

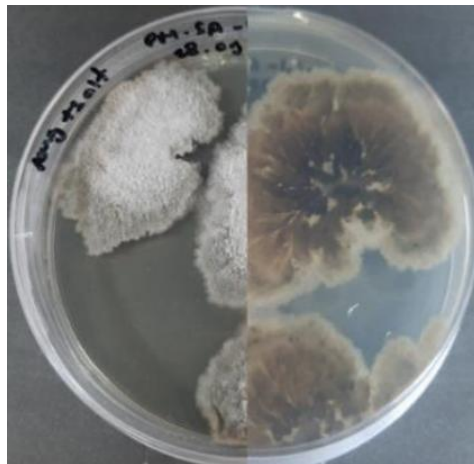
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Jamur Endofit

##### 1. Pengertian jamur endofit

Endofit adalah mikroorganisme yang hidup di jaringan internal tanaman tanpa menyebabkan gejala yang nyata (Meutia, Ulim and Chamzurni, 2020). Istilah “Endofit” diperkenalkan oleh De Bary pada tahun 1866 dan awalnya diterapkan pada organisme apa pun yang ditemukan di dalam tanaman yang menyebabkan infeksi asimtomatik sepenuhnya di dalam jaringan tanaman tanpa gejala penyakit apa pun (Thapa *et al.*, 2024). Menurut definisi, jamur endofit hidup dalam bentuk miselium dalam hubungan biologis dengan tanaman hidup setidaknya untuk beberapa waktu (Nisa *et al.*, 2015).



Gambar 1. Isolat Jamur Endofit

(Sumber: Mairing, 2022)

Jamur yang hidup pada jaringan tanaman berbeda tanpa menimbulkan gejala apapun disebut jamur endofit (Chusniasih *et al.*, 2024). Mikroorganisme ini bisa dijumpai di berbagai bagian tumbuhan, seperti akar, batang, daun, dan biji, dan tidak memiliki dampak negatif pada pertumbuhan tanaman. Suatu tanaman dapat menampung banyak spesies endofit, yang dapat tetap terlokalisasi dan menyebabkan perlindungan spesifik jaringan dari penyakit atau dapat menyebar secara sistemik pada tanaman herba (Eshboev *et al.*, 2024). Jamur endofit dan tanaman inang mempunyai interaksi simbiosis mutualisme dimana jamur endofit dapat meningkatkan daya saing dan ketahanan terhadap penyakit sedangkan tanaman inang menyuplai nutrisi bagi jamur endofit. Pembuluh xilem merupakan rumah bagi jamur endofit, yang muncul ketika inangnya mengalami tekanan maupun dalam kondisi terluka (tersayat) (Margino, 2018).

Jamur endofit dapat menghuni jaringan suatu tumbuhan, bahkan tiap spesies tumbuhan yang sama dapat memiliki komunitas jamur endofit yang berbeda. Faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan keragaman jamur endofit yang menetap dalam suatu jaringan tumbuhan antara lain kondisi habitat inang, jenis jaringan genotipe inang. (Pangow *et al.*, 2020)

## **2. Morfologi dan klasifikasi jamur endofit**

Morfologi jamur endofit merupakan aspek penting dalam memahami interaksi antara jamur dan tanaman inangnya (Fajrina, Bakhtra and Agnes Enda Mawarni, 2020). Dari segi morfologi, jamur endofit menunjukkan variasi yang signifikan dalam bentuk dan struktur baik secara makroskopis maupun mikroskopis (Aqlinia, Pujiyanto and Wijanarka, 2020). Secara makroskopis,

koloni jamur endofit dapat memiliki berbagai warna, tekstur, dan bentuk, seperti koloni berwarna putih hingga coklat gelap dengan permukaan halus atau berbulu (Suliati, Rahmawati and Mukarlina, 2017). Pengamatan mikroskopis mencakup karakteristik hifa, seperti keberadaan septa (bersekat atau tidak), bentuk dan ukuran konidia (spora aseksual), serta struktur konidiofor (struktur yang menghasilkan konidia). Misalnya, beberapa spesies dari genus *Fusarium* menunjukkan konidia berbentuk sabit dengan satu hingga septa, sedangkan genus *Colletotrichum* memiliki konidia yang berbentuk bulat atau elips (Suliati, Rahmawati and Mukarlina, 2017).

