

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT DAUN
TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*
DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
ILMI HIDAYAH
NIM. 16620042**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT DAUN
TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*
DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
ILMI HIDAYAH
NIM. 16620042**

**diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2021

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT DAUN
TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus*
dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
ILMI HIDAYAH
NIM. 16620042**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal 25 Mei 2021**

Pembimbing I



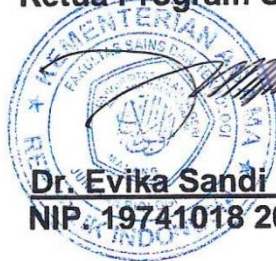
**Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R., M.P
NIP. 19620901 199803 2001**

Pembimbing II



**Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19741018200312 2 002**

**Mengetahui
Ketua Program Studi Biologi**



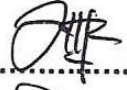
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI ENDOFIT DAUN
TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.) SERTA UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI terhadap *Staphylococcus aureus*
dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
ILMI HIDAYAH
NIM. 16620042

Telah dipertahankan
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima
sebagai
Salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains (S.Si)
Tanggal 25 Mei 2021

Ketua Penguji	: Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	()
Anggota Penguji	: Prilya Dewi Fitriyani, M.Si NIDT. 19900428 20160801 2062	()
Anggota Penguji	: Ir. Hj. Liliek Harianie, A.R., M.P NIP. 19620901 199803 2001	()
Anggota Penguji	: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I NIDT. 19741018200312 2 002	()

Mengetahui
Ketua Program Studi Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah

Sujud syukur senantiasa kupersembahkan kepada ALLAH SWT atas karunia-Nya saya dijadikan manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, sabar, ikhlas dalam melaksanakan kewajiban-Nya. Semoga dengan selesainya tugas akhir ini menjadi batu pijakan dalam meraih tujuan baik dan cita-cita kedepannya.

Kupersembahkan karya yang jauh dari kata sempurna kepada orang-orang hebat yang telah memberikan motivasi dan dukungannya, khususnya kepada:

1. Kedua Orang Tua saya Bapak Hambali dan Ibu Mardiyah
2. Adik Perempuan saya Tya Zamana Ulul Azmi
3. Keluarga Besar Bapak dan Ibu
4. Ustadz Wildana Wargadinata, dan Ustzh. Iffat Maimunah
5. Teman-teman seperjuangan Biologi Gading Putih 2016, Khususnya KB3 16 Samawa
6. Teman-teman seperjuangan Laboratorium Mikrobiologi Munawarotun Nadhifah, Susiyanti Farkhiyah, Tantika Safitri, Eka Happy, Lisca, Siti Fajariyah Novita, Tri WahyuningTyas, Radhwa Hayyu.
7. Teman-teman satu asrama Yumna Husna Nisaa, Diah Lailil Rahmawati, Yeti Mariyah, Siti Faiqotul Kholqiyah, Safira Makhrusa Zulda, Nur Izzah Analisa, Nanda Rahma Maulidina, Wilda Waqfa, Aulia Rahma, Diah Lailil Rahmawati, Zaimatus Sa'diyah
8. Teman-teman peminatan Mikrobiologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang
9. Keluarga besar Ibu, Mbak dan Mas yang telah memberi dukungan dan motivasi Siti Nur Masitoh, Maulidah Khasanah, Dian Prasetya, Avivah Patria Ummah, Putri Rahmayu, Selfia Felinda, Asmaul Husna.
10. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Karena dukungan motivasi, canda tawa, dan nasihatnya, semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini dapat bermanfaat khususnya bagi saya sendiri, dan bagi orang lain Aamiin.

MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَإِذَا قَضَىٰ أَمْرًا فَإِنَّمَا يَقُولُ لَهُ كُنْ فَيَكُونُ

Artinya: “Apabila Dia hendak menetapkan sesuatu, Dia hanya berkata kepadanya,
“Jadilah!” Maka jadilah sesuatu itu” (Surat Al Baqarah: 117)

“Bagi Allah Tidak ada yang sulit selama manusia mau berusaha.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ilmi Hidayah
NIM : 16620042
Jurusan/Fakultas : Biologi/Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Daun Tanaman
Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Uji Aktivitas
Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan
Escherichia coli

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya bersedia dikenakan sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 Mei 2021
Yang membuat pernyataan



Ilmi Hidayah
NIM.16620042

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka dikenakan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Isolasi Dan Karakterisasi Fungi Endofit Daun Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Ilmi Hidayah., Liliek Harianie, Oky Bagus Prasetya

ABSTRAK

Infeksi bakteri di Indonesia merupakan penyebab umum timbulnya suatu penyakit. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang dapat menginfeksi tubuh sehingga menyebabkan infeksi saluran pernafasan akut. Bakteri *Escherichia coli* mampu menginfeksi sehingga menyebabkan penyakit gastroenteritis. Upaya pengobatan yang disebabkan bakteri dapat memanfaatkan fungi endofit. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berguna sebagai antibakteri. Fungi endofit tumbuh pada daun jaringan tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Metode yang dilakukan pertama isolasi fungi endofit daun tanaman sirsak. Fungi endofit hasil isolasi di purifikasi, sehingga terdapat 3 isolat fungi dengan kode IDS 1, IDS 2 dan IDS 3. Fungi diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk diketahui tingkat Divisi. Ekstrak fungi endofit diambil untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder menggunakan metode fermentasi dan ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan memperhitungkan hasil berdasarkan kurva pertumbuhan fungi endofit. Analisa senyawa metabolit menggunakan uji fitokimia metode kualitatif. Ekstrak fungi endofit diuji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode Kirby- Bauer (Kertas cakram). Hasil uji aktivitas antibakteri berupa zona hambat yang diukur dengan jangka sorong digital. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat IDS 1 termasuk kedalam Divisi Zygomycota. Isolat IDS 2 dan IDS 3 termasuk kedalam Divisi Ascomycota. Isolat fungi endofit daun sirsak mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bervariasi yaitu alkaloid, tanin, saponin dan fenolik. Isolat fungi endofit daun sirsak berpotensi sebagai antibakteri dengan hasil diameter zona hambat yang bervariasi. Zona hambat hasil dari aktivitas antibakteri fungi endofit daun sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* IDS 1 sebesar 3,38 mm dan IDS 3 sebesar 2,08 mm zona hambat tergolong intensitas lemah, serta IDS 2 sebesar 5,12 mm zona hambat tergolong intensitas sedang. Sedangkan zona hambat hasil uji terhadap bakteri *Escherichia coli* IDS 1 sebesar 3,87 mm, IDS 3 2,47 mm intensitas tergolong lemah dan IDS 2 sebesar 5,45 mm tergolong sedang.

Kata Kunci: fungi endofit, daun sirsak, antibakteri

An Isolation and Endophytic Fungi Characterization of Soursop (*Annona muricata* L.) Leaves and Antibacterial Activity Test against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Ilmi Hidayah., Ir. Liliek Harianie, Oky Bagus Prasetya

ABSTRACT

Bacterial infection becomes common cause of disease in Indonesia. *Staphylococcus aureus* is a bacterium that can infect the body, causing acute respiratory infections. *Escherichia coli* bacteria are able to infect that can cause gastroenteritis. Treatment efforts caused by bacteria can take advantage of *endophytic* fungi. *Endophytic* fungi are able to produce secondary metabolite compounds that are useful as antibacterial. *Endophytic* fungi grow on the leaves of the *soursop* (*Annona muricata* L.) leaves. The first method used isolation of the *endophytic* fungi of *soursop* leaves. The isolated *endophytic* fungi were purified, so that there were 3 isolates of fungi with IDS 1, IDS 2 and IDS 3 codes. The fungi were identified macroscopically and microscopically to determine the division level. *Endophytic* fungi extract was taken to produce secondary metabolites by using fermentation methods, and extraction used ethyl acetate solvents by calculating the results based on the growth curve of *endophytic* fungi. Analysis of metabolites used qualitative methods of phytochemical tests. The extract of *endophytic* fungi was tested for antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using the Kirby-Bauer method (disc paper). The results of the antibacterial activity test were in the form of an inhibition zone that was measured by digital calipers. The research results showed that the IDS 1 isolate was included in the *Zygomycota* Division. IDS 2 and IDS 3 isolates were included in the *Ascomycota* Division. *endophytic* fungi isolates *Soursop* leaves were able to produce various secondary metabolites, namely alkaloids, tannins, *saponins* and *phenolics*. *endophytic* fungi isolate *Soursop* leaves had the potential to be antibacterial, with varying inhibition zone diameters. The inhibition zone was resulted from the antibacterial activity of the *endophytic* fungi of *soursop* leaves against the *Staphylococcus aureus* of IDS 1 bacteria was 3.38 mm and IDS 3 was 2.08 mm, the inhibition zone was classified as weak intensity, and IDS 2 was 5.12 mm, the inhibition zone was classified as moderate intensity. The inhibition zone of the test results against *Escherichia coli* IDS 1 was 3.87 mm, IDS 3 was 2.47 mm and was weak intensity and IDS 2 was 5.45 mm and was in moderate intensity.

Keywords: *endophytic fungi*, *soursop* leaves, antibacterial

عزل وتوصيف الفطريات الداخلية من أوراق القشطة الشائكة (*Annona muricata* L.)

واختبار نشاط مضاد للبكتيريا على *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*

علمي هداية، إر. ليليك حرياني، أوكي بكاس

مستخلص البحث

العدوى البكتيرية في إندونيسيا سبب شائع للمرض. *Staphylococcus aureus* هي بكتيريا يمكن أن تصيب الجسم مسببة التهابات الجهاز التنفسي الحادة. بكتيريا *Escherichia coli* قادرة على إصابة مسببة التهاب المعدة والأمعاء. يمكن أن تستفيد جهود العلاج التي تسببها البكتيريا من الفطريات الداخلية. الفطريات الداخلية قادرة على إنتاج مركبات مستقلب ثانوية مفيدة كمضادات للبكتيريا. تنمو الفطريات الداخلية على أوراق أنسجة القشطة الشائكة (*Annona muricata* L.). الطريقة الأولى المستخدمة كانت عزل الفطريات الداخلية لأوراق القشطة الشائكة. تمت تنقية الفطريات الداخلية المعزولة بحيث يكون هناك 3 عزلات من الفطريات برموز IDS 1 و IDS 2 و IDS 3. وقد تم تحديد الفطريات ظاهريا ومجهريا لتحديد مستوى الانقسام. تم أخذ مستخلص الفطريات الداخلية لإنتاج مستقلبات ثانوية باستخدام طرق التخمر والاستخلاص باستخدام مذيب أسياتات الإيثيل عن طريق حساب النتائج بناء على منحني نمو الفطريات الداخلية. تحليل المستقلبات باستخدام الطرق النوعية للاختبارات الكيميائية النباتية. تم اختبار مستخلص الفطريات الداخلية من حيث فعالية المضادة للبكتيريا على *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* باستخدام طريقة Kirby- Bauer (ورق القرص). وكانت نتائج اختبار نشاط المضاد للبكتيريا في شكل منطقة تثبيط تقاس الفرجار الرقمية. أظهرت النتائج أن عزلة IDS 1 تم تضمينها في قسم *Zygomycota*. يتم تضمين عزلات IDS 2 و IDS 3 في قسم *Ascomycota*. إن عزلات الفطريات الداخلية لأوراق القشطة الشائكة قادرة على إنتاج مستقلبات ثانوية مختلفة، وهي القلويدات *alkaloid* والعفص *tanin* والصابونين *saponin* والفينولات *fenolik*. يمكن أن تكون عزلة الفطريات الداخلية لأوراق القشطة الشائكة مضاد للبكتيريا، بأقطار مختلفة لمنطقة التثبيط. تنتج منطقة التثبيط من نشاط المضاد للبكتيريا للفطريات الداخلية لأوراق القشطة الشائكة على بكتيريا *Staphylococcus aureus* IDS 1 من 3.38 مم و IDS 3 من 2.08 مم وتصنف منطقة التثبيط على أنها ضعيفة الكثافة، و IDS 2 هو 5.12 مم والتثبيط تصنف المنطقة على أنها معتدلة الشدة. أما منطقة التثبيط لنتائج الاختبار على بكتيريا *Escherichia coli* IDS 1 كانت 3.87 مم، و IDS 3 2.47 مم كانت ضعيفة و IDS 2 5.45 مم وهي متوسطة.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الداخلية، أوراق القشطة الشائكة، مضاد للبكتيريا

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT, Dzat yang telah melimpahkan nikmat dan karunia kepada kita semua, khususnya kepada peneliti sehingga mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Daun Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”**. Shalawat serta salam tetap tercurah kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, yang telah membawa kita menuju ke jalan yang terang benderang yaitu agama Islam.

Selanjutnya penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada batas kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P, selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R, M.P dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku dosen pembimbing yang penuh kesabaran dan keikhlasan telah memberikan bimbingan, dan pengarahan dalam penyusunan skripsi.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku penguji yang telah memberikan nasihat, saran, dan dukungan dalam membenahi skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R, M.P, selaku dosen wali yang telah memberi dukungan dalam bidang akademik.
7. Segenap dosen, Laboran, dan Staf Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyampaikan pengajaran dan membimbing dengan ikhlas.
8. Kepada orang tua saya Bapak Hambali dan Ibu Mardiyah serta adik saya Tya Zamana Ulul Azmi yang selalu memberikan semangat dalam penulisan skripsi ini.
9. Terimakasih untuk seluruh petugas keamanan dan kebersihan Fakultas Sains dan Teknologi yang sabar menunggu aktivitas penelitian saya di Laboratorium.
10. Semua pihak yang ikut membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak kekurangan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca sebagai khazanah ilmu pengetahuan.

Malang, 30 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.6 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Fungi Endofit	8
2.1.1 Fase Pertumbuhan Fungi	9
2.1.2 Mekanisme Kerja Fungi Endofit	10
2.2 Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	11
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak	11
2.2.2 Tempat tumbuh	12
2.2.3 Kandungan Sirsak	13
2.2.4 Manfaat Sirsak	15
2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.3.1 Deskripsi dan Klasifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.3.2 Patogenitas dan Gambaran Klinis Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	18
2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	18
2.4.2 Patogenitas dan Gambaran Klinis Bakteri <i>Escherichia coli</i>	19
2.5 Antibakteri	21
2.6 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri	21
2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Senyawa Antibakteri	23
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Rancangan Penelitian	25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.4 Prosedur Penelitian	26
BAB IV PEMBAHASAN	33
4.1 Fungi Endofit Hasil Isolasi Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	33

4.1.1	Isolat Fungi IDS 1	34
4.1.2	Isolat Fungi IDS 2	35
4.1.3	Isolat Fungi IDS 3	36
4.1.4	Pertumbuhan Fungi Endofit Hasil Isolasi Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	39
4.1.5	Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Sirsak 41	
4.1.6	Uji Fitokimia Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Sirsak	43
4.2	Uji Aktivitas Metabolit Sekunder Fungi Endofit Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	44
BAB V PENUTUP.....		55
DAFTAR PUSTAKA.....		56

DAFTAR TABEL

4.1 Karakter Morfologi Fungi Endofit dari Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)...	32
4.2 Hasil Uji Fitokimia Metabolit Sekunder.....	41
4.3 Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit Daun Sirsak terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	43

DAFTAR GAMBAR

2.1 Kurva Pertumbuhan Fungi.....	9
2.2 Morfologi Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	11
2.3 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.4 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	18
4.1 Morfologi Fungi Endofit Daun Sirsak berdasarkan Pengamatan IDS 1.....	33
4.2 Morfologi Fungi Endofit Daun Sirsak berdasarkan Pengamatan IDS 2.....	34
4.3 Morfologi Fungi Endofit Daun Sirsak berdasarkan Pengamatan IDS 3.....	35
4.4 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 1.....	37
4.5 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 2.....	38
4.6 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 3.....	38
4.7 Zona Hambat Metabolit Sekunder Fungi Endofit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	46
4.8 Zona Hambat Metabolit Sekunder Fungi Endofit terhadap <i>Escherichia coli</i>	46

DAFTAR LAMPIRAN

1. Kunci Determinasi Fungi Endofit Daun Sirsak	65
2. Hasil Fermentasi Fungi Endofit.....	66
3. Gambar Hasil Uji Fitokimia Fungi Endofit Daun Sirsak.....	67
4. Rumus perhitungan diameter zona hambat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	68
5. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit Daun Sirsak terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	70
6. Hasil Uji Statistika Penghambatan Fungi Endofit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	71
7. Hasil Uji Statistika Penghambatan Fungi Endofit terhadap <i>Escherichia coli</i>	72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi di Indonesia menjadi penyebab orang sakit dan kematian di layanan kesehatan (Kurniawati *et al.*, 2015). Menurut Riskesdas (2013) kematian disebabkan penyakit infeksi yang paling sering diderita masyarakat adalah penyakit ISPA sebanyak 31% dan diare 14,7%. Infeksi merupakan masuk dan berkembang biaknya mikroorganisme seperti bakteri ke dalam tubuh (Novard *et al.*, 2019). Kelompok bakteri flora normal pada manusia yang memiliki tingkat virulensi tinggi dapat menyebabkan infeksi (Haposan *et al.*, 2016). *Escherichia coli* termasuk bakteri umum pada tubuh yang berada di saluran pencernaan (Bakri *et al.*, 2015; Halim *et al.*, 2017). Selain itu, *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang dapat menyebabkan berbagai penyakit umumnya terdapat di saluran pernafasan dan kulit (Ghalehno *et al.*, 2018; Lubis *et al.*, 2016).

Escherichia coli merupakan bakteri patogen intestinal yang dapat menyebabkan berbagai infeksi pada saluran pencernaan. *E.coli* bersifat patogen sehingga menyebabkan diare pada manusia. *E.coli* termasuk penyebab diare yang paling utama. Kasus diare di negara berkembang mencapai 50-60%, disebabkan bakteri *E.coli* sebesar 25%, *Campylobacter jejuni* 10%-18%, *Shigella* sp. (5%) dan *Salmonella* sp. (5%). Menurut Halim *et al.* (2017) bahwa kasus diare akut penyebabnya adalah bakteri *E. coli* sebanyak 25 kasus (50%). *E.coli* merupakan penyebab diare tersering pada anak usia sekolah. Studi di Dhaka Bangladesh diare yang disebabkan *E.coli* sebesar 74,8%.

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri penyebab infeksi yang sering terjadi di dunia. *S. aureus* merupakan patogen utama pada manusia (Triana, 2014). Tingkat infeksi bervariasi mulai dari infeksi ringan hingga berat (Afifurrahman *et al.*, 2014). Menurut Rosalina *et al.* (2010) bahwa bakteri terbanyak dalam menyebabkan infeksi pada kulit adalah *S. aureus* sebanyak 42%. Menurut Noldeke *et al.* (2018) bahwa *S. aureus* di Amerika Serikat bertanggung jawab atas sekitar 19.000 kematian per tahun. *S.aureus* juga termasuk mikroflora pada hidung dan merupakan penyebab utama infeksi yang parah.

Upaya pengobatan alternatif untuk infeksi bakteri disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memanfaatkan fungi endofit (Rianto

et al., 2018; Sernita *et al.*, 2019). Fungi endofit adalah fungi yang tumbuh pada jaringan tanaman sehat dan mempunyai kemampuan untuk memproduksi senyawa metabolit sesuai inangnya akibat proses koevolusi dan rekombinasi gen (Murdiyah, 2017). Pemanfaatan tumbuhan secara langsung membutuhkan bagian dari tumbuhan yang sangat banyak, sehingga pemanfaatan fungi merupakan salah satu alternatif untuk menjaga kelestarian tanaman karena dikhawatirkan sumberdaya hayati akan musnah karena terbatas. Fungi merupakan organisme yang mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder dalam jumlah yang besar dengan metode fermentasi (Venieraki *et al.*, 2017). Fungi endofit menjadi alternatif karena dapat memproduksi senyawa metabolit yang mempunyai kemampuan yang sama dengan tanaman inang (Rianto *et al.*, 2018). Penggunaan fungi endofit, dikarenakan fungi memiliki kemampuan menghambat lebih tinggi daripada bakteri endofit, berdasarkan penelitian Ola *et al.*, (2019) bahwa fungi endofit daun Srikaya (*Annona squamosa*) mampu menghambat bakteri *S.aureus* sebesar 16,1 mm dan bakteri *E.coli* sebesar 9,6 mm. Menurut penelitian Zulkifli *et al.*, (2018) bahwa bakteri endofit kulit batang Srikaya (*Annona squamosa*) mampu menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli* sebesar 14 mm dan 14 mm. Senyawa metabolit yang dihasilkan fungi endofit dapat berfungsi sebagai antibakteri (Sernita *et al.*, 2019). Menurut Rosalina *et al.* (2018) bahwa mekanisme senyawa metabolit fungi endofit yang dihasilkan mampu menyerang bakteri melalui peningkatan permeabilitas dinding sel, koagulasi cairan dalam membran sel dan merusak dinding sel bakteri.

Menurut Haro *et al.* (2014) ekstrak daun sirsak mampu menghambat bakteri *S.aureus* sebesar 16.4 mm dan bakteri *E.coli* sebesar 15.3 mm. Ekstrak etil asetat daun sirsak mampu menghambat bakteri *S.aureus* sebesar 42 mm dan bakteri *E.coli* sebesar 22 mm (Olugbuyiro *et al.*, 2017). Metabolit sekunder fungi endofit daun sirsak mampu menghambat bakteri *S.aureus* sebesar 12 mm dan bakteri *E.coli* sebesar 14 mm. Berdasarkan Lingga *et al.* (2015) menyatakan bahwa aktivitas daya hambat dinyatakan sangat kuat dengan terbentuknya daya hambat ≥ 20 mm, 10-20 mm kemampuan penghambatan kuat, 5-10 mm aktivitas zona hambat cukup dan dinyatakan aktivitas penghambatan lemah apabila memiliki ≤ 5 mm.

