



AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT FUNGI ENDOFIT ISOLAT RA1 ASAL TUMBUHAN RUI (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) DARI FERMENTASI MEDIUM PDB DAN CDB

Ni Luh Putu Dwijayanti¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

Corresponding Author: Ni Luh Putu Dwijayanti, Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

E-Mail: niluhptdwijayanti07@gmail.com

18 Juni 2024; **Accepted** 28 Juni 2024; **Online Published** 30 Juli 2024

Abstrak

Latar Belakang: Fungi endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dengan menghasilkan metabolit sekunder. Fungi endofit isolat Ra1 dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) merupakan isolat yang memiliki potensi antibakteri. **Penelitian bertujuan** untuk mengetahui ekstrak etil asetat fungi endofit isolat Ra1 asal tumbuhan rui (*H. perforata*) fermentasi medium PDB dan CDB dapat digunakan memproduksi aktivitas antibakteri dan mengetahui golongan senyawa yang aktif memiliki aktivitas antibakteri. **Metode** Kirby-bauer pengujian antibakteri konsentrasi 5% dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* serta KLT-Bioautografi dan identifikasi senyawa aktif. **Hasil penelitian:** ekstrak etil asetat fungi endofit isolat Ra1 tumbuhan Rui *H. perforata* medium PDB aktif memproduksi aktivitas antibakteri pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, serta terdapat dua bercak noda yang aktif mengandung senyawa flavonoid dan tanin, Sedangkan fermentasi menggunakan medium CDB tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Keywords: Fungi endofit isolat Ra1, Medium PDB dan CDB, Antibakteri, KLT-Bioautografi.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan karena masuk dan berkembang biaknya suatu mikroorganisme seperti bakteri, fungi, dan parasit serta virus. Infeksi dapat terjadi karena adanya interaksi dengan mikroba yang menyebabkan kerusakan pada tubuh host sehingga menimbulkan tanda dan gejala klinis (Novard et al., 2019). Peningkatan penyakit infeksi yang semakin tinggi

dapat disebabkan dari masalah bakteri kontaminan lingkungan yang bersifat bakteri gram positif dan gram negatif yang mampu menimbulkan penyakit. Pengobatan penyakit infeksi umumnya menggunakan obat antibiotik, namun akibat kurangnya pengetahuan dan kesadaran pengguna, akses penggunaan antibiotik tanpa resep, penggunaan antibiotik sisa serta kurangnya layanan kesehatan dapat mengakibatkan pendorong resiko penggunaan obat antibiotik yang irasional (Machowska et

al., 2019) sehingga menimbulkan resiko efek samping obat (ADRs) meningkat, terutama pada pasien yang geriatri atau pada individu komorbid yang mungkin telah mengganggu fungsi fisiologis (Ofori-Asenso et al., 2016).

Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan alternatif pengobatan penyakit infeksi yang bersumber dari bahan alam. Tumbuhan banyak memiliki manfaat dan potensi farmakologi hal ini sangat mungkin disebabkan karena asosiasi mutualistik dengan mikroorganisme endofit, salah satunya adalah fungi. Fungi endofit merupakan fungi yang hidup pada jaringan tanaman, pada periode tertentu juga mampu membentuk koloni dalam jaringan tanpa membahayakan inangnya (Murdiyah, 2017). Fungi endofit dapat dijumpai disetiap bagian tumbuhan seperti bagian akar, batang, daun, dan buah dengan populasi berdasarkan jenis inang dan lokasinya. Fungi endofit dapat di jadikan sebagai antibakteri yang melawan bakteri yang bersifat gram-positif dan gram negatif, dan kemungkinan besar beberapa fungi endofit yang dijadikan sebagai antibakteri dapat bersifat spektrum luas (Ababutain et al., 2021), karena dapat menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hingga dapat melawan secara aktif mikroorganisme pada manusia yang resisten (Rajamanikyam et al., 2017).

