

Skrining Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)

Dwi Dinni Aulia Bakhtra^{1*}, Aried Eriadi¹, Silvia Rahmatika Putri¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Padang, Indonesia

*E-mail: dwidinni89@gmail.com

Abstrak

Jamur endofit adalah jamur yang terdapat dalam sistem jaringan tumbuhan. Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk meskrining aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak etil asetat jamur endofit dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Isolasi jamur endofit menggunakan metode tuang dengan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Dari hasil isolasi didapatkan 5 jenis isolat jamur endofit dengan kode PC₁, PC₂, PC₃, PC₄ dan PC₅. Selanjutnya, setiap isolat jamur dikultivasi menggunakan media beras selama 20-30 hari. Hasil kultivasi diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Dari hasil ekstraksi didapatkan berat ekstrak etil asetat yang bervariasi yaitu 431-978 mg. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi 10 %. Berdasarkan hasil skrining aktivitas antibakteri daya hambat terbesar ditunjukkan pada isolat jamur PC₅ dengan diameter hambat 19,20 mm. Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dilanjutkan dengan pengamatan kandungan kimia. Dari skrining metabolit sekunder untuk isolat jamur PC₅ positif mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin. Dari hasil di atas dapat disimpulkan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) mengandung jamur endofit yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri.

Kata kunci: *Piper crocatum*; jamur endofit; antibakteri

Abstrak

Endophytic fungi are fungi there is in plant tissue systems. Endophytic fungi can produce bioactive compounds. The aim of this study was to screen the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* ethyl acetate extract of endophytic fungi from red betel leaves (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Isolation of endophytic fungi using the pour method with *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) media. From the isolation results, there were 5 types of endophytic fungi isolates with PC₁, PC₂, PC₃, PC₄ and PC₅ codes. Furthermore, each mushroom isolate was cultivated using rice media for 20-30 days. The results of cultivation were extracted using ethyl acetate solvent. From the extraction results obtained varying weight of ethyl acetate extract that is 431-978 mg. Antibacterial activity test uses the diffusion method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with a concentration of 10%. Based on the screening results, the greatest inhibitory antibacterial activity was shown in isolates of PC₅ fungi with inhibition diameter of 19.20 mm. Isolates which have the greatest antibacterial activity were followed by observation of chemical contents. From screening secondary metabolites to positive PC₅ fungal isolates containing alkaloids, flavonoids and tannins. From the above results it can be concluded that red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Contains endophytic fungi which can produce antibacterial compounds.

Keywords: *Piper crocatum*, endophytic fungi, antibacterial

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki ribuan jenis tumbuhan yang harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik. Sirih merah

banyak ditemui di Indonesia sebagai tanaman obat-obatan seperti obat kumur, pembersih kewanitaian dan obat untuk radang mata (Sudewo, 2005). Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) mempunyai bentuk daun yang cukup

bervariasi antara daun muda dan daun cabang (Astuti & Munawaroh, 2011) dan aroma yang khas (Sudewo, 2005).

Daun sirih merah mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Kandungan tanin pada daun sirih merah dipercaya memiliki khasiat mengurangi sekresi cairan pada vagina dan mencegah diare (Hidayat, 2013) dan flavonoid memiliki aktivitas antifungi (Wiryowidagdo, 2008).

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat di dalam suatu sistem jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang dan akar. Senyawa yang dihasilkan jamur endofit tersebut dapat berupa senyawa antikanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain-lain (Strobel, 2004). Jamur endofit dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri (Dwilestari *et al.*, 2015).

Beberapa tahun terakhir telah banyak dilakukan penelitian mengenai sirih merah di antaranya oleh Tonahi *et al.*, (2014), telah meneliti ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) termasuk ke dalam golongan antioksidan yang sangat kuat. Candrasari *et al.*, (2012), meneliti daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Mukhlis *et al.*, (2018) meneliti aktivitas antibakteri dari ekstrak isolat jamur endofit pada mangrove *Rhizophora apiculata*.