Penelitian terkait fungi endofit banyak dikaji seperti pada penelitian Kursia *et al.* (2018) ditemukan 3 isolat fungi endofit berasal dari daun Kelor (*Moringa oleifera* Lmm) yang mampu menghambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Penelitian Noverita *et al.* (2009) ditemukan 8 isolat fungi endofit dari daun *Zingiber ottensii* (Bangle hantu) memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi pada *S. aureus* dan *E. coli* dengan penghambatan sebesar 19 mm. Berdasarkan penelitian Maryam *et al.* (2016) bahwa daun nanas (*Ananas cormosus* (L.) Meer) mampu menghasilkan 6 isolat fungi endofit yang memiliki potensi sangat aktif dalam penghambatan *E. coli* sebesar 26 mm.

Fungi endofit juga terdapat dalam jaringan tanaman sirsak yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Praptiwi *et al.*, 2018). Fungi endofit terdapat di setiap organ tumbuhan utamanya pada bagian daun (Ramadhani *et al.*, 2017). Bagian daun sirsak mempunyai lapisan pelindung yang tipis dengan memiliki bidang luas sehingga fungi endofit lebih banyak masuk dalam jaringan tanaman daun sirsak (Kumala, 2014). Daun *Annona muricata* (Sirsak) memiliki manfaat sebagai antibakteri dan antimikroba (Wahab *et al.*, 2018). Menurut (Maesaroh *et al.*, 2019) menyatakan ekstrak daun *Annona muricata* Linn berdasarkan uji golongan senyawa metabolit menghasilkan senyawa metabolit seperti, saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, serta fenol (Maesaroh *et al.*, 2019). Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an Surah Asy-Syu'ara (26) ayat 7 yaitu sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”

Surah Asy-Syu'ara ayat 7 di atas ditekankan pada kalimat (زَوْجٍ كَرِيمٍ) “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, selain dapat dimanfaatkan untuk makanan sehari-hari, di dalamnya juga terkandung senyawa yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit sehingga mendatangkan suatu kebaikan. Dalam kitab Tafsir al-Qurthubi pada

kalimat (رَوْح) “warna” (كَرِيم) “baik dan mulia”. Penafsiran menurut Ibnu Abbas pada kalimat (رَوْح) “warna” (كَرِيم) “baik dalam penglihatannya”. Menurut KEMENAG kalimat (رَوْح) ditafsirkan “setiap pasangan dari sesuatu yang berpasang-pasangan” yaitu baik laki-laki ataupun perempuan, jantan ataupun betina. Bumi dan langit, musim dingin dan panas, siang dan malam serta penyakit dan obatnya. Sebagaimana Allah SWT menurunkan penyakit, Dia pun menurunkan obat bersama penyakit itu. Obat itupun menjadi rahmat dan keutamaan dari-Nya untuk hamba-hamba-Nya. Salah satu alternatif pengobatan alami menggunakan fungi endofit yang berada pada daun tanaman sirsak. Menurut Zai *et al.*, (2019) menyatakan bahwa senyawa yang terdapat di tanaman sirsak merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki manfaat sebagai antibakteri.

Ekstrak methanol dari daun *Annona muricata* L. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes* dan *Klebsiella pneumonia* (Sari *et al.*, 2017). Ekstrak methanol daun *Annona muricata* dalam beberapa penelitian sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* tertinggi sebesar 20,5 mm dan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan penghambatan 16,5 mm (Wisdom *et al.*, 2014). Olugbuyiro *et al.*, (2017) menyatakan bahwa penghambatan ekstrak etil asetat daun sirsak memiliki daya hambat sangat tinggi pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai 42 mm dan 22 mm.

Prosedur untuk mendapatkan senyawa metabolit yang terdapat dalam fungi endofit tanaman sirsak menggunakan metode ekstraksi. Etil asetat dipilih sebagai pelarut karena dapat meningkatkan efisiensi saat ekstraksi, mudah diuapkan, memiliki tingkat kerusakan senyawa rendah dan mampu menarik senyawa metabolit yang bersifat semi polar (GPS 2012; Firdiyani *et al.*, 2015). Metode ekstraksi yang dipilih adalah partisi cair dengan pelarut, yang mampu memproduksi jumlah ekstrak yang tinggi (Saifudin, 2014). Metode partisi dalam isolasi senyawa metabolit sekunder bertujuan untuk mengklasifikasikan senyawa – senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Saputra *et al.*, 2018). Metode partisi menjadi metode pemisahan yang utama apabila larutan – larutan yang akan dipisahkan memiliki persamaan sifat – sifat fisiknya yaitu titik didih yang perbedaannya relatif

kecil. Kelebihan dari ekstraksi cair yaitu dapat memisahkan system yang memiliki sensitivitas terhadap temperatur, kebutuhan energinya relatif kecil, dan dapat bekerja pada kondisi ruang (Mirwan, 2013).

Ekstrak fungi endofit yang didapatkan dilakukan pengujian untuk membuktikan adanya senyawa metabolit pada ekstrak (Rahman *et al.*, 2017). Elviasari *et al.* (2016) menyatakan pengujian golongan senyawa metabolit antara lain uji saponin, flavonoid, tannin, fenol serta alkaloid. Menurut Soekaryo *et al.* (2017) menyatakan ekstrak etil asetat pada daun sirsak dapat menghasilkan senyawa metabolit berupa flavonoid, tanin, alkaloid serta saponin. Menurut Ersita & Kardewi (2016) menyatakan bahwa kandungan tanin, saponin, alkaloid serta flavonoid pada daun sirsak bermanfaat untuk penghambat bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, menunjukkan senyawa metabolit yang terdapat dalam daun sirsak mempunyai potensi menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu, fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki potensi sama dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat bakteri. Peneliti mengkaji terkait isolasi dan karakterisasi fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang memiliki kemampuan antibakteri untuk menghambat aktivitas *S. aureus* dan *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah saja Divisi fungi endofit yang diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.)?
2. Bagaimana kemampuan senyawa antibakteri fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini bertujuan sebagai berikut:

1. Untuk mendapatkan dan mengetahui Divisi fungi endofit yang diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.).
2. Untuk mengetahui kemampuan senyawa antibakteri yang dihasilkan fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang melandasi penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat beberapa Divisi fungi endofit dari hasil isolasi daun sirsak (*Annona muricata* L.).
2. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit yang diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan informasi terkait Divisi fungi endofit pada daun sirsak (*Annona muricata* L.).
2. Dapat menambah pengetahuan di bidang mikrobiologi khususnya fungi endofit yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri.
3. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan, diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga bermanfaat sebagai antibakteri untuk menanggulangi infeksi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.6 Batasan Masalah

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

1. Fungi endofit yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diperoleh dari kebun di Dusun Putuk Rejo, Wadung, Pakisaji, Malang.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari stok Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas dan Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Penelitian ini tidak memperhitungkan kadar konsentrasi dari senyawa antibakteri fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.).
4. Senyawa antibakteri pada penelitian ini diambil dari senyawa metabolit sekunder fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.).

5. Ekstraksi untuk mendapatkan senyawa metabolit fungi endofit dilakukan dengan metode partisi cair menggunakan pelarut etil asetat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungi Endofit

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang mampu tumbuh pada jaringan tanaman dengan siklus tertentu tanpa menimbulkan penyakit untuk inang. Mikroba endofit terdapat pada setiap tanaman tingkat tinggi yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder akibat koevolusi serta rekombinasi genetik dari inangnya (Radji, 2005). Fungi endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa metabolit dalam jumlah tinggi dengan masa pendek tanpa menyebabkan eksploitasi yang berlebihan (Amin *et al.*, 2014).

Fungi endofit dengan inang memiliki hubungan simbiosis mutualisme yang keduanya saling menguntungkan untuk bertahan hidup. Fungi endofit memperoleh substrat nitrogen dan karbohidrat dari inangnya, substrat inangnya akan dikeluarkan setelah senyawa beracun dikonsumsi oleh fungi endofit untuk bertahan hidup (Amin *et al.*, 2014). Menurut Carrol (1988) menyatakan bahwa hubungan fungi endofit dengan inangnya dibagi menjadi dua mutualisme induktif dan konstitutif. Mutualisme induktif adalah hubungan fungi dan inang, yang tersebar bebas melawati udara dan air. Jenis ini dalam waktu yang panjang mengalami kondisi metabolisme inaktif sehingga hanya mampu menginfeksi bagian vegetatif inang. Mutualisme konstitutif adalah hubungan fungi dan tumbuhan. Golongan ini penyebarannya melalui biji serta organ penyerbukan inang serta mampu menginfeksi ovula (biji) inang.

Fungi endofit ditemukan dalam semua famili tumbuhan, yang mewakili banyak spesies di berbagai iklim dunia. Endofit ditemukan pada semua kelompok utama tanaman termasuk alga, lumut, pakis, tumbuhan tingkat tinggi dan dapat bertahan pada tanaman obat. Fungi endofit ditemukan pada berbagai tanaman yang tumbuh di berbagai lingkungan termasuk tropis, beriklim sedang, xerophytik, pantai bakau, dan lingkungan perairan. Tanaman obat telah diakui sebagai tempat penyimpanan fungi endofit dengan menghasilkan senyawa metabolit yang penting untuk bidang farmasi. Tanaman dengan kepentingan farmasi sedang dieksploitasi karena sifat yang dapat menyembuhkan. Namun, pemanenan tanaman obat dalam skala besar menjadi ancaman utama bagi keanekaragaman hayati. Sebagai

alternatif, fungi yang hidup di dalam tanaman sering menjadi sumber potensial yang luar biasa dari senyawa terapeutik (Ramesh *et al.*, 2017).

Fungi endofit dengan tanaman inang bersimbiosis mutualisme yang dapat bermanfaat untuk tanaman. Fungi endofit bermanfaat bagi tanaman untuk meningkatkan ketahanan tanaman inang, dapat mengendalikan pertumbuhan fungi patogen. Tanaman inang mendapat manfaat dari fungi endofit untuk menaikkan laju pertumbuhan inang, melindungi dari serangan hama serta tahan terhadap serangan patogen dan tahan terhadap cekaman kekeringan. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai pengendali hayati (Sopialena *et al.*, 2019).

Sifat – sifat morfologi dari fungi adalah sebagai berikut (Winarsih, 2011):

1. Pembentukan hifa dan miselia

Benang – benang yang dibentuk oleh Fungi adalah hifa, sedangkan kumpulan hifa membentuk miselia. Berdasarkan sifat mikroskopis hifa pada Fungi dapat dibedakan menjadi 2 bagian yaitu hifa bersekat dan hifa tidak bersekat. Hifa bersekat dapat dibedakan menjadi tiga jenis yaitu hifa udara (pengambilan oksigen), hifa produktif (membentuk alat – alat reproduksi) dan hifa vegetatif (mengambil nutrisi dan zat makanan).

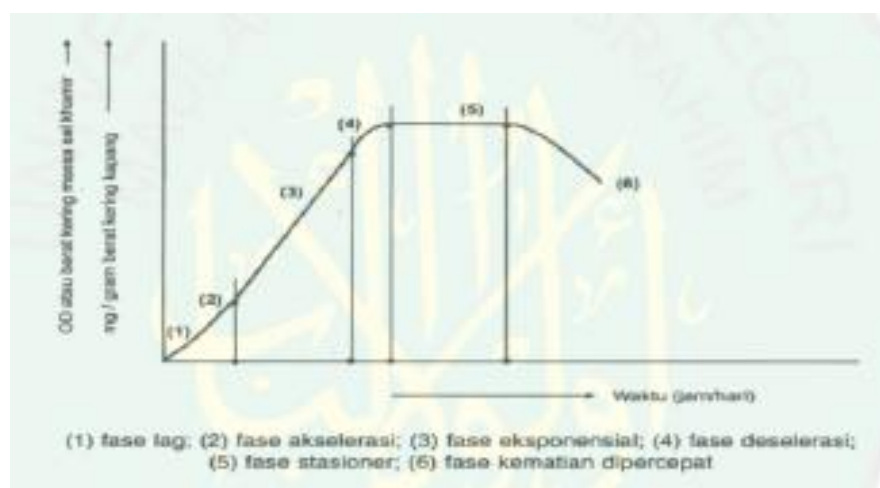
2. Struktur dan bagian yang memproduksi

Fungi dapat tumbuh menjadi miselia. Fungi memiliki reproduksi seksual dan aseksual. Reproduksi seksual memiliki empat jenis askospora, zygospora, oospora dan basidiospora. Fungi menghasilkan spora yang bersifat aseksual ukuran kecil, dalam jumlah yang banyak dan dapat tahan terhadap suasana kering. Spora aseksual memiliki empat jenis yaitu arthrospora (oidia), sporangiospora, klamidospora dan konidia.

2.1.1 Fase Pertumbuhan Fungi

Pertumbuhan fungi merupakan penambahan volume sel, dikarenakan terdapat penambahan asam nukleat dan protoplasma yang melibatkan pembelahan mitosis dan sintesis DNA. Salah satu cara untuk mengetahui fase – fase pertumbuhan pada mikroorganisme dapat menggunakan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan memiliki beberapa fase adalah sebagai berikut (Hasanah, 2018):

1. Fase Lag, merupakan fase sel –sel menyesuaikan dengan lingkungan dan membentuk enzim berfungsi mengurai substrat lebih lama.
2. Fase Log/ Eksponensial, merupakan fase sel membelah dengan cepat dan tetap mengikuti kurva. Fase ini fungi membutuhkan energi yang lebih banyak daripada fase yang lainnya. Fase yang penting dalam kehidupan fungi.
3. Fase Stasioner, merupakan fase pertumbuhan tetap jumlah sel yang tumbuh dan sel yang mati sama. Sel tetap membelah menjadi kecil meskipun zat – zat nutrisi telah habis.
4. Fase kematian, merupakan fase jumlah sel yang mati lebih banyak daripada jumlah sel yang masih hidup.



Gambar 2.1 Kurva Pertumbuhan Fungi (Gandjar, 2006)

2.1.2 Mekanisme Kerja Fungi Endofit

Fungi endofit menghasilkan alkaloid dan mikotoksin sehingga memungkinkan digunakan untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Fungi endofit membentuk kait di sekitar hifa patogen sebelum penetrasi, atau kadang-kadang masuk langsung (Kloepper & Ryu, 2006). Menurut Hajek, (2004) menyatakan bahwa mekanisme kerja senyawa antimikroba dalam melawan mikroorganisme patogen dengan cara merusak dinding sel, mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis sel mikoba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein dan asam nukleat sel mikroba. Simbiosis endofit dengan tanaman mampu memicu inang mengaktifkan sistem pertahanannya dengan menghasilkan senyawa oksigen reaktif

untuk mengoksidasi atau denaturasi membran sel inang, sehingga akan meningkatkan ketahanannya terhadap tekanan lingkungan.

Endofit juga merupakan mikroorganisme yang banyak menghasilkan berbagai macam antioksidan, asam fenol, dan derivatnya, simbiosis tanaman dengan endofit meningkatkan adaptasi terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan (Yulianti, 2012; Petrini *et al.*, 1992). Mekanisme endofit dalam melindungi tanaman terhadap serangan patogen atau serangga yaitu dengan penghambatan pertumbuhan patogen secara langsung melalui senyawa antibiotik dan enzim litik yang dihasilkan. Penghambatan secara tidak langsung melalui perangsangan endofit terhadap tanaman dalam pembentukan metabolit sekunder seperti asam salisilat dan etilen yang berfungsi dalam pertahanan tanaman terhadap serangan patogen. Perangsangan pertumbuhan tanaman sehingga lebih kebal dan tahan terhadap serangan patogen. Dan kolonisasi jaringan tanaman sehingga patogen sulit penetrasi (Yulianti, 2012).

2.2 Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak

Annona muricata adalah anggota keluarga Annonaceae yang memiliki 130 genera 2300 spesies. *A. muricata* merupakan pohon evergreen, teristrial dengan ketinggian mencapai 5-8 m, serta mampu membentuk kanopi berbentuk bundar dengan daun besar berwarna hijau, mengkilap dan gelap dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Moghadamtousi *et al.*, 2015). Cabang muda berbulu, daun berbau tajam menyengat, halus, permukaan atas berwarna hijau tua, berbentuk lonjong, elips atau obovate sempit, kedua ujungnya runcing dengan panjang 6-20 cm serta lebar 2-6 cm. Tangkai daun pendek sekitar 4-5 cm, bulat dan berbentuk segitiga kerucut (Adewole *et al.*, 2006).

Tanaman sirsak memiliki bunga tunggal yang terletak di batang, cabang dan ranting. Bunga tersusun sedikit menyebar yang terdiri dari 3 helai kelopak lapisan luar berwarna kuning-hijau dan 3 helai kelopak lapisan dalam berwarna kuning pucat. Buah berbentuk oval atau berbentuk hati, namun terkadang tidak teratur, ukuran 10-30 cm dan lebar sampai 15 cm dengan berat sebesar 4,5-6,8 kg. Buah sirsak memiliki duri halus sedikit menonjol namun mudah putus ketika buah matang, warna buah sirsak belum matang hijau gelap dan hijau kekuningan pada

buah yang matang. Daging buah memiliki warna krem bergranular; tekstur lembut, berserat dan berair serta dalam buah yang besar dapat mengandung biji hingga 200 atau lebih. Setiap segmen buah sirak fertil terdapat satu biji lonjong, halus, keras, berwarna hitam dengan panjang 1,25-2 cm (Adewole *et al.*, 2006).



Gambar 2.2 Morfologi Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) (Ket: A) tanaman sirsak, B) daun C) bunga, D) buah (Moghadamtousi *et al.*, 2015)

Menurut Cronquist (1981), klasifikasi tanaman sirsak adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Sub Divisio	: Magnoliidae
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Species	: <i>Annona muricata</i> Linn.

2.2.2 Tempat tumbuh

Tumbuhan sirsak tersebar di wilayah tropis dan subtropis di dunia, serta berada di Hindia Barat, Asia Tenggara dan kepulauan Pasifik (Badrie *et al.*, 2010). *Annona* dari sekian banyak, sirsak merupakan jenis tumbuhan yang mudah tumbuh serta membutuhkan iklim tropis. Sirsak di Indonesia dapat berkembang dan tumbuh subur dengan baik karena iklim tropis yang cocok bagi tanaman sirsak (Dewi & Hermawati, 2013). Sirsak mampu hidup dengan ketinggian mencapai 1200 m dari

permukaan laut dengan suhu antara 25 – 28°C dan kelembaban antara 60 dan 80% (Salempa, 2016); (Daddiouaissa & Azura, 2018).

Tanaman sirsak mampu berbuah sepanjang tahun dengan air tanah tercukupi sepanjang masa tumbuh (Handayani *et al.*, 2019). Tanaman sirsak dapat tumbuh baik pada tipe tanah yang kaya unsur hara dan kandungan mineral dengan pengairan yang baik, tanah masam, kering dan berpasir. Namun kurang baik jika sirsak ditanam pada tanah dengan aliran udara yang buruk karena dapat membusukkan akar (Lina & Juwita, 2011).

2.2.3 Kandungan Sirsak

Annona muricata menghasilkan senyawa metabolit berupa tanin, saponin, karbohidrat, flavonoid, fitosterol, terpenoid alkaloid, dan protein. Daun dan buah sirsak memiliki alkaloid, flavonoid dan fenol dalam jumlah tinggi (Agu & Okalie, 2017). Daging buah sirsak terdiri dari 80% air, 18% karbohidrat, 1% protein dan sejumlah kecil vitamin B, B2, C dan serat. Buah sirsak juga mengandung berbagai mineral penting seperti kalium (K), kalsium (Ca), natrium (Na), tembaga (Cu), besi (Fe) dan magnesium (Mg) (Daddiouaissa dan Azura, 2018). Sirsak memiliki kandungan gizi terdiri dari energi 65kal, protein 1g, fosfor 27 mg, lemak 0,3 gram, kalsium 14 gram, karbohidrat 16,3 gram, serat 3,3 g dan vitamin C 20 mg (Aulia & Niken, 2017).

Tanaman sirsak terdiri lebih dari 200 senyawa kimia, senyawa yang paling penting adalah alkaloid, fenol dan acetogenin (Salempa *et al.*, 2018). Ekstrak senyawa fitokimia *A. muricata* bagian daun, batang, akar dan biji-bijian seperti alkaloid, flavonoid, karbohidrat, glikosida jantung, saponin, tanin, fitosterol dan terpenoid yang telah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap mikroorganisme patogen. Namun, di sisi lain terdapat senyawa antioksidan seperti fenol (asam galat dan klorogenik), flavonoid (myricetin, fisetin, morin, quercetin, kaempferol dan isorhamnetin), anthocyanin, asam askorbat, tokoferol, tokotrienol, karotenoid dan asetogenin (Wuri *et al.*, 2018). Menurut abba *et al.* (2018) menyatakan bahwa studi fotokimia *A. muricata* menunjukkan adanya alkaloid, flavonol triglykosida, fenolik, siklopeptida dan minyak atsiri.