Golongan senyawa seperti peptide, alkaloid, terpenoid, steroid, fenol, tannin, quinines dan flavonoid dapat dijumpai pada hasil isolasi jamur endofit sebagai antibakteri senyawa yang didapatkan hanya sebagian kecil dari spesies endofit tanaman yang berbeda (Yu et al., 2010). Fermentasi dari fungi endofit menghasilkan banyak senyawa metabolit sekunder dan memiliki keuntungan yang besar juga tidak merusak sumber daya sehingga dapat dengan mudah dikembangkan dan diproduksi dalam industri jumlah yang besar. Beberapa temuan yang pernah dilakukan juga mendapatkan hasil bahwa fungi endofit ini dapat memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi (Liang et al., 2012).

Kandungan pada medium dapat mempengaruhi hasil zona hambat pengujian antibakteri pada suatu sampel, salah satunya yaitu komposisi medium yang digunakan dalam fermentasi sampel (Astriani & Dwijayanti, 2022), Macam-macam komposisi dan kondisi dari media pertumbuhan sangat berpengaruh secara faktual terhadap fungi endofit untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan sehingga memiliki aktivitas yang baik (Purnamasari et al., 2022). Rui (*Harrisonia perforata*) adalah salah satu tumbuhan yang telah di lakukan penelitian sebagai antibakteri. Tumbuhan *H. perforata* pada ekstrak tanaman yang dilakukan pengujian pada bakteri *Vibrio cholerae*, menghasilkan zona hambat pada bakteri *V.cholerae* (Al Amrie et al., 2014).

Pada penelitian yang di lakukan (Tunreng, 2021) dengan mengambil isolat fungi endofit dan mengamati senyawa bioaktif pada tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata*), dengan 13 isolat fungi endofit. Jumlah isolat fungi endofit yang telah didapatkan, hanya 7 jumlah isolat fungi endofit yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian fungi endofit semakin dikembangkan dan dilakukan fermentasi dengan menggunakan medium PDB yang bertujuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dari isolat fungi endofit lebih banyak (Syachriyani, 2019). Salah satu penelitian ekstrak etil asetat fungi endofit isolat Ra1 tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata*) yang telah dilakukan oleh (Arisca, W. N., 2022) menggunakan fermentasi dari medium PDB, fermentasi berupa gabungan filtrat ekstraseluler dan biomassa intraseluler menunjukkan hasil adanya aktivitas antibakteri yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*.

Namun tidak diketahui secara pasti metabolit intraseluler atau ekstraseluler dari fungi endofit Ra1 yang memiliki aktivitas antibakteri hal ini disebabkan karena ekstraseluler dan intraseluler hasil fermentasi yang digabungkan, maka dari itu perlu dilakukan pemisahan

hasil fermentasi filtrat dan biomassa dan dilakukannya penelitian mengenai pengujian ekstrak etil asetat fungi endofit isolat Ra1 dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) dengan melihat produksi aktivitas antibakteri yang dihasilkan hasil fermentasi menggunakan media PDB dan CDB dan melihat komponen senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat gram negatif dan gram positif.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan selama penelitian ini berlangsung antara lain cawan petri (Pirex®), erlenmeyer (Pirex®), gelas ukur (Pirex®), tabung reaksi (Pirex®), sheker inkubator, rak tabung reaksi, autoklaf, inkubator, hotplat, *laminar air flow* (LAF), timbangan analitik, vortex, mikro pipet, pipet kapiler jangka sorong, pinset, ose, bunsen, pembakar bunsen, penggaris, cutter, spidol.

Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian ini berlangsung yaitu kloramfenikol, *Nutrient agar* (NA), *Potato dextrosa agar* (PDA), *Potato dextrosa broth* (PDB), *Czapek-dox broth* (CDB), aquadest steril, etil asetat, n-Heksan, Plat KLT, alumunium foil, plastic warp, kapas steril, alcohol 70%, tisu, tip, kertas, spritus, handscoon steril.