Jika ditinjau dari hubungan fungsionalnya, jamur endofit memiliki beberapa peran, seperti melindungi tanaman dari patogen (*protective endophytes*) dengan memproduksi senyawa antimikroba, membantu penyerapan nutrisi, atau merangsang pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon seperti auksin (Sopialena, Sopian and Allita, 2019). Selain itu, klasifikasi berdasarkan pola kolonisasi, seperti yang dikemukakan oleh Rodriguez membagi jamur endofit menjadi empat kelas: *Clavicipitaceous Endophytes* yang menginfeksi tanaman monokotil seperti rumput, *Non-Clavicipitaceous Endophytes* yang hidup di berbagai jaringan tanaman tanpa spesifisitas tinggi, *Non-Clavicipitaceous Foliar Endophytes* yang umumnya ditemukan di daun, dan *Dark Septate Endophytes* yang memiliki hifa berwarna gelap dan hidup di akar. (Lugtenberg, Caradus and Johnson, 2016)

### **3. Jenis- jenis jamur endofit**

Berdasarkan taksonomi, jamur endofit dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok, seperti *Ascomycota* (contohnya *Fusarium spp.*, *Aspergillus*

*spp.*, dan *Penicillium spp.*), yang paling umum ditemukan dan dikenal menghasilkan berbagai metabolit bioaktif, serta *Basidiomycota*, seperti *Mycena spp.*, meskipun jarang ditemukan. Selain itu, terdapat pula kelompok *Zygomycota* (misalnya *Rhizopus spp.*) dan *Deuteromycota* yang dikenal sebagai "Fungi Imperfecti" karena tidak memiliki tahap reproduksi seksual yang teridentifikasi. Berdasarkan habitat, jamur endofit ditemukan di berbagai bagian tanaman, seperti daun (*foliar endophytes*), batang, dan akar. Contohnya, *Colletotrichum spp.* ditemukan pada daun, sementara *Trichoderma spp.* banyak ditemukan di akar dan sering membantu meningkatkan penyerapan nutrisi (Khairalla Afra, 2016).

Jamur endofit juga dapat dikategorikan berdasarkan ekosistem atau lingkungan tempat hidupnya. Misalnya, jamur endofit dari tanaman mangrove seperti *Pestalotiopsis spp.* memiliki toleransi terhadap salinitas, sedangkan jamur dari tanaman herbal, seperti *Curvularia spp.*, sering kali menghasilkan senyawa dengan potensi farmasi. Dalam bidang agrikultur, jamur endofit seperti *Aspergillus spp.* ditemukan pada tanaman pangan dan membantu meningkatkan ketahanan terhadap patogen. Berbagai jenis jamur ini menunjukkan potensi besar untuk aplikasi dalam bidang farmasi, pertanian, dan bioteknologi.

Pada penelitian jamur endofit yang di isolasi dari tanaman kangkung darat yang dilakukan oleh (Ariyono, Djauhari and Sulistyowati, 2014). Ditemukan lima belas macam jenis jamur endofit seperti *Aspergillus sp.* *Cephalosporium sp.* *Colletotrichum sp.* dan *Penicillium sp.*

#### **4. Mekanisme kerja jamur endofit sebagai antibakteri**

Jamur endofit bekerja sebagai antibakteri melalui mekanisme yang melibatkan produksi senyawa bioaktif, interaksi kompetitif, dan pengaruh lingkungan tempat hidupnya. Jamur endofit menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, fenol, poliketida, dan peptida siklik, yang memiliki aktivitas antimikroba (Jha *et al.*, 2023). Mekanisme kerja antibakteri ini dapat dibagi menjadi beberapa tahap. Pertama, senyawa yang dihasilkan oleh jamur endofit dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri, seperti mengganggu pembentukan peptidoglikan pada bakteri gram positif, yang menyebabkan sel menjadi tidak stabil dan mudah pecah. Kedua, beberapa senyawa bioaktif mampu menyerang membran sel bakteri, menyebabkan kerusakan struktur membran, kebocoran ion, atau penghancuran isi sel. Ketiga, metabolit tertentu bekerja dengan cara menghambat proses biosintesis protein atau DNA bakteri, misalnya dengan mengganggu replikasi DNA atau translasi protein, sehingga bakteri tidak bisa berkembang biak. Sementara itu, jamur endofit juga berkompetisi secara langsung dengan bakteri patogen dalam jaringan tanaman inangnya, baik melalui pengeluaran senyawa toksik untuk bakteri maupun dengan menempati ruang yang sama, sehingga mencegah kolonisasi bakteri patogen (Harmileni *et al.*, 2023).

Jamur endofit ini sering kali merespons kondisi stres atau keberadaan patogen di lingkungan inangnya dengan meningkatkan produksi senyawa bioaktif sebagai mekanisme adaptasi dan pertahanan. Dalam konteks simbiosis dengan tanaman, bahwa tumbuhan inang dilindungi jamur endofit dari infeksi bakteri patogen melalui produksi senyawa antibakteri, sementara tanaman inang

menyediakan nutrisi yang mendukung pertumbuhan jamur (Limbong *et al.*, 2024).