2.2.3.1 Flavonoid

Senyawa bioaktif salah satunya flavonoid terdapat pada daun sirsak. Senyawa flavonoid yang terdapat pada daun sirsak pada spektrum IR mengandung senyawa karbonil yang diduga adanya gugus OH dan termasuk senyawa dihidroflavanol yang dianggap mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Flavonoid mampu memecah membran sel bakteri sehingga isi yang ada didalamnya keluar membentuk senyawa kompleks antara protein ekstraseluler dan terlarut. Flavonoid mampu mengganggu metabolisme energi. Energi diperlukan dalam absorpsi senyawa dan sebagai biosintesis makromolekul, sehingga flavonoid akan menghambat metabolisme energi melalui proses respirasi (Sari *et al.*, 2017).

2.2.3.2 Fenol

Fenol merupakan senyawa toksik yang termasuk salah satu gugus dari acetogenin. Fenol digunakan untuk antibakteri dan antiseptik. Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri dengan koagulasi dan gagalnya fungsi pada mikroorganisme melalui perusakan dinding sel dan endapan protein sel mikroba (Sumantri *et al.*, 2014). Sebagai senyawa antibakteri pada konsentrasi rendah fenol dapat menyebabkan kebocoran pada inti sel karena rusaknya membran sitoplasma, pada kadar banyak fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Fenol mampu menghambat bakteri pada tahap pembelahan, karena pada saat itu lapisan fosfolipid pada keadaan super tipis menjadikan aktivitas tersebut sangat efektif (Ersita & Kardewi, 2016).

2.2.3.3 Tanin

Tanin termasuk astrigen, polifenol, membentuk rasa sepat, mampu mengikat, dan mengendapkan protein (Widiana *et al.*, 2011). Menurut Mawardi *et al.* (2016) menyatakan bahwa tanin tersusun dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal merupakan senyawa antioksidan biologis. Tanin pada makanan memiliki rasa sepat karena di dalam mulut membentuk kompleks protein serta tanin. Menurut Ersita & Kardewi (2016) menyatakan bahwa tanin secara medis memiliki manfaat sebagai antibakteri dengan kemampuan menginaktivasi senyawa yang melekat pada inang pada permukaan sel. Tanin dapat mengakibatkan hancurnya lapisan luar membran sel karena termasuk dalam senyawa fenol dengan target polipeptida dinding sel. Dinding sel bakteri mengalami kerusakan yang menyebabkan sel bakteri tanpa dinding sel atau biasa disebut

protoplasma. Hal ini akan mengakibatkan rusaknya membran sel dan mempengaruhi permeabilitas sel, menjadikan senyawa yang keluar masuk seperti nutrisi, air dan enzim tidak terseleksi. Keluarnya enzim dalam sel dapat menyebabkan hambatan metabolisme sel dan dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel akibat terhambatnya pembentukan ATP.

2.2.3.4 Saponin

Saponin adalah senyawa dengan struktur gugus OH banyak yang larut dalam pelarut polar dan semi polar (Kurniasih *et al.*, 2015). Saponin bersifat non polar dikarenakan memiliki gugus hidrofob yang merupakan aglikon (sapogenin) (Agustina *et al.*, 2017). Menurut Rahman *et al.* (2017) menyatakan bahwa saponin memiliki manfaat mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan menaikkan permeabilitas membran sel menyebabkan tidak stabilnya membran dan menjadikan hemolisis sel.

2.2.3.5 Alkaloid

Alkaloid adalah zat dasar yang mengandung nitrogen, yang berasal dari alam dan dengan distribusi terbatas, alkaloid memiliki struktur yang kompleks. Alkaloid sebagai senyawa siklik yang mengandung nitrogen dalam bilangan oksidatif negatif. Kebanyakan alkaloid mengandung oksigen. Karakter dasar alkaloid memungkinkan terbentuknya garam dengan asam mineral (hidroklorida, sulfat, nitrat) atau asam organik (tartrat, sulfamat, dan maleat). Tanaman yang mengandung alkaloid protoberberine dilaporkan dapat digunakan sebagai analgesik, antibakteri, antiseptik (Bribri, 2018). Menurut Rahmawati *et al.* (2017) bahwa alkaloid memiliki sifat basa yang dapat mempengaruhi kerja antibakteri. Alkaloid memiliki mekanisme menghambat enzi, reduktase dihidrofolat dalam sel sehingga dapat menghambat sintesis asam nukleat.

2.2.4 Manfaat Sirsak

Sirsak secara tradisional digunakan untuk menyembuhkan radang sendi dan demam. Baik buah dan biji dapat digunakan untuk mengobati infeksi parasit. Daunnya digunakan sebagai obat tradisional untuk hipoglikemia, peradangan, kejang. Daun tanaman sirsak dijuluki ‘pembunuh kanker’ karena digunakan dalam pengobatan tradisional dalam pengobatan kanker (Yajid *et al.*, 2018). Efek antikanker sirsak termasuk sitotoksitas, induksi apoptosis, nekrosis,

penghambatan proliferasi pada berbagai macam sel kanker termasuk payudara, prostat, kolorektal, paru-paru, leukimia, ginjal, pankreas, hati, mulut, melanoma, serviks dan ovarium (Rady *et al.*, 2018).

Secara empiris tanaman sirsak mampu digunakan untuk penyembuhan penyakit. Daun bermanfaat untuk sakit diare pada bayi, kandung kemih dan banyak mengandung Vitamin C. Di beberapa negara buah sirsak digunakan untuk penurunan tekanan darah sedangkan di Brazil digunakan sebagai anti reumatik. Buah sirsak berpotensi mengandung antioksidan. Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai anti spasmodik dan memberi efek menenangkan (Setyawati *et al.*, 2015). Rebusan daun sirsak efektif untuk menghilangkan kutu rambut dan kutu busuk. Selain itu, sirsak dapat bermanfaat sebagai antimikroba, antiinflamasi anti protozoan dan pengobatan untuk malaria, sakit kepala serta gigitan ular (Rady *et al.*, 2018).

Menurut Sari *et al.* (2010) menyatakan bahwa daun sirsak bermanfaat sebagai antibakteri dan kardiotonik. Antibakteri adalah senyawa yang mampu menghambat atau membunuh bakteri dengan penyebab infeksi. Infeksi diakibatkan mikroorganisme patogen salah satunya bakteri, dapat masuk ke jaringan tubuh dan mampu tumbuh pada jaringan. Bakteri yang mampu mengakibatkan infeksi adalah *S. aureus*. *S. aureus* menyebabkan empyema, endocarditis dan pneumonia. Enweani *et al.* (2004) menyatakan bahwa sirsak mampu digunakan sebagai obat gastroenteritis.

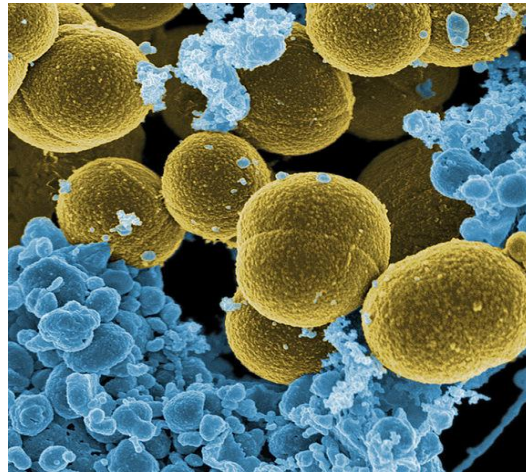
2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Deskripsi dan Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu patogen yang paling umum di seluruh dunia. *S. aureus* termasuk bakteri anaerob dengan sifat Gram positif berbentuk batang. Menurut Noldeka *et al.* (2018) bahwa *S. aureus* memiliki dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Staphylococci merupakan bagian dari bakteri umum tubuh di kulit, permukaan mukosa pernafasan, organ pencernaan bagian atas serta urogenital mamalia dan burung. *S. aureus* mampu mengakibatkan berbagai penyakit kulit ringan hingga infeksi berat seperti endocarditis, bakteremia, sindrom syok toksik dan pneumonia (Habib *et al.*, 2015).

S. aureus mempunyai sifat anaerob fakultatif, non spora, non motil oksidase negatif serta katalase positif. *S. aureus* mampu hidup dengan pH antara

4,2-9,3 dan suhu 6,5-45°C. Diameter koloni dapat mencapai 4 mm dalam waktu tumbuh 24 jam. *S.aureus* berbentuk bulat, menonjol, berkilau serta halus. Warna koloni *S.aureus* abu-abu sampai kuning keemasan. Warna kuning keemasan dan kuning jeruk yang ditampakkan *S.aureus* dikarenakan adanya pigmen lipochrom (Dewi, 2013). Dinding sel *S.aureus* tersusun atas asam tekoronat, beberapa molekul polisakarida dan asam teikoat (Sartika *et al.*, 2013).



Gambar 2.3 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Munculnya infeksi nosokomial sering disebut penyebab dari bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu infeksi yang diperoleh pasien setelah masuk rumah sakit. Beberapa jenis penyakit yang disebabkan *S.aureus* adalah dermatitis, mastitis, impetigo (Wikananda *et al.*, 2019). Selain itu, infeksi yang dapat ditimbulkan oleh *S.aureus* diantaranya meningitis, infeksi paru-paru, endocarditis, osteomyelitis, hematogen akut, keracunan makanan, kontaminasi pada luka dan infeksi folikel rambut (Hendriani *et al.*, 2016).

Menurut De Vos *et al* (2009), klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria

Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.3.2 Patogenitas dan Gambaran Klinis Bakteri *Staphylococcus aureus*

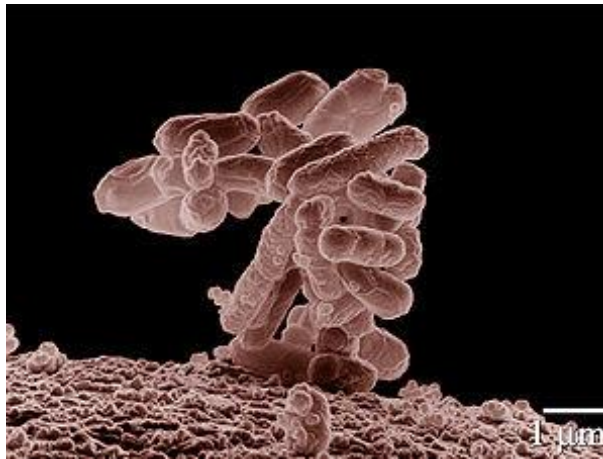
Staphylococcus aureus dapat menghasilkan enzim yang merupakan protein ekstraseluler yang mampu menggumpalkan plasma. Penyebab penggumpalan plasma disebabkan adanya protein yang sama dengan enzim bereaksi dengan oksalat atau sitrat. Aspek virulensi utama pada patogenitas *S.aureus* adalah kemampuan menggumpalkan plasma (Hayati *et al.*, 2019). *S. aureus* dapat memproduksi tujuh tipe enterotoksin yaitu: E, D, C2, C1, C, B dan A. Infeksi bakteri dapat disebabkan oleh faktor virulensi yaitu: permukaan protein mampu menaikkan kolonisasi pada inang (fibrinectin, adesi, hemagglutinin, protein A, glikoprotein); mendukung bakteri dalam penyebaran pada inang (hyaluronidase, leukocidin, kinase,); komponen permukaan yang menghambat proses pemakanan partikel (protein A, kapsul); komponen biokimia di dalam fagosit dapat meningkatkan ketahanan bakteri (produksi katalase, carotenoid); reaksi imunologis (coagulase, clotting factor, protein A); racun kerusakan membran (leukocidin, leukotoxin, hemolysin); racun pada jaringan menyebabkan kerusakan serta menjadi penyakit (ET, SEA-G, TSST) (Dewi, 2013).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan spesies bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat anaerob/aerob fakultatif, mampu memfermentasi laktosa untuk memproduksi gas serta asam suhu 35°C-37°C dan tidak membentuk spora. Menurut Gumbart *et al.*, (2014) bahwa *E. coli* termasuk gram negatif dengan memiliki dinding sel jaringan yang tipis antara membran dalam dan luar (peptidoglikan). Bentuk *E.coli* basil dengan diameter 0,5 µm dan panjang 2 µm. Volume sel berkisar antara 0.6-0.7 m³. Bakteri ini mampu tumbuh di suhu optimum 37°C dan pada rentang suhu 20-40°C (Sutiknowati, 2016). *E.coli* termasuk bakteri koliform

dengan flagela peritrikus dan fimbria (pili) dengan memiliki sifat motil. Bakteri *E.coli* memiliki kapsul yang tersusun atas asam polisakarida. Permukaannya terdiri dari fimbria, pili dan kapsul (Prasiddanti & Wahyuni, 2015). Fimbria adalah mikrofibil yang berupa rambut, permukaan hidrofobik dan reseptor spesifik. Fimbria tersusun dari gabungan monomer yang membentuk rantai dari membran plasma. Fimbria memiliki aktivitas yang fungsional antara lain evasin, agresin, lektin, pili seks dan adhesin (Amini, 2017).



Gambar 2.4 Morfologi Escherichia coli (Levinson, 2008)

Menurut Sukowati (2016), klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2.4.2 Patogenitas dan Gambaran Klinis Bakteri *Escherichia coli*

E.coli hidup pada tubuh sebagian besar pada saluran pencernaan hewan dan manusia, namun ada yang bersifat patogen menyebabkan diare pada manusia. Mekanisme infeksi dalam menimbulkan penyakit antara lain Enterotoxigenic *E.coli*

(ETEC), Enteropathogenic *E.coli* (EPEC), Enteroaggregative *E.coli* (EaggEC), Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) dan Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC) adalah sebagai berikut (Suwito & Andriani, 2018):

1. Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC): etec adalah pemicu diare pada bayi yang diakibatkan virulensi yang dihasilkan etec fimbria dan enterotoksin, toksin tahan panas serta toksin tidak tahan panas
2. Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) adalah kelompok yang mampu diidentifikasi dalam penyebab diare anak-anak serta bayi di Eropa. Mekanismenya yaitu EPEC melekat pada sel mukosa usus halus atau masuk dalam mukosa hingga menyebabkan mikrovili hilang sehingga terganggunya proses penyerapan dan terjadi diare.
3. Enteroaggregative *E.coli* (EaggEC) merupakan penyebab diare kronik dan akut pada orang-orang di negara berkembang dalam waktu lebih dari 14 hari. EaggEC menghasilkan *Heat stabil toxin* dan hemosilin, toxin yang dihasilkan dapat menyebabkan diare pada anak-anak karena menyatu pada mukosa lumen usus (Romadhon, 2016).
4. Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) dapat melakukan penetrasi di mukosa usus dan dapat memperbanyak pada usus besar. Akibat yang ditimbulkan pada mukosa usus dapat menyebabkan diare berdarah.
5. Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC) merupakan penyebab radang usus besar dan diare ringan. Penularan EHEC dapat melalui kontak langsung atau melalui makanan yang tidak higienis. Produksi sitotoksin oleh EHEC menyebabkan pendarahan dan peradangan di usus besar hingga menyebabkan *haemolytic uraemic syndrome* di anak-anak. Gejala yang ditimbulkan yaitu diare akut demam, kejang dan perlahan diare darah (Romadhon, 2016).

E.coli beberapa bersifat patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada saluran usus seperti diare dan lainnya. *E.coli* ditularkan melewati air serta makanan yang terkontaminasi, melalui kontak langsung dari manusia atau hewan yang dapat menyebabkan diare (Sumampouw, 2018). *E.coli* adalah patogen intestinal, bakteri komensal yang dapat menyebabkan infeksi meningitis, septicemia, urinarius dan traktus (Bakri *et al.*, 2015). Selain itu infeksi *E.coli* timbul pada saluran empedu, tempat-tempat di rongga perut dan saluran kemih (Suryati *et al.*, 2017).

2.5 Antibakteri

Bahan antimikrobal merupakan bahan yang dapat mengganggu metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Istilah umum yang sering digunakan adalah antibakterial untuk menyatakan penghambat pertumbuhan kelompok organisme yang khusus. Secara khusus beberapa bahan antimikrobal digunakan untuk mengobati infeksi biasa disebut bahan terapeutik. Antibiotik merupakan senyawa metabolit yang kadarnya sangat kecil dihasilkan oleh organisme tertentu seperti fungi dan bakteri mampu menghambat, dan merusak mikroorganisme lain. Pengertian lain antimikroba yaitu senyawa kimia yang dapat menghambat mikroorganisme lain yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Pelczar & Chan, 2014).

Menurut Utomo *et al.* (2018) bahwa senyawa antibakteri mampu mengatur pertumbuhan bakteri yang menyebabkan penyakit. Tujuan pengaturan tumbuhnya mikroorganisme yaitu menghalangi perusakan serta pembusukan bahan organisme, mencegah penyebaran infeksi pada inang yang terinfeksi. Menurut Pelczar & Chan (2014) bahwa antimikroba mampu menghambat dan menghancurkan mikroorganisme patogen yang tepat, memiliki spektrum luas dan efektif pada berbagai spesies, tanpa memunculkan dampak yang bukan diharapkan oleh inang, tidak mengakibatkan resistensi, memiliki kelarutan tinggi dalam alir tubuh, tidak melenyapkan flora mikroba normal pada inang.

Berdasarkan sifat antibakteri terdapat dua kelompok bakterisidal dan bakteriostatik. Bakterisidal merupakan aktivitas bakteri yang kemampuannya dapat membunuh bakteri (Sartika *et al.*, 2013). Obat bakterisidal memiliki reaksi antibakteri yang lebih kuat dan mampu membunuh bakteri. Sedangkan bakteriostatik merupakan aktivitas bakteri yang kemampuannya dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau menghambat germinasi spora bakteri. Antibiotik bakteriostatik membutuhkan sel fagosit untuk membersihkan bakteri karena itu dianggap kurang efektif dan efisien sebagai respon imun (Nemeth *et al.*, 2015).

2.6 Mekanisme Kerja Bahan Antibakteri

Secara umum mekanisme senyawa antibakteri dapat menghambat bakteri adalah sebagai berikut (Dewi *et al.*, 2014):

1. Mengubah Permeabilitas Membran

Mengubah permeabilitas sel yaitu dengan cara membran sitoplasma dibatasi oleh membran dengan permeabilitas selektif disebut membran sel yang terdiri dari fosfolipid dan protein. Cairan Membran mampu mengatur aliran keluar masuknya materi pada sel. Mekanisme pengantaran bahan-bahan dalam sel kemungkinan terdapat protein pembawa (carrier), enzim protein juga terdapat pada membrane sitoplasma untuk mensintesis peptidoglikan partikel membrane luar. Antimikroba dapat menimbulkan kerusakan membran sel, akibatnya mampu memicu kematian sel atau terhalangnya pertumbuhan sel.

2. Penghambatan Kerja Enzim

Penghambatan kerja enzim yaitu dengan cara enzim yang terdapat dalam sel memiliki potensi dalam kelangsungan metabolisme. Aktivitas enzim yang terhalang mampu mengakibatkan terganggunya mekanisme metabolisme atau menyebabkan matinya sel (Pelczar & Chan, 2014).

3. Perubahan Protein dan Asam Nukleat

Perubahan protein dan asam nukleat merupakan gangguan yang terjadi dalam fungsi atau pembentukan yang dapat mengakibatkan kerusakan sel yang tidak dapat diperbarui kembali. Antimikroba dapat menyebabkan denaturasi asam nukleat dan protein sehingga komponen yang vital ini tidak dapat diperbaiki kembali.

4. Menahan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Penghalangan sintesis asam nukleat dan protein dengan cara protein, DNA dan RNA pada mekanisme kehidupan sel memegang fungsi penting. Bahan antimikroba dapat menghambat sintesis protein. Gangguan apapun dalam penyusunan atau fungsi senyawa mampu menimbulkan kerusakan total pada sel.

5. Kerusakan Dinding Sel

Kerusakan dinding sel serta susunannya akibat terhambatnya proses pembentukan maupun perubahan setelah proses pembentukan. Bahan antimikroba pada konsentrasi rendah mampu menghalangi penyusunan ikatan

glikosida menjadikan terganggunya proses pembentukan sel. Kadar tinggi mampu menghambat pembentukan ikatan glikosida hingga mengakibatkan terhentinya proses pembentukan sel (Pelczar & Chan, 2014).

2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Senyawa Antibakteri

Aspek yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri ketika membasmi dan menghalangi mikroorganisme patogen. Beberapa aspek yang mampu menghalangi aktivitas antibakteri yaitu:

1. Jumlah organisme

Banyaknya mikroorganisme mampu membutuhkan durasi yang panjang untuk membunuhnya.

2. Konsentrasi atau Intensitas Zat Antibakteri

Semakin tinggi kadar semakin tinggi pula aktivitas antimikrobanya, maksudnya konsentrasi senyawa yang tinggi menyebabkan bakteri lebih cepat terbunuh

3. Suhu

Peningkatan keefektifan atau disinfektan atau bahan mikrobial dipengaruhi oleh kenaikan suhu. Hal ini dikarenakan mikroorganisme dapat rusak oleh senyawa kimia melewati reaksi kimia. Peningkatan suhu mampu mempercepat Laju reaksi kimia (Pelczar & Chan, 2014).

4. Keasaman (pH) atau Kebasaan (pOH)

Mikroorganisme dapat mudah dibasmi melalui pH asam dibanding pH basa serta suhu relatif rendah dalam durasi yang pendek.

