilisasi       | 1             | Buah          | 1.500.000             | 1.500.000         |
|                                |               |               |                       |                   |
| <b>Subtotal (Rp) 6.000.000</b> |               |               |                       |                   |

| <b>3. BELANJA BARANG NON OPERASIONAL LAINNYA</b> |               |               |                       |                   |
|--|---------------|---------------|-----------------------|-------------------|
| <b>Item Honor</b>                                | <b>Volume</b> | <b>Satuan</b> | <b>Honor/Jam (Rp)</b> | <b>Total (Rp)</b> |
| 1. Biaya Publikasi                               | 1             | Jurnal        | 400.000               | 400.000           |
|  |               |               |                       |                   |
| <b>Sub Total (Rp) 400.000</b>                    |               |               |                       |                   |



**Total Pengeluaran**  
**(Rp) 10.000.000,-**

**Jakarta, 7 September 2022**

Mengetahui,

Lembaga Penelitian



(Dr. Apt. Supandi, M. Si.)  
NIDN. 0319067801

Ketua

(Wahyu Hidayati, S. Ji., M. Biomed.)  
NIDN. 0308108202

## Jadwal Penelitian

| No | Kegiatan               | Bulan |     |      |     |     |     |     |     |
|----|------------------------|-------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|    |                        | 2022  |     | 2023 |     |     |     |     |     |
|    |                        | Nop   | Des | Jan  | Feb | Mar | Apr | Mei | Jun |
| 1  | Telaah Pustaka         |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 2  | Penyusunan Proposal    |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 3  | Pelaksanaan Penelitian |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 4  | Pengumpulan Data       |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 5  | Analisis               |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 6  | Seminar dan Publikasi  |       |     |      |     |     |     |     |     |
| 7  | Pelaporan              |       |     |      |     |     |     |     |     |

## Cover Letter & Statement Letter

Yth.

Dr. apt. Dinar Sari C. Wahyuni, M.Si.

Ketua Editor

JPSCR:Journal of Pharmaceutical and Clinical Research

Berikut kami sampaikan naskah kami berjudul “Isolasi Dan Seleksi Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit Daun Salam (*Syzigium Polyanthum* [Wight.] Walp.) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*” dengan author **Wahyu Hidayati**, Rini Prastiwi, Anggun Maulia, Ani Pratiwi, Lady Farahmayuni, dan Fitriani. Penelitian ini mengkaji tentang “isolasi mikroba endofit dan penyeleksian aktivitas antibakteri yang dimiliki isolat mikroba endofit yang diperoleh dari daun Salam dengan menggunakan mikroba pathogen yaitu *Salmonella typhi*” dan memiliki keterbaruan/novelty “mengungkapkan adanya kemampuan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh tujuh isolat bakteri dan lima isolat kapang endofit yang diisolasi dari daun Salam yang berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber alternatif baru untuk digunakan sebagai penghasil senyawa aktif antibakteri”.

Bersama ini saya (nama author) sebagai penulis korespondensi mewakili semua penulis menyatakan bahwa:

1. Naskah yang saya tulis sudah sesuai dengan format dan *template* yang telah diberikan oleh JPSCR:Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research.
2. Semua penulis yang tertulis pada naskah memiliki kontribusi substantif pada naskah dan naskah telah dikoreksi serta mendapatkan persetujuan oleh semua penulis.
3. Penulis/penulis korespondensi tidak memiliki konflik kepentingan apapun terhadap naskah.
4. Naskah ini telah tervalidasi tidak ada tindakan plagiat atau kejahatan akademik dan ijin dari pihak ketiga ketika menggunakan gambar atau ilustrasi harus diperoleh sebelum melakukan publikasi.
5. Memenuhi etika publikasi terutama jika menggunakan model hewan uji/manusia sebagai obyek penelitian.
6. Artikel ini tidak sedang atau akan disubmit ke jurnal lainnya selain JPSCR:Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research.
7. Penarikan artikel ketika proses review atau saat diterima tanpa justifikasi saintifik maka dikenakan pinalti sesuai dengan “[withdraw penalty](#)”
8. Editor berwenang untuk melakukan perubahan agar naskah dapat terpublikasi sesuai dengan ketentuan JPSCR: Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.