Prosedur

Peremajaan Fungi Endofit RA1

Peremajaan dan perbanyakkan Isolat fungi endofit yang telah dilakukan dengan cara penumbuhan kembali isolat fungi endofit dan telah dimurnikan oleh Tunreng (2021). Isolat murni akan di ditumbuhkan dan diremajakan kembali dengan menggunakan jarum ose dimana perlakuan dimulai dengan mengambil sebanyak 3 plak berbentuk persegi empat isolat RA1 kemudian di pindahkan ke media PDA yang telah disiapkan dalam cawan petri dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C.

Enumerasi isolate

Isolat yang sudah diremajakan selama 7 hari dilakukan Enumerasi dengan memasukkan 5 mL NaCl 0,9% kedalam tabung reaksi lalu dimasukkan konidia isolat RA1 menggunakan jarum inokulasi, selanjutnya di lakukan vortex dan diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang yang digunakan 600 nm dan OD 0,3 A. Starter yang diukur mempunyai kepadatan $2,27 \times 10^8$ konidia/mL pada umur 48 jam (Ramadhani dan rukmi, 2015).

Fermentasi dan Ekstraksi

Fungi Endofit Fermentasi jamur endofit dikerjakan dengan menggunakan media PDB (*Potato dextrose broth*) dan medium CDB. Isolat yang sudah di lakukan enumerasi dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam media cair PDB dan media CDB yang berisi sebanyak 100 ml dalam labu erlenmeyer ukuran 300 mL. Dilakukan fermentasi goyang dengan menggunakan rotary shaker kecepatan 120 rpm (putaran/menit) pada suhu 30°C dan diinkubasi selama 10 hari. Fermentasi setelah 10 hari diinkubasi dilakukan penyaringan menggunakan corong bunchner yang berisi kertas saring untuk memperoleh supernatannya. Supernatan yang diperoleh dilakukan sentrifugasi kemudian tahap ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan perbandingan hasil isolat RA1 supernatan dan etil asetat 1: 1 kemudian di gojok selama 20 menit lalu diamkan 5 menit sampai membentuk 2 fase, pisahkan fase etil asetat ditampung pada wadah dan fase air masukkan kembali pada corong pisang dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Hasil ekstraksi etil asetat dilakukan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental. ekstrak dapat disimpan dalam freezer sampai dilakukan pemeriksaan lebih lanjut (Kjer et al., 2010)

Penyiapan Bakteri uji

Bakteri uji *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasi dalam media pertumbuhan NA dan diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian bakteri dibuat suspensi ke dalam larutan NaCl dan diukur kekeruhannya dengan Mcfarlad 1.

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan menggunakan metode Kirby-bauer (cakram/difusi cakram/kertas saring) yang diawali dengan mengambil bakteri Sebanyak 0,1 ml dicampur dengan 20 mL Nutrien agar pada erlenmeyer dan homogenkan lalu tuang pada petri dish dan tunggu beberapa menit. Media yang berisi bakteri uji memadat, kertas cakram diletakkan di atas media kemudian ditetesi Isolat RA1 dengan konsentrasi 5% sebanyak 5 µL. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam diukur zona bening yang berada di sekitar cakram sebagai diameter hambatnya. Perbandingan yang digunakan kloramfenikol sebagai control positif dan pelarut DMSO sebagai control negatif.

KLT-Bioautografi

Ekstrak kental yang diperoleh dilanjutkan uji KLT-Bioautografi dengan menggunakan medium NA sebanyak 20 mL lalu ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL lalu homogenkan selanjutnya dituang ke dalam cawan petri tunggu hingga memadat dan selanjutnya disiapkan lempeng KLT lalu diambil ekstrak kental etil asetat isolat Ra1 lalu larutkan dengan metanol PA kemudian ditotolkan pada lempeng KLT yang sudah diaktifkan menggunakan pipet kapiler lalu KLT tersebut dielusi dengan eluen 3:1 (etilasetat:n-heksan) dengan volume 5 mL. Kemudian KLT yang dielusi tadi dikeringkan selama 15 menit lalu lihat noda dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Letakkan diatas permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji kemudian di biarkan selama ± 60 menit. Setelah itu lempeng KLT diangkat dan dikeluarkan lalu media diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C lalu diamati bercak yang memberikan aktivitas daya hambat terhadap bakteri uji (Fitriana & Nurshitya, 2017).