5. Spesies Mikroorganisme

Setiap mikroba menampilkan kerentanan yang berbeda atas sarana fisik dan unsur kimia tertentu

6. Adanya bahan organik

Keefektifan unsur kimia antimikrobial mampu menurun dengan nyata karena adanya bahan organik asing. Campuran bahan organik pada disinfektan mikroorganisme dapat menciptakan efek yang tidak bersifat mikrobisidal, membentuk endapan, menjadikan mikroorganisme tidak diikat oleh disinfektan, endapan senyawa organik mampu melapisi permukaan mikroorganisme, merusak hubungan antara sel dan disinfektan (Pelczar & Chan, 2014).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong deskriptif kualitatif serta kuantitatif. Kualitatif berupa eksplorasi terkait isolasi serta karakterisasi fungi endofit dari daun Sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil dari kebun di Dusun Putuk Rejo, Wadung, Pakisaji, Malang serta uji senyawa metabolit fungi endofit dari daun tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.). Kuantitatif dengan pengujian isolat fungi endofit untuk melihat aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di bulan September sampai dengan Maret 2021. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah oven, deck glass, inkubator, mikroskop binokuler, laminar air flow (LAF), vortex, botol flakon, shaker inkubator, gelas ukur, timbangan analitik, cawan petri, hotplate, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, autoklaf, magnet stirer, pinset, aluminium foil, corong pisah, obyek glass, Erlenmeyer 250 mL, oven, jangka sorong digital, pimes, corong pemisah, korek api, mikropipet, bunsen dan *rotary vacuum evaporator*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.), isolat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, PDA (*Potato Dextruse Agar*), media NA (*Nutrient Agar*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), PDB (*Potatoes Deextrose Broth*), kapas, aquades steril dan non steril, pelarut etil asetat, alkohol 70%, HCl 2%, pita Mg, kloramfenikol, FeCl₃ 1%, kertas saring whatman, natrium hipoklorit (NaOCl) 4%, kertas cakram dan antibiotik kloramfenikol.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan dicuci hingga bersih setelah itu dikeringkan. Alat yang akan disterilkan ditutup kapas berlapis kain kasa kemudian dilapisi kertas. Alat disterilkan dengan autoklaf dengan tekanan 1 atm, selama 15 menit serta suhu 121°C (Lestari *et al.*, 2019).

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Penelitian ini menggunakan media *Potato Dextrose Agar* dalam menumbuhkan fungi endofit. Pembuatan media dengan cara ditimbang 38 gram PDA dengan ditambahkan kloramfenikol 0,1 gram dan dilarutkan aquades sebanyak 1000 mL. Dipanaskan sampai mendidih kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Rianto *et al.*, 2018).

3.4.2.2 Media PDY (*Potato Dextrose Yeast*)

Media PDB ditimbang sebesar 24 gram dan 2 gram untuk media YE (*Yeast Extract*) dengan penambahan akuades sebanyak 1000 ml. Kemudian dilarutkan sampai mendidih memakai hotplate dan magnet stirer. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf dengan tekanan 1 atm, suhu 121°C, selama 15 menit (Mutmainah, 2017).

3.4.2.3 Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA (*Nutrient Agar*) ditimbang sebesar 28 gram dan dilarutkan dengan aquades 1 Liter sampai homogen. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Jannah *et al.*, 2017).

3.4.2.4 Media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

MHA diperlukan dalam pengujian antibakteri dari supernatant hasil fermentasi fungi endofit dengan cara ditimbang sebanyak 38 gram dengan dilarutkan aquades sebanyak 1 Liter, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Media disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit suhu 121°C. (Pratiwi, 2017).

3.4.3 Isolasi Fungi Endofit dari Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Isolasi fungi endofit pertama dilakukan pengambilan daun sirsak di area perkebunan. Diambil daun sirsak dewasa yang memiliki warna gelap, tidak berpenyakit dan terletak pada urutan ke 8. Setelah itu, disterilisasi permukaan

daun sirsak dengan dicuci secara menyeluruh menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Daun sirsak dikeringkan dan dipotong berbentuk persegi ukuran 1 x 1 cm. Selanjutnya, daun sirsak direndam selama 1 menit dengan alkohol 70%, NaOCl 4% selama 3 menit, alkohol 70% selama 1 menit. Setelah itu, daun sirsak direndam dengan aquades steril sebanyak tiga kali selama 1 menit (Manogaran *et al.*, 2017).

Daun sirsak dikeringkan dengan tissue steril (Ramadhani *et al.*, 2017). Kemudian, potongan daun sirsak diinokulasikan pada media PDA sebanyak 3 potongan dalam cawan petri dan diinkubasi selama 7 hari dalam suhu ruangan. Sebagai kontrol, diinokulasikan aquades steril bilasan terakhir pada media PDA (Rianto *et al.*, 2018). Isolasi fungi endofit dilakukan dengan metode tanam langsung (Sinaga *et al.*, 2009).

3.4.4 Pemurnian Fungi Endofit

Pemurnian ini dilakukan untuk memisahkan koloni fungi endofit hingga diperoleh isolat fungi endofit murni. Fungi endofit yang didapatkan dari hasil isolasi daun sirsak terdapat 3 macam dengan memiliki ciri makroskopis yang berbeda. Fungi endofit yang memiliki ciri morfologi makroskopis berbeda dilakukan pemurnian kembali sampai dihasilkan biakan murni (Ramadhani *et al.*, 2017). Setelah itu, ketiga fungi endofit diinokulasikan dengan ose steril pada media PDA yang baru serta diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (Reckow *et al.*, 2016). Hasil inokulasi merupakan biakan murni fungi endofit.

3.4.5 Karakterisasi Isolat Fungi Endofit

Fungi endofit hasil pemurnian terdapat 3 macam dengan diberi kode IDS 1, IDS 2 dan IDS 3. Selanjutnya, ketiga fungi endofit dikarakterisasi sesuai ciri makroskopis maupun mikroskopis. Ciri makroskopis diamati secara langsung warna permukaan atas, tekstur (granular, seperti tepung, seperti beludru dan seperti kapas), diameter pertumbuhan fungi, warna permukaan bawah dan tepi koloni, (Suhartinaa *et al.*, 2018). Ciri mikroskopis diamati dengan mikroskop binokuler seperti ada tidaknya septa pada hifa, pertumbuhan hifa bercabang atau tidak, warna hifa, konidiofor dan konidia fungi endofit (Jariwala & Binita, 2018; Ramadhani *et al.*, 2017). Identifikasi fungi endofit secara mikroskopis dilakukan dengan metode *slide culture* (Ramadhani *et al.*, 2017). Menurut Valencia & Meitiniarti (2017)

metode *slide culture* dilakukan dengan alat dan bahan yang terdiri dari gelas objek, batang penahan, gelas objek, gelas penutup dan kapas yang telah disterilkan sebelumnya. Media PDA diletakkan pada gelas objek kemudian fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 diinokulasikan pada media PDA pada keempat sisi. Gelas objek ditutup dengan gelas penutup dan diletakkan didalam cawan petri yang diberi kapas dan diberi batang gelas sebagai penahan. Kapas ditetesi sedikit aquades steril dan diletakkan pada bagian kiri kanan gelas objek dalam cawan petri untuk menjaga kelembaban di dalam cawan petri. Kemudian di inkubasi dengan suhu ruang selama 3-5 hari. Hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 dikarakterisasi sesuai dengan buku identifikasi fungi *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi* (Watanabe, 2002) dan *Descriptions Of Medical Fungi Third Edition* (Kidd *et al.*, 2016).

3.4.6 Uji Fungi Endofit Penghasil Metabolit Sekunder

3.4.6.1 Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Isolat Fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 ditumbuhkan pada media cair PDB. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Bobot fungi endofit diukur setiap 1 hari. Media PDB yang terdapat miselia disaring dengan kertas saring Whatman No.1 dan dikeringkan dalam oven suhu 80°C selama 24 jam. Setelah itu, didiamkan pada suhu ruang sampai berat stabil. Setelah berat stabil, dilakukan penimbangan dengan beberapa kali ulangan. Berat kering miselia dihitung melalui selisih kertas saring berisi miselia dengan kertas saring kosong (Andhikawati *et al.*, 2014). Selanjutnya dapat dibentuk kurva pertumbuhan berdasarkan berat miselia sebagai sumbu (y) dengan waktu pengambilan kultur fungi (x).

3.4.6.2 Fermentasi Fungi Endofit

Fermentasi fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 menggunakan media *Potato Dextrose Borth* (PDB). Fermentasi diperlukan untuk menghasilkan senyawa metabolit dari isolat fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 (Rianto *et al.*, 2018). Fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 yang telah diinkubasi selama 7 hari diambil 3 potongan pada bagian tepi fungi yang sedang mengalami pertumbuhan dengan menggunakan jarum ose. Selanjutnya diinokulasikan pada media PDB sebanyak 50 mL dalam labu erlenmeyer 250 ml. Kultur fungi endofit difermentasi menggunakan shaker inkubator dengan kecepatan 170 rpm (kocokan/permenit) dengan suhu

ruang lama fermentasi sesuai dengan hasil kurva pertumbuhan masing – masing isolat fungi endofit yaitu fase stasioner akhir (Kumala & Hayatul, 2013). Menggunakan shaker inkubator hal ini bertujuan agar pertumbuhan fungi pada media dapat lebih homogen. Tujuan penggunaan shaker inkubator saat fermentasi adalah untuk mengatur pertumbuhan fungi agar lebih homogen pada media, untuk menjaga aerasi dan agitasi. Agitasi bertujuan untuk meningkatkan homogenitas suhu, mempertahankan homogenitas konsentrasi nutrisi dan meningkatkan suplai oksigen pada medium. Sedangkan aerasi dibutuhkan untuk mensuplai oksigen fungi endofit (Kursia *et al.*, 2017). Lama fermentasi IDS 1 selama 7 hari, IDS 2 selama 7 hari dan IDS 3 selama 10 hari. Setelah proses fermentasi, fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 dilakukan ekstraksi dengan perbandingan kultur dan pelarut etil asetat 1:1 v/v. Ekstraksi dapat dilakukan dengan memisahkan media fermentasi dengan miselia menggunakan kertas saring. Selanjutnya, media fermentasi disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan antara pelet dan supernatant. Kemudian, supernatant dicampurkan dengan pelarut etil asetat dan dikocok dengan corong pemisah (Mukhlis *et al.*, 2018). Setelah dikocok, didiamkan sampai terbentuk dua lapisan, lapisan atas (etil asetat dan ekstrak fungi) dipisahkan dan lapisan bawah (fraksi air) di ekstraksi kembali dengan pelarut etil asetat dan dikocok sebanyak 3 kali. Selanjutnya ekstrak fungi endofit diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator*. Ekstrak kental IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 yang diperoleh akan diidentifikasi senyawa metabolit sekunder (Hasiani *et al.*, 2015).

3.4.6.3 Identifikasi Senyawa metabolit sekunder

Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode kualitatif diantaranya sebagai berikut (Harborne, 1987):

a. Uji alkaloid

Pengujian golongan alkaloid dengan cara ekstrak pekat 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3-5 tetes pereaksi *Dragendroff*. Reaksi Positif terjadi apabila terbentuk endapan coklat atau jingga.

b. Uji Flavonoid

Pengujian golongan flavonoid dengan cara ekstrak pekat 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1-2 ml methanol panas, lalu ditambahkan serbuk logam Mg. Selanjutnya ditambahkan 0,5 ml HCL pekat.

Apabila menghasilkan warna merah atau jingga, maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

c. Uji Tanin

Pengujian golongan tannin dengan cara ekstrak pekat 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes aquades panas. Didinginkan dan disaring, kemudian ditambahkan 3 tetes NaCl 10%, dan disaring. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes FeCl₃. Apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka sampel dinyatakan positif mengandung tanin.

d. Uji Saponin dengan metode froth

Pengujian golongan saponin dengan cara ekstrak pekat 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquades dan dikocok selama 30 detik. Jika menimbulkan busa dan tidak hilang 30 detik, maka ekstrak positif mengandung saponin. Untuk mempertahankan busa bisa ditambahkan HCL 1 M.

e. Uji Fenol

Pengujian golongan fenol dengan cara ekstrak pekat 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1 %. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

3.4.7 Persiapan Bakteri Uji

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat dengan cara diambil bakteri sebanyak 1 ose yang mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* digoreskan secara aseptis pada media NA (*Nutrient Agar*) agar miring pada tabung reaksi dengan mendekatkan tabung pada nyala api Bunsen saat menggoreskan jarum ose. Kemudian, tabung reaksi ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator (Mutmainah, 2017). Biakan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dalam media miring diambil secara aseptik sebanyak satu ose, kemudian dimasukkan dalam 12 mL media NB (*Nutrient Borth*) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi 24 jam bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diseker hingga homogen (Muharni *et al.*, 2017).

3.4.8 Uji Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

MHA (*Mueller Hinton Agar*) merupakan media yang dibutuhkan bakteri dalam pengujian antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan metode

Kirby-Bauer (kertas cakram). Sebelumnya, setiap kertas cakram kosong disterilkan dengan dipanaskan pada oven selama 15 menit dengan suhu 70°C (Mutmainah *et al.*, 2017). Kertas cakram direndam dalam larutan uji ekstrak etil asetat IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 sebanyak 50 µl (Rosalina *et al.*, 2018). Bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dituangkan sebanyak 100 µl dan ditambahkan media MHA dalam cawan petri sebanyak 20 ml. Didiamkan hingga media padat dengan dihomogenkan membentuk angka 8. Kertas cakram diinokulasikan pada permukaan media yang terdapat bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* (Kursia *et al.*, 2018). Kertas cakram yang diinokulasikan pada permukaan media sebanyak 4 buah dengan jarak yang tidak terlalu dekat antara masing-masing kertas cakram (Mutmainah *et al.*, 2017). Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif sebesar 50 mg/ml aquades (Kursia *et al.*, 2018). Aquades steril sebagai kontrol negatif (Mukhlis *et al.*, 2018). Selanjutnya, selama 24 jam diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Pengukuran zona bening pada media padat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan menjadi petunjuk ada atau tidaknya bakteri yang tumbuh pada setiap perlakuan (Novaryatiin *et al.*, 2018).

3.4.9 Pengukuran Zona Hambat

Rumus perhitungan diameter zona hambat sebagai berikut (Mutmainah, 2017):

$$Lz = Lav - Ld$$

Dimana Lz: Diameter zona hambat (mm)
 Lav: Diameter zona hambat dengan kertas
 Ld: Diameter kertas saring (mm)

3.4.10 Analisis Data

Data hasil isolasi dan karakterisasi fungi endofit dianalisa secara deskriptif berdasarkan karakter mikroskopis dan makroskopis. Data kuantitatif yang diperoleh dari hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis menggunakan Uji Normalitas, Uji ANOVA (*One Way Anova*) apabila hasil menunjukkan perlakuan berbeda nyata maka dilakukan uji perbandingan berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range*

Test), analisis dilakukan pada selang kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) menggunakan program SPSS16.

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Fungi Endofit Hasil Isolasi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Fungi endofit yang berhasil diisolasi dan dimurnikan dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) berjumlah 3 isolat dengan memiliki karakter morfologi yang berbeda-beda. Ketiga isolat yang didapatkan diberi kode IDS1, IDS2 dan IDS3. Karakteristik fungi yang berbeda menunjukkan keanekaragaman fungi endofit dari tanaman inang daun sirsak. Keanekaragaman fungi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu: jenis jaringan tempat hidup fungi endofit dan tempat hidup dari tanaman inang. Menurut Sopialena *et al.* (2018) bahwa Keanekaragaman fungi dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Faktor abiotik seperti spesies tanaman inang dan tipe organ tanaman merupakan faktor utama yang mempengaruhi keanekaragaman fungi endofit. Menurut Zulkifli *et al.* (2018) bahwa fungi endofit masuk dalam tubuh tanaman melalui akar, batang, kotiledon, bunga dan daun kemudian menyebar dan masuk ruang interseluler ataupun jaringan vascular. Daun merupakan organ tumbuhan yang dapat menjalankan sintesis senyawa organik atau fotosintesis (Putri *et al.*, 2018). Sebagian besar spesies *Annona* dilaporkan memiliki mesofil dorsiventral yang kaya akan kloroplas (Peldan & Meesawat, 2019). Kloroplas merupakan tempat penyimpanan pigmen klorofil (Putri *et al.*, 2018).

Penelitian ini menggunakan organ tanaman daun yang tua hal ini sesuai dengan penelitian Peldan & Meesawat (2019) bahwa kandungan klorofil yang tinggi terletak pada daun yang tua yaitu daun yang ke 8. Kandungan klorofil merupakan faktor penting untuk menentukan keberhasilan fotosintesis. Menurut Afandhi *et al.* (2018) bahwa semakin tinggi kandungan klorofil pada daun semakin tinggi tingkat fotosintesis sehingga dapat menghasilkan sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh fungi endofit. Fungi endofit dapat memanfaatkan sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangannya secara efisien tanpa mengakibatkan dampak negatif bagi kelangsungan hidup tanaman sirsak.

Fungi endofit daun sirsak secara makroskopis dan mikroskopis memiliki morfologi yang berbeda-beda **Tabel 4.1** Ketiga isolat fungi endofit diduga masuk kedalam divisi yang berbeda – beda. Isolat fungi endofit dengan kode IDS 1 diduga termasuk dalam divisi Zygomycota, isolat fungi endofit dengan kode IDS 2 dan

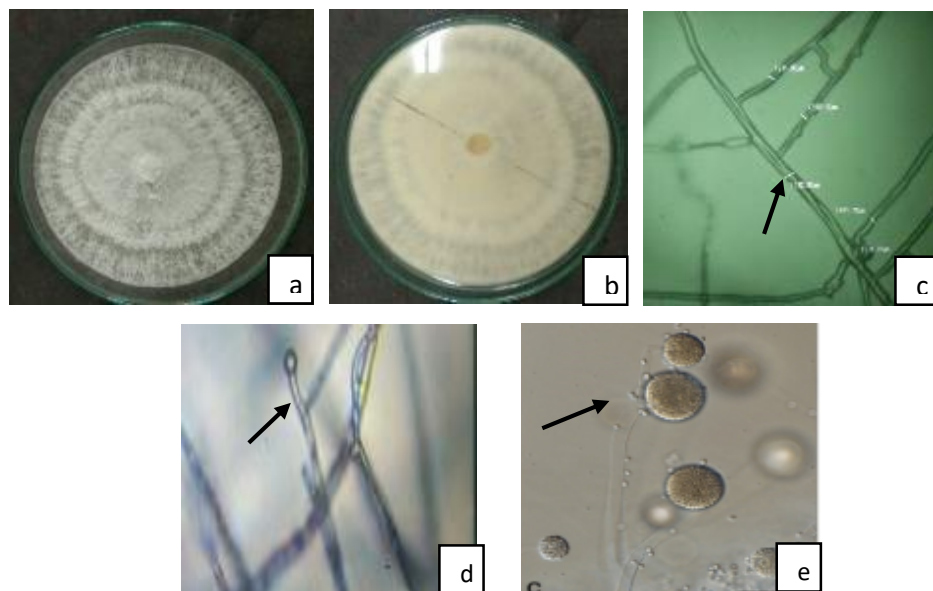
IDS 3 termasuk dalam divisi Ascomycota. Menurut Gioia *et al.* (2020) bahwa setiap tumbuhan terdapat fungi endofit, sebagian besar merupakan anggota divisi Ascomycota, namun ada beberapa dari divisi Zygomycota, Basidiomycota dan Oomycota.

Tabel 4.1 Karakter Morfologi Fungi Endofit dari Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Kode Isolat	IDS1	IDS2	IDS3
Karakter			
Bentuk	Beraturan	Beraturan	Tidak beraturan
Tekstur	Halus, seperti kapas	floccous	Glabrous
Pola	Menyebar	Menyebar	Menyebar
Garis Radial (Ada/Tidak)	Tidak Ada	Ada	Tidak ada
Lingkaran Konsentris (Ada/Tidak)	Ada	Tidak ada	Tidak ada
Warna Koloni			
Atas	Putih	Hijau keabuan	Tengah cream, tepi Kehitaman
Bawah	Putih kekuningan	Hijau tua	Hitam
Permukaan	Hifa aerial, Miselium halus seperti kapas	Hifa aerial, Miselium halus seperti belurdru	Kasar, Berkerut halus
Diameter (cm)	9,7	8.9	6,3
Tepi	Beraturan (regular)	Beraturan (regular)	Tidak beraturan (irregular)
Hifa	Tidak bersekat (SENOSITIK)	Bersekat	Bersekat
Konidia			
Bentuk	Bulat	Bulat	Lonjong
Warna	Hijau	Hijau	Hijau
Dugaan Divisi	Zygomycota	Ascomycota	Ascomycota

4.1.1 Isolat Fungi IDS 1

Gambar 4.1 a dan **b** merupakan hasil pengamatan makroskopis fungi endofit IDS 1 yang berumur 7 hari setelah inokulasi. Isolat IDS 1 memiliki bentuk koloni beraturan, dengan tekstur berserabut, permukaan miselium halus, seperti kapas. Warna koloni bagian atas putih dan bagian belakang putih kekuningan. Isolat fungi IDS 1 memiliki diameter 9,7 cm. Isolat IDS 1 memiliki lingkaran konsentris dengan tepi permukaan beraturan. Menurut Spatafora *et al.* (2016) golongan zygomycota memiliki ciri – ciri tesktur fungi berserabut, golongan ini juga memiliki fungi dengan pertumbuhan yang cepat. Menurut Kidd *et al.* (2016), koloni fungi golongan zygomycota berwarna putih dengan tekstur halus (downy).