## **5. Pertumbuhan dan pembiakan jamur endofit**

Pertumbuhan dan pembiakan jamur endofit terjadi melalui kolonisasi jaringan tanaman inang secara asimtomatik, di mana jamur ini dapat menjajah akar, batang, dan daun tanpa menyebabkan kerusakan yang nyata pada inangnya. Jamur endofit dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual, dengan sporulasi yang biasanya terjadi saat tanaman inang mencapai tahap penuaan. Proses ini melibatkan pembentukan hifa yang bercabang dan membentuk miselium di dalam jaringan tanaman. Selain itu, jamur endofit dapat ditularkan secara vertikal melalui biji atau secara horizontal melalui kontak dengan jaringan tanaman lain.

Pertumbuhan jamur endofit dipengaruhi oleh faktor lingkungan, kondisi inang, dan interaksi dengan mikroorganisme lain. Beberapa spesies endofit juga menunjukkan kemampuan untuk beradaptasi dengan kondisi stres, seperti kekeringan, dengan meningkatkan produksi metabolit sekunder yang memiliki manfaat untuk tumbuhan inang, seperti senyawa antimikroba dan zat yang meningkatkan pertumbuhan. Kondisi tersebut memperlihatkan bahwa jamur endofit tidak hanya berperan dalam kolonisasi, tetapi juga dalam meningkatkan kesehatan dan ketahanan tanaman inang terhadap berbagai stres biotik dan abiotik.

## **6. Penelitian terkait jamur endofit**

Mikroorganisme yang disebut jamur endofit berada di jaringan tanaman tanpa menyebabkan inangnya menunjukkan gejala penyakit. Mereka telah

menjadi fokus penelitian karena kemampuannya menghasilkan berbagai senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri. Seperti penelitian yang dilakukan oleh (Ariyono, Djauhari and Sulistyowati, 2014) mengkaji keanekaragaman jamur endofit pada daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*) yang dibudidayakan di lahan organik dan konvensional. Hasilnya memperlihatkan bahwa indeks keanekaragaman jamur endofit di lahan organik lebih tinggi dibandingkan dengan lahan konvensional, dengan nilai indeks keanekaragaman (H') masing-masing 3,785 dan 3,664. Genus jamur yang dominan ditemukan meliputi *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, dan *Penicillium sp.* Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh penggunaan pestisida kimia sintetis di lahan konvensional yang dapat menurunkan keanekaragaman mikroorganisme tanah.

Terdapat juga penelitian lain yang dilakukan oleh (Milce Angelin dkk, 2022) yaitu melakukan isolasi dan uji antibakteri jamur endofit dari daun leilem. Pada penelitian ini jamur endofit di uji antibakteri pada patogen *staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* dengan metode Kirby-Bauer yaitu metode yang mengujikan langsung jamur endofit dengan patogen bakteri. Ada 4 isolat jamur endofit terbukti efektif sebagai antibakteri, sedangkan tiga belas isolat jamur endofit daun leilem yang sudah diisolasi dan diidentifikasi baik secara makroskopis maupun mikroskopis.

## **B. Tanaman kangkung darat (*Ipomoea reptans*)**

### **1. Klasifikasi kangkung darat (*Ipomoea reptans*)**

Semua kalangan masyarakat menyukai kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.), tanaman sayuran yang termasuk dalam famili *Convolvulaceae* (Istiqomah, 2021). Kangkung merupakan salah satu jenis sayuran yang bernilai

ekonomis dan sangat populer termasuk di Indonesia karena banyak diperdagangkan dan sangat disukai banyak lapisan masyarakat, selain harga yang terjangkau, kangkung kaya akan nutrisi yang bermanfaat bagi kesehatan.



Gambar 2 Kangkung Darat (*Ipomoea reptans Poir*)

(Sumber: Amalia, 2022)

Klasifikasi tanaman kangkung darat adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyata*

Sub Divisi: *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledon*

Ordo : *Solanales*

Famili : *Convolvulaceae*

Genus : *Ipomoea*

Spesies : *Ipomoea reptans Poir.*

## **2. Morfologi kangkung darat (*Ipomoea reptans*)**

Sistem perakaran kangkung darat tergolong akar serabut. Akar ini berkembang dari pangkal batang dan mampu menembus tanah hingga



kedalaman tertentu untuk menyerap air dan unsur hara. Perakaran kangkung darat bersifat cukup dangkal tetapi efisien dalam menyerap nutrisi di lapisan tanah atas. Hal ini membuat kangkung darat lebih cocok ditanam di tanah yang gembur dan subur, seperti tanah liat berpasir dengan pH netral hingga sedikit asam (5,5–6,5) (Widyawati, 2023).