Jakarta, 10 Juni 2023

Corresponding author,



(Wahyu Hidayati, S. Si., M. Biomed.)

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka

Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur, Indonesia 13460

08156858725

**Suggestion Reviewer Form & Contribution statement**

**Judul Artikel:**

I. Suggested reviewers (min. 2 reviewers)

| No | Name                                   | Affiliation                               | Expert field                                     | Email                     |
|----|--|---|--|---------------------------|
| 1  | Dr. drs. PriyoWahyudi, M. Si.          | Fakultas Farmasi dan Sains                | Microbiology                                     | priyowahyudi@uhamka.ac.id |
| 2  | Dr. Rani Wardani Hakim, Apt., M.Biomed | Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia | herbal, medical pharmacy, pharmacology, biomedik | rani.wardani1708@ui.ac.id |

II. Form kontribusi penulis

| No. | Author order  | Author's name  | Substantive contribution   |
|-----|---------------|----------------|--|
| 1.  | First author  | Wahyu Hidayati | Conceptualization, writing-original draft preparation, Writing-review and editing, investigation, supervision, funding acquisition |
| 2.  | Second author | Rini Prastiwi  | Writing-review and editing, supervision  |
| 3.  | Third author  | Anggun Maulia  | Investigation, resources   |
| 4.  | Fourth author | Ani Pratiwi    | Investigation, resources   |
| 5   | Fifth author  | Fitriani       | Project administration, funding acquisition  |

Corresponding author assigned in author order and print in bold characters.

Substantive contribution can be printed by: drafting, supervisor, investigator, review, editing, artwork preparation, resource, conceptualization.

Jakarta, 10 Juni 2023

Corresponding author,

(Wahyu Hidayati, S. Si., M. Biomed.)

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka

Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur, Indonesia 13460

08156858725

# Isolasi Dan Seleksi Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit Daun Salam (*Syzigium Polyanthum* [Wight.] Walp.) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*

Wahyu Hidayati<sup>1\*</sup>), Anggun Maulia<sup>1)</sup>, Rini Prastiwi<sup>1)</sup>, Ani Pratiwi<sup>1)</sup>, Lady Farahmayuni<sup>1)</sup>, dan Fitriani<sup>1)</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jl. Delima II/IV Klender Jakarta Timur Indonesia 13460

\*email korespondensi: wahyu\_hidayati@uhamka.ac.id

---

**Abstrak:** Mikroba endofit telah mulai dikembangkan sebagai alternatif penghasil senyawa aktif yang dapat digunakan dalam pengobatan penyakit. Salah satu tanaman yang dapat digali potensi mikroba endofitnya adalah daun salam, yang mana daun salam sudah diketahui potensinya sebagai tanaman obat. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kapang endofit daun salam yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan isolasi kapang dan bakteri endofit daun salam yang dilanjutkan dengan melakukan seleksi kemampuan penghambatannya terhadap bakteri *S. typhi* menggunakan metode *agar disc diffusion*. Sebanyak tujuh isolat bakteri endofit dan lima isolat kapang endofit diperoleh pada penelitian ini. Ketujuh mikroba endofit yang diperoleh dapat menghambat pertumbuhan *S. typhi* akan tetapi hanya isolat bakteri endofit BESP4 dan isolat kapang endofit KSPA3 yang memberikan penghambatan terbesar yaitu masing-masing  $11,48 \pm 0,66$  dan  $10,55 \pm 0,35$ . Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan melakukan identifikasi metabolit sekunder dan pengujian antibakteri dengan menggunakan ekstrak isolat mikroba endofit terpilih, serta identifikasi molekuler kedua isolat tersebut