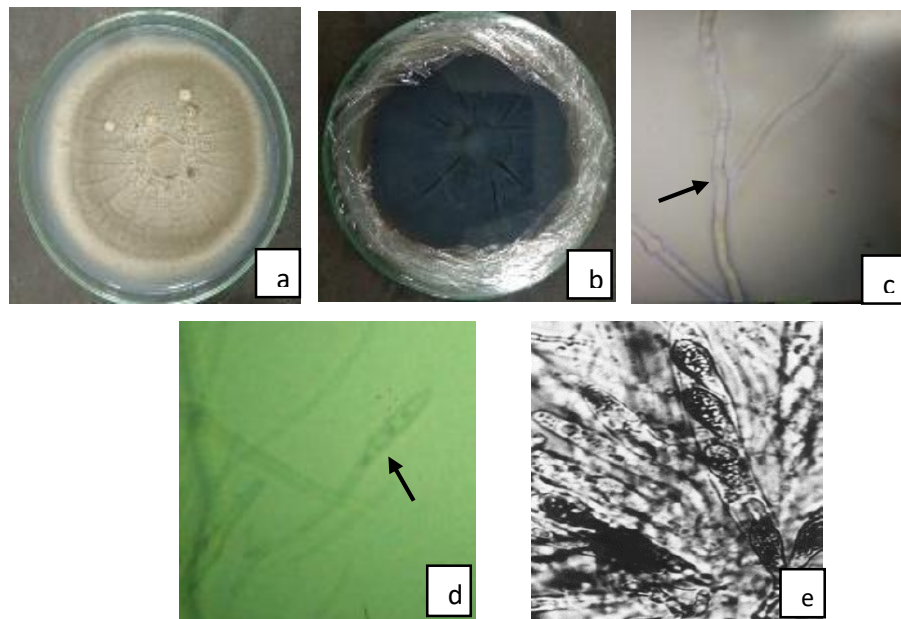
Gambar 4.1 Morfologi fungi endofit daun sirih berdasarkan pengamatan a) permukaan koloni isolat IDS 1 bagian depan, b) permukaan koloni IDS 1 bagian belakang, c) septum hifa perbesaran 400x, d) sporangiospora, e) sporangiospora divisi zygomycota (Walther *et al*, 2019).

Gambar 4.1 c merupakan hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit IDS 1 dengan perbesaran 400x yang berumur 7 hari. Isolat Fungi IDS 1 memiliki hifa tidak berseptat. **Gambar 4.1 d** merupakan sporangiospora hasil pengamatan mikroskopis isolat fungi endofit IDS 1. Menurut White *et al.* (2006) anggota zygomycota sebagian besar siklus hidupnya memiliki hifa aseptat coenocytic. Menurut Webster & Weber (2007) fungi golongan zygomycota memiliki reproduksi aseksual dengan aplanospora (sporangiospora) yang terdapat dalam sporangia berbentuk bulat, yang disangga sendiri-sendiri pada ujung sporangiofor atau pada cabang sporangiofor.

4.1.2 Isolat Fungi IDS 2

Gambar 4.2 a dan **b** merupakan hasil pengamatan makroskopis fungi endofit IDS 2 yang berumur 7 hari setelah inokulasi. Isolat IDS 2 memiliki bentuk koloni beraturan, tipe pertumbuhan koloni menyebar, tekstur berserabut, serta permukaan miselium halus seperti beludru. Warna koloni IDS 2 bagian atas hijau keabuan dan bagian belakang hijau tua kehitaman. Koloni IDS 2 memiliki diameter 8,9 cm. Isolat ini memiliki garis radial dengan tepi beraturan. Menurut Kidd *et al.* (2016) fungi golongan Ascomycota memiliki tekstur *floccose* (berserabut) dengan permukaan halus. Isolat fungi IDS 2 memiliki warna yang beragam, semula

miselium berwarna putih kemudian akan berubah menjadi warna coklat kekuningan, hijau atau kehitaman.



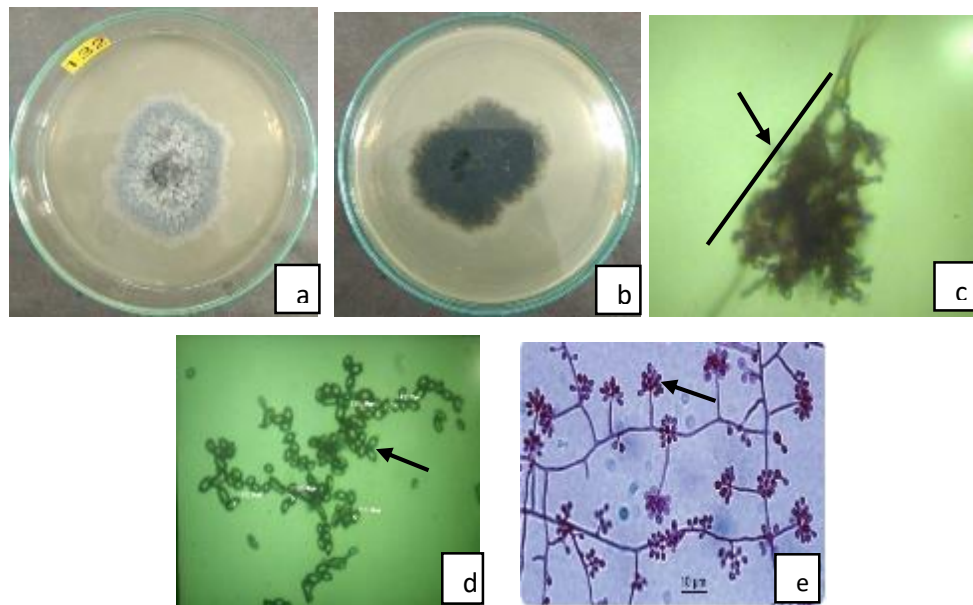
Gambar 4.2 Morfologi fungi endofit daun sirsak berdasarkan pengamatan a) permukaan koloni isolat IDS 2 bagian depan, b) permukaan koloni IDS 2 bagian belakang, c) septum hifa perbesaran 400x, d) Ascospora IDS 2 perbesaran 400x e) Ascospora Ascomycota (Watanabe, 2002)

Gambar 4.2 c merupakan hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit IDS 2 dengan perbesaran 400 X yang menunjukkan hifa bersekat dengan diameter antara 18 – 27 μm . Hifa isolat IDS 2 memiliki cabang dan berwarna hijau. Menurut Roberson *et al.* (2010) golongan Ascomycota sering disebut Fungi berseptat. Umumnya pori sekat sentral yang sederhana terdapat pada anggota Ascomycota. **Gambar 4.2 d** menunjukkan adanya ascospora pada hasil pengamatan mikroskopis fungi IDS 2. Menurut Taylor *et al.* (2004) anggota Ascomycota dapat membuat spora secara seksual (askospora).

4.1.3 Isolat Fungi IDS 3

Gambar 4.3 a dan b merupakan hasil pengamatan makroskopis fungi endofit IDS 3 yang berumur 7 hari setelah inokulasi. Isolat IDS 3 memiliki bentuk koloni yang tidak beraturan dengan tekstur kasar permukaan *glabrous* dengan pola menyebar. Warna koloni IDS 3 bagian depan cream kehitaman dan bagian belakang hitam. Koloni IDS 3 memiliki diameter terpendek diantara isolat yang lainnya yaitu 6,3 cm. Menurut Ortiz & Gabaldon (2019) dua pertiga spesies Fungi golongan

Ascomycota memiliki tekstur yang kasar. Menurut Kidd *et al.* (2016) salah satu golongan Ascomycota genus *Sporothrix* memiliki pertumbuhan yang lambat dibanding dengan jenis lain. Koloni ini memiliki permukaan yang lembab dan gundul dengan permukaan keriput dan berlipat. Warna koloni yang dihasilkan bervariasi dari putih, cream hingga hitam. Koloni ini seperti ragi yang terdiri dari sel ragi bertunas dengan berbentuk bulat atau oval. Hal ini yang menjadikan koloni IDS 3 termasuk fungi yang memiliki tekstur kasar.



Gambar 4.3 Morfologi fungi endofit daun sirih berdasarkan pengamatan a) permukaan koloni isolat IDS 3 bagian depan, b) permukaan koloni IDS 3 bagian belakang, c) konidia 400x, d) spora IDS 3, e) konidia divisi Ascomycota (Kidd *et al.*, 2016)

Gambar 4.3 c menunjukkan hasil pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 400 X menunjukkan konidispore sebagai alat reproduksi aseksual (*Anamorf*). Sedangkan **Gambar 4.3 d** menunjukkan konidia yang berbentuk lonjong dengan diameter antara 1,94 – 3,08 μm . Fungi IDS 3 memiliki Konidia berbentuk menyerupai bunga yang terletak pada ujung konidiofor. Kidd *et al.* (2016) fungi divisi Ascomycota memiliki kepala konidia yang padat dan konidiofor memiliki batang yang tipis. Konidia terbentuk dalam kelompok di puncak konidiofor yang susunannya menyerupai bunga. Konidia Ascomycota memiliki bentuk bulat telur atau memanjang dengan diameter 3-6 μm x 2-3 μm .

Berdasarkan **Tabel 4.1** dapat diketahui bahwa setiap morfologi fungi endofit memiliki kenampakan yang berbeda – beda, baik dari permukaan bagian atas maupun bagian bawah. Setiap fungi endofit yang berhasil diisolasi ini memiliki ciri khas sendiri – sendiri. Keberadaan fungi endofit sebenarnya telah dijelaskan dalam Q.S Ar-Ruum (30) ayat 19 yaitu sebagai berikut:

يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَيُحْيِي الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَكَذَلِكَ تُخْرَجُونَ

Artinya: *“Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup dan menghidupkan bumi setelah mati (kering). Dan seperti itulah kamu akan dikeluarkan (dari kubur)”*. (Q.S Ar-Ruum 30:19).

Penggunaan kata *yukhrij/* mengeluarkan yang mendampingi kata *al-hayy/* yang hidup dan *almayyit/* yang mati. Dia mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan terus – menerus, tidak hanya di bumi dan di angkasa, bahkan proses kehidupan dan kematian bukan saja terlihat pada tumbuh – tumbuhan melainkan antar sesama manusia, melalui ayat Allah SWT memperingatkan manusia agar menyadari bahwa demikian itu pula kelak manusia akan dibangkitkan setelah kematian.

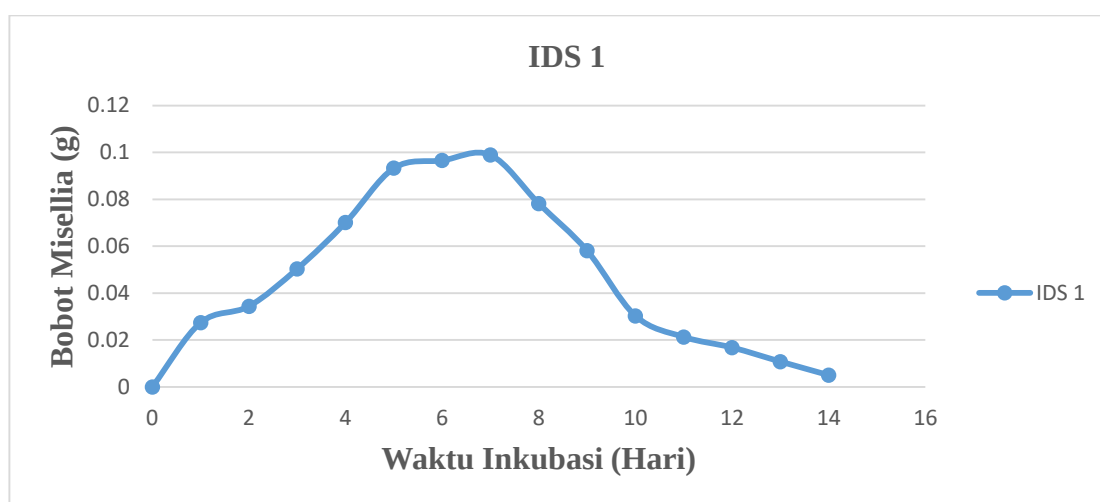
Menurut Tafsir Al-Maraghi juz 21 (1989: 65-66) menafsirkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dari hal – hal yang berbeda, mengisyaratkan bahwa proses kehidupan dan kematian itu berjalan secara terus – menerus, tidak berhenti di bumi dan di angkasa. Dia mengeluarkan manusia dari asal nutfah dan unggas dari asal telur. Sebagaimana Dia mampu pula untuk menciptakan sebaliknya, maka untuk itu Dia mengeluarkan nutfah dari manusia dan telur dari unggas. Bukan saja terlihat pada antar manusia melainkan tumbuh-tumbuhan. Hal ini terkandung bukti yang menunjukkan akan kesempurnaan dari Kekuasaan-Nya dan keindahan ciptaan-Nya.

Melalui penafsiran Q.S Ar-Ruum (30):19 dengan didukung Tafsir Al-Maraghi juz 21 (1989: 65-65) memperingatkan manusia sekaligus memberikan pembelajaran mengenai kehidupan dan kematian. Peristiwa ini hampir sama dengan fungi endofit yang diambil dari daun sirsak, sehingga keuntungan yang didapatkan adalah ketidakharusan manusia dalam menggunakan daun sirsak secara langsung dalam jumlah yang sangat besar, akan tetapi dengan memanfaatkan mikroorganisme yang hidup didalamnya, dengan begitu manusia tidak perlu

khawatir apabila masa hidup tumbuhan tergantung dengan musim atau faktor yang lainnya.

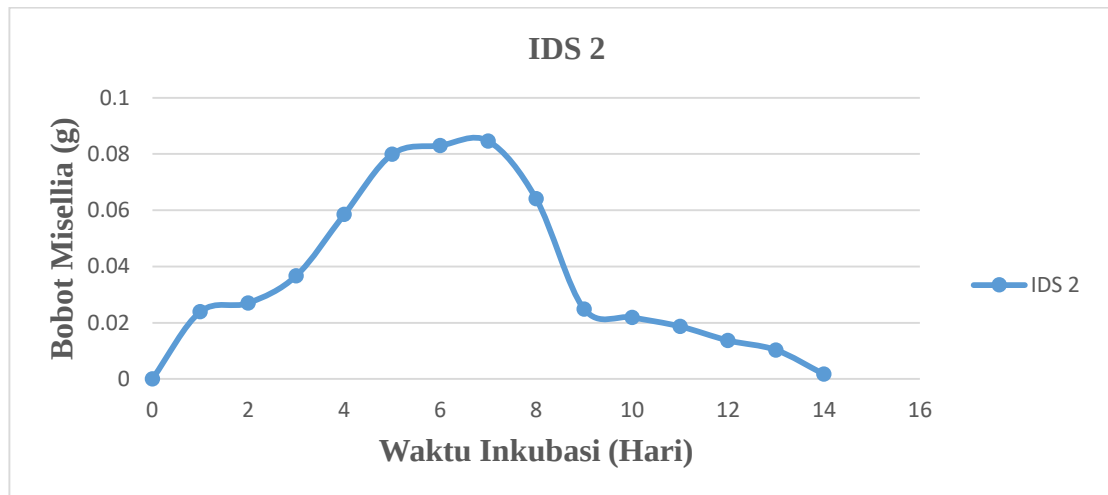
4.1.4 Pertumbuhan Fungi Endofit Hasil Isolasi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Pertumbuhan isolat fungi endofit IDS 1, IDS 2 dan IDS 3 diukur untuk mengetahui laju pertumbuhan fungi, yaitu dengan membuat kurva pertumbuhan sehingga dapat diketahui fase-fase pertumbuhan dari semua isolat fungi endofit pada media biakan. Berikut ini adalah kurva pertumbuhan dari setiap isolat fungi endofit daun sirsak.



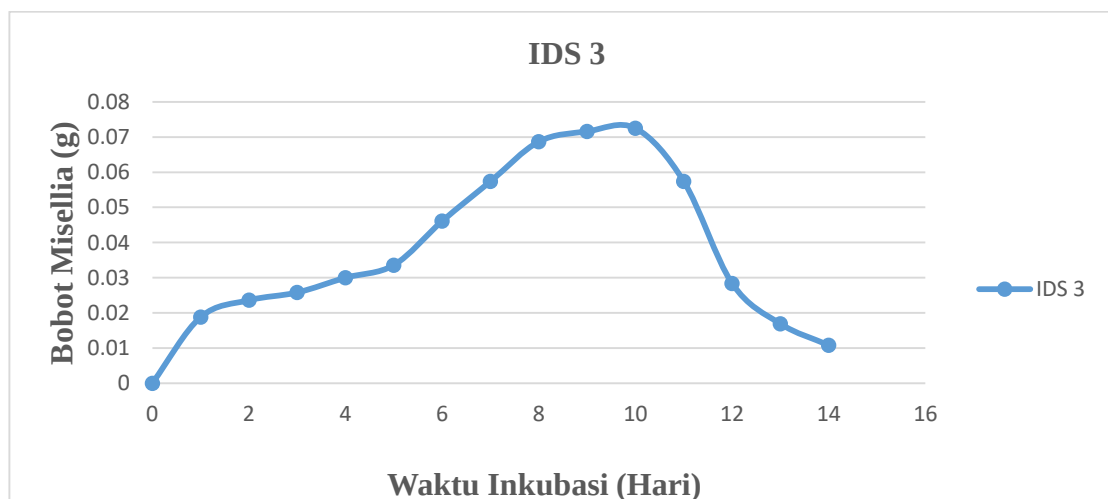
Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 1

Berdasarkan **Gambar 4.4** menunjukkan bahwa waktu inkubasi mempunyai hubungan yang erat dengan fase pertumbuhan fungi dapat diketahui melalui bentuk kurva fungi endofit IDS 1. Berdasarkan kurva tersebut IDS 1 mengalami fase eksponensial pada hari ke-1 sampai hari ke 5, hal ini dapat terlihat pada kurva pertumbuhan menunjukkan perbanyakan sel sehingga kurva meningkat pada hari tersebut. Setelah itu, IDS 1 memasuki fase stasioner yaitu pada hari ke-5 sampai hari ke-7, dan setelah hari ke-7 pertumbuhan fungi endofit IDS 1 memasuki fase kematian. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut fase stasioner akhir terjadi pada hari ke 7.



Gambar 4.5 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 2

Kurva pertumbuhan fungi endofit IDS 2 pada hari ke-1 sampai hari ke-5 mengalami fase eksponensial yang ditandai dengan adanya kenaikan kurva akibat peningkatan jumlah sel. Setelah hari ke-5 sampai dengan hari ke-7 fungi endofit masuk ke fase stasioner dengan ditandai dengan kurva membentuk garis lurus. Hari ke-7 sampai hari ke-14 fungi endofit masuk ke fase kematian yang ditandai dengan penurunan kurva pertumbuhan. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut pada hari ke-10 diketahui terjadi fase stasioner akhir.



Gambar 4.6 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit IDS 3

Kurva pertumbuhan IDS 3 menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-1 sampai hari ke-8. Setelah hari ke-8 sampai hari ke-10 pertumbuhan IDS 3 mengalami fase stasioner yang ditandai dengan garis horizontal, dan setelah hari ke-10 fungi mengalami fase kematian yang ditandai dengan penurunan pada kurva. Berdasarkan kurva pertumbuhan fase stasioner akhir terjadi pada hari ke-10.

Pada Penelitian ini, pemanenan fungi endofit dilakukan pada fase stasioner akhir yaitu IDS 1 pada hari ke-7, IDS 2 pada hari ke-7 dan IDS 3 pada hari ke-10 hal ini dimungkinkan pada fase stasioner karbohidrat pada media biakan masih cukup tersedia untuk membentuk metabolit sekunder, meskipun nutrisi yang lain sudah mulai menyusut. Fase stasioner ditandai dengan sel yang tumbuh berkurang dan beberapa sel mati karena menyusutnya nutrisi pada media. Akan tetapi metabolisme pada fase ini masih berlangsung. Fase stasioner akhir diketahui merupakan pembentukan metabolit sekunder paling optimum. Menurut Ruiz *et al.* (2010) Metabolit sekunder diproduksi selama fase pertumbuhan akhir (idiophase). Menurut Srikandace *et al.* (2007) bahwa pada fase populasi sel tetap (jumlah yang mati dan tumbuh sama) umumnya terbentuk metabolit sekunder. Menurut Hardiyanti *et al.* (2020) pada fase stasioner jumlah metabolit primer menurun, dan fungi mengeluarkan metabolit sekunder untuk mempertahankan diri karena akumulasi asam organik dan senyawa biokimia yang beracun bagi sel.

Sel fungi pada fase stasioner diduga lebih tahan dalam keadaan ekstrim seperti suhu (lebih dingin atau panas), radiasi bahan kimia dan metabolit sekunder yang dihasilkan sendiri. Ketika beberapa komponen utama nutrisi pada media pertumbuhan mulai habis saat itulah sintesis metabolit dimulai. Metabolit sekunder atau zat – zat hasil katabolisme dapat dilepaskan dikarenakan sumber utama sintesis yang memiliki keterbatasan yang berupa gula sebagai sumber karbon dan protein sebagai sumber asam amino atau nitrogen. Memasuki fase kematian, tidak ada penambahan jumlah sel fungi namun terjadi pengurangan. Hal ini dikarenakan nutrisi pada media biakan serta cadangan makanan telah habis (Srikandace *et al.*, 2007).