Batang kangkung darat berwarna hijau muda atau hijau keunguan dengan bentuk bulat dan berlubang di bagian tengah (berongga). Struktur batangnya lunak, menjalar, dan memiliki ruas-ruas yang cukup jelas. Ruas ini merupakan tempat tumbuhnya akar adventif jika tanaman bersentuhan dengan tanah. Batang kangkung darat juga memiliki kemampuan untuk tumbuh tegak, terutama jika ditanam di lahan yang kering atau tidak terlalu basah. Panjang batang bervariasi, tergantung pada kondisi lingkungan dan pemeliharaan, tetapi umumnya dapat mencapai 30–50 cm (Widyawati, 2023).

Daun kangkung darat menjadi salah satu aspek yang paling mudah diketahui. Daunnya berbentuk lanset atau panah dengan ujung yang meruncing. Warna daun umumnya hijau terang hingga hijau gelap, tergantung pada varietas dan kondisi lingkungan. Panjang daun berkisar antara 5–15 cm, dengan lebarnya 2–5 cm. Susunan daun kangkung darat berselang-seling (alternate) pada batang, dan tangkai daun (petiole) berukuran sedang hingga panjang. Fungsi utama daun ini adalah sebagai organ fotosintesis yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Selain itu, daun kangkung darat sering dimanfaatkan sebagai bahan pangan dikarenakan tekstur yang lembut dan mengandung nutrisi yang tinggi (Kresna, Sukerta and Suryana, 2016).

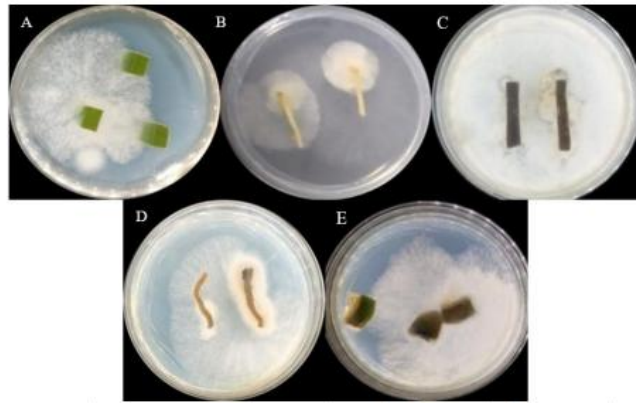
### **3. Kandungan kangkung darat (*Ipomoea reptans*)**

Kandungan kangkung darat yaitu karbohidrat, kalsium, protein, zat besi, air, lemak, serat, vitamin A, dan metabolit sekunder seperti  $\beta$ -karoten, riboflavin, tokoferol, kuersetin, dan antosianin yang mempunyai aktivitas antioksidan. (Widyastuti *et al.*, 2022)

## **C. Isolasi Jamur Endofit**

### **1. Pengertian Isolasi Jamur Endofit**

Isolasi jamur endofit adalah proses pemisahan dan pemurnian jamur yang hidup secara simbiosis di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit. Tujuannya adalah untuk mendapatkan jamur endofit dalam bentuk murni agar dapat diteliti lebih lanjut, misalnya untuk identifikasi, karakterisasi, atau pemanfaatan potensinya dalam berbagai bidang seperti produksi senyawa bioaktif, biokontrol, dan bioteknologi. Proses isolasi biasanya melibatkan langkah-langkah seperti sterilisasi permukaan jaringan tumbuhan, inokulasi pada media kultur, dan inkubasi untuk menumbuhkan jamur. Jamur yang berhasil tumbuh kemudian dipisahkan dan diperiksa lebih lanjut untuk memastikan kemurniannya. Metode ini berfungsi untuk menggali keanekaragaman hayati jamur endofit serta memahami perannya dalam ekosistem dan aplikasinya dalam sains maupun industry (Chusniasih *et al.*, 2024).



Gambar 3 Koloni Fungi Endofit

(Sumber: Riza Umami *et al.*, 2023)

## 2. Sterilisasi sampel

Sterilisasi jamur endofit dengan proses pencucian. Menurut Larran (2001), jamur endofit diisolasi melalui prosedur pencucian, yaitu mensterilkan permukaan daun dengan harapan jamur yang berkembang adalah jamur asli jaringan daun. Isolasi jamur endofit dilaksanakan dalam Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan kondisi aseptik.