Berdasarkan uraian di atas perlunya dilakukan penelitian tentang isolasi jamur endofit yang berasal dari daun sirih merah dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, plastik, botol

vial, tissu, penangas air, labu ukur (Pyrex), spatel, batang pengaduk, benang jagung, pinset, pipet tetes, jarum ose, tabung reaksi (Pyrex), cawan petri (Pyrex), corong (Pyrex), lemari aseptik, timbangan analitik (Precisa), kapas steril (Promedik), kain kasa steril (Promedik), lampu spiritus, bunsen, erlenmeyer (Pyrex), beaker glass (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), jangka sorong (Pyrex), kertas cakram (Whatman).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav, air suling (PT Brataco), Spiritus (PT Brataco), etil asetat (PT Brataco), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), beras putih, Media Sabouraud Dextrose Agar (Merck), Media Nutrien Agar (Merck), Kloramfenikol 50 µg/mL (Mehta), Ferri (III) klorida (FeCl₃) (Merck), Hydrargyrum (II) klorida (HgCl₂) (Merck), Kalium iodida P (KI) (Merck), Natrium klorida (NaCl) 0,9 % (PT Widatra bhakti) dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dari Fakultas Kedokteran UNAND

Prosedur Kerja

Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel daun sirih merah diambil sebanyak ± 100 gram dan kemudian dimasukkan dalam wadah plastik bersih dan dibawa ke laboratorium. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

Isolasi Jamur Endofit Dari Daun Sirih Merah

Sampel daun sirih merah yang sudah dibilas dengan air suling, daun dihaluskan dengan lumping dan diambil 10 gram lalu dimasukan kedalam erlenmeyer lalu cukupkan dengan air suling 100 mL. Kemudian diencerkan hingga konsentrasi 10⁻⁶ dan diinokulasikan pada media *sabouraud dextrose agar* (SDA), dan

inkubasi pada suhu 27-29 °C selama 5-7 hari. Koloni yang memiliki bentuk dan warna berbeda dengan koloni lain dapat dianggap sebagai isolat yang berbeda.

Pemurnian Isolat Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh pada media isolasi *sabouraud dextrose agar* (SDA), kemudian secara bertahap dimurnikan satu per satu. Masing-masing isolat jamur endofit yang sudah tumbuh diambil koloni yang terdapat pada permukaan media dengan jarum ose dan dipindahkan ke media *sabouraud dextrose agar* (SDA) yang lain untuk ditumbuhkan kembali.

Kultivasi Isolat Jamur

Isolat murni yang diperoleh pada tahap peremajaan kemudian dikultivasi pada media beras. Proses inokulasi ini dilakukan dengan menggunakan lemari aseptis, isolat jamur dipotong-potong ± 1 cm x 1 cm, kemudian jamur dimasukkan ke dalam media beras. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar (20-25 °C) selama 20-30 hari sampai jamur tumbuh maksimal yang ditandai dengan semua beras telah ditumbuhi jamur (Kjer *et al.*, 2010).

Ekstraksi Dari Isolat Jamur

Kultur dari masing-masing isolat, selanjutnya dimaserasi dengan etil asetat 100 mL selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya, maserat etil asetat jamur dipisahkan dari media kultur menggunakan corong. Pelarut etil asetat kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak etil asetat. (Kjer *et al.*, 2010).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan dalam tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh

kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Muljono *et al.*, 2016). Kontrol positif digunakan cakram kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan DMSO.