4.1.5 Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun

Sirsak

Fungi endofit yang berhasil diisolasi dilakukan fermentasi untuk mendapatkan metabolit sekunder dengan lama waktu pertumbuhan fungi hingga mencapai fase stasioner berdasarkan kurva pertumbuhan masing-masing. Menurut Pokhrel & Ohga (2007) Proses fermentasi metabolit sekunder menggunakan media cair dikarenakan lebih efektif dalam memproduksi biomassa dan senyawa bioaktif dibandingkan dengan medium padat. Fermentasi pada penelitian ini menggunakan

system batch artinya selama pembentukan produk, semua nutrisi yang dibutuhkan fungi berada dalam satu fermentator. Sehingga tidak ada pengambilan hasil atau penambahan bahan selama fermentasi berlangsung (Kursia *et al.*, 2017).

Media fermentasi PDB mengalami perubahan warna, awalnya media berwarna kuning bening menjadi kuning keruh kecoklatan seperti yang terlihat pada sampel IDS 1, kuning keruh pada sampel IDS 2, hitam keruh pada sampel IDS 3. Menurut Kursia *et al.* (2017) perubahan warna pada media biakan menunjukkan adanya aktivitas fungi endofit atau proses metabolisme fungi dalam memanfaatkan nutrisi yang terdapat pada media. Perubahan warna pada media biakan menunjukkan adanya proses fermentasi yang dilakukan fungi endofit sebagai tanda metabolit sekunder telah diproduksi. Menurut Gandjar (2006) bahwa pertumbuhan fungi dapat diketahui dari penambahan massa sel dan proses metabolisme fungi yang mengakibatkan perubahan pada media yaitu adanya perubahan warna atau kekeruhan pada media cair. Media yang awalnya bening menjadi berubah menjadi keruh karena adanya aktivitas fungi.

Hasil fermentasi, kultur cair dengan miselia dipisahkan dengan kertas saring. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan antara pelet dan supernatan. Menurut Rianto *et al.* (2018) agar pelet dan supernatan terpisah dilakukan sentrifugasi. Supernatant yang dihasilkan dapat mengandung senyawa metabolit sekunder. Selanjutnya dilakukan ekstraksi senyawa metabolit menggunakan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut dengan cara dikocok selama beberapa menit hingga terbentuk dua lapisan yang berbeda dan diulang sebanyak 3 kali ekstraksi. Menurut Fitriana *et al.* (2019) bahwa metode ekstraksi bertujuan untuk memecah sel sehingga senyawa metabolit sekunder dapat berdifusi ke pelarut. Menurut Dwijendra *et al.* (2014) corong pisah dalam proses ekstraksi cair-cair digunakan untuk memisahkan senyawa yang memiliki kepolaran berbeda yang terkandung dalam ekstrak. Menurut Hasanah & Wirman (2018) dua lapisan di corong pemisah pada proses fraksinasi disebabkan adanya perbedaan bobot jenis dari kedua larutannya. Senyawa kimia dari suatu sampel hanya dapat terlarut pada pelarut yang sama kepolarannya, sehingga suatu golongan senyawa dapat dipisahkan dari senyawa lainnya. Ekstraksi cair – cair

dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur.

Penelitian ini menggunakan pelarut etil asetat. Menurut Nursyamsi *et al.* (2017) pelarut etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat mudah menguap, memiliki toksisitas rendah serta non higroskopis. Menurut Putra *et al.* (2019) etil asetat merupakan pelarut semi polar oleh karena itu diharapkan dapat menarik senyawa polar maupun non polar. Etil asetat dapat menarik senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol dan triterpenoids.

4.1.6 Uji Fitokimia Metabolit Sekunder Fungi Endofit Daun Sirsak

Uji fitokimia metabolit sekunder pada fungi endofit daun sirsak dilakukan pada uji flavonoid, tannin, saponin, fenolik dan Alkaloid. Hasil pengujian ekstrak metabolit sekunder fungi endofit daun sirsak dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Metabolit Sekunder Daun Sirsak

No	Ekstrak	Flavonoid	Tanin	Saponin	Fenolik	Alkaloid
1	IDS 1	-	-	+	-	-
2	IDS 2	-	+	-	+	-
3	IDS 3	-	-	-	-	+

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder fungi IDS 1 menunjukkan hasil negatif untuk uji flavonoid, tannin, fenolik, alkaloid dan hasil positif pada uji saponin hal ini ditandai dengan terbentuknya busa pada larutan uji. Menurut Prayoga *et al.* (2019) bahwa metode yang digunakan pada uji saponin yaitu hidrolisis saponin dalam air atau metode forth. Busa yang ditimbulkan menunjukkan glikosida adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk busa pada sir yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa aglikonnya. Reaksi positif ditandai dengan busa yang terbentuk kurang dari 5 menit setelah pengocokan. Senyawa saponin memiliki gugus non polar dan polar bersifat aktif sehingga ketika dikocok dengan air akan membentuk misel karena mengalami hidrolisis. Busa yang tampak disebabkan karena stuktur misel yang terbentuk mengakibatkan gugus polar menghadap keluar dan gugus non polar menghadap kedalam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder fungi IDS 2 menunjukkan hasil negatif untuk uji saponin dan alkaloid. Hasil uji fitokimia IDS 2 positif pada uji tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Menurut Ergina *et al.* (2014) bahwa warna hijau kehitaman yang terbentuk karena adanya penambahan pada ekstrak dengan FeCl_3 , sehingga tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . FeCl_3 digunakan untuk menentukan adanya kandungan gugus fenol. Adanya gugus fenol ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman setelah ditambahkan FeCl_3 . Selain itu, hasil uji fitokimia IDS 2 positif adanya fenolik hal ini ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Menurut Prayoga *et al.* (2019) bahwa senyawa kompleks warna hijau kehitaman terbentuk karena adanya reaksi antara senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil dengan ion Fe^{3+} pada larutan FeCl_3 5%.

Hasil penelitian ekstrak metabolit sekunder IDS 3 menunjukkan hasil negatif pada uji flavonoid, tannin, saponin, fenol dan hasil positif pada uji alkaloid yang ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga. Menurut Prayoga *et al.* (2019) bahwa endapan yang terbentuk karena adanya senyawa kompleks dari reaksi antara senyawa alkaloid dengan ion logam K^+ . Endapan yang terbentuk adalah kalium alkaloid.

4.2 Uji Aktivitas Metabolit Sekunder Fungi Endofit Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Fungi endofit yang diisolasi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki kemampuan yang bervariasi dalam menghasilkan metabolit sekunder. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri uji dengan menggunakan metode Kirby- Bauer (Kertas cakram). Penelitian ini uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan menempelkan kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* media nutrient agar. Aktivitas Antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong digital.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol dan aquadest steril untuk kontrol negatif. Menurut Drago (2019) kloramfenikol memiliki spektrum yang luas dalam menghambat aktivitas bakteri gram positif dan

gram negatif yang berpenetrasi ke dalam jaringan sangat baik. Kloramfenikol merupakan penghambat yang sangat kuat pada biosintesis protein bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh diameter zona hambat (dalam mm) menggunakan jangka sorong digital. Pengamatan dilakukan setelah bakteri *S.aureus* dan *E. coli* yang telah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Hasil pengamatan rata – rata diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder fungi endofit daun sirsak terhadap *S.aureus* dan *E.coli* dapat dilihat pada **Tabel 4.3** berikut ini:

Tabel 4.3 Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit Daun Sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Jenis Ekstrak	Rata – rata Zona Hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
IDS 1	3,38 ^c	3,87 ^c
IDS 2	5,12 ^d	5,45 ^d
IDS 3	2,08 ^b	2,47 ^b
Kontrol Positif	6,08 ^d	7,11 ^e
Kontrol Negatif	0 ^a	0 ^a

Berdasarkan **Tabel 4.3** fungi endofit daun sirsak mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dari hasil tersebut dapat dikatakan fungi endofit daun sirsak dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri. Menurut Fitriarni & Kasiamdari (2018) bahwa fungi endofit merupakan mikroorganisme terbanyak yang biasa ditemukan pada tumbuhan. Fungi endofit terdapat pada jaringan daun, buah, batang dan biji. Menurut Sathish *et al.* (2014) bahwa fungi endofit mampu menginfeksi tumbuhan yang sehat pada jaringan tertentu dan dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibiotik, antikanker, antimalarial, insektisida dan enzim.

Ouchari *et al.* (2019) mengklasifikasikan zona hambat dalam empat intensitas sesuai diameter yaitu > 20 mm tergolong sangat kuat, 10-20 mm tergolong kuat, 5-10 mm tergolong sedang dan < 5 tergolong lemah. Uji aktifitas metabolit

sekunder daun sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan **Tabel 4.3** menunjukkan rata – rata zona hambat dengan diameter terbesar yaitu pada fungi endofit IDS 2 sebesar 5,12 mm menurut intensitas tergolong sedang. Rata – rata zona hambat terkecil yaitu pada fungi endofit IDS 3 sebesar 2,08 mm menurut intensitas tergolong lemah. Zona hambat fungi endofit IDS 1 menghasilkan rata-rata zona hambat 3,38 mm berdasarkan intensitas tergolong lemah. Perbedaan kemampuan dalam menghasilkan zona hambat terkait metabolit sekunder yang diproduksi oleh isolat uji. Variasi diameter zona hambat terjadi karena pada setiap isolat menghasilkan produk yang berbeda metabolit sekunder.

Sedangkan pada hasil uji aktivitas metabolit sekunder fungi endofit daun sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli* berdasarkan **Tabel 4.3** yang memiliki zona hambat terbesar yaitu fungi endofit IDS 2 sebesar 5,45 mm menurut intensitas tergolong sedang, sedangkan hasil zona hambat terkecil yaitu fungi endofit IDS 3 sebesar 2,47 mm tergolong lemah. Rata – rata zona hambat fungi endofit IDS 1 3,87 mm menurut intensitas tergolong lemah.

Fungi endofit dari daun sirsak memiliki aktivitas metabolit sekunder terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* menunjukkan zona hambat dengan intensitas sedang dan lemah. Fungi IDS 2 menghasilkan rata – rata zona hambat 5-10 mm sehingga dikategorikan sedang dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Sedangkan Fungi IDS 1 dan IDS 3 menghasilkan rata- rata zona hambat > 5 mm, sehingga dikategorikan lemah dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli*. Berdasarkan kemampuannya fungi endofit daun sirsak memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Hasil uji statistik menggunakan SPSS pada **Lampiran 5** yaitu pada uji normalitas data hasil signifikan sebesar $0.218 > 0.05$ menunjukkan data yang diuji normal. Selanjutnya pada uji ANOVA dengan tingkat ketelitian 5% menunjukkan nilai signifikansi $0.000 < 0.05$ menunjukkan lebih kecil dari 0.05 artinya terdapat pengaruh jenis ekstrak terhadap ulangan yang diberikan. **Tabel 4.3** hasil diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kontrol negatif dinotasikan dengan huruf a karena memiliki nilai paling rendah, selanjutnya IDS 3 dinotasikan huruf b, IDS 1 dinotasikan huruf c, artinya notasi yang berbeda pada setiap jenis ekstrak adalah berbeda nyata atau terdapat perbedaan secara signifikan. IDS 2 dan

kontrol positif dinotasikan dengan huruf yang sama yaitu d, artinya tidak berbeda nyata atau tidak signifikan.

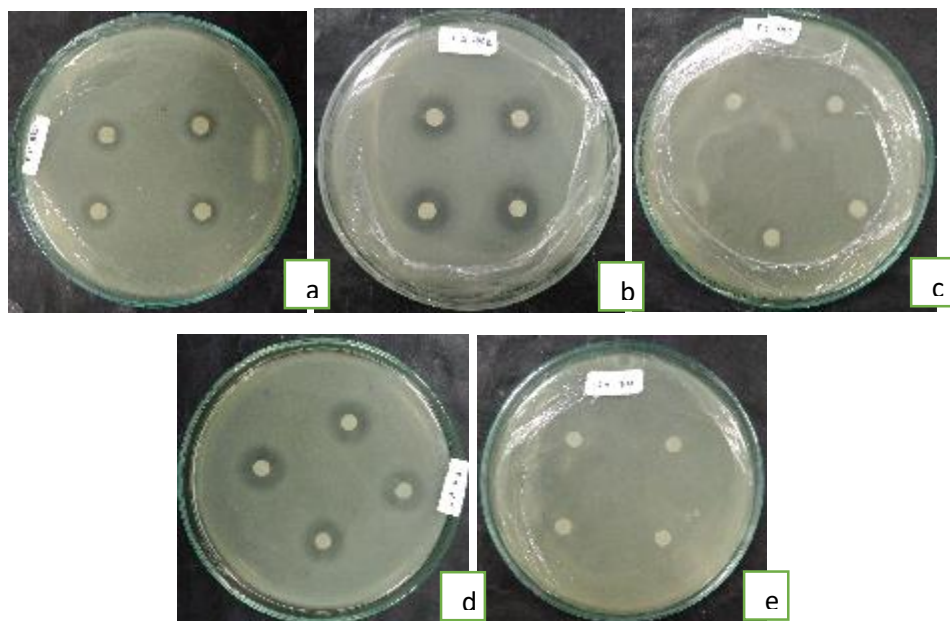
Hasil uji statistik menggunakan SPSS pada **Lampiran 6** yaitu pada uji normalitas data hasil signifikan sebesar $0.847 > 0.05$ menunjukkan data yang diuji normal. Selanjutnya pada uji ANOVA dengan tingkat ketelitian 5% menunjukkan nilai signifikansi $0.000 < 0.05$ menunjukkan lebih kecil dari 0.05 artinya terdapat pengaruh jenis ekstrak terhadap ulangan yang diberikan. **Tabel 4.3** hasil diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* kontrol negatif dinotasikan dengan huruf a karena memiliki nilai paling rendah, selanjutnya IDS 3 dinotasikan huruf b, IDS 1 dinotasikan huruf c, IDS 2 dinotasikan huruf d, dan kontrol positif dinotasikan huruf e. Artinya notasi yang berbeda pada setiap jenis ekstrak adalah berbeda nyata atau terdapat perbedaan secara signifikan.

Berdasarkan **Tabel 4.3** diketahui zona hambat paling besar dimiliki oleh kontrol positif yaitu kloramfenikol. Sedangkan kontrol negatif aquades tidak menunjukkan aktivitas antibakteri atau membentuk zona hambat 0. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa metabolit yang terdapat pada fungi endofit daun sirsak. Menurut Suciari *et al.*, (2017) kandungan aquadest steril tidak memiliki senyawa antibakteri atau senyawa netral yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dengan spektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, mampu menghambat perlekatan asam amino dari bakteri.

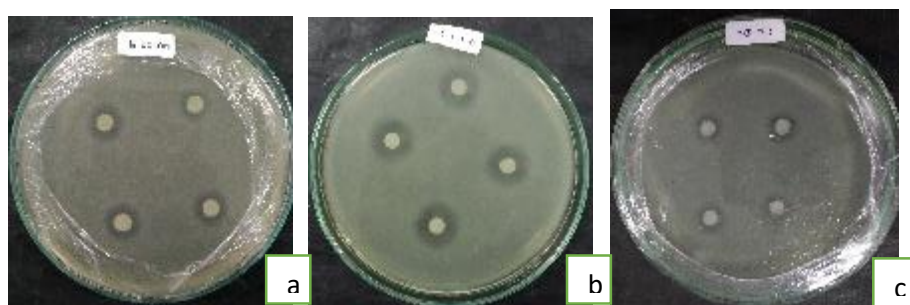
Berdasarkan **Tabel 4.3** hasil zona hambat fungi endofit IDS 2 terhadap bakteri *E.coli* memiliki nilai zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder tannin dan fenolik yang dihasilkan IDS 2 memiliki jumlah kandungan yang bersifat bioktif pada konsentrasi ekstrak fungi endofit sedikit sehingga kurang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Selain itu, dikarenakan konsentrasi kepekatan ekstrak fungi endofit yang belum diketahui dengan tepat berbeda dengan antibiotik kloramfenikol yang sudah diketahui *MIC* nya terhadap bakteri uji, sehingga zona hambat yang terbentuk tidak sebanding dengan zona hambat pada antibiotik kloramfenikol. Hal ini dapat

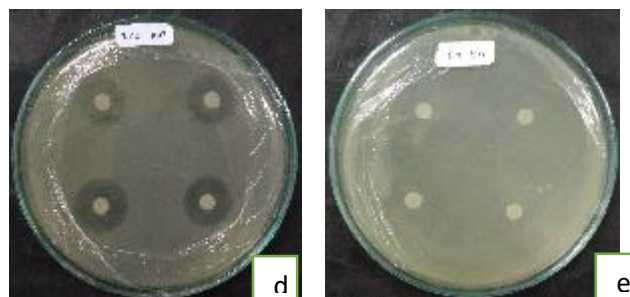
disebabkan oleh pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dalam penelitian ini hanya menggunakan satu pelarut yaitu etil asetat yang memiliki sifat semi polar. Menurut Hidayah *et al.* (2016) Senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan etanol/metanol (polar). Perbedaan pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif. Hal ini disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut.

Zona hambat yang ditimbulkan oleh metabolit sekunder fungi endofit terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dapat dilihat pada **Gambar 4.7** dan pada **Gambar 4.8**



Gambar 4.7 Zona hambat metabolit sekunder fungi endofit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Ket: a. ids 1, b. ids 2, c. ids 3, d. Kontrol positif e. Kontrol negatif)





Gambar 4.8 Zona hambat metabolit sekunder fungi endofit terhadap bakteri *Escherichia coli* (Ket: a. ids 1, b. ids 2, c. ids 3, d. Kontrol positif e. Kontrol negatif

Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh fungi endofit daun sirsak terhadap bakteri *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri *S.aureus*. Menurut Pragita *et al.* (2020) bahwa Kelompok bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis sehingga senyawa metabolit sekunder antibakteri akan lebih mudah masuk melewati dinding sel dan mekanisme kerja antibakteri akan lebih maksimal. Penggunaan pelarut etil asetat bersifat semipolar sehingga senyawa metabolit sekunder akan lebih besar dan memiliki afinitas tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel. Selain itu, faktor yang mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri antara lain perbedaan ketebalan media agar, kerapatan inokulum, komposisi media agar, waktu pra-difusi, suhu inkubasi, pH, waktu inkubasi, spesies bakteri dan potensi cakram antibakteri.

Senyawa kimia yang terkandung pada daun sirsak yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan minyak atsiri. Senyawa metabolit yang terkandung pada daun sirsak bermanfaat untuk anti kanker, anti virus, anti tumor, anti inflamasi, anti depresan, anti diabetes, anti kejang, analgesik, anti Fungi, penurun tekanan darah dan antibakteri (Purnamasari *et al*, 2020). Senyawa metabolit sekunder dalam menghambat bakteri memiliki mekanisme yang berbeda.

Berdasarkan pernyataan di atas, menjelaskan bahwa fungi endofit yang tumbuh pada jaringan tanaman khususnya pada daun sirsak merupakan salah satu ciptaan Allah yang dapat dimanfaatkan untuk kemaslahatan manusia. Hal ini telah dijelaskan oleh Allah SWT dalam surat Al-Hajr (15): 19-20 yaitu sebagai berikut:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْرُونٍ ۝ ١٩

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ۚ ٢٠

Artinya: “Dan kami Telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan kami Telah menjadikan untukmu di bumi keperluan – keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kami sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya”. (Q.S Al Hijr (15): 19-20).

Ayat di atas menjelaskan tentang nikmat tanah dan berkahnya bagi manusia. Seluruh alam semesta dari gunung hingga lautan tercipta sesuai takaran yang tepat dan bukan terjadi secara kebetulan. Dengan demikian Allah SWT telah menyediakan seluruh kebutuhan hidup manusia. Selain manusia, terdapat makhluk lain yang hidup di muka bumi ini dan Allah SWT memberikan rezeki kepada mereka dan memenuhi keperluannya. Sehingga segala sesuatu yang diciptakan memberikan kemaslahatan bagi manusia dan makhluk lainnya.

Menurut Ash-Shiddieqy (2000), lafadz “*wal ardho madadnaakaa*” pada ayat diatas menjelaskan bahwa semua kekayaan alam yang ada di bumi ini diciptakan Allah SWT hanya untuk manusia dan supaya manusia mau mengambil manfaat untuk kemaslahatan dan kesejahteraan hidupnya, karena semua kekayaan alam yang ada ini baik berupa makhluk hidup maupun benda mati, yang kecil maupun yang besar sudah pasti memiliki manfaat masing – masing. Seperti halnya fungi endofit yang memiliki banyak kegunaan untuk kesehatan dan hal-hal lainnya, dengan jelas bahwa ayat tersebut sangat relevan dengan fenomena yang terjadi yaitu adanya kegunaan dan manfaat dari fungi atau Fungi.

Menurut Dewi *et al.* (2014) secara umum senyawa antibakteri memiliki mekanisme dengan cara mengubah permeabilitas membrane, menghambat kerja enzim, merusak dinding sel dan mengganggu sintesis protein. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki peran merusak dinding sel adalah alkaloid, fenol dan flavonoid. Tanin memiliki mekanisme mendenaturasi dan mengkoagulasi protein serta dapat menghambat enzim.

Sebagaimana dalam Q.S Al Furqon ayat 2 yaitu sebagai berikut:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: *“Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.”* (Q.S Al-Furqon: 2).