**Kata kunci:** Daun Salam, kapang endofit, bakteri endofit, *Salmonella typhi*, antibakteri

**Abstract. Isolation and Screening The Antibacterial Activity of Endophytic Microbes from Bay Leaves (*Syzigium polyanthum* [Wright.] Walp.) Against *Salmonella typhi*.** Endophytic microbes have started to be developed as alternative sources of active compounds for disease treatment. As a well-known medicinal plant, bay leaves (*Syzigium polyanthum* [WIGHT] Walp.), become a potential plant as a source of endophytic microbes. This study aims to obtain endophytic fungi from the bay leaf that can inhibit the growth of the pathogenic bacterium *Salmonella typhi*. The research was conducted by isolating endophytic fungi and bacteria from bay leaf, then selecting their inhibitory abilities against *S. typhi* using the agar disc diffusion method. We got seven endophytic bacteria isolates and five endophytic fungi isolates. All seven endophytic microbes obtained were able to inhibit the growth of *S. typhi*, but only the endophytic bacteria isolate BESP4, and the endophytic fungi isolate KSPA3 showed the highest inhibition, with  $11.48 \pm 0.66$  and  $10.55 \pm 0.35$  respectively. For further study, the identification of secondary metabolites of the extracts from the selected endophytes and their antibacterial activities, are essential to do, as well as molecular identification of both isolates.

**Keywords:** Bay leaves, endophytic fungi, endophytic bacteri, *Salmonella typhi*, antibacteri

---

## 1. Pendahuluan

Hingga saat ini, eksplorasi bahan alam sebagai sumber penghasil senyawa aktif untuk pengobatan masih terus dilakukan. Hal ini disebabkan oleh pandangan untuk kembali ke bahan alam dalam mengobati suatu penyakit. Secara empiris, masyarakat dunia, khususnya Indonesia, sudah menggunakan bahan alam dalam pengobatan dikarenakan masih tersedianya tanaman obat yang sangat melimpah dan mudah dijumpai. Akan tetapi, jika eksplorasi terus dilakukan namun tidak diringi oleh kemampuan tumbuh tanaman obat yang digunakan maka akan terjadi kekurangan sumber senyawa aktif.

Sejak diketahui adanya hubungan simbiosis mutualisme yang terjadi antara tanaman dengan mikroba endofit, pencarian sumber bahan obat alami mulai berkembang dengan mengeksplorasi mikroba endofit. Mikroba endofit telah dilaporkan dapat menghasilkan berbagai senyawa yang dapat digunakan sebagai antikanker, antibiotik, dan antioksidan (Strobel, 2018). Mikroba endofit dapat diperoleh dari semua bagian tanaman, baik daun, buah, akar, batang, dan biji (Strobel, 2018). Suatu penelitian melaporkan bahwa sebanyak 12 isolat kapang endofit berhasil diisolasi dari buah belimbing wuluh (Hidayati & Syahputra, 2020).

Daun salam (*Syzygium polyanthun* [WIGHT.] Walp.) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan penyakit secara tradisional, selain digunakan sebagai bumbu masakan Indonesia. Efek farmakologis yang dimiliki oleh daun salam antara lain adalah antihipertensi, antidiabetes, antidiare, dan antiinflamasi (Muhammad & Hariandja, 2015). Daun salam telah dilaporkan memiliki kandungan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen, salah satunya adalah *Salmonella typhi*. Pada ekstrak daun salam yang dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik dan ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Evedi, 2017; Trisnawati et al., 2020). Adanya kemampuan daun salam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*, maka dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi mikroba endofit yang terdapat pada daun salam sebagai kandidat sumber bahan alam yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Hal ini diawali dengan melakukan isolasi mikroba endofit dan melakukan penyeleksian terhadap semua isolat mikroba endofit pada daun salam yang berhasil diperoleh.

## 2. Bahan dan Metode

### Bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) yang di dapat dari daerah Bekasi Utara, akuades steril, larutan NaOCl 5.3%, etanol 70%, medium *Nutrient agar*, medium *Potato Dextrose Agar*, nistatin, medium *Potato Dextrose Broth*, *Nutrient Broth*, medium Muller Hinton Agar, medium Muller Hinton Broth, larutan kristal violet, larutan lugol, etanol 96%, *paper disc*, larutan safranin.

### Isolasi mikroba endofit daun salam

Tahap ini dilakukan dengan menggunakan prosedur yang dilakukan oleh (Hidayati dkk., 2018; Yuniarti dkk, 2019). Secara ringkas tahapan ini dilakukan dengan menempelkan potongan daun salam berukuran 1 cm x 1 cm yang telah disterilisasi permukaan dengan lautan etanol, akuades steril dan NaOCl 5,3% pada medium agar NA (untuk bakteri endofit) dan PDA (untuk kapang endofit) dan diinkubasi pada suhu ruang hingga tumbuh isolat di pinggiran potongan daun.