Uji Aktivitas Ekstrak Isolat Jamur

Larutan uji ekstrak isolat jamur daun sirih merah dengan konsentrasi 10%, kontrol positif dan kontrol negatif ditetaskan sebanyak 10 µL pada kertas cakram, kemudian cawan petri dimasukkan dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Ketentuan kekuatan daerah hambat tersebut adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih (sangat kuat), daerah hambatan 10-20 mm (kuat), daerah hambatan 5-10 mm (sedang) dan daerah hambatan 5 mm (kurang), dikatakan tidak berefek (Davis & Stout, 1971)

Identifikasi Metabolit Sekunder

a. Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak, masukkan kedalam cawan penguap tambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, tambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Jika terbentuk endapan warna coklat sampai hitam, maka ekstrak mengandung alkaloid.

b. Flavonoid

Sebanyak 1 mL larutan ekstrak dilarutkan dalam 1 mL sampai 2 mL etanol 95% P tambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N, diamkan selama 1 menit. Tambahkan 10 tetes asam klorida pekat P, jika dalam waktu 2 sampai 5 menit menjadi warna merah intensif maka menunjukkan adanya flavonoid.

c. Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak, masukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 10 mL air

panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang maka ekstrak mengandung saponin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

d. Tanin

Ekstrak di tambahkan 3-4 tetes larutan besi (III) ammonium sulfat LP yang telah diencerkan 5 kali. Jika terbentuk warna hijau hingga biru kehitaman maka ekstrak mengandung tanin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1977).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi sampel di Laboratorium Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Fakultas FMIPA Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah *Piper crocatum* Ruiz & Pav yang berasal dari famili Piperaceae. Sampel daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang telah diambil kemudian dibilas dengan air suling. Proses isolasi dilakukan dengan metode tuang yaitu sebanyak 10 gram daun sirih steril yang sudah dihaluskan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan cukupkan sampai 100 mL air suling dan diencerkan hingga konsentrasi 10^6 dan diinokulasikan pada media SDA, inkubasi pada suhu 27-29 °C selama 5-7 hari. Koloni yang memiliki bentuk dan warna berbeda dengan koloni lain dapat dianggap sebagai isolat yang berbeda

Pengamatan koloni dilakukan secara makroskopik berdasarkan warna dari koloni isolat jamur endofit (Hasiani *et al.*, 2015). Kriteria yang sama dianggap sebagai isolat yang sama dan kriteria yang berbeda dianggap isolat yang berbeda (Kumala & Fitri, 2008). Jamur endofit yang telah murni kemudian diremajakan menggunakan media *agar* (SDA). Peremajaan isolat sangat



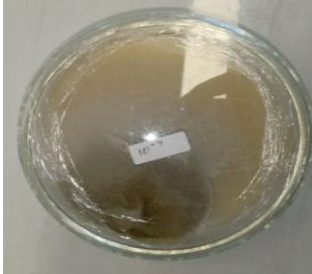

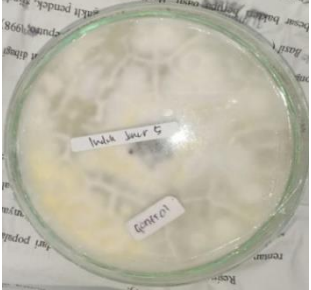
penting untuk menjamin jamur endofit tidak berada pada fase kematian karena terlalu banyak sel-sel yang hidup sehingga mengakibatkan faktor kompetisi nutrisi (Gandjar *et al.*, 1999).

Hasil isolasi jamur endofit daun sirih merah diperoleh lima isolat jamur endofit, dengan kode PC₁, PC₂, PC₃, PC₄, PC₅ yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Isolat jamur endofit yang telah dikultivasi selama 20-30 hari diekstraksi dengan metode maserasi. Metode ini dipilih bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian zat aktif akibat pemanasan dan alat-alat yang digunakan sederhana. Maserasi merupakan pengerjaan ekstraksi dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik selama 3-5 hari dan dikocok sesekali. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, memiliki toksisitas rendah dan bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (Rowe *et al.*, 2009).