Identifikasi golongan senyawa metabolit

Sekunder

Senyawa aktif yang didapatkan dari uji antibakteri dan uji KLT-Bioautografi dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimia yang meliputi skrining fitokimia. Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan KLT yang telah diaktifkan dan ditotolkan senyawa aktif lalu dielusi dengan eluen etil asetat : n- heksana (3:1) v/v kemudian di UV dengan sinar 254 dan 366 nm, selanjutnya semprot lempeng KLT menggunakan pereaksi kimia. Uji alkaloid reagen dragendorff hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga, uji terpenoid reagen Liebermanburchard ditunjukkan warna merah-ungu, biru tua atau hijau kehitaman, uji tannin reagen FeCl₃ hasil positif ditunjukkan dengan warna hijau gelap/kehitaman (Raihan *et al.*, 2019), uji flavonoid reagen AlCl₃ hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning pada bercak (Pratiwi & Nurbaeti, 2019) dan uji saponin ukan pengujian dengan cara menyemprotkan pada reagen H₂So₄ hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu (Fajriaty *et al.*, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fungi endofit dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata*) bagian akar (Ra1) merupakan tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai antibakteri dari kultur hasil fermentasi gabungan ekstraseluler dan intraseluler medium PDB (*Potato dextrosa broth*), namun belum diketahui secara pasti apakah metabolit ekstraseluler dari fermentasi menggunakan media PDB yang menghambat aktivitas tersebut. Media fermentasi sangat besar pengaruhnya dalam metabolit sekunder suatu sampel karena beberapa media memiliki kandungan yang berbeda-beda, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fungi endofit isolat Ra1 tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) dari hasil fermentasi menggunakan medium PDB dan CDB dan golongan senyawa apakah yang terdapat pada ekstrak etil asetat

fungi endofit isolat Ra1 dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata*) yang memiliki aktivitas antibakteri.

Isolat fungi endofit Ra1 di remajakan Kembali menggunakan media PDA untuk mendapatkan fungi yang baru dan lebih segar. Enumerasi isolat Ra1 dilakukan setelah proses peremajaan selama 7 hari bertujuan untuk menentukan jumlah sel dari suatu kultur secara kuantitatif dengan melihat kekeruhan yang disebut juga dengan satuan OD (Optical Density) (Ramadhani & Rukmi, 2015).

Fermentasi fungi endofit Ra1 dengan medium PDB dan medium CDB yang mengandung berbagai nutrisi yang baik digunakan untuk perkembangbiakan dan kelangsungan hidup isolat fungi endofit Ra1. Menggunakan medium yang berbeda bertujuan untuk melihat kultivasi fungi endofit dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung senyawa antibakteri. Proses fermentasi dilakukan menggunakan shaker inkubator dengan kecepatan 120 rpm (putaran/menit) pada suhu 30°C selama 10 hari bertujuan untuk pengadukan atau agitasi pertumbuhan jamur dapat meningkat dengan cepat (Rendowaty, 2017) dengan fase waktu eksponensial yang optimal untuk senyawa antibakteri (Tangapo, 2022). Fermentasi metode goyang bertujuan untuk menjaga erasi dan agitasi tetap seimbang sehingga dapat meningkatkan suplai oksigen dalam medium, meningkatkan dan mempertahankan homogenitas suhu serta konsentrasi nutrisi (Septiana et al., 2017). Hasil fermentasi disaring bertujuan untuk memisahkan hasil fermentasi berupa larutan supernatan dan biomasnya. Ekstraseluler berupa supernatant disentrifus bertujuan untuk memisahkan endapan/partikel, sampel diekstraksi dengan pelarut etil asetat metode ekstraksi cair-cair ini bertujuan agar dapat menarik atau memisahkan zat/senyawa polar dan non polar yang ada dalam supernatan isolat Ra1 dengan menggunakan pelarut yang bersifat semipolar (Deponda et al., 2019).