### **Karakterisasi Mikroba Endofit**

Karakterisasi mikroba endofit dilakukan baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Karakterisasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi mikroba endofit yang tumbuh setelah dilakukan peremajaan. Adapun karakteristik makroskopis bakteri endofit yang diamati adalah warna, permukaan, elevasi koloni dan tepian koloni, sedangkan karakteristik makroskopis kapang endofit yang diamati adalah warna dan struktur permukaan kapang dan warna sebaliknya kapang endofit. Untuk pengamatan mikroskopis baik kapang endofit maupun bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x. Pada penelitian ini digunakan teknik pewarnaan gram untuk karakterisasi mikroskopis bakteri endofit, sedangkan untuk karakterisasi mikroskopis kapang endofit dilakukan dengan teknik *slide culture* (Desriani dkk, 2014; Mahdi at al., 2014).

### **Fermentasi Isolat Bakteri Endofit**

Fermentasi yang dilakukan pada isolat bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan fermentasi cair yang dilakukan dengan melakukan inokulasi satu koloni isolat bakteri Endofit ke dalam 10 mL medium *nutrient broth* yang kemudian diinkubasi menggunakan *orbital shaker* pada kecepatan 100 rpm selama 4 hari pada suhu ruang. Pemisahan supernatan dengan massa sel dilakukan dengan melakukan sentrifugasi inokulum pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh akan digunakan pada tahapan uji antibakteri (Kumala & Siswanto, 2007).

### **Fermentasi Isolat Kapang Endofit**

Fermentasi terhadap isolat kapang Endofit dilakukan dengan menggunakan medium *potato dextrose yeast*. Sebanyak satu potongan hifa kapang Endofit berukuran 1x1 cm diinokulasikan ke dalam medium *potato dextrose yeast* selama tujuh hari pada *orbital shaker* dengan kecepatan 170 rpm pada suhu ruang. Setelah tujuh hari, supernatan dipisahkan dari massa sel dengan menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh akan digunakan untuk pengujian antibakteri terhadap bakteri patogen *S. typhi* (Hidayati & Syahputra, 2020).

### Seleksi Mikroba Endofit yang dapat menghambat bakteri patogen *S. typhi*

Aktivitas penghambatan pertumbuhan *S.typhi* oleh isolat mikroba endofit daun salam dilakukan dengan menggunakan supernatant hasil fermentasi mikroba endofit. Supernatan hasil fermentasi diteteskan pada *paper disc* yang kemudian diletakkan pada medium *muller-hinton agar* yang telah mengandung bakteri patogen *S. typhi* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam lalu dilakukan pengukuran terhadap zona hambat yang terbentuk (Kumala & Siswanto, 2007; Mahdi et al., 2014).

#### Analisis Data

Ukuran diameter zona hambat dikalkulasi dengan menghitung nilai rata-rata±standard deviasi.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Mikroba endofit dapat dijumpai di dalam jaringan tanaman seperti daun, buah, batang, akar, bunga, dan biji. Untuk mendapatkan bakteri dan kapang endofit dari jaringan tanaman dapat dilakukan isolasi mikroba endofit dengan variasi teknik isolasi yang disesuaikan dengan bagian tanaman yang akan diisolasi mikroba endofitnya (Martinez-Klimova, Rodríguez-Peña, & Sánchez, 2017). Dikarenakan penelitian ini menggunakan daun, maka isolasi mikroba endofit hanya dilakukan dengan menempelkan potongan daun salam yang telah disterilisasi permukaan pada medium agar.