Berdasarkan proses sterilisasi yang dilakukan oleh (Ariyono, Djauhari and Sulistyowati, 2014) dimulai dengan mencuci permukaan sampel tanaman, di mana daun dari tanaman dicuci dengan air mengalir kemudian perendaman dengan alkohol 70% selama 1 menit, dan natrium hipoklorit untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan setelah itu sampel daun dibilas kembali dengan aquadest untuk membilas sisa- sisa larutan pembersih sebelumnya.

Untuk memungkinkan pertumbuhan jamur endofit, media seperti Potato Dextrose Agar (PDA) atau Sabouraud Dextrose Agar (SDA) digunakan. Alkohol 70% efektif membunuh sebagian besar mikroorganisme tanpa merusak

jamur yang diinginkan, karena kemampuannya melarutkan lapisan lipid pada membran sel dan mengkoagulasi protein. Konsentrasi ini optimal karena cukup kuat untuk membunuh mikroba, namun tidak merusak sel jamur yang ingin diisolasi. Natrium hipoklorit (NaOCl) berfungsi sebagai desinfektan kuat yang merusak dinding sel mikroorganisme, membantu mencegah kontaminasi silang saat mencuci sampel terkontaminasi. Jamur endofit, yang berada di dalam jaringan tumbuhan, terlindungi dari desinfektan karena struktur tanaman yang keras membatasi penetrasi zat tersebut. Selain itu, jamur endofit telah beradaptasi untuk bertahan dalam kondisi ekstrem dan memiliki mekanisme pertahanan yang membuatnya lebih tahan terhadap agen pengendali mikroba seperti alkohol dan natrium hipoklorit (Liwang *et al.*, 2015).

### **3. Pemotongan sampel**

Setelah sampel di sterilkan, sampel tanaman akan di potong kecil-kecil menggunakan alat pemotong yang steril seperti pisau bedah steril atau gunting steril. Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan untuk mengisolasi jamur endofit pemotongan lebih baik digunakan dengan ukuran 1x1 cm. Salah satunya penelitian yang dilakukan oleh (Sulistiyono and Mahyuni, 2019) yaitu isolasi jamur endofit dengan pemotongan sampel 1x1 cm.

Pemotongan sampel tanaman menjadi ukuran 1x1 cm dalam proses isolasi jamur endofit dilakukan untuk memastikan keberhasilan pertumbuhan jamur endofit secara optimal sekaligus meminimalkan risiko kontaminasi. Ukuran ini dipilih karena cukup kecil untuk memaksimalkan penetrasi nutrisi dari medium ke jaringan tanaman, sehingga jamur endofit di dalam jaringan tersebut dapat tumbuh lebih cepat. Selain itu, ukuran yang konsisten memastikan keseragaman

sampel dalam proses sterilisasi permukaan, karena potongan yang terlalu besar dapat menyebabkan sterilisasi menjadi tidak efektif di bagian tengah jaringan, meningkatkan risiko kontaminasi dari mikroorganisme eksternal.

Potongan berukuran 1x1 cm juga memungkinkan pengaturan yang lebih efisien pada medium kultur, sehingga beberapa sampel dapat diinkubasi dalam satu cawan petri tanpa saling bersinggungan, mengurangi kemungkinan penyebaran kontaminasi. Ukuran ini juga cukup besar untuk memungkinkan pertumbuhan jamur endofit yang terlihat dengan mata telanjang, mempermudah identifikasi koloni yang muncul. Dengan memotong sampel ke ukuran ini, peneliti dapat memastikan bahwa hanya jamur endofit yang diisolasi, sementara mikroorganisme eksternal yang tidak diinginkan dapat diminimalkan. Konsistensi ukuran sampel juga penting untuk menghasilkan data yang dapat dibandingkan dalam penelitian yang melibatkan berbagai spesimen tanaman atau kondisi eksperimen (Khairalla Afra, 2016).

#### **4. Penanaman sampel**

Proses penanaman sampel untuk isolasi jamur endofit dimulai dengan menempatkan potongan jaringan tanaman yang telah disterilkan permukaannya ke atas medium Potato Dextrose Agar (PDA) dalam cawan petri steril. Potongan jaringan biasanya berukuran sekitar 1x1 cm dan diletakkan secara aseptis di permukaan medium. Setelah itu menutup rapat cawan petri dan dilakukan inkubasi dengan suhu sekitar 28°C lamanya 5 hingga 7 hari (Tangapo *et al.*, 2022).

## **D. Uji Aktivitas Antibakteri**

### **1. Pengertian uji aktivitas antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri adalah untuk mengetahui kapasitas suatu senyawa atau ekstrak tumbuhan untuk penghambatan pertumbuhan bakteri patogen. Uji aktivitas antibakteri juga membantu dalam mengidentifikasi potensi senyawa atau ekstrak tumbuhan sebagai sumber obat alami yang bisa dimanfaatkan sebagai alternatif atau komplementer terhadap pengobatan antibiotik tradisional.