Ekstrak etil asetat yang mengandung senyawa metabolit sekunder dibuat konsentrasi 10 % dalam dimetilsulfoksida (DMSO, kontrol positif sebagai pembanding yakni kloramfenikol (50 µg/disk) karena antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik gram positif maupun negatif (Katzung, 2004). Dimetilsulfoksida (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif yang tidak memberikan zona hambat pada bakteri dan jamur uji. Dimetilsulfoksida adalah pelarut ini tidak toksik dan relatif tidak berpengaruh terhadap proliferasi sel sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dan dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar, non polar maupun semi polar (Maryati & Sutrisna, 2007).

Tabel 1. Hasil Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih Merah

No	Isolat Jamur	Kode Sampel	Morfologi
1		Isolat jamur PC ₁	Berwarna hitam, permukaan rata
2		Isolat jamur PC ₂	Berwarna putih, kecoklatan berbentuk seperti kapas tebal dan permukaan rata
3		Isolat jamur PC ₃	Berwarna kuning kehijauan, berbulu halus, permukaan tidak rata
4		Isolat jamur PC ₄	Berbulu halus warna abu-abu, permukaan tidak rata, tampak seperti kapas
5		Isolat jamur PC ₅	Berwarna putih kekuningan, berbulu halus dan tepian rata

Metoda uji aktivitas antibakteri menggunakan metoda difusi agar karena metoda ini relatif sederhana, hasil yang didapat cukup teliti. Daerah bening di sekeliling cakram menandakan tidak adanya bakteri yang tumbuh, dan menunjukkan bahwa sampel mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba. Faktor yang mempengaruhi pengujian aktivitas antibakteri dengan metoda ini adalah kecepatan difusi dari zat yang berbeda-beda dan perbedaan respon dari mikroba terhadap zat yang diuji, ini yang menyebabkan diameter hambat yang dihasilkan (Handayani *et al.*, 2009).

Dari lima ekstrak isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi menghasilkan aktivitas daya hambat berbeda-beda terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak dari isolat yang memiliki rata-rata diameter hambat tertinggi terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* adalah ekstrak isolat jamur PC₅ dengan diameter hambatan 19,20 mm, daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* adalah ekstrak isolat jamur PC₂ dengan diameter hambat sebesar 16,22 mm (Tabel 2 dan Tabel 3). Ekstrak isolat jamur PC₅ dan isolat jamur PC₂ berpotensi sebagai antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif atau tergolong antibiotik spektrum luas.

Klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri yaitu diameter zona hambat lebih dari 20 mm digolongkan sangat kuat, 10-20 mm digolongkan kuat, 5-10 mm digolongkan sedang dan kurang dari 5 mm digolongkan lemah (Davis & Stout, 1971). Ekstrak isolat jamur PC₅ adalah ekstrak isolat jamur endofit yang memiliki diameter hambat terbesar yakni 19,20 mm

dan memiliki aktivitas antibakteri dalam katagori kuat. Sedangkan ekstrak isolat jamur PC₂ adalah ekstrak isolat jamur endofit yang memiliki diameter hambat terbesar yakni 16,22 mm dan memiliki aktivitas antibakteri dalam katagori kuat.

Secara umum dari lima ekstrak isolat jamur endofit yang diisolasi dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) menunjukkan penghambatan yang lebih baik terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dari pada bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

Bakteri gram positif diketahui lebih sensitif dari pada bakteri gram negatif, hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram negatif yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif. Struktur dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari tiga lapis sedangkan bakteri gram positif struktur dinding selnya berupa lapisan tunggal, selain itu pada bakteri gram positif peptidoglikan tidak terlindungi oleh membran luar. Perbedaan struktur lapisan membran tersebut menyebabkan bakteri gram negatif kurang sensitif terhadap antibiotik dari pada bakteri gram positif (Prihanto, 2012; Pelczar & Chan, 2006).

Dari hasil pengujian golongan senyawa metabolit sekunder ekstrak etil asetat jamur endofit daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) didapatkan bahwa ekstrak etil asetat mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan tannin. Diduga aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang terdapat pada ekstrak etil asetat jamur endofit daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) berasal dari senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan tanin.