**Tabel 1. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri Endofit Daun Salam**

| Kode Isolat | Karakteristik               |                |                   |             | Mikroskopis Gram |
|-------------|-----------------------------|----------------|-------------------|-------------|------------------|
|             | Bentuk Koloni               | Elevasi koloni | Warna koloni      | Tepi koloni |                  |
| BESP 1      | Bundar                      | Cembung        | Putih             | Halus       | Negatif          |
| BESP 2      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Putih kecoklatan  | Halus       | Positif          |
| BESP 3      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Oranye kecoklatan | Halus       | Negatif          |
| BESP 4      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Putih kecoklatan  | Berombak    | Negatif          |
| BESP 5      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Kuning            | Halus       | Positif          |
| BESP 6      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Krem kecoklatan   | Berombak    | Negatif          |
| BESP 7      | Bundar dengan tepian timbul | Cembung        | Oranye            | Halus       | Positif          |

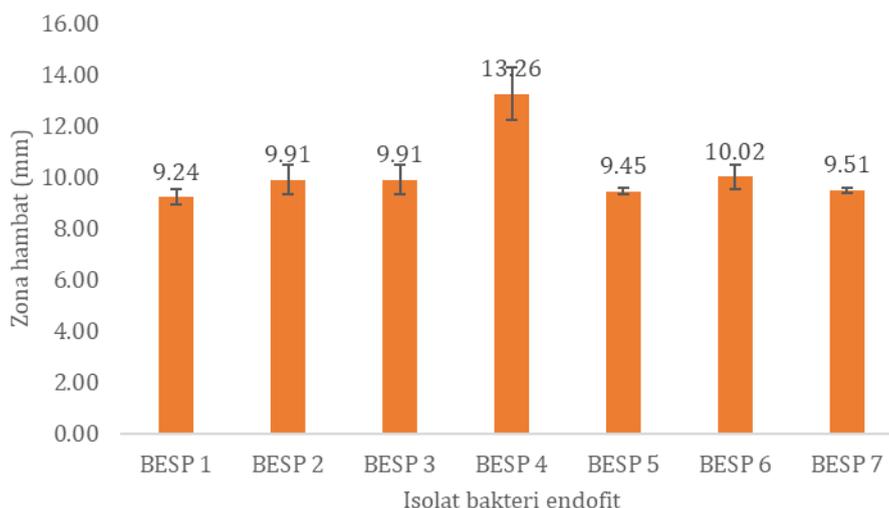
Keberhasilan isolasi mikroba endofit terlihat dari munculnya mikroba di tepi potongan daun yang ditempelkan pada medium agar dan lazimnya lebih dari isolat endofit akan diperoleh pada

tahapan isolasi. Untuk dapat mengetahui adanya kesamaan maupun perbedaan isolat endofit yang diperoleh maka diperlukan suatu tahapan identifikasi mikroba endofit, baik secara makroskopis, mikroskopis hingga molekuler (Hidayati & Syahputra, 2020). Pada penelitian ini, berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan tujuh isolat bakteri endofit dan lima isolat kapang endofit dengan karakteristik yang berbeda (tabel 1 dan 2). Dari tujuh isolat bakteri endofit, empat isolat bakteri endofit yang diperoleh merupakan bakteri gram negatif. Untuk kapang endofit, semua isolat memiliki hifa berseptat meskipun warna miselium seluruh isolat kapang endofit berbeda-beda.

**Tabel 2. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Kapang Endofit Daun Salam**

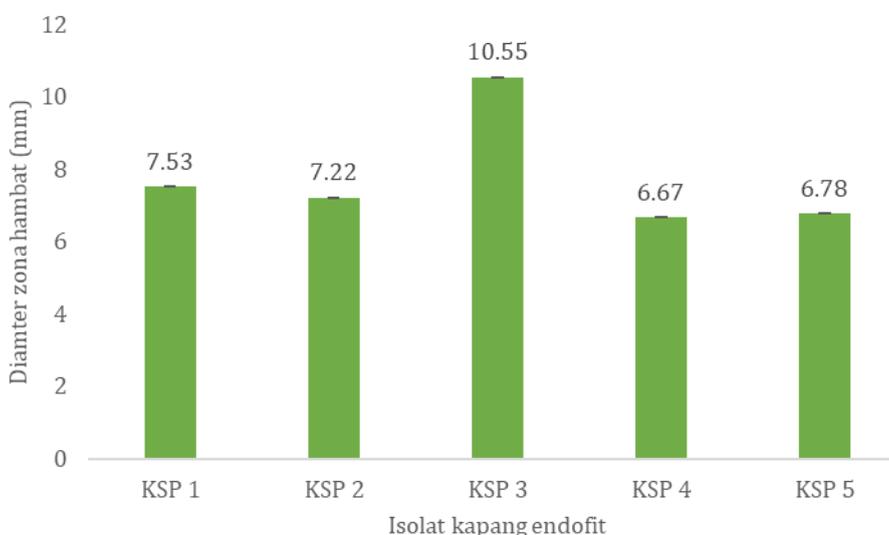
| Kode Isolat | Karakteristik                  |                                 |           |                          |
|-------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------|--------------------------|
|             | Makroskopis                    | Mikroskopis                     |           |                          |
|             | Warna dan Permukaan            | Warna Sebalik                   | Hifa      | Konidia                  |
| KSP1        | Putih seperti kapas            | Putih ditengah ada kehijauan    | Berseptat | Bentuk bulat, bercabang  |
| KSP2        | Putih dan permukaan menggunung | Putih seperti susu              | Berseptat | Bentuk tersusun berantai |
| KSP3        | Putih kekuningan               | Putih kekuningan                | Berseptat | Tidakk ada               |
| KSP4        | Putih seperti kapas            | Putih ditengah ada warna jingga | Berseptat | Bentuk elips             |
| KSP5        | Hijau terdapat putih ditengah  | Hijau kehitaman                 | Berseptat | Tidak ada                |