### **2. Metode uji aktivitas antibakteri**

Metode uji aktivitas antibakteri menjadi salah satu strategi yang efektif untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa atau ekstrak tumbuhan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Uji aktivitas bakteri jamur endofit bisa dilaksanakan dengan dua metode, antara lain:

#### **a. Metode dilusi**

Metode dilusi cair dan dilusi padat adalah dua kategori metode dilusi. Kadar hambatan minimum (KHM) diukur dengan dilusi cair, dan kadar bakterisida minimum (KBM) ditentukan dengan dilusi padat. Dengan membuat beberapa pengenceran zat antibakteri dalam media cair yang sudah ditambah dengan mikroorganisme uji adalah cara pelaksanaan metode dilusi cair. Sementara itu, mikroorganisme uji diinokulasi pada media agar dengan obat antibakteri untuk melakukan metode dilusi padat. Keuntungan pada metode dilusi antara lain satu agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2019). Daya hambat pertumbuhan diamati dan diukur diameter kapang dan daerah hambatan pertumbuhan yang sudah

terbentuk (Widjaja, Soegianto dan Ervina, 2019). Semakin baik zona beningnya, semakin besar diameternya, karena hal ini menunjukkan seberapa sukses zona bening tersebut dalam mengusir bakteri dari area tersebut (Wiradona, Mardiaty dan Sukendro, 2014). Karena uji difusi endofit dikerjakan tanpa cadangan dengan menggunakan pendekatan kontak langsung, maka rasio daerah hambatan pertumbuhan (DHP) digunakan dalam perhitungannya.

b. Metode difusi

Metode silinder, lubang, dan cakram kertas merupakan tiga metode difusi yang dapat diterapkan.

- 1) Beberapa silinder ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri untuk melakukan prosedur silinder. Kaca atau baja tahan karat adalah bahan yang digunakan untuk membuat silinder. Setiap silinder diposisikan sedemikian rupa sehingga bertumpu pada media agar, yang selanjutnya akan diisi dengan larutan uji dan dibiarkan diinkubasi. Bakteri yang berkembang setelah inkubasi diperiksa untuk memeriksa adanya titik resisten di sekitar silinder.
- 2) Metode sumuran adalah teknik pembuatan lubang pada media padat yang sudah diinokulasi bakteri. Jumlah dan penempatan lubang dimodifikasi sesuai dengan tujuan penelitiannya. Setelah itu, tiap-tiap lubang diisi dengan potongan jamur endofit yang sudah di isolasi dan dilakukan pemurnian kemudian dilakukan inkubasi. Sesudah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.
- 3) Metode cakram kertas merupakan metode dengan meletakkan cakram kertas pada media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri, cakram kertas

direndam dalam larutan uji sebelum ditempatkan pada media padat. Pertumbuhan bakteri dinilai setelah inkubasi dengan memeriksa kertas cakram untuk mengetahui daerah yang resisten (Kusmiyati dan Agustini, 2007). Keuntungan metode difusi mencakup peningkatan fleksibilitasnya dalam memilih zat yang akan diuji dan kemudahan penggunaan karena tidak adanya persyaratan peralatan tertentu (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2019).

- 4) Metode agar plug merupakan teknik yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri jamur endofit terhadap bakteri patogen. Proses ini dimulai dengan menumbuhkan isolat jamur endofit pada medium Potato Dextrose Agar (PDA) di cawan petri steril dan menginkubasinya pada suhu 25–28°C selama 5–7 hari hingga koloni jamur tumbuh optimal. Setelah itu, bagian kecil dari koloni jamur, yang disebut agar plug, dipotong menggunakan cork borer atau alat steril berbentuk bulat dengan diameter 5–8 mm. Agar plug ini mengandung jamur endofit dan metabolit aktif yang dihasilkannya. Agar plug kemudian diletakkan di atas medium Mueller-Hinton Agar (MHA) yang telah diinokulasi dengan bakteri target, seperti *Staphylococcus aureus*. Posisi agar plug diletakkan secara aseptis pada permukaan MHA, biasanya beberapa agar plug diuji dalam satu cawan petri dengan jarak tertentu untuk mencegah interaksi. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. (Putri, Lisdiyanti and Kusmiati, 2018) Setelah masa inkubasi, zona hambat (area bening di sekitar agar plug) diukur menggunakan penggaris atau kaliper untuk menilai aktivitas antibakteri. Semakin besar zona hambat, semakin kuat aktivitas antibakteri