Tabel Hasil Ekstrak Kental

Isolat Ra1	Berat ekstrak (mg)
PDB	55,7
CDB	96

Ket: PDB(fermentasi medium *Potato dextrosa broth*) dan CDB (fermentasi medium (*Czapek-dox broth Potato*)).

Hasil ekstrak kental fungi endofit isolat Ra1 menggunakan medium PDB dan CDB menunjukkan bahwa ekstrak dari fermentasi menggunakan media CDB menghasilkan bobot yang lebih banyak ini disebabkan karena komponen nutrisi berupa mikronutrisi dan makronutrisi yang lebih lengkap dibandingkan medium PDB.

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode *Kirby-bauer* (cakram/difusicakram/kertas saring) untuk mengetahui aktivitas terbesar ekstrak seluler fungi endofit Ra1 dengan medium PDB dan medium CDB. Ekstrak kental yang diuji akan terdifusi keluar untuk menghambat pertumbuhan mikroba pada media yang ditumbuhi bakteri uji, ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Wilayah bening yang terbentuk sekitar kertas cakram menandakan adanya kepekaan bakteri terhadap sampel yang menunjukkan senyawa antibakteri terkandung di dalam fungi endofit Ra1. Pada pengujian ini digunakan kontrol positif dan negatif sebagai pembanding antibakteri. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibiotik kloramfenikol karena antibiotik ini bersifat bakteriostatik yang dapat menghambat sintesis protein sel mikroba dan berspektrum luas yang aktif untuk bakteri gram positif maupun gram negatif (Putri et al., 2016). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO10% bertujuan

sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengenceran tidak memiliki pengaruh terhadap hasil uji antibakteri dari senyawa yang akan diuji (Utomo *et al.*, 2018).

Bakteri uji dibuat dalam bentuk suspensi dengan tingkat kekeruhan yang digunakan menyesuaikan larutan standar Mcfarland 1. Hal ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan jumlah koloni bakteri yaitu $300 \times 10^6/\text{mL}$ dan memperkirakan kepadatan jumlah koloni yang digunakan dalam prosedur pengujian antibakteri (Arniati *et al.*, 2013).

Tabel Hasil Uji Antibakteri Ra1

Sampel	Konsentrasi ekstrak (%b/v)	Rata-rata Zona hambat (mm)	
		<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>
Ra1 PDB	5	8,26	7,54
Ra1 CDB	5	0	0
Kontrol (+)	1	16,45	8,69
Kontrol (-)	0	0	0

Ket: PDB(fermentasi pertama medium *Potato dextrosa broth*) dan CDB (fermentasi kedua medium (*Czapek-dox broth* *Potato*), Kontrol (-) sebagai Perbandingan kontrol negatif DMSO Kontrol (+) sebagai perbandingan kontrol positif kloramfenikol.

Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak metabolit ekstraseluler hasil fermentasi menggunakan medium PDB fungi endofit isolat Ra1 dengan konsentrasi 5% ditandai dengan membentuk zona hambat disekitar kertas cakram, sedangkan pada fermentasi metabolit ekstraseluler medium CDB tidak mempunyai aktivitas antibakteri karena pada proses fermentasi menggunakan media CDB menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang tidak membentuk zona bening pada sekitar kertas cakram, yang diartinya tidak ada respon hambat terhadap bakteri.