Tabel 1. Diameter Daerah Hambat Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit dari Daun Sirih Merah Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Isolat/ kontrol	Diameter Daerah Hambat (mm)							
	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>			
	Pengulangan			Rata-rata	Pengulangan			Rata-rata
1	2	3	1		2	3		
PC ₁	16,66	18,63	13,64	16,33	8,78	14,27	13,18	12,08
PC ₂	17,97	19,75	13,75	17,46	16,78	18,22	13,67	16,22
PC ₃	19,32	17,32	14,80	17,31	13,57	15,75	17,74	15,69
PC ₄	17,99	19,28	15,05	17,37	12,02	9,77	16,14	12,64
PC ₅	18,14	23,67	15,80	19,20	11,70	19,24	12,17	14,37
Kontrol (+)				37,60				21,30
Kontrol (-)				0				0

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014). Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalisasi atau ikatan hydrogen, dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Sedangkan kerja flavonoid yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom, merupakan hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Cushnie & Lamp, 2005). Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan

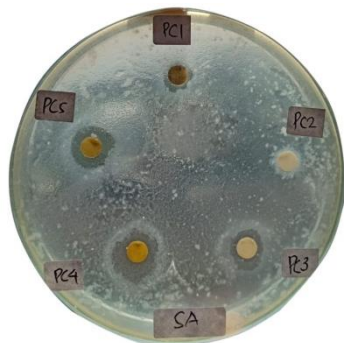
keluarnya senyawa intraseluler (Li *et al.*, 2003). Selain itu penghambatan metabolisme energi bakteri oleh flavonoid dilakukan dengan cara menghambat proses respirasi bakteri sehingga adanya energy yang dihambat akan berpengaruh terhadap aktivitas penyerapan metabolit dan biosintesis makromolekul bakteri (Cushnie & Lamp, 2005).

Kandungan senyawa tanin pada ekstrak isolat jamur PC₅ mempunyai aksi antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat transport protein pada selubung sel. Mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh

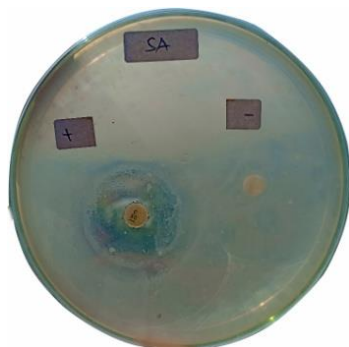
dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari

prekursor ribonukleotida DNA (Akiyama *et al.*, 2001).

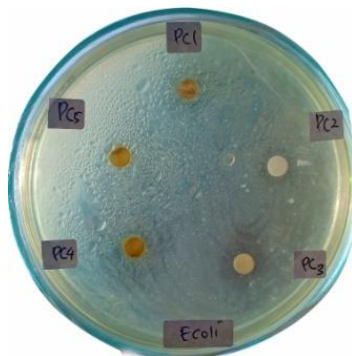
Tabel 3. Gambar Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit



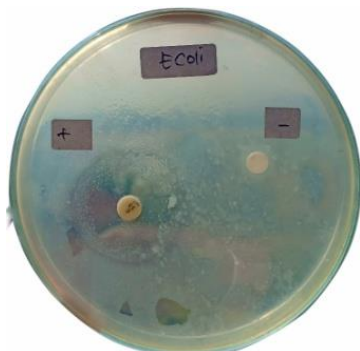
Hasil uji antibakteri ekstrak etil asetat PC₁, PC₂, PC₃, PC₄ dan PC₅ terhadap *Staphylococcus aureus*



Hasil uji kontrol positif (+) dan kontrol positif (-) terhadap *Staphylococcus aureus*



Hasil uji antibakteri ekstrak etil asetat PC₁, PC₂, PC₃, PC₄ dan PC₅ terhadap *Escherichia coli*



Hasil uji kontrol positif (+) dan kontrol positif (-) terhadap *Escherichia coli*

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Ekstrak kental etil asetat jamur endofit dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) memiliki aktivitas antibakteri.
2. Berdasarkan hasil skrining metabolit sekunder menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat isolat jamur PC₅ mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin.