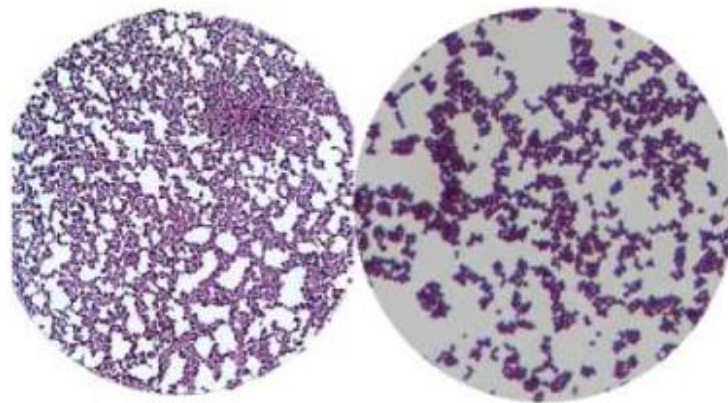


jamur endofit. Metode ini sederhana, efektif, dan memungkinkan pengujian langsung metabolit bioaktif yang diproduksi jamur terhadap bakteri target.

## **E. Bakteri *Staphylococcus aureus***

### **1. Morfologi dan klasifikasi bakteri *staphylococcus aureus***

Morfologi *Staphylococcus aureus* adalah salah satu aspek penting yang menentukan identifikasi dan karakteristik bakteri ini. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat atau kokus, dengan diameter berkisar antara 0,7 hingga 1,2 mikrometer. Ketika diwarnai dengan metode Gram, bakteri ini menunjukkan warna ungu yang khas, menandakan adanya dinding sel tebal yang terdiri dari peptidoglikan.



Gambar 4 Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber: Gresya Hendrawan, 2023)

Dalam mikroskopis, *Staphylococcus aureus* sering terlihat dalam bentuk kelompok-kelompok tidak teratur yang menyerupai anggur, yang merupakan ciri khas dari genus *Staphylococcus*. Bakteri ini bersifat non-motil, tidak memiliki flagela, dan tidak membentuk spora, sehingga tidak dapat bergerak secara aktif. Koloni *Staphylococcus aureus* pada media kultur, seperti agar

darah, biasanya berukuran 2-4 mm, berbentuk bulat, cembung, dan memiliki permukaan yang halus serta berkilau.

Warna koloni dapat bervariasi dari putih hingga kuning keemasan, yang disebabkan oleh pigmen karotenoid yang diproduksi oleh bakteri ini, khususnya staphyloxanthin, yang juga berfungsi sebagai faktor virulensi. *Staphylococcus aureus* bisa bertumbuh baik pada keadaan aerobik dan anaerobik, dan memiliki kemampuan untuk bertahan dalam lingkungan dengan salinitas tinggi, seperti pada media mannitol salt agar (MSA). Selain itu, bakteri ini juga katalase positif, yang berarti dapat memecah hidrogen peroksida menjadi udara dan oksigen, sehingga memberikan keuntungan dalam bertahan hidup di lingkungan yang teroksidasi. Dalam hal patogenitas, *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan berbagai faktor virulensi, termasuk koagulase, yang berperan dalam pembentukan abses dan infeksi.

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015) diuraikan sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*  
Kingdom : *Eubacteria*  
Filum : *Firmicutes*  
Kelas : *Bacilli*  
Ordo : *Bacillales*  
Famili : *Staphylococcaceae*  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus*

## 2. Pertumbuhan dan pembiakan bakteri *staphylococcus aureus*

Pada media bakteriologis dengan lingkungan aerobik atau mikroaerofilik, *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh subur. Meskipun bakteri ini dapat tumbuh dengan cepat pada suhu 37°C, suhu ruangan (20–35°C) ideal untuk produksi pigmen. Pada media padat, koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, halus, mengkilap, dan warnanya berkisar dari abu-abu hingga kuning keemasan. Sebaliknya, bakteri ini menghasilkan kekeruhan daripada pewarnaan pada perbenihan cair.

Di laboratorium bakteriologi, *Staphylococcus aureus* bisa bertumbuh pada media seperti:

### a. Nutrient Agar Plate (NAP)

Tujuan dari media ini adalah untuk mendeteksi adanya produksi pigmen. Pada media ini *Staphylococcus aureus* akan menghasilkan warna kuning keemasan.

### b. Blood Agar Plate (BAP)

Media ini sering dimanfaatkan untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Koloni yang bertumbuh pada media ini akan terlihat lebih besar, dan pada galur ganas, zona hemolisis yang jernih akan terlihat jelas di sekeliling koloni bakteri.