Analisa dilakukan pada penelitian ini dengan menggunakan Uji parsial (T-Test) pada *software* SPSS

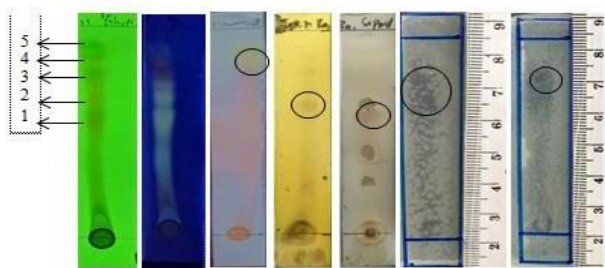
yang bertujuan melihat bagaimana pengaruh fungsi endofit Ra1 yang difermentasi menggunakan media PDB dan media CDB terhadap bakteri uji. Hasil analisis statistik dengan uji Wilcoxon signed rank test merupakan uji non parametrik yang termasuk pasangan dari paired sampel t-test yang digunakan saat paired sampel t-test tidak terpenuhi karena pada data hasil uji antibakteri yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan tidak homogen sehingga uji Wilcoxon signed rank test digunakan sebagai alternatif. Hasil statistik yang ditunjukkan dengan uji Wilcoxon signed rank test dari sampel dengan media berbeda dapat disimpulkan berdasarkan nilai dari $\text{asympt.sig. (2-tailed)}$ yaitu 0.00 berarti ada perbedaan yang signifikan antara fungsi endofit Ra1 fermentasi menggunakan media PDB dan CDB.

Hal ini dapat dipengaruhi oleh stabilitas senyawa aktif dari hasil fermentat, faktor yang mempengaruhi dapat berasal dari suhu, cahaya, udara (terutama oksigen, karbondioksida dan uap air) serta kelembaban. Faktor lain juga dapat berasal dari kondisi biotik, sifat air dan pencampuran produk kimia yang berbeda secara aktif sehingga mempengaruhi stabilitas senyawa aktif (Deponda *et al.*, 2019).

Hasil Identifikasi Dengan Profil KLT- Bioautografi.

		<i>S. aureus</i>	<i>S. thypi</i>
1	0,60	-	-
2	0,66	-	-
3	0,80	-	+
4	0.85	+	-

Ket: (-) senyawa tidak aktif terhadap bakteri uji , (+) senyawa aktif terhadap bakteri uji.



(a) (b) (c) (d) (e) (f) (g)

Ket: (a) Ra1 PDB UV $_{254}$ nm, (b) Ra1 PDB UV $_{366}$ nm, (c) Visualisasi setelah semprot $AlCl_3$, (d) Visualisasi setelah semprot $FeCl_3$, (e) Visualisasi setelah semprot H_2SO_4 10% (f) Ra1 PDB KLT-Bioautografi dengan bakteri *Salmonella typhi* (g) Ra1 PDB KLT-Bioautografi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Identifikasi menggunakan profil KLT ini menggunakan eluen etil asetat : *n*-heksan (3:1) hal ini didasarkan karena masing-masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda dapat terpisahkan dengan eluen tersebut dan orientasi eluen yang pernah dilakukan sebelumnya dengan memberikan hasil pemisahan yang terbaik hingga diperolehnya bercak. Hasil pengujian secara KLT-Bioautografi untuk ekstrak etil asetat medium PDB isolat Ra1 pada Uv 254 nm dan 366 nm memperoleh 2 bercak aktif dengan nilai R_f : 0,85 untuk bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan bakteri uji *Salmonella thypi* dan bercak dengan nilai R_{f1} 0,8 untuk bakteri uji *Salmonella thypi*.

Pada profil kromatogram aktivitas antibakteri etil asetat medium PDB isolat Ra1 diperoleh 2 bercak aktif yang menandakan bahwa ada 2 senyawa yang berperan sebagai antibakteri.