Menurut tafsir Al- Maraghi Juz 18 (1985: 264-266) menafsirkan bahwa Allah SWT mempunyai 4 sifat kebesaran yaitu Allah mempunyai keperkasaan dan kekuasaan yang sempurna terhadap langit dan bumi serta segala isinya. Allah SWT tidak mempunyai anak, tidak mempunyai sekutu dalam kerajaan dan kekuasaan-Nya dan segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT sudah sesuai dengan tuntutan kehendak-Nya yang didasarkan atas hikmah yang sempurna. Maka Allah mempersiapkan manusia untuk dapat memahami, memikirkan urusan dunia dan akhirat, menemukan berbagai industri, dan memanfaatkan apa yang terdapat di permukaan serta di dalam perut bumi.

Sedangkan menurut tafsir Ibnu Katsir jilid 6 (1994: 1-2) menafsirkan sebagai berikut:

“Allah menyifatkan diri-Nya, bahwa kepunyaan-Nyalah kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak dan tidak pula mempunyai sekutu dan kerajaan dan kekuasaan-Nya itu dan Dia Yang maha Kuasa telah menciptakan segala sesuatu yang diberinya perlengkapan – perlengkapan dan persiapan – persiapan sesuai dengan naluri sifat – sifat dan fungsinya masing – masing makhluk itu”.

Berdasarkan penafsiran dari kedua tafsir, dapat diketahui bahwa kedua tafsir memiliki makna yang tidak jauh berbeda. Tafsir dari Al-Maraghi lebih detail dalam menjelaskan ke 4 sifat kebesaran Allah SWT, sedangkan tafsir Ibnu Katsir lebih singkat dalam menjelaskannya. Tetapi inti dari kedua tafsir itu sama bahwa Allah telah mempersiapkan segala sesuatu yang diciptakan-Nya sesuai dengan manfaat dan kemampuannya. Seperti contoh manusia yang dapat memahami, memikirkan urusan dunia dan akhirat, menemukan berbagai industry, dan memanfaatkan semua yang ada di permukaan dan di dalam perut bumi.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT Maha Kuasa yang telah menciptakan segala sesuatu yang diberi-Nya kemampuan, sifat dan fungsinya masing – masing dalam hidup, begitu pula dengan fungi endofit yang tumbuh dalam daun sirsak didalamnya terdapat manfaat tertentu sesuai dengan kandungan

senyawanya. Demikian juga pada fungi endofit yang tumbuh dari daun sirsak memiliki kandungan metabolit sekunder tannin, saponin, alkaloid dan fenol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Senyawa metabolit sekunder tanin memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri dengan memiliki target polipeptida dinding sel bakteri sehingga akan menyebabkan kerusakan dinding sel karena tanin merupakan senyawa fenol. Kerusakan dinding sel pada bakteri mengakibatkan sel tanpa dinding yang disebut protoplasma. Sel bakteri mengalami kerusakan membran sel sehingga sifat permeabilitas membran sel akan hilang, keluar masuknya zat – zat seperti nutrisi, air, enzim tidak terseleksi. Ketika enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel. Senyawa metabolit sekunder fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasman sehingga dapat menyebabkan kebocoran pada inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri pada tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid disekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Karsita & Kardewi, 2016).

Senyawa metabolit sekunder saponin sebagai antibakteri memiliki mekanisme dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Sapara *et al*, 2016). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Hal tersebut menyebabkan kematian sel (Putra *et al.*, 2017).

Pengetahuan manusia tentang makhluk hidup yang diciptakan oleh Allah salah satunya mengetahui fungi endofit yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan hasil pikiran manusia. Manusia adalah ciptaan Allah yang berakal

dan penciptaaan dunia memiliki suatu tujuan dengan memberikan tanda-tanda bagi orang yang berakal, yaitu orang yang selalu mengingat Allah baik dalam keadaan berdiri, duduk, serta berbaring. Hal ini sesuai Firman Allah surah Al-imran ayat 190

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَالاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*”

Kata الْأَلْبَابِ adalah bentuk jamak dari (لب) yaitu saripati sesuatu. Kacang, misalnya memiliki kulit yang menutupi isinya. Isi kacang dinamai lubb. Ulul Albab adalah orang-orang yang memiliki akal yang murni, yang tidak diselubungi oleh “kulit”, yakni kabut ide, yang dapat melahirkan kerancuan dalam berpikir. Yang merenungkan tentang fenomena alam raya dapat sampai kepada bukti yang sangat nyata tentang keesaan dan kekuasaan Allah SWT (Shihab, 2002).

Orang berakal yang merenungi kekuasaan Allah adalah salah satu amal shalih. Orang yang beramal shalih mendapatkan hadiah surga dan tidak dianiaya oleh Allah. Hal ini sesuai dengan Firman Allah surah Maryam ayat 60

إِلَّا مَنْ تَابَ وَآمَنَ وَعَمِلَ صَالِحًا فَأُولَٰئِكَ يَدْخُلُونَ الْجَنَّةَ وَلَا يُظْلَمُونَ شَيْئًا

Artinya: “*kecuali orang yang bertaubat, beriman dan beramal saleh, maka mereka itu akan masuk surga dan tidak dianiaya (dirugikan) sedikitpun.*”

Kata عَمِلَ صَالِحًا yaitu amal yang disyari’atkan Allah melalui lisan Rasul-Nya disertai ikhlas dalam mengerjakannya (Shihab, 2002). Perbuatan amal shalih salah satunya yaitu kita melakukan penelitian sehingga dapat menambah pengetahuan orang lain dan menjadi ilmu yang bermanfaat. Ilmu yang bermanfaat adalah amal yang dibawa mati.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil identifikasi fungi endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan karakter secara makroskopis dan mikroskopis bahwa IDS 1 termasuk ke dalam divisi Zygomycota. Sedangkan IDS 2 dan IDS 3 termasuk ke dalam divisi Ascomycota.
2. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit IDS 1 dan IDS 3 dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki kemampuan yang bersifat lemah sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan nilai zona hambat dibawah 5 mm. Sedangkan Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit IDS 2 dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki kemampuan yang bersifat cukup atau sedang sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan nilai zona hambat antara 5-10 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran yang dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian berikutnya, antara lain:

1. Analisa karakter secara molekuler diperlukan untuk mengetahui tingkat spesies dari fungi endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri.
2. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi lebih dari satu pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dengan disesuaikan terhadap metabolit sekunder yang dimiliki fungi endofit.

DAFTAR PUSTAKA

- [GPS] Global Product Strategy. 2012. *Ethyl Acetate*. Belgia (BE): Solvay Company.
- Abba, Chika C. Peter M. Eze. Dominic O. Abonyi. Charles U. Nwachukwu¹. Peter Proksch. Festus B. C. Okoye dan Chukwuenweniwe J. Eboka. 2018. Phenolic Compounds from Endophytic *Pseudofusicoccum* sp. Isolated from *Annona muricata*. *Trop J Nat Prod Res*. 2(7).
- Adewole, Stephen O and Ezekiel A. Caxton-Martins. 2006. Morphological Changes and Hypoglycemic Effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic B-Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. Vol. 9.
- Afandhi, Aminudin. Choliq, Fery Abdul. W.S, Havinda Anggrilika dan Tarno, Hagus. 2018. Disribution of the Endophytic Fungi in Apples Leaves. *Agrivita Journal of Agricultural Science*. Vol.40(1).
- Afifurrahman. K. Husni Samadin. Syahril Azis. 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibioyik Vancomycin di RSUD Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *MKS*. 46(4).
- Agu, Kingsley C. dan Paulinus N. Okolie. 2017. Proximate composition, phytochemical analysis, and in vitro antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). *Food Sci Nutr*. Vol. 5.
- Agustina, Wulan. Nurhamidah. Dewi Handayani. 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Alotrop Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*. 1(2).
- Al-Maraghi, Ahmad Mustafa. 1985. *Tafsir Al-Maraghi Juz 15 (Penerjemah Bahrn Abu Bakar, Lc., Hery Noer Alvy dan K Anshori Umar Sitanggal)*. Semarang: Toha Putra Semarang.
- Al-Maraghi, Ahmad Mustafa. 1989. *Tafsir Al-Maraghi Juz 21 (Penerjemah Bahrn Abu Bakar, Lc., Hery Noer Alvy dan K Anshori Umar Sitanggal)*. Semarang: Toha Putra Semarang.
- Al-Qurthubi, S.I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 13*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Amin, Nur Amin. Muslim Salam. Muhammad Junaid. Asman and Muh.Said Baco. 2014. Isolation and identification of endophytic fungi from cocoa plant resistente VSD M.05 and cocoa plant Susceptible VSD M.01 in South Sulawesi. *Indonesia. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(2).
- Andhikawati, Aulia. Yulia Oktavia¹. Bustami Ibrahim¹ dan Kustiariyah. 2014. Isolasi Dan Penapisan Fungi Laut Endofit Penghasil Selulase. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 6(1).
- Asy Shiddieqy, Tengku Muammad H. 2000. *Tafsir AlQur'anul Majid An-Nuur. Jilid 3 (Surat 24-41)*. Semarang: Pustaka Rizqi Putra.
- Aulia, Zumrotun dan Dra.Niken Purwidiani, M.Pd. 2017. Pengaruh Penambahan Puree Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dan Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Sifat Organoleptik Es Krim. *e-journal Boga*. 5(1).
- Badrie, Neela dan Alexander G. Schauss. 2010. *Soursop (Annona muricata L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology*. Foods in Promoting Health. Oxford: Academic Press.

- Bakri, Zakia. Mochammad Hatta. Muh. Nasrum Massi. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR. *JST Kesehatan*. 5(2).
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1998. *Illustrated marga of imperfect fungi*. 4th ed. USA: Prentice-Hall, Inc.
- Bribi, Noureddine. 2018. Pharmacological Activity Of Alkaloids: A Review. *Asian Journal Of Botany*. Vol.1.
- Carrol, G.C. 1988. Fungal Endophytes in Stems and Leaves. From Latent Pathogens to Mutualistic Symbiont. *Ecology*. 69:2-9.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press. 477.
- Daddiouaissa, Djabir dan Azura Amid. 2018. Anticancer Activity of Acetogenins from *Annona muricata* Fruit. *IMJM*. 17(3).
- De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H. & Whitman, W.B. (Eds.). 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Firmicutes*. Dordrecht Heidelberg London New York: Springer 3.
- Dewi, Amalia Krishna. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2).
- Dewi, H. A. S. C., dan Hermawati, R. 2013. *Khasiat Ajaib Daun Sirsak*. Malang: Padi.
- Dewi, Mita Kusuma Dewi. Evie Ratnasari dan Guntur Trimulyono. 2014. Antibacterial Activity of Majapahit (*Crescentia cujete*) Leaves Extract on *Ralstonia solanacearum*. *Lentera Bio*. 3(1).
- Drago, Lorenzo. 2019. Chloramphenicol Resurrected: A Journey From antibiotic Resistance In Eye Infections To Biofilm And Ocular Microbiota. *Microorganisms*. Vol.7.
- Dwijendra, I Made. Wewengkang, Defny Silvia. Wehantou, Frenty. 2014. Aktivitas Antibakteri Dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spons Lamellodysidea herbacea Yang Diperoleh Dari Teluk Manado. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol: 3(4).
- Elviasari, Jessie. Rolan Rusli dan Adam M. Ramadhan. 2016. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Fungi Endofit Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(5).
- Enweani, Ifeoma B. Josephine Obroku. Timothy Enahoro and Charles Omoifo. 2004. The biochemical analysis of soursop (*Annona muricata* L.) and sweetsop (*A.squamosa* L.) and their potential use as oral rehydration therapy. *WFL Publisher Science and Technology*. 2(1).
- Ergina, Nuryanti, Siti Dan Pursitasari, Indarini Dwi. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *J. Akad. Kim*. Vol 3(3).
- Ersita dan Kardewi. 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. 3(2).

- Firdiyani F, Agustini TW, Ma'ruf WF. 2015. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *Spirulina platensis* segar dengan pelarut yang berbeda. *JPHPI*. 18(1):28-37
- Fitriana dan Eka Nursithya. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Isolat Fungi Endofit Dari Akar Mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume) Secara Klt Bioautografi. *As-Syifaa*. 9(1).
- Fitriana, Abdullah, As Adi, Achmar, Annisa Almagfirah. 2019. Profil Bioautogram Ekstrak Fermentat Isolat Fungi Endofit Dari Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L) Sebagai Antibakteri. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. Vol 11(1).
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar, Sjamsuridzal dan Ariyanto, Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Ghalehnoo, Zahra Rashki. 2018. Diseases caused by *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical and Health Research*. 4(11).
- Gumbart, James C. Morgan Beeby. Grant J. Jensen. Benoit Roux. 2014. *Escherichia coli* Peptidoglycan Structure and Mechanics as Predicted by Atomic-Scale Simulations. *PLOS Computational Biology*. 10(2).
- Habib, Faiza, Rehmatullah Rind, Naeemullah Durani, Abdul Latif Bhutto, Rehana Shahnawaz Buriro, Ahmed Tunio, Nazia Aijaz, Shakeel Ahmed Lakho, Ali Ghulam Bugti dan Muhammad Shoaib. 2015. Morphological and Cultural Characterisation of *Staphylococcus aureus* Isolated from Different Animal Species. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5(2).
- Hajek AE. 2004. *Natural enemies: an introduction to biological control*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Halim, Felicia, Sarah M. Warouw, Novie H. Rampengan, Praevilia Salendu. 2017. Hubungan Jumlah Koloni *Escherichia coli* dengan Derajat Dehidrasi pada Diare Akut. *Sari Pediatri*. 19(2).
- Handayani, Putri, Fakhurrizi dan Abdul Harris. 2019. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Fungi *Candida Albicans*. *JIMVET*. 3(2).
- Haniah, M., 2008, Isolasi Fungi Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. *Skripsi*. Malang..
- Haposan, Edwin, Suwarman, Ike Sri Redjeki. 2016. Gambaran Pola Kuman pada Bilah Laringoskop di Ruang Operasi Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung. *Jurnal Anestesi Perioperatif*. 4(3).
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Tirbitan Kedua*. Terjemahan Kosasi Padmawinata Dan Iwang Soediro. Bandung: Itb
- Hardiyanti, Citra, Khairullinas, Gaol, Jeky Sasemar Lumban, Nugroho, Titania Tjandrawati, Nurulita, Yusna. 2020. Microbial Growth As Determinant Of Antibiotic Production With Biotic Elicitors Stimulation. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. Vol. 23(3).
- Hasanah, Uswatun. 2018. Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit AntiFungi *Candida* Dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxylon*) Genus *Aspergillus*. *Jurnal Biosains*. Vol 4(2).

- Hasiani, Vilca Veronica. Islamudin Ahmad dan Laode Rijai. 2015. Isolasi Fungi Endofit Dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(4).
- Hayati, Laila Nur. Wiwiek Tyasningsih. Ratih Novita Praja. Sri Chusniati. Maya Nurwartanti Yunita dan Prima Ayu Wibawati. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. 2(2).
- Hendriani, Nani. Netti Suharti dan Julizar. 2016. Perbedaan Efek Daya Hambat Jus Kulit Buah Manggis dengan Air Rebusan Kulit Buah Manggis sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Gram-Positif (*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*) secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(1).
- Hidayah, Nikmatul. Hisan, Aisyah Khoirotun. Solikin, Ahmad. Irawati. Mustikaningtyas, Dewi. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Sargassum muticum Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*. Vol.1(1).
- Ibnu Kasir. 1994. *Tafsir Ibnu Katsier Jilid 6* (Penerjemah H. Salim Bahreisy dan H. Said Bkhreisy. Kuala Lumpur: Victory Agencie.
- Jannah, Raudhatul. Muhammad Ali Husni dan Risa Nursanty. 2017. Inhibition Test Of Methanol Extract From Soursop Leaf (*Annona muricata* Linn.) Against *Streptococcus mutans* Bacteria. *Jurnal Natural*. 17(1).
- Jariwala, Bhumika dan Binita Desai. 2018. Isolation And Identification Of Endophytic Fungi From Various Medicinal Plants. *BMR Microbiology*. 4(1)
- Kemenkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Kidd, Sarah. Catriona Halliday. Helen, Alexion and David Ellis. 2016. *Descriptions of Medical Fungi Third Edition*. University of Adelaide.
- Kloepper, J.W., dan Ryu, C. M.. 2006. Bacterial Endophytes as Elicitors of Induced Systemic Resistance. In B. Schulz, C. Boyle, T.N. Sieber (Eds). *Microbial root endophytes*. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin.
- Kumala, S. 2014. *Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi*. Jakarta: ISFI.
- Kumala, Shirly dan Hayatul Izza. 2013. Isolation IPG3-1 and IPG3-3 Endophytic Fungi From Delima (*Punica granatum* Linn.) Twigs and In Vitro Assessment of Their Anti Microbial Activity. *Int.Res. J. Pharm*. 4(6).
- Kurniawati, Ajeng FS Kurniawati. Prijono Satyabakti, Novita Arbianti. 2015. Perbedaan Risiko Multidrug Resistance Organisms (Mdros) Menurut Faktor Risiko Dan Kepatuhan Hand Hygiene. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 3(3).
- Kursia, Sukriani. Rahmad Aksa dan Maria Magdalena Nolo. 2018. Potensi Antibakteri Isolat Fungi Endofit dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmauho*. 4(1)
- Lestari, Kustiasih Lestari. Anthoni Agustien. Akmal Djamaan. 2019. Potensi Fungi Endofit pada Tumbuhan Mangrove Avicennia marina di Kuala Enok Indragiri Hilir sebagai Penghasil Antibiotika. *Jurnal Metamorfosa*. 6(1).
- Levinson W. 2008. *Review of Medical Microbiology*. Amerika: The McGraw-Hill Companie.
- Lina dan Juwita. 2011. *Ramuan & Khasiat Sirsak*. Bogor: Penebar Swadaya.

- Lingga, Ancela Rabekka. Usman Pato dan Evy Rossi. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2(2).
- Lubis, Virgi Anggia. Yusticia Katar. Elizabeth Bahar. 2016. Identifikasi Bakteri Infeksi Saluran Pernafasan Bawah Non Tuberkulosis (Non TB) dan Pola Resistensinya pada Penderita Diabetes Melitus di RSUP M. Djamil. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(3).
- Maesaroh, U. R Martien. N D Dono1 and Zuprizal. 2019. Antibacterial activity and characterisenyawaion of *Annona muricata* Linn leaf extract-nanoparticles against *Escherichia coli* FNCC-0091 and *Salmonella typhimurium* FNCC-0050. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 387.
- Manogaran, Senthamarai. Kilavan Packiam Kannan dan Yuvarajan Mathiyalagan. 2017. Fungal Endophytes From *Phyllanthus acidus* (L.) and *Catharanthus roseus* (L.). *Int. Res. J. Pharm*. 8(1).
- Maryam, Fitriana, St. Tadjuddin Naid dan Maryana. 2016. Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (*Ananas comosus* (L) Meer). *As-Syifaa*. 8(1).
- Mawardi, Yasmine Setya Adilla. Yoyok Budi Pramono. Bhakti Etza Setiani. 2016. Kadar Air, Tanin, Warna dan Aroma Off-Flavour Minuman Fungsional Daun Sirsak (*Annona muricata*) dengan Berbagai Konsentrasi Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(3).
- Mirwan, Agus. 2013. Keberlakuan Model Hb-Gft Sistem N-Heksana – Mek – Air Pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom Isian. *Konversi*. Vol 2(1).
- Moghadamtousi, Soheil Zorofchian. Mehran Fadaeinasab. Sonia Nikzad. Gokula Mohan. Hapipah Mohd Ali dan Habsah Abdul Kadir. 2015. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol.6.
- Muharni. Fitrya dan Farida, Sofa. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Eksttrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol. 7(2).
- Mukhlis, Daratil Khoiri. Rozirwan dan Muhammad Hendri. 2018. Isolasi Dan Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Pada Mangrove *Rhizophora Apiculata* Dari Kawasan Mangrove Tanjung Api-Api Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Maspari Journal*.10(2).
- Murdiyah, Siti. 2017. Fungi Endofit Pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat Di Kawasan Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran Dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Parktikum Mata Kuliah Mikologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 3(1).
- Mutmainah, Siti. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Pada Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang. *Skripsi*.
- Nemeth, Johannes. Gabriela Oesch and Stefan P. Kuster. 2015. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. Vol. 70.
- Nöldeke, Erik R. Lena M. Muckenfuss. Volker Niemann. Anna Müller. Elena Störk. Georg Zocher. Tanja Schneider dan Thilo Stehle. 2018. Structural basis

- of cell wall peptidoglycan amidation by the GatD/MurT complex of *Staphylococcus aureus*. *Scientific REPORTS*. Vol.
- Novard, M. Fadila Arie. Netti Suharti. Roslaili Rasyid. 2019. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(2).
- Novaryatiin, Susi. Rezqi Handayani dan Rizqi Chairunnisa. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepri* Sp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*. 3(2).
- Noverita. Dinah Fitria dan Ernawati Sinaga. 2009. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit Dari Daun Dan Rimpang *Zingiber ottensii* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4).
- Ola, Antonius R.B. Sugi, Yoseph. Lay, Caterina S. 2019. Isolation, identification and antimicrobial activity of secondary metabolites of endophytic fungi from annona leaves (*Annona squamosa* L.) growing in dry land. International Seminar on Chemical Engineering Soehadi Reksowardojo. Vol.823.
- Olugbuyiro J. A. O. Omotosho O. E. Taiwo O. S. Ononiwu F. O. Banwo A. S. Akintokun O. A. Obaseki O. S dan Ogunleye, O. M. 2017. Antimicrobial activities and phytochemical properties of *Annona muricata* leaf. *Covenant Journal of Physical & Life Sciences*. 5(2).
- Ortiz, Miguel. A. Naranjo And Gabald,Toni. 2019. Fungal Evolution: Diversity, Taxonomy And Phylogeny Of The Fungi. *Biol. Rev.* Vol.94.
- Ouchari, Lahcen. Boukeskase, Amal. Bouizgarne, Brahim And Ouhdouch, Yedir. 2019. Antimicrobial Potential Of Actinomycetes Isolated From The Unexplored Hot Merzouga Desert And Their Taxonomic Diversity. *Biology Open*. Vol.8.
- Pelczar, Michael J., Jr dan Chan, E.C.S. 2014. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pelden, Dechen And Meesawat, Upatham. 2019. Foliar Idioblasts In Different-Aged Leaves Of A Medicinal Plant (*Annona muricata* L.). *Songklanakarin J. Sci. Technol.* Vol 41(2).
- Petrini, O., P. J. Fisher, dan L. E. Petrini. 1992. Fungal Endophytes of Bracken (*Pteridium aquilinum*), with Some Reflections on Their Use in Biological Control. *Sydowia*. 44: 282-293.
- Pragita, Anisa Sri. Shafa, Dheanna Putri. Nursifah, Devi. Rumidatul, Alfi. Fadhila, Feldha. Maryana, Yayan. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Dan Kayu Sakit Ranting Sengon Terhadap Bakteri Dan Fungi. *Jurnal Analis Kesehatan*. Vol 9(2).
- Praptiwi. Marlin Raunsai. Dewi Wulansari. Ahmad Fathoni dan Andria Agusta. 2018. Antibacterial and antioxidant activities of endophytic fungi extracts of medicinal plants from Central Sulawesi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8(8).
- Prasiddhanti, Lalita dan A.E.T.H. Wahyuni. 2015. Karakter Permukaan *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Susu Kambing Peranakan Ettawah yang Berperan terhadap Kemampuan Adesi pada Sel Epitelium Ambing. *Jurnal Sain Veteriner*. 33(1).
- Pratiwi, Rina Hidayati. 2017. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4(3).