Untuk menguji daya hambat yang dimiliki oleh kapang endofit terhadap patogen *S. typhi* dilakukan dengan menggunakan supernatant hasil fermentasi setiap kapang dan bakteri endofit pada medium fermentasi. Beberapa penelitian melaporkan jika metabolit sekunder mikroba endofit diperoleh dengan melakukan ekstraksi pada supernatant dari hasil fermentasi mikroba endofit yang diperoleh. Lakshmi dan Selvi (2013) melaporkan bahwa ekstrak dari supernatan hasil fermentasi isolat kapang endofit dari daun *Barringtonia acutangula* memiliki aktivitas antikanker setelah diuji pada HT29 cell line. Kumala dan Siswanto (2007) juga melaporkan jika ekstrak mikroba endofit daun *Morinda citrifolia* dari supernatant hasil fermentasi memiliki aktivitas antimikroba terhadap empat mikroba patogen yang diujikan. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan supernatan hasil fermentasi isolat mikroba endofit yang telah diperoleh untuk diujikan aktivitas antimikrobanya terhadap pathogen *S. typhi* dengan maksud sebagai efisiensi penelitian.



Gambar 1. Daya hambat isolat bakteri Endofit terhadap pertumbuhan patogen *S. typhi*

Berdasarkan data pada gambar 1, terlihat bahwa supernatan hasil fermentasi isolat bakteri endofit yang diinkubasi selama 4 hari pada suhu ruang menggunakan orbital shaker mampu menginhibisi pertumbuhan patogen *S. typhi*. Akan tetapi hanya isolat BESP4 yang memiliki zona hambat terbesar yaitu  $11,48 \pm 0,66$ . Demikian juga dengan kapang endofit, supernatant kapang endofit yang diperoleh dari proses fermentasi memperlihatkan adanya aktivitas inhibisi terhadap patogen uji yang sama yang dilakukan dengan dengan beragam ukuran diameter zona hambat yang muncul yaitu antara 6 mm hingga 10 mm (gambar 2).



Gambar 2. Daya hambat isolat bakteri Endofit terhadap pertumbuhan patogen *S. typhi*

Isolat kapang endofit KSP3 memiliki zona hambat terbesar yaitu  $10,55 \pm 0,35$ . Hasil tersebut memperlihatkan bahwa supernatant hasil fermentasi mikroba endofit dapat digunakan untuk

mengetahui isolat mikroba endofit yang paling potensial untuk dapat dijadikan sebagai alternatif sumber bahan alam penghasil senyawa metabolit sekunder untuk pengobatan. Hal ini dikarenakan proses fermentasi akan merangsang mikroba endofit untuk mensekresi produk metabolit sekunder, selain itu interaksi antara mikroba endofit dengan tanaman inang menyebabkan mikroba endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (*mimicking*) (Staniek, Woerdenbag, & Kayser, 2008; Strobel, 2018; Venugopalan & Srivastava, 2015).