Hasil Identifikasi senyawa

Bercak	Nilai Rf	Senyawa				
		Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Terpenoid/ Steroid	Tanin
1	0,60	-	+	-	-	-
2	0,66	-	-	-	-	-
3	0,80	-	-	-	-	+
4	0,85	-	-	+	-	-
5	0,90	-	-	-	-	-

Hasil identifikasi senyawa menunjukkan yang terkandung berupa senyawa metabolit sekunder meliputi tanin pada spot noda 3 dengan R_f 0,8 dan flavonoid pada noda 4 dengan R_f 0,85.

Senyawa tannin adalah senyawa yang termasuk kedalam golongan senyawa fenol yang terdiri dari gugus hidroksil dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk perikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul lainnya (Hidjrawan, 2020). Senyawa tanin efektif sebagai antibakteri karena kemampuannya melewati dinding sel bakteri hingga ke membran internal, dengan mengganggu metabolisme sel sehingga dapat menghancurkan sel bakteri. Aktivitas tanin dapat berjalan cepat karena pada tannin terdapat juga terdapat asam tanat sehingga dapat menghancurkan bakteri Gram-positif (terutama *Staphylococcus aureus*) serta yang Gram-negatif (terutama *Escherichia coli*) (Kaczmarek, 2020).

Senyawa flavonoid bekerja dengan merusak membran sitoplasma dengan cara menyerang fosfolipid yang terdapat pada membran sitoplasma sehingga tidak mampu mempertahankan membran sitoplasma yang akhirnya mengakibatkan kebocoran dan zat-zat yang berfungsi untuk metabolisme sel bakteri terbuang keluar sehingga menyebabkan bakterimati dan dinding sel mengalami kerusakan karena adanya gugus hidroksil (-OH) sehingga dapat berinteraksi dengan lipid dan asam amino bagian dari struktur dinding sel

bakteridan terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri, sehingga senyawa flavonoid akan terus masuk kedalam inti sel bakteri, kemudian berkontak dengan DNA pada akhirnya menyebabkan kerusakan pada struktur lipid DNA sehingga bakteri lisis dan sel akan mati (Amanda *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etil asetat fungi endofit isolat Ra1 asal tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) fermentasi medium PDB aktif menghambat aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 5% pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan bakteri uji *Salmonella typhi*.
2. Golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri secara berturut-turut terhadap bakteri uji *Salmonella typhi* dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* yaitu senyawa tanin pada Rf 0.80 dan senyawa flavonoid pada Rf 0.85

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri hasil fermentasi metabolit intraseluler fungi endofit isolat Ra1 (*Harrisonia perforata*) pada aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ababutain, I. M., Aldosary, S. K., Aljuraifani, A. A., Alghamdi, A. I., Alabdall, A. H., Al-Khaldi, E. M., Aldakeel, S. A., Almandil, N. B., Abdulazeez, S., & Borgio, J. F. (2021). Identification and antibacterial characterization of endophytic fungi from *Artemisia sieberi*. *International Journal Of Microbiology*, 11, Article ID 6651020. Al Amrie, A. G., Ivan, I., Anam, S., & Pitopang, R. (2014). Uji efektifitas ekstrak daun dan akar *Harrisonia perforata* Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*. *Natural Science: Journal Of Science And Technology*, 3(3).
- Amanda, E. A., Oktiani, B. W., & Panjaitan, F. U. (2019). Efektivitas Antibakteri ekstrak flavonoid propolis trigona sp (*Trigona thorasica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Dentin*, 3(1).
- Arisca, W. N. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi endofit isolat Rb4, Rb5, Rb2 dan Ra1 dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr)). *Skripsi Palu: Program studi Farmasi jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako*.
- Arniati, Haris, A., & Werorilangi, S. (2013). Uji antibakteri patogen ekstrak sponge menggunakan metode high throughput screening (HTS) dengan indikator mtt (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide). *Prosiding Simposium Nasional Kelautan Dan Perikanan II Universitas Hasanuddin, Makassar*.
- Astriani, A. D., & Dwijayanti, E. (2022). Uji aktivitas antibakteri mikroba endofit dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri patogen. *Journal Syifa Sciences And Clinical Research*, 4(2), 371-377. Deponda, R. A., Fitriana, F., Nuryanti, S., & Herwin, H. (2019). Isolasi fungi endofit kulit buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang berpotensi sebagai antibakteri secara metode klt- bioautografi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 11(2), 147-153.
- Fajriaty, I., Hariyanto, I., Saputra, I. R., & Silitonga, M. (2017). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol buah lerak (*Sapindus rarak*). *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 6(2), 243-256.
- Fitriana, F., & Nurshitya, E. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit dari akar mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume) secara klt bioautografi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 9(1), 27-36.
- Hidjrawan, Y. (2020). Identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal optimalisasi*, 4(2), 78-82.
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials—aminireview. *Materials*, 13(14), 3224.
- Kjer, J., Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols*, 5(3), 479-490.
- Liang, H., Xing, Y., Chen, J., Zhang, D., Guo, S., & Wang, C. (2012). Antimicrobial activities of endophytic fungi isolated from *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). *BMC Complementary And Alternative Medicine*, 12(1), 1-6.