- Prayoga, Dewa Gede Eka. Nocianitri, Komang Ayu. Puspawati, Ni Nyoman. 2019. Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*. Vol 8(2).
- Purnamasari, Feby. Yulianty, Risfah. Latief, Syamsa. 2020. Effectiveness Of Soursop Leaf Extract (*Annona muricata* L.) On IL-6 Levels In Mammary Sprague Dawley Female Rats Induced By *Staphylococcus aureus*. *Unnes Journal Of Public Health*. Vol 9(1).
- Putra, Affian Hudatama. Corvianindya, Yani Corvianindya. Wahyukundari, Melok Aris. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 5(3).
- Putra, Andre Yusuf Trisna. Supriyadi. Santoso, Umar. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Simpor (*Dillenia suffruticosa*). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. Vol. 4(1).
- Putri, Moca Faulina. Fifendy, Mades. Putri, Dwi Hilda. 2018. Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda Dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* Miq.). *Eksakta*. Vol 19(1).
- Radji, Maksum. 2005. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3).
- Rady, Islam. Melissa B.Bloch. Roxane-Cherille N. Chamcheu. Sergette Banang M beumi. Md Rafi Anwar. Hadir Mohamed. Abiola S. Babatunde. Jules-Roger Kuate. Felicite K. Noubissi. Khalid A. El Sayed. G. Kerr Whitfield dan Jean Christopher Chamcheu. 2018. Anticancer Properties of Graviola (*Annona muricata*): A Comprehensive Mechanistic Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Rahman, Friska Ani. Tetiana Haniastuti. Trianna Wahyu Utami. 2017. Skrining tokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(1).
- Rahmawati, Fri. Bintang, Maria. Artika, I Made. 2017. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Fitokimia Daun *Geranium homeanum* Turez. *Current Biochemistry*. Vol 4(3).
- Ramadhani, Suci Hatru. Samingan dan Iswadi. 2017. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit pada Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*. 2(2).
- Ramesh V. Arivudainambi USE dan Rajendran A. 2017. The molecular phylogeny and taxonomy of endophytic fungal species from the leaves of *Vitex negundo* L. *Studies in Fungi*. 2(1).
- Reckow, Vendryca. Wahyu Widayat dan Laode Rijai. 2016. Fungi Endofit Dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*. Vol. 4.
- Rianto, Adi. Muhammad Isrul. Sri Anggarini dan Ahmad Saleh. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Fungi Endofit Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 4(2).

- Roberson, Robert W. Abril, Maritza. Blackwell, Meredith. Letcher, Peter. David J. Laughlin, Mc. Rosa R. Perez, Mourino. Riquelme, Meritxell And Uchida, Maho. 2010. *Hyphal Structure*. Washington, Dc: Asm Press.
- Romadhon, Zahrotu. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Pada Siomay Yang Dijual Di Kantin SD Negeri Di Kelurahan Pisangan, Cirendeuh dan Cempaka Putih. Program Studi Kdokteran dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. *Skripsi*.
- Rosalina, Dewi. Sunarko Martodiharjo. Muhammad Yulianto Listiawan. 2010. *Staphylococcus aureus* sebagai Penyebab Tersering Infeksi Sekunder pada Semua Erosi Kulit Dermatitis Vesikobulosa. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*. 22(2).
- Rosalina, Reny. Riska Surya Ningrum. Prima Agusti Lukis. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fungi Endofit Mangga Podang (*Mangifera indica* L.) Asal Kabupaten Kediri Jawa Timur. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*. 35(3).
- Ruiz, Beatriz. Chávez, Adán. Forero, Angela . Huante, Yolanda García. Romero, Alba. Sánchez, Mauricio. Rocha, Diana. Sánchez, Brenda. Sanoja, Romina Rodríguez. Sánchez, Sergio and Langley, Elizabeth. 2010. Production of microbial secondary metabolites: Regulation by the carbon source. *Critical Reviews in Microbiology*. Vol.36(2).
- Sagita, Desi. Netty Suharti. Nur Azizah. 2017. Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ipteks Terapan*. 11(1).
- Saifudin A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian Edisi 1*. Yogyakarta (ID): Deepublish.
- Salempa, Pince Salempa. Muharram. Iwan Dini. Paulina Taba dan Asriani Ilyas. 2018. 17,18-dihydroxy Montecristin Compound from the Stem Bark of the Sour sop (*Annona muricata* Linn.). *International Journal Advanced Science Engeneering Information Technology*. 8(6).
- Salempa, Pince. 2016. Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Kulit Batang Sirsak (*Annona muricata* Linn.). *Jurnal Bionature*. 17(1).
- Sapara, Thresia U. Waworuntu, Olivia. Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmaconjournal Ilmiah Farmasi*. Vol 5(4).
- Saputra, Tri Reksa. Ngatin, Agustinus. Sarungu, Yunus Tonapa. 2018. Penggunaan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Partisi Pada Tumbuhan Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Dengan Kepolaran Berbeda. *Fullerene Journ. Of Chem* . Vol 3(1).
- Sari, Ria Ajeng Putri Nur Indah. Supartono dan Sri Mursiti. 2017. Lotion Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(3).
- Sari, Yeni Dianita. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara In Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesmas UAD*. ISSN. 1978-0575. Yogyakarta.
- Sartika, Rizka. Melki dan Anna I.S. Purwiyanto. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut *Eucheuma cottoni* terhadap Bakteri *Escherichia coli*,

- Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal*. 5(3).
- Sathish, L. Pavithra, N And Ananda, K. 2014. Evaluation Of Antimicrobial Activity Of Secondary Metabolites And Enzyme Production From Endophytic Fungi Isolated From *Eucalyptus citriodora*. *Journal Of Pharmacy Research*. Vol 8(3).
- Sernita. Hasnawati dan Hasriani Adam. 2019. Uji Daya Hambat Fungi Endofit Kulit Batang Jambu Mete (*Anacardium Occidentale*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Laboratorium Medik*. 4(1).
- Setyawati, Tri. Nurjannah. A dan Ahmad Azam. 2015. Manfaat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Sebagai Antihiperglikemia Pada Tikus Wistar Diabetik Yang Diinduksi Aloksan. *Medika Tadulako, Jurnal Ilmiah Kedokteran*. 2(1).
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Kerahasiaan Alqur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Soekaryo, Erayadi. Siswa Setyahadi dan Partomuan Simanjuntak. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Sebagai Penghambat Siklooksigenase-2. The 5th Urecol Proceeding. ISBN 978-979-3812-42-7.
- Sopialena. Sopian dan Lusyana Dwi Allita. 2019. Diversitas Fungi Endofit pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) dan Potensinya Sebagai Pengendali Hama. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*. 2(1).
- Spatafora, Joseph W. Chang, Ying. Benny, Gerald L. Lazarus, Katy. Smith, Matthew E. Berbee, Mary L. Bonito, Gregory. Corradi, Nicolas. Grigoriev, Igor. Gryganskyi, Andrii. James, Timothy Y. Donnell, Kerry O. Roberson, Robert W. Taylor, Thomas N. Uehling, Jessie. Vilgalys, Rytas. White, Merlin M. 2016. A Phylum-Level Phylogenetic Classification Of Zygomycete Fungi Based On Genome-Scale Data. *Mycologia*. Vol: 108(5).
- Srikandace, Yoice. Hapsari, Yatri. Simanjutak, Partomoan. 2007. Seleksi Mikroba Endofit Curcuma Zedoria dalam Memproduksi Senyawa Kimia Antimikroba. *Jurnal Ilmu Kefatmasian Indonesia*. Vol 5(2).
- Suhartinaa. Febby E.F. Kandoua dan Marina F.O. Singkoha. 2018. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Pada Tumbuhan Paku Asplenium nidus. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 7(2).
- Sumampouw, Oksfriani Jufri. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 2(1).
- Suryati, Nova. Elizabeth Bahar dan Ilmiawati. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe Vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 6(3).
- Sutiknowati, Lies Indah. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. XLI(4).
- Suwito,Widodo dan Andriani. 2018. Uji Toksisitas *Escherichia coli* Asal Daging Terhadap Sel Vero. *Jurnal Biologi Tropis*. 18(2).
- Triana, Dessy. 2014. Frekuensi β -lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Gradien*. 10(2).

- Utomo, Suryadi Budi Utomo. Mita Fujiyanti. Warih Puji Lestari dan Sri Mulyani. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyl trimethyl ammonium-Bromide terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*. 3(3).
- Valencia, Putri Elvira dan Meitiniarti, Vincentia Irene. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Jamur Lignolitik Serta Perbandingan Kemampuannya Dalam Biodelignifikasi. *Scripta Biologi*. Vol.4(3).
- Venieraki, A. Dimou, M. Katinakis, P. 2017. Endophytic Fungi Residing In Medicinal Plants Have The Ability to Produce The Same Or Similar Pharmacologically Active secondary Metabolites As Their Hosts. *Hellenic Plant Protection Journal*. Vol. 10.
- Wahab, Siti Mariam Abdul. Ibrahim Jantan. Md. Areeful Haque dan Laiba Arshad. 2018. Exploring the Leaves of *Annona muricata* L. as a Source of Potential Anti-Inflammatory and Anticancer Agents. *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 9.
- Watanabe T. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC Press LLC. U.S.A.
- Webster J, and Weber R. 2007. *Introduction to fungi*. Ed ke-3. Cambridge: Cambridge University Press.
- White, Merlin M. James, Timothy Y. O'donnell, Kerry. Cafaro, Mati' As J. Tanabe, Yuuhiko. Sugiyama, Junta. 2006. Phylogeny Of The Zygomycota Based On Nuclear Ribosomal Sequence Data. *Mycologia*. 98(6).
- Widiana, Rina. 2011. *Daya Hambat Sari Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Padang: Prodi Pendidikan Biologi STKIP PGRI.
- Wikananda, I Dewa Ayu Rayna Nareswari. Made Agus Hendrayana dan Komang Januartha Putra Pinatih. 2019. Efek Antibakteri Ekstrak Ethanol Kulit Batang Tanaman Cempaka Kuning (*M. champaca* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *E-Jurnal Medika*. 8(5).
- Wisdom, Solomon, G.O. Ugoh, S.C dan Mohammed, .B. 2014. Phytochemical Screening and Antimicrobial activities of *Annona muricata* (L) leaf extract. *American Journal of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2(1).
- Wuri, Diana A. Jublin F. Bale-Therik dan Gomera Bouk. 2018. Effect of Concentration of Soursop (*Annona muricata*) Leaf and Soaking Time on Protein and Fat Contents and Sensory Quality of Raw Chicken Meat. *Journal of Applied Chemical Science*. 5(1).
- Yajid, Aidy Irman. Husna Syakirah ab Rahman. Michael Wong Pak Kai. Wan Zainira Wan Zain. 2018. Potential Benefits of *Annona muricata* in Combating Cancer: A Review. *Malays J Med Sci*. 25(1).
- Yulianti, Titiek. 2012. Menggali potensi endofit untuk meningkatkan kesehatan tanaman tebu mendukung peningkatan produksi gula. *Perspektif*. 11(2): 111-122.
- Zai, Yurlina. Agnes Yohana Kristino. Sri Lestari Ramadhani Nasution. Oliviti Natali. 2019. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*. 6(1).

Zulkifli, L. Jekti, Dwi Soelistya Dyah. Bahri, Samsul. 2018. Isolasi, Karakterisasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Kulit Batang Srikaya (*Annona squamosa*) Dan Potensinya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa*. 4(1).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kunci Determinasi Fungi Endofit Daun Sirsak

Isolat IDS 1

1. Hyphae aseptate.....2
2. Sporangiospores.....Zygomycetes

Isolat IDS 2

1. Hyphae septate.....6
6. Hyphae without clamp Connection.....7
7. Spores Formed.....Ascomycetes

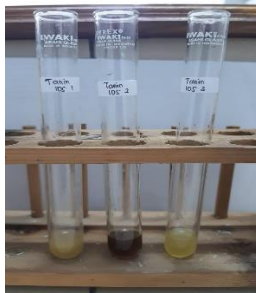
Isolat IDS 3

1. Hyphae septate.....6
6. Hyphae without clamp Connection.....7
7. Spores Formed.....Ascomycetes

LAMPIRAN 2. Hasil Fermentasi Fungi Endofit Daun Sirsak

No.	Fungi Endofit	Sebelum Fermentasi	Sesudah Fermentasi
1.	IDS 1		
2.	IDS 2		
3.	IDS 3		

LAMPIRAN 3. Gambar Hasil Uji Fitokimia Fungi Endofit Daun Sirsak

No.	Uji Fitokimia	Gambar	Keterangan
1.	Flavonoid		IDS 1 = Putih Keruh (-) IDS 2 = Tidak Berwarna (-) IDS 3 = Tidak Berwarna (-)
2.	Tanin		IDS 1 = Coklat Muda (-) IDS 2 = Hijau Kehitaman (+) IDS 3 = Kuning Jernih (-)
3.	Saponin		IDS 1 = Ada Busa (+) IDS 2 = Tidak Ada Busa (-) IDS 3 = Tidak Ada Busa (-)
4.	Fenolik		IDS 1 = Coklat Muda (-) IDS 2 = Hijau Kehitaman (+) IDS 3 = Kuning Jernih (-)
5.	Alkaloid		IDS 1 = Tidak Ada Endapan (-) IDS 2 = Tidak Ada Endapan (-) IDS 3 = Ada Endapan Jingga (+)

LAMPIRAN 4. Rumus perhitungan diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Rumus perhitungan diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			
		1	2	3	4
1.	IDS 1	9,59	9,03	9,4	9,16
2.	IDS 2	11,07	11,39	10,92	10,32
3.	IDS 3	7,7	8,83	8,13	7,75
4.	Kontrol Positif	10,32	11,36	12,12	11,17
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

Keterangan diameter kertas saring 6 mm

$$Lz = Lav - Ld$$

Dimana Lz: Diameter zona hambat (mm)

Lav: Diameter zona hambat dengan kertas

Ld: Diameter kertas saring (mm)

Contoh: $Lz = Lav - Ld$

IDS 1 U1: $9,59 \text{ mm} - 6 \text{ mm} = 3,59 \text{ mm}$

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			
		1	2	3	4
1.	IDS 1	3,59	3,03	3,40	3,16
2.	IDS 2	5,07	5,39	4,92	4,32
3.	IDS 3	1,70	2,38	2,13	1,75
4.	Kontrol Positif	4,32	5,36	6,21	5,17
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

Rumus perhitungan diameter zona hambat *Escherichia coli*

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			
		1	2	3	4
1.	IDS 1	10,4	9,78	8,93	9,42
2.	IDS 2	12,01	11,44	10,48	10,91
3.	IDS 3	9,7	7,13	7,34	8,38
4.	Kontrol Positif	13,27	12,39	13,23	12,84
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

Keterangan diameter kertas saring 6 mm

$$Lz = Lav - Ld$$

Dimana Lz: Diameter zona hambat (mm)

Lav: Diameter zona hambat dengan kertas

Ld: Diameter kertas saring (mm)

Contoh: $L_z = L_{av} - L_d$

IDS 1 U1: $10,4 \text{ mm} - 6 \text{ mm} = 4,4 \text{ mm}$

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			
		1	2	3	4
1.	IDS 1	4,4	3,78	2,39	3,42
2.	IDS 2	6,01	5,44	4,48	4,91
3.	IDS 3	3,70	1,13	1,34	2,38
4.	Kontrol Positif	7,27	6,39	7,23	6,84
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

Lampiran 5. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit Daun Sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit Daun Sirsak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			Rata – Rata (mm)
		1	2	3	
1.	IDS 1	3,59	3,40	3,16	3,38
2.	IDS 2	5,07	4,92	5,39	5,12
3.	IDS 3	2,38	2,13	1,75	2,08
4.	Kontrol Positif	5,36	6,21	5,17	5,58
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Fungi endofit Daun Sirsak terhadap bakteri *Escherichia coli*

No.	Kode Isolat	Ulangan (mm)			Rata – Rata (mm)
		1	2	3	
1.	IDS 1	4,40	3,78	3,42	3,87
2.	IDS 2	6,01	5,44	4,91	5,45
3.	IDS 3	3,70	1,34	2,38	2,47
4.	Kontrol Positif	7,27	7,23	6,84	7,11
5.	Kontrol Negatif	0	0	0	0

LAMPIRAN 6. HASIL UJI STATISTIKA PENGHAMBATAN FUNGI ENDOFIT terhadap *Staphylococcus aureus*

1. Uji Normalitas

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.92196551
Most Extreme Differences	Absolute	.272
	Positive	.272
	Negative	-.152
Kolmogorov-Smirnov Z		1.053
Asymp. Sig. (2-tailed)		.218
a. Test distribution is Normal.		

2. Uji Anova

ANOVA

Ulangan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.650	4	15.662	153.133	.000
Within Groups	1.023	10	.102		
Total	63.673	14			

3. Uji Duncan

Ulangan

		N	Subset for alpha = 0.05			
Jenisekstrak			1	2	3	4
Duncan ^a	Kontrol Negatif	3	.0000			
	IDS 3	3		2.0867		
	IDS 1	3			3.3833	
	IDS 2	3				5.1267
	Kontrol Positif	3				5.5800
	Sig.		1.000	1.000	1.000	.113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

LAMPIRAN 7. HASIL UJI STATISTIKA PENGHAMBATAN FUNGI ENDOFIT terhadap *Escherichia coli*

**1. Uji Normalitas
NPar Tests**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	2.43024337
Most Extreme Differences	Absolute	.158
	Positive	.158
	Negative	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.613
Asymp. Sig. (2-tailed)		.847
a. Test distribution is Normal.		

2. Uji Anova

ANOVA

Ulangan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.743	4	22.436	55.985	.000
Within Groups	4.007	10	.401		
Total	93.751	14			

3. Uji Duncan

Ulangan

		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan ^a	Kontrol Negatif	3	.0000				
	IDS 3	3		2.4733			
	IDS 1	3			3.8667		
	IDS 2	3				5.4533	
	Kontrol Positif	3					7.1133
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ilmi Hidayah
NIM : 16620042
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Ir. Hj. Liliek Harianie, AR., M.P.
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Daun Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	30 - Des- 2019	Konsultasi Judul	
2.	04- Feb - 2020	Konsultasi BAB I & III	
3.	07- Feb - 2020	Revisi BAB I & III, Konsultasi BAB II	
4.	07 - Mar - 2020	Revisi BAB I , II dan III	
5.	12 - Mar-2020	ACC BAB I,II, dan III	
6.	2- Nov- 2020	Konsultasi Hasil BAB IV	
7.	27- Aprl- 2021	Konsultasi Pembahasan	
8.	30-Aprl- 2021	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	
9.	04- Mei -2021	ACC NASKAH SKRIPSI	

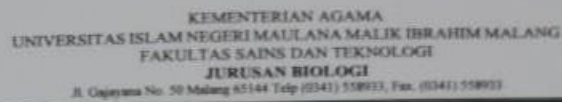
Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Harianie AR., M.P.
NIP. 196209011998032001



Malang, 04 Mei 2021
Ketua Jurusan

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002



Nama : Hani Hidayah
NIM : 16620042
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Fungi Endofit Daun Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*

Q24

Matang, 04 Mei 2020
Ketua Jurusan,


Dr. Evika Sandi

Malang, 04 Mei 2021
Ketua Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002