### c. Mannitol Salt Agar (MSA)

Media ini sangat cocok untuk biakan *Staphylococcus aureus* sebab sifat selektif dan diferensialnya. Media ini mengandung konsentrasi garam tinggi (7,5% NaCl) yang menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri lain,

namun *Staphylococcus aureus* mampu tumbuh optimal karena toleransinya terhadap kadar garam tinggi. Sedangkan, terdapat kandungan manitol sebagai sumber karbon pada media ini, dan indikator pH fenol merah yang memungkinkan diferensiasi bakteri berdasarkan kemampuan fermentasi manitol. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol, menghasilkan asam yang menurunkan pH di sekitar koloni sehingga mengubah warna media menjadi kuning. Bakteri lain, seperti *Staphylococcus epidermidis*, tidak memfermentasi manitol dan tidak menyebabkan perubahan warna media. Sifat-sifat ini membuat MSA sangat efektif untuk mendeteksi dan mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* dengan cepat dan akurat namun media ini tidak dapat digunakan sebagai media uji antibakteri karena media bersifat selektif.

d. Media MHA

Mueller-Hinton Agar (MHA) adalah media standar internasional yang sering dimanfaatkan untuk uji antibakteri, termasuk pengujian aktivitas metabolit jamur endofit. Media ini memiliki pH netral (7,2-7,4) dan komposisi nutrisi yang mendukung pertumbuhan berbagai bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, sehingga ideal untuk metode disk-diffusion atau well-diffusion. Pati dalam MHA membantu menyerap racun, memastikan zona hambat akibat metabolit antibakteri dapat terlihat jelas dan terukur secara akurat. MHA juga memiliki konsistensi yang baik untuk difusi metabolit, membuatnya efektif untuk mengevaluasi potensi antibakteri jamur endofit, meskipun jamur perlu ditumbuhkan terlebih dahulu pada media seperti PDA sebelum uji dilakukan.

### **3. Patogenitas bakteri *staphylococcus aureus***

Orang-orang menjadi sakit karena bakteri *Staphylococcus aureus* yang mana bakteri tersebut menyerang jaringan mereka dan/atau menghasilkan racun. Patogen pertama-tama menjajah tubuh, dan kemudian infeksi menyebar melalui tangan ke area di mana bakteri dapat masuk ke dalam tubuh, seperti luka kulit, tempat sayatan bedah, tempat masuknya kateter pembuluh darah, atau area lain di mana pertahanan tubuh terganggu, seperti tempat eksim (Soedarto, 2015).

Infeksi kulit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* akan mengakibatkan bisul atau abses. Hal ini akan menyebabkan organisme menyebar secara hematogen. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan endokarditis, pneumonia, dan infeksi pada tulang dan sendi jika terdapat enzim proteolitik. Efek samping yang serius, termasuk sepsis yang mematikan akibat bakteremia *Staphylococcus aureus*, dapat terjadi dengan terapi intravena pada inang dengan sistem kekebalan yang lemah, seperti pasien kanker neutropenia. Resistensi antibiotik mungkin disebabkan oleh keberadaan *Staphylococcus aureus* yang terus-menerus pada pasien fibrosis kistik (Soedarto, 2015).

### **4. Pengobatan infeksi bakteri *staphylococcus aureus***

Obat-obatan oral atau salep antibiotik dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi kulit ringan. Dua pengobatan utama untuk abses dan lesi supuratif tertutup lainnya adalah drainase dan, yang paling penting, terapi antibiotik. Meskipun sulit untuk sepenuhnya memberantas kuman berbahaya dari individu yang terinfeksi, banyak obat antimikroba yang dapat melawan *Staphylococcus*

*aureus* secara in vitro. Hal ini disebabkan oleh resistensi organisme yang cepat terhadap obat antimikroba, yang tidak mampu mengobati area nekrotik sentral pada lesi supuratif.

Terapi penisilin resisten  $\beta$ -laktamase intravena dapat digunakan untuk infeksi parah yang menimbulkan risiko yang mengancam jiwa pasien. Stafilocokus yang resisten terhadap antibiotik lini pertama dapat diganti dengan vankomisin. Terapi penisilin G bisa diberikan apabila infeksi disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang tidak memproduksi  $\beta$  laktamase. Namun, hanya sebagian kecil dari strain *Staphylococcus aureus* yang rentan terhadap penisilin G (Brooks *et al.*, 2013). Saat mengobati infeksi *Staphylococcus aureus*, sangat dianjurkan untuk menggunakan antibiotik yang tepat, oleh karena itu memerlukan kultur bakteri dengan uji kepekaan antibiotik (Soedarto, 2015).