SARAN

Disarankan pada peneliti selanjutnya untuk melakukan identifikasi mikroskopis dan molekulerisolat jamur endofit dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)

DAFTAR RUJUKAN

- Akiyama, H., K. Fujii., O. Yamasaki., T. Oono., & K. Iwatsuki. (2001). Antibacterial action of several tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487 – 491.
- Astuti, P. I., & Munawaroh, E. (2011). Karakteristik morfologi daun sirih merah: *Piper crocatum* Ruiz & Pav. dan *Piper porphyrophyllum* N.E.Br. koleksi kebun raya bogor. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*, 7A, 83-85.
- Candrasari, A., Romas, M. A., Hasbi, M., & Astuti, O. R. (2012). Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Candida albicans* secara in vitro. *Biomedika*, 4(1), 9-16.
- Cushnie, T. P. T, Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*, 26, 343 – 356.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Journal of Microbiology*, 22(4), 666-669.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1977). *Materia Medika Indonesia* Jilid I. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dwilestari, A. H., Posangi, J., & Bara, R. (2015). Uji efek antibakteri jamur endofit pada daun Mangrove *Sonneratia alba* terhadap bakteri uji *Saphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 3 (1), 1-10.
- Gandjar, I., Robert, A. S., Karin, V. D. T., Ariyanti, O., & Imam, S. (1999). *Pengenalan kapang endofit*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Handayani, D., Maipa, D., Marlina, & Meilan. (2009). *Skrining aktivitas antibakteri beberapa biota laut dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat*. Diakses pada 7 Januari 2017 dari <http://repository.unand.ac.id/969/>.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. (2015). Isolasi jamur endofit dan produksi metabolit sekunder antioksidan dari daun pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), 240-247.
- Katzung, B. G. (2004). *Farmakologi dasar dan klinik* (Edisi I). Jakarta: Salemba Medika.
- Kjer, J., Debbab, A., Ali, A. H., & Proksch, P. (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Journal Nature Protocol*, 5(3), 479-490.
- Kumala, S., & Fitri, N. A. (2008). Penapisan kapang endofit ranting kayu meranti merah (*Shorea balangeran* Korth.) sebagai penghasil enzim xilanase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(1), 1–6.
- Li, H., Wang, Z. & Liu, Y. (2003). Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong-Yao-Cai*, 26(6): 444-448.
- Maryati., & Sutrisna, E. M. (2007). Potensi sitotoksik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L) terhadap sel hela. *Pharmacon*, 8(1), 1-6.

- Mukhlis, D. K., Rozirwan, & Hendri, M. (2018). Isolasi dan aktivitas antibakteri jamur endofit pada mangrove *Rhizophora apiculata* dari kawasan mangrove tanjung api-api kabupaten banyuasin sumatera selatan. *Maspari Journal*, 10(2):151-160
- Muljono, P., Fatmawali, & Manampiring, A. E. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus Benth*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 4(1), 164-172.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2006). *Dasar-dasar mikrobiologi* (Edisi I). Jakarta: Universitas Indonesia.
- Prihanto, A. A. (2012). Perbandingan aktivitas antibakteri *Penicillium notatum* atcc 28089 dengan *Penicillium* sp. R1M yang diisolasi dari mangrove *Sonneratia caseolaris*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(1), 66-70.
- Rijayanti, R. P. (2014). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (Mangifera indica L) terhadap staphylococcus aureus secara in vitro*. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Rowe, R. C., Shekey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association.
- Strobel, G. A. (2004). Natural products from endophytic microorganism. *Journal of Natural Products*, 67, 257-268
- Tonahi, J. M. M, Nuryanti, S. & Suherman. (2014). Antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum*). *J. Akad. Kim.* 3 (3), 158-164.
- Wiryowidagdo, S. (2008). *Kimia dan farmakologi bahan alam*. Jakarta: EGC.