#### **4. Kesimpulan**

Mikroba endofit memiliki kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder seperti yang dimiliki oleh tanaman inangnya. Berbagai teknik isolasi mikroba endofit dilakukan dengan menyesuaikan jaringan tanaman yang akan digunakan sebagai sumber endofit. Pada penelitian ini sebanyak 11 isolat mikroba endofit berhasil diperoleh dan seluruh isolat endofit memiliki aktivitas antimikroba terhadap patogen *S. typhi* meskipun hanya isolat BESP4 dan KSP3 yang memiliki zona hambat terbesar.

#### **Ucapan Terimakasih**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Majelis Pendidikan Tinggi Penelitian dan Pengembangan Pimpinan Pusat Muhammadiyah yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Riset Muhammadiyah (RisetMu) sehingga penelitian ini dapat dilakukan.

#### **Deklarasi Konflik Kepentingan**

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

#### **Daftar Pustaka**

- Desriani, D., Safira, U. M., Bintang, M., Rivai, A., & Lisdiyanti, P. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Binahong dan Katepeng China. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(2), 89–93. <https://doi.org/10.25077/Jka.V3i2.33>
- Evendi, A. (2017). Uji Fitokimia dan Anti Bakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* Secara in vitro. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, II(1), 1–9.
- Hidayati, W., Padillah, A. N., Maharadingga, ., Hikmawanti, N. P. E., Prastiwi, R., Pratiwi, A., ... Fahrul, M. (2018). The Alpha-Amylase Inhibition Potential of Endophytic Fungi from Indonesian Bay Leaves (*Eugenia polyantha* WIGHT.). *Proceedings of the 1st Muhammadiyah International Conference on Health and Pharmaceutical Development, Volume 1*(MICH-PhD), 107–111. <https://doi.org/10.5220/0008240201070111>

- Hidayati, W., & Syahputra, R. (2020). Potensi Kapang Endofit Belimbing Wuluh sebagai Kandidat Penghasil Senyawa Antidiabetes. *Jurnal Bitek Medisiana Indonesia*, 9(1), 35–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.22435/jbmi.v9i1.3897>
- Kumala, S., & Siswanto, E. B. (2007). Isolation and Screening of Endophytic Microbes from *Morinda citrifolia* and their Ability to Produce Anti-Microbial Substances. *Microbiology Indonesia*, 1(3), 3–6.
- Lakshmi, P. J., & Selvi, K. V. (2013). Anticancer potentials of secondary metabolites from endophytes of *Barringtonia acutangula* and its molecular characterization. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 2(2), 44–45.
- Mahdi, T., Mohamed, I., & Yagi, S. (2014). Endophytic Fungal Communities Associated with Ethno-medicinal Plants from Sudan and their Antimicrobial and Antioxidant Prospective. *Journal of Forest Products & Industries*, 3(6), 248–256.
- Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K., & Sánchez, S. (2017). Endophytes as sources of antibiotics. *Biochemical Pharmacology*, 134, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.010>
- Muhammad, I. R., & Hariandja, E. M. (2015). Review : Aktivitas Farmakologis , Senyawa Aktif , dan Mekanisme Kerja Daun Salam ( *Syzygium polyanthum* ). *Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik*, (July), 6–7.
- Staniek, A., Woerdenbag, H. J., & Kayser, O. (2008). Endophytes: Exploiting biodiversity for the improvement of natural product-based drug discovery. *Journal of Plant Interactions*, 3(2), 75–93. <https://doi.org/10.1080/17429140801886293>
- Strobel, G. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi*, 4(2). <https://doi.org/10.3390/jof4020057>
- Trisnawati, E. E., Astuti, W., & Kartika, R. (2020). KEMAMPUAN EKSTRAK METANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhi*. *Jurnal Atomik*, 2020(1), 53–56.
- Venugopalan, A., & Srivastava, S. (2015). Endophytes as in vitro production platforms of high value plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 33(6), 873–887. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.004>
- Yuniarti, F., Hidayati, W., & Shofaya, L. (2019). Screening of Antibacterial Potency and Molecular Identification of Endophytic Bacteria from Soursop Leaf (*Annona muricata* L.), 169–175. <https://doi.org/10.5220/0008241201690175>