- Machowska, A., Stalsby, L., & Cecilia. (2019). Drivers of irrational use of antibiotics in Europe. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 16(1), 27.
- Murdiyah, S. (2017). Fungi endofit pada berbagai tanaman berkhasiat obat di kawasan hutan evergreen taman nasional baluran dan potensi pengembangan sebagai petunjuk praktikum mata kuliah mikologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3, 64-71.
- Novard, M. F. A., Suharti, N., & Rasyid, R. (2019). Gambaran bakteri penyebab infeksi pada anak berdasarkan jenis spesimen dan pola resistensinya dilaboratorium rsup dr. m. djamil padang tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2S), 26-32.
- Ofori-Asenso, Richard, Agyeman, & Adom, A. (2016). Irrational use of medicines—a summary of key concepts. *Pharmacy*, 4(4), 35.
- Putri, V. A., Posangi, J., Nangoy, E., & Bara, R. A. (2016). Uji daya hambat jamur endofit rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal E-Biomedik*, 4(2).
- Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2019). Uji kualitatif senyawa flavonoid ekstrak etil asetat daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Purnamasari, A., Andriyaningsih, F., Pamungkas, R. A., & Septiana, E. (2022). Pengaruh variasi media pertumbuhan terhadap aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak kapang endofit isolat Cb. D1. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 137-144.
- Ramadhani, P., & Rukmi, M. I. (2015). Produksi enzim protease dari *A. Niger* PAM18A dengan variasi pH dan waktu inkubasi. *Jurnal Akademika Biologi*, 4(2), 25-34.
- Raihan, M., Taqwa, N., Hanifah, A. R., Lallo, S., Ismail, I., & Amir, M. N. (2019). Skrining fitokimia ekstrak kulit buah nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dan aktifitas antioksidannya terhadap [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)](ABTS). *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(3), 101-105.
- Rajamanikyam, M., Vadlapudi, V., & Upadhyayula, S. M. (2017). Endophytic fungi as novel resources of natural therapeutics. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, 60.
- Syachriyani, S. (2019). Isolasi dan uji antagonis fungi endofit batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Yamas Makassar*, 3(2).
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal Of Fisheries Science And Technology*, 13(1), 1-6.
- Tunreng, M. F. U. (2020). Isolasi dan skrining aktifitas antibakteri jamur endofit dari tumbuhan Rui (*Harrisonia perforata* (Blanco) Merr) secara invitro terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *Skripsi Palu: Program Studi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako*.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Antibacterial activity test of the c-4-methoxyphenylcalix [4] resorcinarene compound modified by hexadecyltrimethylammonium-bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201-209.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165(6), 437-449.